

DANIEL LUZ BRANCOLI

**O EFEITO DA IVERMECTINA NA DURAÇÃO DAS FASES DE
DECOMPOSIÇÃO, SOBRE OS INSETOS NECRÓFAGOS E
INTERPRETAÇÃO TERMOGRÁFICA DA DISTRIBUIÇÃO
ESPACIAL DA MASSA LARVAL DE DÍPTEROS EM CARÇAÇAS
DE CABRAS (*Capra aegagrus hircus* L.,1758)**

CAMPINAS

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

DANIEL LUZ BRANCOLI

**“O EFEITO DA IVERMECTINA NA DURAÇÃO DAS FASES DE
DECOMPOSIÇÃO, SOBRE OS INSETOS NECRÓFAGOS E
INTERPRETAÇÃO TERMOGRÁFICA DA DISTRIBUIÇÃO
ESPACIAL DA MASSA LARVAL DE DÍPTEROS EM CARCAÇAS
DE CABRAS (*Capra aegagrus hircus* L., 1758)”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Daniel Luz Brancoli
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia para obtenção do Título de
Mestre em Parasitologia.

Arício
Orientador: Prof^o. Dr. Arício Xavier Linhares

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

B732e Brancoli, Daniel Luz, 1986-
O efeito da ivermectina na duração das fases de decomposição, sobre os insetos necrófagos e interpretação termográfica da distribuição espacial da massa larval de dípteros em carcaças de cabras (*Capra aegragrus hircus* L., 1758) / Daniel Luz Brancoli. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Arício Xavier Linhares.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Entomologia forense. 2. Toxicologia. 3. Ciências forenses. I. Linhares, Arício Xavier, 1950-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: The effect of ivermectin on the duration of decomposition's phases, on scavengers insects and thermographic interpretation of diptera's maggots masses colonizing carcasses of goats (*Capra aegragrus hircus* L., 1758)

Palavras-chave em inglês:

Forensic entomology

Toxicology

Forensics sciences

Área de concentração: Parasitologia

Titulação: Mestre em Parasitologia

Banca examinadora:

Arício Xavier Linhares [Orientador]

Júlio Mendes

José Roberto Pujol Luz

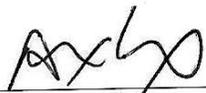
Data de defesa: 25-06-2013

Programa de Pós-Graduação: Parasitologia

Campinas, 25 de junho de 2013.

BANCA EXAMINADORA

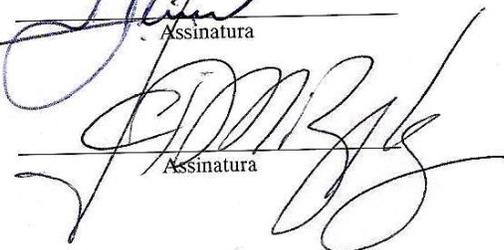
Prof. Dr. Arício Xavier Linhares (Orientador)


Assinatura

Prof. Dr. Julio Mendes


Assinatura

Prof. Dr. José Roberto Pujol-Luz


Assinatura

Profa. Dra. Patricia Jacqueline Thyssen

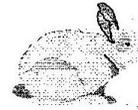
Assinatura

Prof. Dr. Sérgio Furtado dos Reis

Assinatura



UNICAMP



CEUA/Unicamp

**Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA/Unicamp**

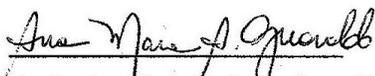
CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 2237-1, sobre "DECOMPOSIÇÃO E SUCESSÃO ECOLÓGICA DE CARCAÇAS DE CABRAS (*Capra aegagrus hircus*) MORTAS POR OVERDOSE DE IVERMECTINA E EXPOSTAS SOB CONDIÇÕES NATURAIS", sob a responsabilidade de Prof. Dr. Arício Xavier Linhares / Daniel Luz Brancoli, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/Unicamp em 13 de setembro de 2010.

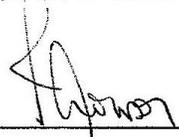
CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 2237-1, entitled " _____ ", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on September 13, 2010.

Campinas, 13 de setembro de 2010.



Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente



Fátima Alonso
Secretária Executiva

CEUA/UNICAMP
Caixa Postal 6109
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Telefone: (19) 3521-6359
E-mail: comisib@unicamp.br
<http://www.ib.unicamp.br/ceea/>

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, João Brancoli e Daisy Luz, pela base, apoio e incentivo que sempre me deram para realizar esse trabalho, além da inspiração e estímulo para ingressar na carreira acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Arício Xavier Linhares, pela orientação e oportunidade de participar de seu grupo de pesquisa, aonde aprendi muito mais que as disciplinas poderiam ensinar, além de estar sempre disponível para me auxiliar.

À Fernando Brancoli, Pedro Brancoli, Thaís Stilck e e Jurgen Stilck, por todas as ajudas prestadas, apoio incondicional e tentarem gostar um pouco mais de larvas.

Á Thaís Galindo, por manter a fé que um dia eu voltaria para o Rio de Janeiro, saber mais sobre entomologia forense que qualquer outro dentista e por ser a melhor companheira que eu poderia ter nesse momento ou em qualquer outro.

Aos meus tios Yuri Brancoli e Luis Carlos Afonso, por servirem como porto seguro em Campinas, me ajudando de todas as formas possíveis por três anos. Pessoas que me deram muito mais que uma casa, me ensinaram os verdadeiros significados de companheirismo e cumplicidade.

Aos grandes amigos que fiz no Laboratório de Entomologia, Maicon Grella, Fábio Resende, Marcela Alonso, Mariana Nassu e Carina Souza. Minha família enquanto estive em Campinas, pessoas com quem dividi grande parte do meu tempo, me ajudaram sempre que necessário nessa empreitada e pessoas que certamente farão parte da minha vida de agora em diante, como colegas profissionais e como grandes amigos.

Ao coautor desse trabalho, André Savino. Estagiário que esteve comigo em todas as etapas, indo a campo sábado, domingos e feriados, e foi peça vital para que esse trabalho tenha sido concluído. Colega que certamente me ensinou mais que aprendeu e demonstrou uma rara aptidão para pesquisa. Certamente será um profissional brilhante no futuro, com quem espero ter o prazer de trabalhar mais vezes. Aproveito para agradecer á sua namorada Cássia Roesler, por ceder seu automóvel para as coletas em campo.

Agradeço á Prof. Dra. Patricia Thyssen, pela co-orientação nesse trabalho, ensinamentos em taxonomia de Dípteros e introdução ao universo da entomologia, além de auxílios extracurriculares como vacinas, caronas e métodos ortodoxos de disciplina bastante eficazes.

Ao Médico Veterinário Paulo de Tarso, responsável pelo CEMA (Centro de Monitoramento Animal) da UNICAMP, por ceder o espaço aonde foi desenvolvido o experimento, e mais ainda, por renovar minha esperança que o altruísmo no meio acadêmico ainda existe.

À Tacilda, técnica sempre solícita, por ajudar em diversas etapas do projeto, seja projetando e confeccionando partes da armadilha entomológica, seja auxiliando na contagem e criação de moscas.

Aos técnicos João e Chicão, por estarem sempre dispostos a me auxiliar da melhor forma possível.

Aos colegas Cauê Mira e Marina Klemm, pela ajuda na identificação de fannídeos e preparação e organização dos lepdópteros, respectivamente.

À Profa. Dra. Silmara Marques Allegretti pela ajuda fornecida pelo departamento de Biologia Animal, e a Profa. Dra. Ana Maria Guaraldo pelo auxílio com o uso de modelos animais em pesquisas e cuidados preciosos com queimaduras.

Ao professor Valmir Costa do Instituto Biológico de Dra. Carolina Reigada, pela ajuda com identificação de microhimenópteros parasitoides.

À Profa. Dra. Vera Cristina Silva, pela ajuda com a identificação da família Sepsidae.

Ao Prof. Dr. Cláudio Carvalho pela paciência e hospitalidade prestada na nossa visita ao seu laboratório, nos auxiliando com a identificação da família Muscidae.

À Profa. Dra. Leila Gatti Sobreiro, professora que me despertou o gosto da Perícia Veterinária, e é uma das responsáveis por essa longa caminhada.

À FAPESP pelo auxílio financeiro durante todo o experimento (Processos 2010/14521-4 e 2011/14029-5).

Aos demais, que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente nesse trabalho.

RESUMO

A estimativa do intervalo pós-morte (IPM), período entre a ocorrência da morte e o momento em que o corpo ou carcaça é encontrado, é uma das principais utilizações de insetos na área forense. A partir de informações sobre a biologia, ecologia e distribuição geográfica dos insetos, bem como do comportamento de toda fauna presente em um corpo é possível estimar o menor intervalo da ocorrência da morte. Diversos fatores tais como temperatura, umidade, presença de substâncias tóxicas nos tecidos de uma carcaça, podem interferir no ciclo de vida de um inseto, afetando diretamente a estimativa do IPM quando esta é baseada em parâmetros biológicos do inseto. Por isso, múltiplos fatores devem ser considerados para que a perícia seja mais precisa. Com o aumento no número de mortes de animais de importância econômica devido à intoxicação medicamentosa, se faz necessárias pesquisas voltadas para a entomotoxicologia, uma área que carece de estudos específicos. Assim, o presente trabalho visou identificar a entomofauna associada a carcaças de cabras (*Capra aegagrus hircus* L.) mortas após tratamento com ivermectina, expostas em ambiente natural, além de averiguar possíveis diferenças na atratividade, no desenvolvimento dos imaturos que utilizaram esse substrato para alimentação e se a temperatura e o padrão de colonização da massa larval divergem entre as carcaças de animais mortos por intoxicação. Esse último parâmetro foi avaliado por meio de registros termográficos realizados em intervalos de 12 horas. Além da importância de fatores abióticos como luminosidade, temperatura, umidade e pluviosidade, pôde-se observar a ação da ivermectina nas carcaças tratadas, interferindo na composição da fauna colonizadora, no tempo total e em cada estágio da decomposição, assim como no padrão físico e comportamental das massas larvais em comparação ao grupo controle. Ainda foi demonstrado que a termografia pode ser utilizada como uma nova ferramenta em estudos periciais, auxiliando de forma significativa a avaliação dos parâmetros das massas larvais.

Palavras-chave: Entomologia Forense; Toxicologia; Ciências Forenses.

ABSTRACT

The estimation of the postmortem interval (PMI), period between the occurrence of death and the time at which the body or casing is found, is one of the main uses of insects in the forensic field. Using information on the biology, ecology and geographical distribution of insects, as well as the behavior of the entire fauna present in a body, is possible to estimate the time of death. Several factors such as temperature, humidity, presence of toxic substances in the tissues of a carcass, may interfere with the life cycle of an insect, directly affecting the estimate of PMI when it is based on biological parameters of the insect. Therefore, multiple factors should be considered so that the forensic analysis is more accurate. With the increase in the number of animal's deaths of economic importance due to drug intoxication, becomes necessary a research on entomotoxicology, an area with lack of specific studies. Thus, the present study aimed to identify the insect fauna associated with carcasses of goats (*Capra aegagrus hircus* L.) killed after treatment with ivermectin and exposed in the natural environment. Still, investigate possible differences in attractiveness, the immature development that used this substrate for feeding and if the temperature and the colonization pattern of larval mass differ between carcasses of animals killed after ivermectin inoculation. This last parameter was evaluated by thermographic shots performed at intervals of 12 hours. Besides the importance of abiotic factors such as luminosity, temperature, humidity and rainfall, the action of ivermectin on carcasses cause interference in the composition of the colonizing fauna, the total time of colonization and the time of the decomposition stages, as well as the physical patterns and behavior of larval masses compared to the control group. Although it has been shown that thermography can be used as a new tool in forensic studies, helping to evaluate the parameters of larval mass.

Keywords: Forensic Entomology; Toxicology; Forensics Sciences.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1.** Armadilha utilizada durante as coletas da entomofauna atraída por carcaça de cabra (*Capra aegagrus hircus* L.), com esta em seu centro.....33
- Figura 2.** Bandeja de metal recoberta com as larvas que saíram da carcaça buscando o solo para empupar.....33
- Figura 3.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sombra (CS) na estação quente e úmida.....34
- Figura 4.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sol (CSol), na estação quente e úmida.....34
- Figura 5.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sombra (IS) durante a estação quente e úmida.....35
- Figura 6.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sol (ISol), durante a estação quente e úmida.....35
- Figura 7.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sombra (CS) na estação fria e seca.....36
- Figura 8.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sol (CSol) na estação fria e seca.....36
- Figura 9.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sombra (IS) na estação fria e seca.....37
- Figura 10.** Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sol (ISol) na estação fria e seca.....37

- Figura 11.** Região oral da carcaça controle sol (CSol) durante a estação fria e seca, mostrando um adulto do gênero *Oxelytrum* (Coleoptera: Silphidae).....38
- Figura 12.** Região anal da carcaça controle sol (CSol) durante a estação fria e seca, mostrando diversos imaturos da família Silphidae (Coleoptera).....38
- Figura 13.** Região ocular da carcaça controle sol (CSol) durante a estação fria e seca, mostrando um adulto de *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) e, em destaque, um microhimenóptero sobre imaturos de dípteros, provavelmente procurando um hospedeiro.....39

Capítulo II

- Figura 1.** Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando o início da formação das massas larvais na região da cabeça e ânus.....53
- Figura 2.** Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando a formação de uma terceira massa larval abaixo do membro anterior direito, sendo possível observar também a massa presente na cabeça.....53
- Figura 3.** Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando fusão das massas presentes na cabeça e no abdômen, e uma pequena massa na região anal.....54
- Figura 4.** Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando a formação de uma massa única. Áreas com coloração amarelada tendendo a 36°C e áreas de coloração azul escuro tendem a temperatura mínima observada de 23°C.....54
- Figura 5.** Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando a ausência de massas larvais perceptíveis, sugerindo a saída dos imaturos da carcaça após o consumo dos recursos disponíveis para esses insetos.....55
- Figura 6.** Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a ausência de massas larvais perceptíveis no terceiro dia de exposição.....55

- Figura 7.** Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a presença de uma massa larval na região da cabeça/pescoço no sexto de dia de exposição. Outras pequenas manchas são oriundas de incidência solar na carcaça.....56
- Figura 8.** Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a presença de massas larvais na região da cabeça e pescoço e na região posterior, no nono dia de exposição.....56
- Figura 9.** Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a presença de uma única massa larval na região abdominal no 24º dia. Nota-se que as regiões anterior e posterior estão frias, indicando uma migração dos imaturos dessas áreas para a região abdominal após o total consumo dos tecidos.....57

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

- Tabela 1.** Tempo de duração, em dias, dos estágios de decomposição de cada carcaça, durante o experimento realizado na estação quente e úmida.....39
- Tabela 2.** Tempo de duração, em dias, dos estágios de decomposição de cada carcaça, durante o experimento realizado na estação fria e seca.....40
- Tabela 3.** Abundância das diferentes espécies de Diptera que se criaram nas carcaças e emergiram em laboratório, durante a estação quente e úmida.....40
- Tabela 4.** Abundância das diferentes espécies que se criaram nas carcaças e emergiram em laboratório, durante a estação fria e seca.....41
- Tabela 5.** Dados climáticos obtidos com termohigrômetro localizado na região de coleta durante a estação quente e úmida.....42
- Tabela 6.** Dados climáticos obtidos com um termohigrômetro localizado na região de coleta, durante a estação fria e seca.....42

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	1
2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1- DECOMPOSIÇÃO E SUCESSÃO ECOLÓGICA.....	4
2.2- ENTOMOLOGIA FORENSE.....	5
2.3- ENTOMOTOXICOLOGIA	7
2.4- IVERMECTINA	10
3- OBJETIVOS	12
4- CAPÍTULO I: DECOMPOSIÇÃO E SUCESSÃO ECOLÓGICA DE CARCAÇAS DE CABRA (<i>CAPRA AEGAGRUS HIRCUS L.</i>) MORTAS APÓS TRATAMENTO COM IVERMECTINA E EXPOSTAS SOB CONDIÇÕES NATURAIS	13
4.1- INTRODUÇÃO.....	13
4.2- MATERIAL E MÉTODOS	14
4.3- RESULTADOS	16
4.4- DISCUSSÃO.....	22
4.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
5- CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO TERMOGRÁFICA DE MASSAS LARVAIS EM CARCAÇAS DE CABRAS MORTAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE IVERMECTINA	43
5.1- INTRODUÇÃO.....	43
5.2- MATERIAL E MÉTODOS	45
5.3- RESULTADOS	45
5.4- DISCUSSÃO.....	47
5.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

1- INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos as aplicações de evidências entomológicas têm contribuído significativamente com investigações criminais para estimar o intervalo pós-morte (IPM), buscar informações a respeito do local do óbito, se houve movimentação do corpo ou mesmo possíveis causas e circunstâncias da morte (NUORTEVA, 1977; CATTS E HASKELL, 1990; CATTS & GOFF, 1992).

A comunidade decompositora que coloniza carcaças passa por um processo de sucessão ecológica, associado aos vários estágios de decomposição (BORNEMISSZA, 1957). Tal sucessão consiste no acréscimo e/ou substituição de espécies, que acompanham as alterações físico-químicas das carcaças, sendo assim um evento natural que ocorre durante a decomposição de carcaças (SMITH, 1986). O estudo da fauna cadavérica constitui em uma das mais importantes aplicações na área forense. O reconhecimento das espécies em cada estágio da decomposição e o conhecimento do tempo ocupado por cada estágio, associado aos fatores abióticos como temperatura, pluviosidade, presença de drogas, torna possível uma estimativa do intervalo pós-morte.

Outro ramo emergente e que tem ganhado bastante destaque nos últimos anos dentro da entomologia forense é a entomotoxicologia, que tem por fim mensurar os efeitos causados por determinadas substâncias tóxicas ou drogas sobre o desenvolvimento de imaturos que se alimentam dos tecidos de um cadáver, que por ventura tenha ido a óbito por overdose ou em decorrência do uso abusivo de drogas (GOFF & LORD, 1994). Esse tipo de consideração é particularmente importante, pois pode interferir diretamente no estimativa do IPM quando este é baseado no tempo de vida de um imaturo e este pode ter seu desenvolvimento acelerado ou retardado devido à presença de uma dada substância.

Para se obter uma estimativa do IPM mais próxima do fato real é necessário um conhecimento prévio da biologia e ecologia dos insetos envolvidos com o processo de colonização de um corpo, levando também em consideração os fatores intrínsecos e extrínsecos que, de alguma forma, regem a decomposição ou que possam intervir no desenvolvimento das formas imaturas que ali se encontram (CATTS & GOFF, 1992; CARVALHO et al., 2000). Fatores tais como presença de pelos, modo da morte, integridade da carcaça e os relacionados

com o ambiente em que se encontra um corpo como temperatura, umidade e precipitação, por exemplo, podem ocasionar grande interferência na taxa de desenvolvimento das espécies colonizadoras (BORNEMISSZA, 1957; CARRERA, 1991).

No campo da medicina veterinária, os antiparasitários estão entre os medicamentos mais vendidos no Brasil e, dentre este grupo, os que contêm como princípio ativo a ivermectina se destacam como os mais procurados por proprietários de animais domésticos (RIBEIRO et al., 2009). Esse fármaco pode induzir neurotoxicidade, e surtos ocasionais de alterações neurológicas podem ocorrer mesmo quando a dose indicada é administrada (RADOSTITS et al., 2002). No Brasil existem inúmeros relatos em animais domésticos de intoxicação iatrogênica por ivermectina, levando à morte em alguns casos tanto cães (MEDEIROS et al., 2009) quanto bovinos (SEIXAS et al., 2006).

Dois fatores que têm sido pouco explorados em pesquisa básica, e que podem ser de grande importância na dinâmica do desenvolvimento larval, é o tamanho e a temperatura da massa larval no interior da carcaça. Usualmente, os entomologistas forenses estimam o IPM a partir do tempo de vida das larvas mais velhas que são encontradas em um corpo. Tendo em vista que a idade do inseto pode variar mediante a temperatura sob o qual ele foi exposto e que, em muitos casos, só é levada em consideração a temperatura média do ambiente, e não a do interior do corpo é provável que as “temperaturas reais” em que os imaturos estejam expostos sejam muito maiores que a do ambiente. Contudo, medir com precisão o tamanho e outros parâmetros de uma massa larval pode ser um desafio, se levado em conta que muitas vezes estão presentes dentro das cavidades do corpo e que só podem ser acessadas durante a necropsia, evento que leva a perturbação e dispersão dos indivíduos e incapacita quaisquer abordagens de estudo (JOHNSON et al., 2010).

Uma alternativa para se estudar a massa larval, mensurar sua temperatura e estimar sua distribuição pela carcaça durante o processo de decomposição, seria fazer uso de câmeras termográficas. Como foi observado por Johnson et al. (2010) que o calor produzido pelas massas larvais se correlaciona significativamente com o seu tamanho e tempo de desenvolvimento, focar esta proposta poderia contribuir para a obtenção de um IPM mais fidedigno. Não obstante, seria interessante visualizar se o padrão de formação de uma massa larval poderia variar frente a diferentes tipos de mortes.

A entomotoxicologia vem sendo estudada por diversos pesquisadores brasileiros e estrangeiros, porém o foco sempre esteve na toxicologia humana. Tendo em vista a importância da pecuária brasileira, o crescente mercado de gado de elite e o aumento de relatos de casos com mortes por intoxicação medicamentosa, a perícia veterinária já aparece oportunamente como uma ciência emergente. Adicionalmente porque, certos graus de intoxicação, não promovem alterações significativas ou específicas pós-morte que possam ser confirmadas durante uma necropsia (SEIXAS, 2006). Portanto, o conhecimento relativo aos insetos que colonizam carcaças pode ser de grande valia para elucidar a causa da morte de um animal.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- DECOMPOSIÇÃO E SUCESSÃO ECOLÓGICA

A decomposição de corpos e carcaças é um processo complexo que vai desde a autólise de células individuais por degradação de componentes químicos intracelulares até a autólise tecidual ocasionada pela liberação de enzimas, e por processos externos introduzidos por bactérias e fungos provenientes do intestino e ambiente externo. As enzimas bacterianas causam liquefação dos tecidos pela degradação de proteínas, carboidratos e lipídios em seus componentes básicos (aminoácidos, água e dióxido de carbono, ácidos graxos e substâncias voláteis) com formação de gases (nitrogênio, metano e amônia) (CAMPOBASSO, 2001). Esse fenômeno é um processo contínuo que pode ser separado em estágios, que são diferenciados por alterações significativas que ocorrem na carcaça (BORNEMISSZA, 1957). Esses estágios, assim como o tempo de decomposição, são influenciados por diversos fatores bióticos e abióticos, podendo assim ter alterados a duração que a carcaça irá permanecer nesse estágio, e ainda o número de estágios apresentados. Cinco estágios de decomposição foram identificados, por Bornemissza (1957). Esse estudo caracterizou a sucessão de organismos em carcaças de cobaias (*Cavia porcellus* L., 1758) na Austrália, correlacionando-os com o estágio de decomposição. Howden (1950) distinguiu apenas dois estágios na Carolina do Norte, Reed (1958) diferenciou quatro estágios conduzindo estudos no Tennessee, enquanto Payne (1965), na Carolina do Sul, reconheceu seis. Por sua vez, Mégnin (1894) descreveu oito estágios, no seu estudo na França. O tempo requerido para decomposição total de um corpo ou carcaça também é variável, podendo ser de dez dias (CORNBABY, 1974) até três anos (MÉGNIN, 1894). No Brasil, a maioria dos estudos segue a divisão proposta por Bornemissza, observando durante a decomposição cinco estágios distintos (SOUSA & LINHARES, 1997; CARVALHO & LINHARES, 2001; THYSSEN, 2000).

A cada etapa do processo de decomposição, grupos diferentes de insetos sucedem-se na carcaça, pois no decorrer desse processo, diferentes condições são apresentadas, favorecendo o desenvolvimento de espécies específicas.

Hobson (1932), por exemplo, constatou que, no período inicial da decomposição, os tecidos são ácidos e inviáveis para alimentação das larvas, com o avanço da decomposição os tecidos se tornam alcalinos, e só então passam a utilizá-los como alimento.

Essas carcaças desempenham um papel crucial para as diversas comunidades de insetos que a utilizam como recurso (ANDERSON & CERVENKA, 2002) e até, aproximadamente, 400 espécies dessa Classe podem ser encontradas colonizando uma carcaça durante os estágios de decomposição (PAYNE, 1965). Segundo Smith (1986), quatro grupos distintos ecologicamente podem ser observados participando de alguma forma na comunidade que explora a carcaça, que por sua vez, funciona como um micro habitat.

- 1) Espécies necrófagas: aquelas que irão efetivamente utilizar os recursos oferecidos pela carcaça. Alimentam-se dos tecidos em decomposição;
- 2) Predadores, Parasitos e Parasitóides: Insetos que irão se aproveitar da comunidade formada em torno do recurso. Seja predando ou parasitando os demais insetos;
- 3) Onívoros: São aqueles que frequentam a carcaça para consumir os tecidos em decomposição e/ou da fauna associada;
- 4) Eventuais ou incidentais: São insetos que se encontram na carcaça ao acaso, como uma extensão do seu habitat;

Além de sua importância ecológica no processo de decomposição das carcaças e biotransformação de matéria orgânica, esses insetos ainda se destacam como uma importante ferramenta nas investigações criminais (ERZINCLIOGLU 1983; CATTS & GOFF 1992), permitindo a estimativa do intervalo de tempo que esse corpo ou carcaça foi colonizado. Nessa visão, os dois primeiros grupos acima são mais relevantes, já que esses insetos são os primeiros a chegarem à carcaça e se substituírem sequencialmente de forma padronizada, em uma sucessão ecológica. Esse grupo é composto por indivíduos das ordens Diptera, Coleoptera e Himenoptera (NUORTEVA, 1977; KEH, 1985).

2.2- ENTOMOLOGIA FORENSE

A entomologia forense pode ser definida como a aplicação e estudo de insetos, quando utilizada em procedimentos criminalísticos com o intuito de descobrir informações úteis para

uma investigação (CATTS & GOFF, 1992; NUORTEVA, 1977). A confiabilidade depositada nos insetos se deve a presença de estruturas altamente adaptadas para a detecção de voláteis que são liberados pela carcaça ou cadáver, o que permite a esses artrópodes chegar nas primeiras horas que sucedem a morte (NUORTEVA, 1977). Outro fator importante é a oviposição, que ocorre dentro de poucas horas após a morte. Esse comportamento funciona como um relógio biológico, já que através dos estágios imaturos podemos determinar o intervalo pós-morte (IPM) (CATTS & GOFF, 1992).

A Entomologia Forense pode ser dividida em três categorias: i) a urbana, que no âmbito civil, averigua a presença de insetos, principalmente com relação à venda de imóveis, como a colonização deste tipo de bem por cupins; ii) a de produtos estocados, a qual considera a contaminação causada por insetos em produtos alimentícios; iii) a médico-legal que analisa os insetos associados a cenas criminais, como mortes suspeitas, a fim de obter informações relevantes ao processo investigativo, (LORD, STEVESSON, 1986). Esta última categoria tem sido mais explorada, tanto na área acadêmica com a realização de pesquisas, quanto no âmbito legal com a aplicação do conhecimento da entomofauna necrófaga em investigações criminais. Com relação aos exames periciais em casos de morte, cinco questionamentos básicos devem ser respondidos: quem é o morto, como a morte ocorreu, onde ocorreu, quando ocorreu e, se foi natural, acidental ou criminal. Conhecimentos entomológicos têm sido estudados e utilizados para responder aos quatro primeiros quesitos e ainda auxiliar na dedução do último (CATTS & HASKELL, 1990; OLIVEIRA-COSTA, 2007).

No Brasil esses estudos tiveram início em 1908, com os trabalhos de Edgard Roquette Pinto e Oscar Freire, respectivamente nos Estados do Rio de Janeiro e da Bahia. Com base em estudos de casos em humanos e animais realizados na primeira década do Século XX, esses autores registraram a diversidade da fauna de insetos necrófagos em regiões de Mata Atlântica (PUJOL-LUZ et al, 2008). Seguiram-se a eles, entre 1911 e 1941, os trabalhos de Herman Lüderwaldt, Samuel Pessôa e Frederico Lane, descrevendo especialmente a fauna de besouros escarabeídeos necrófagos do Estado de São Paulo. Belfort de Mattos no ano de 1919, sob a orientação de Oscar Freire, desenvolveu um trabalho sobre a família Sarcophagidae de São Paulo.

Após essa primeira onda de estudos, houve um intervalo nas publicações na área de entomologia forense no Brasil. O renascimento se dá na publicação de Monteiro-Filho &

Penereiro (1987) sobre a sucessão de insetos em uma carcaça de roedor no Estado de São Paulo. A partir desse momento iniciaram-se estudos mais especializados. Voltados para aspectos sobre a biologia, ecologia e taxonomia de dípteros necrófagos e biontófagos, os trabalhos de Hugo de Souza Lopes, Rubens Pinto de Mello, José Henrique Guimarães e Nelson Papavero, enquanto os primeiros trabalhos sistemáticos sobre entomologia forense abordando estudos sobre a diversidade, ecologia, taxonomia e sucessão da fauna cadavérica foram desenvolvidos por Arício Xavier Linhares e Claudio José Barros de Carvalho, entre outros, dando início assim as linhas de pesquisa voltadas para a entomotoxicologia. (PUJOL-LUZ et al, 2008).

2.3- ENTOMOTOXICOLOGIA

Na década de 80, alguns pesquisadores iniciaram estudos de detecção de drogas em insetos, numa tentativa de se estabelecer uma nova ferramenta para investigações forenses (BEYER et al, 1980; INTRONA et al, 2001). Embora esta ciência possua respaldo para fornecer evidências em casos forenses (GOFF & LORD, 1994), vários cientistas ainda possuem certo ceticismo perante o uso da entomotoxicologia em investigações forenses devido à dificuldade de se estabelecer protocolos eficientes (GAUDRY et al, 2001).

As principais áreas dos estudos entomotoxicológicos são: **i)** a determinação do uso de drogas antes da morte, especialmente em restos esqueletizados onde nenhum tecido ou fluido consegue ser recuperado para análises, tendo sido demonstrado que análises feitas em imaturos presentes na carcaça são mais sensíveis do que análises realizadas nos tecidos em avançado processo de decomposição (NOLTE et al, 1992; KINTZ et al, 1990); **ii)** mensurar os efeitos causados por determinadas drogas sobre o desenvolvimento de imaturos que se alimentam dos tecidos de um cadáver ou carcaça, que por ventura tenha ido a óbito por overdose ou em decorrência do uso abusivo de drogas (GOFF & LORD, 1994). Esse tipo de consideração é particularmente importante, pois pode interferir diretamente na estimativa do *Índice Post-Mortem* (IPM), uma vez que a presença de drogas pode acelerar ou retardar o tempo de desenvolvimento do imaturo (INTRONA et al., 2001).

A utilização de espécies pertencentes às Ordens Diptera e/ou Coleoptera é a mais recomendada para realizar testes entomotoxicológicos, já que esses insetos estão entre os

primeiros visitantes da carcaça e sua biologia e desenvolvimento são bem conhecidos, sendo comumente utilizados para a estimativa do IPM (MILLER et al, 1997).

A principal desvantagem do campo de entomotoxicologia é a dificuldade na interpretação nas concentrações de drogas detectadas. A interpretação destes testes se demonstra complicada pelas diferenças de espécies usadas, estágios de desenvolvimento, mas se dá principalmente devido as diferentes metodologias empregadas por cada grupo de pesquisa.

Dietas artificiais (SHERMAN, 1995; OLIVEIRA et al, 2009; SADLER et al, 1997; ESTRADA et al., 2009; SOUZA et al., 2011) ou órgãos macerados de animais (BOUREL et al, 2001; KHARBOUCHE et al, 2008; ROETERDINK et al, 2004; MONTEI, 2009; CARVALHO et al., 2012) são substratos amplamente utilizados nas pesquisas voltadas para a entomotoxicologia, uma vez que são fáceis de preparar e têm um baixo custo. Porém, problemas durante a preparação e armazenamento, tais como a homogeneização imperfeita da droga e exigências nutricionais insuficientes para o desenvolvimento dos imaturos, podem ocorrer (SHERMAN, 2009). Outra desvantagem bastante relevante deste tipo de substrato se dá pelos medicamentos não serem metabolizados, diferente de como ocorre quando ingerido por uma pessoa ou animal. Muitas vezes o medicamento é transformado, e seus metabólitos é que irão permanecer e atuar no organismo. Isso é importante para a interpretação quando se busca paralelo com um caso real, já que nesses casos a disponibilidade da droga seria alterada e os insetos necrófagos se alimentariam dos metabólitos produzidos, e não da droga em si (OLIVEIRA et al, 2009; GEORGE et al, 2009). E ainda, ao se utilizar um único órgão ou músculo, os resultados obtidos podem variar, já que os fármacos ou seus metabólitos tendem a se concentrar em tecidos diferentes (HEDOUIN et al, 1999).

A administração de fármacos em animais vivos proporciona uma visão mais realista, já que nesses casos a droga é metabolizada pelo organismo, simulando assim as condições encontradas em casos reais. Porém essa metodologia também apresenta alguns obstáculos já que precisam ser aprovados por um comitê de ética animal (MAHAT et al, 2009), o que pode levar muito tempo. Nesses experimentos usa-se o animal inteiro (BOUREL et al, 2001; HEDOUIN et al, 1999 e 2001.), um único órgão (principalmente o fígado), ou o músculo (MONTHEI, 2009; GOFF et al, 1994 e 1997) para servir de substrato na alimentação dos imaturos. Para obter um processo mais próximo à realidade, têm sido utilizada toda a carcaça, porém a interpretação dos

resultados é mais complexa devido à movimentação das larvas que, durante a colonização, ocupam toda a extensão da carcaça, dificultando assim uma correlação entre a concentração da droga nos imaturos e o tecido onde ocorreu a alimentação.

Diversas drogas já foram testadas visando avaliar o efeito que elas desempenham no desenvolvimento de imaturos de dípteros. As principais substâncias estudadas são as comumente usadas de forma abusiva e apontadas como as mais recorrentes em casos de suicídios e mortes por intoxicação, como os antidepressivos, opióides e narcóticos (GOFF, OMORI, GOODBROD, 1989; SADLER et al, 1995; GOFF et al., 1997; GAGLIANO-CANDELA, AVENTAGGIATO, 2001). Dentre os fármacos já estudados estão os Barbitúricos: fenobarbital (BEVER et al., 1980), secobarbital (LENIVE et al., 2000), amilobarbital e barbital (SEDLER et al., 1997). Benzodiazepinas: diazepam (CARVALHO et al., 2001), temazepam (SADLER et al., 1995), brazotam e oxazepam (KINTZ, 1990). Antidepressivos: amitriptilina e nortriptilina (WILSON et al., 1993; MILLER et al., 1994.), trimipramina (SADLER et al., 1995). Opiáceos e opióides: morfina, codeína (INTRONA et al., 1990; GOFF et al., 1991; KINTZ et al., 1994), propoxifeno (WILSON et al., 1993). Dentre as drogas ilícitas as principais são as anfetaminas (SADLER et al., 1995), cocaína (GOFF et al., 1989; NOLTE et al., 1992; CARVALHO et al., 2004), heroína (GOFF et al., 1991), No campo da medicina veterinária, as pesquisas voltadas na área de entomotoxicologia ainda são escassas. Ferrari e colaboradores (2008) estudaram o efeito da testosterona para uso animal no desenvolvimento larval de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae). Apesar de não apresentarem diferenças no tempo de desenvolvimento, as larvas do grupo tratado apresentaram um ganho de massa cinco vezes maior em comparação ao grupo controle. Goff e colaboradores (1994) analisaram o efeito da fenciclidina, um tranquilizante para uso veterinário, no desenvolvimento de imaturos de *Sarcophaga (Liopygia) ruficornis* (Fabricius, 1794) (Diptera: Sarcophagidae). Apesar de ambos os estudos utilizarem drogas de uso veterinário, seu foco ainda é no uso abusivo por humanos, não discutindo a epidemiologia voltada para a área.

2.4- IVERMECTINA

No campo da medicina veterinária, os antiparasitários estão entre os medicamentos mais vendidos no Brasil e, dentre este grupo os que contêm como princípio ativo a ivermectina se destacam como o mais procurado por proprietários de animais domésticos (RIBEIRO *et al.*, 2009). As avermectinas são lactonas macrocíclicas derivadas da fermentação do fungo *Streptomyces avermitilis* (Takahashi, 2002), incluindo-se neste grupo a ivermectina, um derivado semi-sintético da abamectina, composto por duas diidroavelmectinas (80% de B1 e 20% de B2), ativa contra nematóides e artrópodes (LOVELL, 1990). O termo avermectina é formado pelo prefixo grego primitivo *a* que significa “sem”, por “verme” que vem do latim *vermis*, e “ecto” do grego *ektós* que significa “fora”, demonstrando assim que sua ação está voltada para endo e ectoparasitas. A ivermectina aumenta a condutância ao cloro, mediada pelo ácido gama aminobutírico (GABA) e parece bloquear a transmissão de impulsos para o neurônio motor nos nematóides, além de aumentar a liberação pré-sináptica do GABA e sua ligação pós-sináptica. Esse mediador aumenta a condutância ao cloro e provoca inibição neuronal devida à hiperpolarização causada pelos elevados níveis de cloro. Os efeitos do GABA seriam normalmente compensados pela acetilcolina, que aumenta a condutância ao sódio. Em mamíferos, neurônios mediados por GABA são encontrados apenas no sistema nervoso central (SNC) e a ivermectina não atravessa a barreira hematoencefálica em condições normais (LOVELL, 1990). Isso se deve ao alto peso molecular da ivermectina, assim não sendo capaz de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) (LANKAS & GORDON, 1989; COURTNEY & ROBERSON, 1995; AYRES & ALMEIDA, 2002). Porém, a BHE pode ser atravessada em casos de grandes doses do medicamento levando a depressão do SNC (ANDRADE & SANTARÉM, 2002). Em animais que possuem histórico de lesões da BHE, o uso do medicamento pode levar à intoxicação (NOBMANN *et al.*, 2001).

A ivermectina pode induzir neurotoxicidade. Surtos ocasionais de alterações neurológicas podem ocorrer em bovinos da raça Murray Grey, mesmo quando recebem a dose terapêutica indicada, o que pode ser explicado por esta raça apresentar uma maior permeabilidade da BHE (RADOSTITS *et al.*, 2002). Por isso, não é recomendado o uso desse medicamento para bezerros com menos de 4 meses, dado o desenvolvimento incompleto da BHE (PULLIAM & PRESTON,

1989; COURTNEY & ROBERSON, 1995). A deficiência de glicoproteína-P no cérebro, possivelmente como resultado de um defeito genético autossômico recessivo, reduz o efluxo deste medicamento no SNC aumentando a susceptibilidade de certos animais à intoxicação (LANKAS & GORDON, 1989, ANDRADE & SANTARÉM, 2002; AYRES & ALMEIDA, 2002). Assim, algumas raças de cães como Collie, Old English Sheepdog, Shetland Sheepdogs, Australian Sheepdogs e seus mestiços, bem como cães e gatos com idade inferior a 6 semanas, também são mais susceptíveis (ANDRADE & SANTARÉM, 2002).

A intoxicação por ivermectina em cães pode levar aos seguintes sintomas: ataxia, comportamento anormal, tremores, midríase, letargia, fraqueza, decúbito, cegueira, salivação e coma. Em cães da raça Collie, além dos sintomas anteriores, foi descrita depressão, convulsões, bradicardia, bradipnéia e falta de resposta a estímulos sonoros, já um cão da raça Old English Sheepdog com toxicose causada pela ivermectina, apresentou ataxia dos membros posteriores, salivação, taquipnéia; bradicardia, decúbito, miose, estrabismo ventromedial e ventrolateral, ausência de resposta a estímulos e períodos de sono profundo (LOVELL, 1990). Problemas oculares, como lesões leves e graves na retina, incluindo casos de cegueira e megalocitose hepática também foram relatados em usos crônicos do medicamento, além de comprometimento reprodutivo em cães machos (PIMPÃO et al., 2005). Nos bovinos, os principais sintomas visualizados em uma intoxicação são desequilíbrio e tendências a quedas, fasciculações musculares intermitentes e generalizadas, sensibilidade superficial, hiperestesia, dispnéia, reflexo de sucção, disfagia, salivação, paresia da língua, reflexo pupilar e lacrimejamento (SEIXAS et al., 2006).

No Brasil existem inúmeros relatos em animais domésticos de intoxicação iatrogênica por ivermectina, levando a morte em alguns casos tanto cães (MEDEIROS et al., 2009) quanto bovinos (SEIXAS et al., 2006). Esse alto número de óbitos deve-se a falta de controle na venda de medicamentos de uso veterinário (LEITE et al., 2006), e ainda pela resistência criada por nematóides devido ao uso indiscriminado do medicamento, levando os produtores a elevarem a dose aplicada e conseqüentemente o risco de intoxicação (THOMAZ-SOCCOL et al., 2004; SOUZA et al., 2008), além de casos que envolvam erro médico ou exercício da medicina veterinária por pessoas não capacitadas.

3- OBJETIVOS

No presente estudo objetivou-se:

1- Averiguar e comparar se a duração da decomposição e o processo de sucessão ecológica diferem entre carcaças de caprinos íntegras mortas após tratamento com ivermectina e por meio de concussão cerebral;

2- Verificar a interferência da ivermectina no tempo de desenvolvimento de imaturos que fazem uso da carcaça como substrato alimentar, e na composição da fauna necrófaga;

3- Comparar a temperatura e o padrão de colonização da massa larval no interior das carcaças, assim como sua movimentação e distribuição, entre carcaças de caprinos íntegras mortas após tratamento com ivermectina e por meio de concussão cerebral.

4- CAPÍTULO I

O EFEITO DA IVERMECTINA NA DURAÇÃO DAS FASES DE DECOMPOSIÇÃO E SOBRE OS INSETOS NECRÓFAGOS EM CARCAÇAS DE CABRA (*CAPRA AEGAGRUS HIRCUS* L.,1758)

4.1- INTRODUÇÃO

Os insetos, de modo geral, podem ter relevância econômica, para a saúde animal e/ou humana, na medida em que são causadores de pragas agrícolas ou veiculadores de patógenos (GALLO et al., 2002; FETENE & WORKU, 2008). Além disso, a entomologia, dentro do âmbito forense, pode ampliar suas vertentes quando faz uso de informações sobre a biologia, ecologia e/ou o comportamento de certas espécies, associadas a procedimentos periciais, para solucionar certas questões dentro da área criminal ou civil (GOFF, 1991).

O uso de insetos ou restos de insetos, visando à identificação de drogas e toxinas presentes em tecidos de carcaças, é conhecido como entomotoxicologia (INTRONA et al. 2001). Insetos que se alimentam de carcaças e restos de insetos (por exemplo, pupas e pupários) podem, por vezes, serem utilizados como amostras para exames toxicológicos, quando as amostras tradicionais, tais como sangue, urina, tecido muscular não estão disponíveis, ou se encontram em avançado estado de decomposição (BEYER et al. 1980, KINTZ et al. 1990, LEVINE et al. 2000).

Um importante foco da entomotoxicologia é a investigação dos efeitos das drogas e toxinas sobre o desenvolvimento de artrópodes (GOFF e LORD 1994). Estudos mostram que a presença de fármacos nos tecidos do cadáver ou carcaça, devido ao consumo de drogas, podem afetar as taxas de desenvolvimento larval que porventura esteja utilizando esses tecidos como recurso alimentar, resultando em estimativas imprecisas do *intervalo post-mortem* (IPM) com base no desenvolvimento de insetos (BOUREL et al. 1999).

No meio veterinário, casos de intoxicação por drogas ou outros produtos tóxicos são bastante comuns. No Brasil, dados recentes do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX) mostram que, no ano de 2010, foram registrados 1570 casos de

intoxicação animal. Entretanto, acredita-se que esse número possa ser muito maior, uma vez que muitos casos não são notificados e nem chegam a um diagnóstico correto.

No Brasil, a ivermectina tem causado diversos casos de intoxicação, causando a morte tanto em cães (MEDEIROS et al., 2009) quanto bovinos (SEIXAS et al., 2006). Esse alto número de óbitos possui duas principais causas, a falta de controle na venda de medicamentos de uso veterinário (LEITE et al., 2006) e a resistência gerada por nematóides devido ao uso indiscriminado do medicamento, levando os produtores a elevarem a dose aplicada e conseqüentemente o risco de intoxicação (THOMAZ-SOCCOL et al., 2004; SOUZA et al., 2008).

Dessa forma, o presente estudo visa avaliar as alterações na sucessão ecológica e na decomposição de carcaças de caprinos tratados com ivermectina, buscando gerar dados para a área de perícia veterinária.

4.2- MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1- LOCAIS DE ESTUDO

O trabalho de campo foi realizado em uma área de mata, com aproximadamente 1,4km², pertencente e localizada no *campus* da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP. Os demais procedimentos que necessitaram de equipamentos apropriados para sua execução foram realizados nas dependências do laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, UNICAMP.

4.2.2-MODELO EXPERIMENTAL, DESCRIÇÃO DA ARMADILHA, PROCEDIMENTOS DE LABORATÓRIO E CAMPO.

Visto que estudos na área forense voltados para medicina veterinária são escassos até o momento e não existe um modelo animal para estes casos utilizamos carcaças de caprinos, *Capra aegagrus hircus* L., com aproximadamente 10 kg, visando a possibilidade de aplicar/extrapolar os dados que serão obtidos a demais pesquisas que envolvam animais domésticos. A escolha desse modelo se deve a sua similaridade com demais poligástricos, como presença de distribuição de pêlos, ato da rinação, alimentação herbívora, composição da microbiota intestinal semelhante

e fisiologia similar. Ao todo foram utilizadas oito carcaças, de ambos os sexos, as quais foram expostas sob condições naturais em duas estações do ano, uma quente e úmida e outra fria e seca, seguindo a classificação proposta por Morellato & Leitão-Filho (1995). Em cada estação foram expostas quatro carcaças simultaneamente, sendo que duas estavam na sombra e duas no sol, visando avaliar como esses fatores abióticos podem influenciar no processo de decomposição da carcaça. Para averiguar os objetivos expostos anteriormente, duas cabras, em cada estação, receberam a aplicação da dose terapêutica indicada de ivermectina (1 ml do fármaco a cada 50 kg de massa viva) pela via subcutânea (grupo tratado), sendo posteriormente morto através de concussão cerebral utilizando insensibilizador mecânico modelo Paragado tec 10 ®. Outro grupo, o qual será denominado como controle foi morto por concussão cerebral sem receber ivermectina. Todos os procedimentos utilizados neste trabalho seguiram as determinações éticas do Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e foram revisados e aprovados pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da UNICAMP, sob o número 2237-1..

Para evitar o ataque de predadores de grande porte, as carcaças foram mantidas dentro de gaiolas de metal. Para a coleta de insetos adultos alados, sob as gaiolas, foi montada uma armação de PVC de 1,80 m de altura por 1 m de diâmetro de base, em forma de funil invertido, recoberta por uma tenda de organza (FIGURA 1), de onde os espécimes que permanecem na parte superior (devido a fototaxia) foram retirados em intervalos de 24 h. Logo após serem coletados, os exemplares foram mortos em frascos contendo acetato de etila para posterior triagem e identificação no laboratório.

Bandejas de metal contendo serragem foram colocadas debaixo das gaiolas para realizar a coleta dos imaturos que abandonam espontaneamente o recurso para empupar. A serragem foi retirada em intervalos de 24 h para a coleta desses imaturos (FIGURA 2), sendo os mesmos então transferidos para recipientes plásticos (30 cm altura x 15 cm diâmetro), contendo serragem para acompanhar em laboratório o intervalo de emergência das diferentes espécies coletadas.

Todos os dias foram medidas as temperaturas anal, oral e externa da carcaça, além da temperatura do solo. Para medir a temperatura e umidade ambiente foi mantido um termohigrômetro 24h por dia e, para medir a precipitação, utilizamos um pluviômetro.

4.2.3- IDENTIFICAÇÃO DOS EXEMPLARES

Para a identificação dos insetos atraídos e dos que se criaram nos modelos a serem analisados foram utilizadas chaves dicotômicas presentes em Mc Alpine *et al.* (1981a e 1981b) e as de Dear (1985), Carvalho *et al.* (2000) e Mello (2003).

4.2.4- ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de comparações múltiplas de Duncan foi realizado para comparar o tempo total que cada carcaça levou para se decompor, assim como o tempo de duração de cada estágio da decomposição. Ainda, foram avaliadas as frequências das famílias e espécies colonizadoras, quanto ao tratamento e estação do ano. O nível global de significância considerado para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$), usando o procedimento PROC GLM do pacote estatístico SAS[®] (Statistical Analysis System) (SAS Institute 2006).

4.3- RESULTADOS

4.3.1- DADOS METEOROLÓGICOS

As estações estudadas se demonstraram significativamente distintas, como podemos perceber pelos dados obtidos através do termohigrômetro, que permaneceu durante todo o experimento no local de coleta.

A estação quente e úmida apresentou uma média de temperatura de 26,39, tendo atingido sua temperatura máxima no 24º dia de coleta, quando alcançou 31°C. A umidade relativa do ar, durante essa estação esteve sempre elevada, alcançando 92%, com média de 58,19% (TABELA 5).

O oposto foi observado durante a estação fria e seca, quando foram registradas temperaturas baixas quase todos os dias, tendo a mínima registrada nunca ultrapassando os 18°C e chegando aos 7,5°C no quinto dia de coleta. A umidade relativa também se apresentou bastante baixa nesse período, com uma média de 38,7% e uma mínima de 25% (TABELA 6).

4.3.2- DECOMPOSIÇÃO

Na estação quente e úmida, o tempo de decomposição das carcaças CS (controle sombra), CSol (controle sol) e ISol (ivermectina sol) foram estatisticamente iguais perante o teste de Duncan ($F= 4.37$; $P <0,0066$) variando de 21 a 23 dias de exposição, enquanto a carcaça IS (ivermectina sombra) demorou 31 dias para ser totalmente decomposta, sendo a única carcaça que demonstrou ter seu tempo de decomposição significativamente maior que as demais (TABELA 1). Pôde-se perceber que os estágios da decomposição foram significativamente iguais, quanto ao tempo de duração, nas carcaças Isol, CS e CSol, enquanto a carcaça IS demonstrou um comportamento diferente das demais ($F=13,00$; $P<0,0001$), destacando-se o estágio ativo, aquele em que há maior atividade da entomofauna se alimentando da carcaça.

No experimento realizado durante a estação fria e seca, o tempo para a decomposição total da carcaça variou de forma mais significativa, assim como o período que elas permaneceram em cada estágio. Semelhante à outra estação, a carcaça ivermectina sombra foi a que mais demorou em finalizar a decomposição, se destacando das demais. Essa demora pode ser percebida no aumento no tempo de duração no estágio gasoso e ativo, durando quase o dobro em comparação com as demais carcaças, fato também destacado pela análise estatística ($F=12,83$; $P<0,0001$). Ainda, a carcaça IS não apresentou o estágio de esqueletização, como as demais, apresentando em contrapartida o estágio de mumificação. (TABELA 2)

O estágio ativo teve sua duração influenciada pelo tratamento, durando mais na carcaça IS do que nas demais ($F=37,59$; $P<0,0001$) e também pela estação do ano, prolongando-se mais no inverno do que no verão. ($F=200,53$; $P <0,0001$). O mesmo foi observado no estágio de esqueletização, que apresentou interferência do tratamento, estendendo-se por mais tempo nas carcaças CSol ($F=2,93$; $P=0,0426$). Diferenças foram observadas entre as estações, com o tempo de decomposição aumentado no inverno ($F=215,79$; $P <0,0001$).

4.3.3- COLONIZAÇÃO DAS CARCAÇAS

Durante a estação quente e úmida, as carcaças que ficaram expostas no sol (CSol e ISol) apresentaram maior quantidade de adultos emergidos, em comparação com as carcaças que

estavam na sombra. No total foram coletadas 13 espécies de dípteros pertencentes a cinco famílias (TABELA 3).

Já na estação fria e seca, a carcaça CS apresentou uma quantidade de dípteros emergidos extremamente superior às demais carcaças, alcançando 83% do total coletado. Sendo a espécie *Hemilucilia semidiaphana*, quem apresentou o maior número de indivíduos. As carcaças CSol e IS tiveram uma colonização bastante discreta, apresentando um número bastante reduzido de espécimes emergidos de dípteros, porém, a carcaça CSol possuiu um número muito maior de representantes da Ordem Coleoptera. Já a carcaça ISol se apresentou de forma semelhante ao experimento na estação anterior, tendo como as espécies colonizadoras principais a *Chrysomya albiceps* e a *Ophyra aenescens*.

Os gráficos mostram a distribuição temporal dessas espécies/famílias de dípteros que colonizaram a carcaça com as suas respectivas abundâncias durante a estação quente e úmida (fig. 3 a 6). Percebe-se a predominância de três espécies: *Chrysomya albiceps* (Wiedmann, 1819), *Ophyra aenescens* (Wiedmann, 1830) e *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805), na colonização das carcaças, sendo que *H. segmentaria* apresentou quantidades significativas apenas na carcaça CS, enquanto na carcaça CSol e ISol a espécie mais abundante foi *C. albiceps* seguida da *O. aenescens*. Já na carcaça IS ocorreu uma inversão na abundância, sendo *O. aenescens* a espécie mais abundante.

Devido à baixa abundância, as famílias Sepsidae e Sarcophagidae não foram representadas nos gráficos, entretanto, isso não significa que elas não possuam importância forense.

Na estação fria e seca pôde-se observar uma colonização mais tardia nas carcaças, em comparação com a estação anterior. Também foi possível visualizar a ocorrência uma colonização simultânea, com as espécies envolvidas no processo de decomposição atuando simultaneamente, fenômeno diferente do apresentado na estação quente e úmida, quando foram observadas colonizações distintas, com espécies podendo se sobrepor ou não.

Na carcaça CS dessa estação pode-se perceber que a principal espécie colonizadora foi a *H. semidiaphana*, reduzindo as outras espécies colonizadoras, *C. albiceps* e *O. aenescens*, como coadjuvantes nesse processo de colonização. Outro aspecto interessante da colonização nessa carcaça foi a presença de uma onda de colonização principal, significando que a colonização se

deu ao mesmo tempo, o que demonstra que ocorreu uma competição maior entre as espécies (FIGURA 7).

A carcaça CSol teve uma colonização bastante peculiar durante essa estação. Além do baixo número de imaturos coletados e emergidos, essa foi a única carcaça em que a família Muscidae foi a principal colonizadora, com *O. aenescens* (FIGURA 8). Ainda, essa carcaça foi a única em que *C. albiceps* não foi colonizadora, fato que ocorreu em todas as outras carcaças em ambas as estações. Outro dado importante foi o número de imaturos da família Silphidae (Coleoptera) coletados nessa carcaça, 3.017. O que corresponde a 96% dos indivíduos coletados nessa carcaça, durante a estação.

A carcaça IS apresentou, assim como na carcaça CS a espécie *H. semidiaphana* como principal colonizadora. Fato interessante ocorrido nessa carcaça foi a relevância da família Fanniidae, que representou cerca de 60% dos dípteros colonizadores. A espécie *C. albiceps* teve participação praticamente nula no processo de decomposição dessa carcaça, com apenas um espécime criado.

Os resultados observados na carcaça ISol mostram basicamente uma inversão das espécies da família Calliphoridae, quando comparada a carcaça CS. Aqui, percebemos a superioridade numérica da espécie *C. albiceps* sobre a espécie *H. semidiaphana*, que por sua vez predomina na carcaça CS. O início da sua colonização é semelhante as carcaças do grupo controle, tendo seu início antes da colonização da outra carcaça do grupo tratado (FIGURA 8).

Os adultos coletados ainda estão em análise, devido ao grande número coletado e a diversidade de espécies que ainda carecem de estudos taxonômicos, chaves e especialistas para identificação.

4.3.4- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Quando analisada a frequência das diferentes famílias colonizadoras que se criaram nas carcaças, pode-se observar a predominância de duas delas, podendo assim, serem consideradas as principais atuantes no processo de decomposição nas carcaças expostas. São elas as famílias Calliphoridae e Muscidae. ($F=94,56$; $P < 0,0001$). Esses imaturos foram mais frequentes durante o estágio ativo e menos frequente no estágio gasoso, não sendo coletados durante os estágios de

mumificação e fresco. O estágio de esqueletização demonstrou uma frequência estatisticamente diferente aos estágios ativo e gasoso ($F=14,52$; $P<0,0001$). Quando avaliada as frequências desses imaturos nos diferentes tratamentos, pôde-se perceber que houve diferenças significativas dentre as carcaças ($F=13,45$; $P<0,0001$), porém o teste não foi capaz de discernir quais tratamentos foram diferentes.

Também foram realizadas análises estatísticas quanto as frequências das famílias em cada tratamento. Quanto a Família Calliphoridae, na carcaça CS, pode-se perceber que ela foi mais frequente durante a estação fria e seca ($F=7,45$; $P=0,0069$), não apresentou diferença na frequência entre os diferentes estágios da decomposição ($F=0,86$; $P=0,4246$), e dentre as espécies que compõem a família, a espécie *H. segmentaria* foi a mais frequente e *L. exímia* a menos. ($F=7,96$; $P <0,0001$).

Já na carcaça CSol, podemos perceber uma inversão das frequências quanto a estação do ano, encontrando uma maior frequência na estação quente e úmida em frente a estação fria e seca. ($F=34,01$; $P<0,0001$). Isso pode ter explicação na grande presença de imaturos e adultos de coleópteros encontrados nessa carcaça durante o verão, o que fez com que a frequência de imaturos de dípteros diminuísse. Assim como no inverno, não ocorreu influência dos estágios de decomposição na frequência dos imaturos ($F=2,39$ $P= 0,0943$). A espécie *C. albiceps* foi a mais frequente nessa carcaça, reafirmando a preferência das espécies do gênero *Hemilucilia* por locais abrigados.

A carcaça IS não sofreu interferência na frequência em nenhuma das variáveis supracitadas. O que pode ser um indicativo que o tratamento tenha sido o principal fator a nortear a decomposição nessa carcaça.

Diferentemente da carcaça anterior, a carcaça que sofreu tratamento com ivermectina e foi mantida sob incidência de luz solar (ISol) apresentou diferença na frequência entre as estações, sendo mais frequente no verão ($F=17,16$; $P <0,0001$). O estágio ativo também foi o que apresentou a maior frequência de larvas ($F=9,48$; $P= 0,0001$), e corroborando com as informações oriundas da outra carcaça exposta ao sol, a espécie *C.albiceps* foi a mais frequente. ($F=18,04$; $P<0,0001$).

Análises também foram realizadas para a família Muscidae, já que essa se demonstrou como segunda família com maior frequência nas carcaças, desempenhando assim um papel

crucial no processo de decomposição.

Na carcaça CS pode se perceber que a estação do ano foi uma variável significativa na frequência da família ($F=7,69$; $P=0,0065$), encontrando-se a maior frequência durante o inverno. O estágio de decomposição também rege a frequência dessa família na carcaça, sendo essa se fazendo mais frequente nos estágios ativo e gasoso, e menos frequente no estágio de esqueletização ($F=7,51$; $P=0,0009$). As espécies também tiveram suas frequências estatisticamente diferente ($F=9,19$; $P<0,0001$), porém o teste utilizado não foi capaz de discernir dentre elas, sendo a espécie *O. aenescens* a espécie a apresentar a maior média (2,0845), seguida por *M. domestica* (1,7777), *O. solitaria* (1,1109), *O. chalcogaster* (0,6931) e *S. nudiseta* (0,6931). Na carcaça CSol foi observado que a estação influenciou na frequência dessa família ($F=10,32$; $P=0,0017$), sendo mais frequente na estação quente e úmida. Os estágios de decomposição também foram uma variável estatisticamente relevante ($F=5,34$; $P=0,0060$), porém não foi possível determinar qual/quais se diferenciou/diferenciaram dos demais. Já as espécies que participaram do processo de decomposição não apresentaram diferenças significativas nas suas médias ($F=1,02$; $P=0,3650$). Na carcaça IS só houve resposta significativa na estação, sendo a média das frequências maior no verão em relação ao inverno ($F=7,85$; $P=0,0057$). A carcaça ISol apresentou variações significativas na frequência quanto a estação ($F=4,44$; $P=0,0365$) e quanto ao estágio de decomposição ($F=3,40$; $P=0,0356$). Quanto à estação, a frequência se mostrou mais alta durante o inverno, e relativo ao estágio de decomposição, o teste não foi capaz de separar os estágios em diferentes grupos, porém, se assemelhando as outras carcaças, o estágio ativo apresentou uma média mais alta (2,2872) e o estágio de esqueletização e gasoso, médias menores (1,5487 e 1,2425, respectivamente).

Ao se analisar a frequência das espécies individualmente, que compõem as diferentes famílias analisadas, observamos que a espécie *C. albiceps* não teve sua frequência influenciada pela estação do ano ($F=2,46$; $P=0,1173$). Porém, os estágios da decomposição demonstraram ter influência na frequência dessa espécie ($F=7,95$; $P=0,0004$), sendo mais frequente durante o estágio ativo, e não tão frequente no estágio gasoso. Outro fator que influenciou a frequência dessa espécie foi o tratamento ($F=6,09$; $P=0,0004$), tendo a carcaça IS apresentado uma frequência significativamente menor que as demais.

A espécie *H. segmentaria*, demonstrou uma sazonalidade, tendo sua frequência alterada

pela estação do ano ($F=8,20$; $P=0,0054$), sendo mais frequente durante o verão. O tratamento também interferiu na frequência da espécie ($F=17,45$; $P < 0,0001$), apresentando um aumento da frequência na carcaça CS. Outra espécie do mesmo gênero, a *H. semidiaphana* também demonstrou uma sazonalidade em relação a estação do ano ($F=11,33$; $P=0,0012$), invertendo sua frequência com a espécie *H. segmentaria*, sendo mais abundante durante a estação fria e seca. E assim como a outra espécie do gênero, essa também demonstrou interferência significativa pelo tratamento ($F=10,57$; $P < 0,0001$), também sendo mais frequente na carcaça CS.

Já na família Muscidae, a espécie mais importante foi a *Ophyra aenescens*, representando 99,3% dos espécimes coletados da família. Podemos perceber que a estação do ano não interferiu significativamente na frequência da espécie ($F=0,95$; $P=0,3289$), porém o tratamento ($F=7,44$; $P < 0,0001$) e os estágios de decomposição ($F=6,24$; $P=0,0021$) se demonstraram significativos quanto a frequência dessa espécie. Pôde-se perceber que essa espécie foi mais frequente na carcaça IS o que pode ser explicado, pois o início da fase ativa (quando a matéria orgânica se encontra mais fermentada e mais atrativa para muscideos) pode ter sincronizado com o tempo de degradação da ivermectina, levando assim a uma maior presença dessa família, enquanto os califorídeos, presentes no início do processo de decomposição, não conseguiram colonizar a carcaça e utilizar os recursos oferecidos por essa, pois a ivermectina ainda se fazia presente nos tecidos.

4.4- DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

No presente estudo observou-se que as carcaças foram decompostas por uma grande variedade de insetos, dentre eles destacaram-se as ordens Diptera, predominando em quase todas as carcaças, e Coleoptera, sendo mais abundante em uma das carcaças estudadas. Esses dados vão de encontro às observações feitas por Reed (1958) e Greenberg & Kunich, (2002), afirmando que esses insetos são os maiores colonizadores e consumidores desse tipo de substrato. Esse fenômeno já foi observado por diversos autores em estudos de sucessão ecológica anteriores na mesma região. Dentre os insetos colonizadores, destacaram-se as Famílias Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae e Fanniidae, que participaram da colonização das carcaças em ambas as estações, ainda, a família Sepsidae por ter atuado nas carcaças durante a estação quente e

úmida, e a Família Silphidae (Coleoptera) por possuir o maior número de imaturos coletados na carcaça CSol durante a estação fria e seca. Essas famílias podem ser consideradas as mais importantes para o uso na entomologia forense na região, já que em estudos anteriores realizados, essas famílias se fizeram presentes, colonizando carcaças, com exceção da família Sepsidae (CARVALHO et al., 2000; CARVALHO & LINHARES, 2004; THYSSEN, 2000).

A presença significativa da família Sepsidae nesse estudo pode ser explicada pelo modelo animal utilizado, no caso, caprinos. Como todo ruminante poligástrico, esses animais possuem rumem, um pré-estômago que tem como função a fermentação da matéria orgânica vegetal durante a digestão. No decorrer da decomposição da carcaça, todo esse material orgânico vegetal ficou exposto e disponível como substrato adequado para o desenvolvimento dos imaturos da família Sepsidae, que é frequentemente encontrada em fezes de herbívoros e matéria vegetal em decomposição (AMARAL, 1996; MARCHIORI, 2005).

Os resultados obtidos sugerem uma preferência de algumas espécies quanto a variável estação do ano e quanto à incidência de luz solar. O gênero *Hemilucilia* aparenta preferir regiões abrigadas, se apresentando como a espécie predominante nas carcaças expostas nessas condições, resultados semelhantes aos encontrados por Moura (1997) e Carvalho (2000). Com exceção da carcaça IS da estação quente e úmida, na qual a espécie *O. aenescens* predominou. Em contrapartida, o gênero *Hemilucilia* não se criou, ou teve poucos exemplares criados nas carcaças expostas ao sol, ocorrendo o inverso com a espécie *C. albiceps*.

O gênero *Hemilucilia* foi representado por duas espécies durante o estudo, *H. segmetaria* e *H. semidiaphana*, sendo a primeira encontrada colonizando carcaças durante a estação quente e úmida e a segunda durante a estação fria e seca. Esse mesmo comportamento das espécies foi demonstrado por Proêncio (2011), em um estudo realizado na mesma região, com carcaças suínas carbonizadas. Ainda, em estudos visando avaliar a sazonalidade de dípteros, feito por Batista-da-Silva (2010), também na região sudeste, a espécie *H. segmentaria* somente foi coletada durante o verão. Outro estudo que vai de encontro aos resultados obtidos foi conduzido por Souza e Linhares (1997), aonde foi observada a presença de *H. segmentaria* exclusivamente no verão, não sendo coletado nenhum exemplar durante o inverno. Biavati (2010), em estudo realizado em Brasília durante o inverno, coletou quantidades ínfimas de ambas as espécies. Essa baixa frequência encontrada no Cerrado pode ser explicada pela presença de áreas abertas e grande

incidência de luz do sol, já que essas espécies possuem preferência por áreas abrigadas, como já citado anteriormente. Dessa forma, levantar a hipótese de que uma possível sazonalidade dessas espécies possa ocorrer nessa região, é bastante plausível.

Outra espécie que se mostrou importante no processo de decomposição foi a *Ophyra aenescens*. A colonização por essa espécie foi observada em todas as carcaças, não se limitando a estação do ano ou incidência de luz solar. Uma das possíveis explicações para esse fenômeno se dá pelo fato da *O. aenescens*, como a maioria dos muscídeos necrófagos, preferirem material orgânico em fase avançada de decomposição (RIBEIRO, 2000; BYRD & CASTER, 2001), quando este se encontra fermentado, diferentemente da família Caliphoridae. Dessa forma não ocorre competição interespecífica entre as espécies, que tendem a formar duas massas larvais separadas, utilizando diferentes recursos do substrato.

Ao compararmos o tempo de decomposição entre as carcaças do grupo tratado com as carcaças do grupo controle, fica visível o atraso que a droga causou na decomposição das carcaças tratadas e expostas em local sombreado (IS) em ambas as estações. Esse atraso pode ser atribuído ao efeito que esse medicamento possui sobre artrópodes de uma maneira geral, como proposto por Lovell (1990), causando o retardo do desenvolvimento ou até a morte dos imaturos presentes na carcaça, reduzindo assim a o consumo da mesma. Isso pode ser percebido no aumento do tempo que as carcaças permaneceram no estágio ativo, 10 dias a mais na estação quente e úmida e até 14 dias na estação fria e seca. Fase esta, da decomposição, quando ocorre o maior consumo do substrato (CARVALHO, 2004). Entretanto, as carcaças do grupo tratado e expostas à luz solar não sofreram um atraso significativo na decomposição em ambas as estações do ano. Esse comportamento pode ser explicado pela maior incidência de luz solar e conseqüentemente aumento da temperatura na carcaça, dois dos principais fatores aceleradores da degradação da molécula de ivermectina. (CIONE & SILVA, 2007).

As variações meteorológicas, como temperatura, umidade relativa do ar e precipitação são fatores de grande interferência na fauna entomológica decompositora e conseqüentemente no processo de decomposição, como observado anteriormente por Thyssen (2000) e Carvalho e Linhares (2004). Altas temperaturas aliadas a uma alta umidade relativa do ar tendem a diminuir o tempo de decomposição da carcaça, enquanto baixas temperaturas e baixa umidade relativa do

ar prolongam o processo (DENNO & COTHRAM, 1976; CARVALHO & LINHARES, 2001; THYSSEN, 2000) fenômeno esse, também observado nesse estudo.

Durante a estação quente e úmida o tempo mínimo para decomposição foi de 21 dias (CS e CSol) e o máximo de 32 dias (IS), tendo a temperatura média de 26,39 °C com uma máxima de 31 °C e a mínima registrada de 15,6 °C. A umidade relativa se manteve sempre alta, com média de 58,19 %, alcançando 92% de máxima. Esses fatores permitiram uma maior atividade dos imaturos, acelerando assim a decomposição. Já durante a estação fria e seca a temperatura variou entre 28,4° C e 7,5 ° C, com uma média de 22,21 ° C. A umidade se mostrou extremamente baixa, chegando a 25%, com a média de 38,7 %. Esses fatores contribuíram o aumento do tempo de decomposição das carcaças, tendo sido finalizada a primeira carcaça (CS) no 29° dia e a última (IS) apenas no 50 ° dia.

Com temperaturas baixas e sem estar exposta a luz solar, a carcaça IS dessa estação manteve a molécula de ivermectina íntegra por mais tempo que as demais carcaças do grupo tratado, com isso a colonização foi amplamente prejudicada, já que os imaturos não conseguiam se desenvolver ao se alimentar de tecidos com traços do medicamento. Essa ausência quase que total de imaturos colonizadores manteve a carcaça intacta por tempo suficiente para que a umidade relativa do ar, extremamente baixa, levasse essa carcaça ao processo de mumificação, como já descrito por Oliveira-Costa (2007), acarretando na redução, quase que total, da atração de insetos necrófagos e conseqüentemente na colonização e decomposição da carcaça. Reflexo desse fenômeno é o reduzido número de insetos criados na carcaça supracitada.

Os efeitos da baixa umidade também podem ser responsáveis pelo ocorrido na carcaça CSol dessa mesma estação. Colonizada quase que totalmente por imaturos da família Silphidae, a carcaça já se mostrava atrativa para adultos dessa família a partir do terceiro dia de colonização (FIGURA 5), comportamento esse que também foi observado por e Ururahy-Rodrigues (2010) em um estudo realizado na região Amazônica. Silva e Santos (2012) não coletaram indivíduos dessa família na região sul do Brasil, utilizando carcaças de coelhos como substrato, enquanto Mise (2007) o classificou como a segunda família mais abundante, em seu estudo realizado na mesma região, porém usando suínos como modelo animal. Estas diferenças constatadas podem remeter aos diferentes modelos animais utilizados e/ou a diferença na área de realização dos

estudos: enquanto o trabalho Sousa e Santos foi realizado em área urbana, o trabalho de Mise (2007) foi realizado em um fragmento de floresta.

Durante a decomposição da mesma carcaça, o único indicativo na carcaça que evidenciava estar ocorrendo uma colonização por insetos, era um foco de material orgânico liquefeito na região posterior, aonde foram coletados diversos adultos e imaturos de vários estádios de Silphidae diariamente (FIGURA 6), mostrando um bom um indicativo de que essa família estava se criando na carcaça. Essa presença constante de adultos dessa família pode ajudar a explicar o baixo número de dípteros criados na carcaça, já que apesar dos imaturos serem necrófagos, os adultos possuem hábito de predatório (MISE, 2007; URURAHY-RODRIGUES, 2010).

Outro fator que pode ter colaborado com o pequeno número de dípteros criados na carcaça, pode ser explicado pela localização da carcaça. Para que permanecesse exposta a luz do sol ela foi colocada em uma clareira, deixando-a assim mais exposta à predadores e parasitos. Microhimenópteros parasitoides foram observados nas proximidades da carcaça durante todo o experimento (FIGURA 7), de maneira mais frequente do que nas demais carcaças. Assim, estudos que visem estudar aspectos ecológicos e comportamentais de coleópteros necrófagos nessa região são necessários para elucidar algumas dúvidas que ainda permeiam nas pesquisas de sucessão ecológica por essa Ordem em carcaças. Ainda, desvendar a real interferência que fatores abióticos possuem no processo de decomposição e a real importância que microhimenópteros parasitoides desempenham no processo de sucessão ecológica.

Outro dado digno de nota é a inversão na abundância relativa ocorrida entre as famílias Muscidae e Calliphoridae na carcaça IS na estação quente e úmida, quando comparada com as demais carcaças. Isso ocorreu, pois a colonização da carcaça por califorídeos, os primeiros a colonizarem a carcaça, sofreu interferência pela ivermectina ainda presente nos tecidos. Supõe-se que o tempo de degradação da ivermectina coincidiu com o tempo dos tecidos moles começarem a se liquefazer e a fermentar, criando o ambiente ideal para a criação e desenvolvimento de muscídeos. Como a colonização da carcaça foi reduzida no início do processo de decomposição havia mais substrato disponível para a criação dos imaturos dessa família. Provavelmente, esse processo não ocorreu na estação fria e seca, pois como foi demonstrado anteriormente a

ivermectina não possibilitou uma colonização típica, e devido às condições meteorológicas, a carcaça sofreu processo de mumificação.

Com base nesses resultados, pôde-se observar que diversos fatores bióticos e abióticos regiram o processo de decomposição das carcaças. A presença da ivermectina nas carcaças acarretou em alterações no tempo de decomposição e na fauna entomológica colonizadora, quando comparada com as carcaças sem a presença da droga. Ainda, fica clara a ação da luz e da temperatura na droga, acarretando na decomposição de sua molécula, permitindo uma colonização precoce das carcaças submetidas a esses fatores, em relação as carcaças expostas à temperaturas mais baixas e sem incidência de luz solar direta. Esse estudo também proporcionou dados referentes a fauna entomológica colonizadora de carcaças de ruminantes, promovendo dados importantes para a perícia veterinária. Entretanto, mais estudos voltados para entomotoxicologia ainda são necessários, tendo em vista o grande número de espécies domésticas e silvestres e ainda os inúmeros fármacos, que quando usados de forma incorreta, podem ocasionar a morte do animal.

4.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, M. M. G. 1996. Dípteros simbovinos: colonização e sucessão em placas isoladas de fezes bovinas. Campinas. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 66pp.

BATISTA-DA-SILVA, J.A.; MOYA-BORJA, G.E. & QUEIROZ, M.M.C., 2010. Ocorrência e Sazonalidade de Muscóides (Diptera, Calliphoridae) de Importância Sanitária no Município de Itaboraí, RJ, Brasil. **EntomoBrasilis**, 3(1): 16-21

BEYER, J.C.; ENOS, W.F.; STAJIC, M. 1980. Identification through analysis of maggots. **Journal of Forensic Sciences**, 25: 411–412.

BIAVATI, G. M.; SANTANA, F. H. & PUJOL-LUZ J. R. 2010. A Checklist of Calliphoridae Blowflies (Insecta, Diptera) Associated with a Pig Carrion in Central Brazil. **Journal of Forensic Sciences** 55: 1603–1606.

BOUREL, B.; HÉDOUIN, V.; MARTIN-BOUYER, L.; BÉCART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; GOSSET, D. 1999. Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Forensic Sciences**. 44(2): 354–358

BYRD, J. H. & J. L. CASTNER. 2001. Insects of forensic importance. In: Byrd, J. H. & J. L. Castner (eds.), *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, **CRC Press, Florida**, pp. 43–79.

CARVALHO, L.M.L.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X.; PALHARES, F.B. 2000. A checklist of arthropods associated with carrion and human corpses in southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 95: 135–138.

CARVALHO, L.M.L.; LINHARES, A.X. 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, 46(3): 604–608.

CIONE, A.P.P; SILVA, P.M. 2007. Validação de metodologia para análise de ivermectina e indicadores da estabilidade da molécula sob diferentes condições de degradação forçada. **Revista Analytica**. 32: 86-92.

DENNO, F.R.; COTHRAN, W.R. 1976. Competitive interactions and ecological strategies of sarcophagid and calliphorid flies inhabiting rabbit carrion. **Annals of the Entomological Society of America**. 69(1): 109–113.

FETENE, T. & WORKU, N. 2008. Public health importance of non-biting cyclorrhaphan flies. **Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** . 103: 187-191.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. Entomologia agrícola. **Piracicaba: FEALQ**, 2002. 920 p.

GOFF, M.L.; BROWN, W.A.; HEWADIKARAM, K.A.; OMORIA, A.I. 1991. Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrine* (Diptera, Sarcophagidae) and implications of this effect on estimation do postmortem intervals using arthropod development patterns. **Journal of Forensic Sciences**. 36 (2): 537–542.

GOFF, M.; LORD, W.D. 1994. Entomotoxicology: a new area for forensic investigations, **American Journal of Forensic Medical Pathology**. v.15, p.51–57.

Greenberg B. and Kunich J. C. 2002. **Entomology and the Law**. Cambridge University Press: Cambridge.306 p.

INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C.P.; GOFF, M.L. 2001. Entomototoxicology. **Forensic Science International**, 120: 42–47.

KINTZ, P.; TRACQUI, A.; MANGIN, P. 1990. Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. **Journal of Forensic Sciences**, 30: 243–246.

LEITE, L.C.; JÚNIOR, J.A.; CIRIO, S.M.; LEITE, S.C.; SILVA, A.W.; DINIZ, J.M.; LUNELLI, D.; ZADOROSNEI, A.C.; SOUZA, L.M.; WEBER, S. 2006. Veterinarian Medicines Prescription by Laypeople: an Ethical Problem. **Revista Academica de Curitiba**, 4(4): 43–47.

LEVINE, B.; GOLLE, M.; SMIALEK, J.E. 2000. An unusual drug death involving maggots. **American Journal of Forensic Medical Pathology**, 21(1): 59–61.

LOVELL, R.A. 1990. Ivermectin and piperazine toxicoses in dogs and cats. **Veterinary Clinic of North America Small Animal Practise**, 20(2): 453–468.

MARCHIORI, C. H.; OLIVEIRA, A. T.; LINHARES, A. X. 2001. Artrópodes associados a massas fecais bovinas no Sul do Estado de Goiás. **Neotropical Entomology**, 30: 19-24.

MEDEIROS, R.J.; MONTEIRO, F.O.; SILVA, G.C.; NASCIMENTO JUNIOR, A. Casos de intoxicações exógenas em cães e gatos atendidos na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense durante o período de 2002 a 2008. **Ciencia Rural** [online]. 2009. 39(7): 2105-2110. Acessado em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782009000700023&lng=en&nrm=iso>. Epub July 31, 2009. ISSN 0103-8478.

MISE, K. M.; L. M. ALMEIDA & M. O.MOURA. 2007. Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. **Revista Brasileira de Entomologia** 51: 358-368.

MOURA, M.O.; CARVALHO, C.J.B.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. 1997. A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paran. **Memorias do Instuto Oswaldo Cruz**; 92: 269–274.

OLIVEIRA-COSTA, J. 2007. **Entomologia forense**: quando os insetos são vestígios. Campinas: Millennium, 2 edição, 456p.

PROÊNCIO, V.M. O efeito da carbonização de carcaças suínas do tempo de decomposição, na atratividade e diversidade de artrópodes de interesse forense. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 62p.

REED, H.B. 1958. A study dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. **The American Midland Naturalist**, 59: 213–245.

RIBEIRO, P. B., C. J. B. D. CARVALHO, L. PINTO & P. SILVEIRA JÚNIOR. 2000. Fluctuação populacional das espécies de *Ophyra Robineau-Desvoidy* (Diptera, Muscidae, Azeliinae), em Pelotas, RS. **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**, 67 (2): 205-214

SEIXAS, J.N.; PEIXOTO, P.V.; ARMIÉN A.G.; JABOUR F.F.; BRITO M.F. 2006. Aspectos clínicos e patogênicos da intoxicação por abamectina em bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 26 (3): 161–166.

SILVA, R.C.; SANTOS, W.E. 2012. Fauna de Coleoptera Associada a Carcaças de Coelhos Expostas em uma Área Urbana no Sul do Brasil. **EntomoBrasilis**, 5 (3): 185-189.

SOUZA, A.M.; LINHARES, A.X. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. **Medical and Veterinary Entomology**, 11: 8–12.

SOUZA, A.P.; RAMOS, C.I.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; SCHELBAUER, C.A. 2008. Anthelmintics resistance of bovine gastrointestinal helminths in Santa Catarina Plateau, **Ciência Rural, Santa Maria**, 38 (5): 1363–1367.

THOMAZ-SOCCOL V. 2008. Resistance of Gastrointestinal Nematodes to Anthelmintics in Sheep (*Ovis aries*), **Brazilian archives of biology and technology**, 47(1): 41–47.

THYSSEN, P.J. 2000. Decomposição e sucessão entomológica em carcaças de suínos (*Sus scrofa* L.) de tamanhos diferentes: estudos em ambiente de mata natural na região de Campinas, SP. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 75p.

URURAHY-RODRIGUES, A., J.A. RAFAEL, J.R. PUJOL-LUZ, A.L. HENRIQUES, M.M.C. QUEIROZ, R.R. BARBOSA & M.N. BARONI, 2010. Association of *Oxelytrum cayennense* (Silphidae, Coleoptera) with Pig Carcasses (*Sus scrofa*, Suidae) in Terra Firme Areas in Manaus, Amazonas, Brazil. **EntomoBrasilis**, 3(2): 45-48.

Figura 1. Armadilha utilizada durante as coletas da entomofauna atraída por carcaça de cabra (*Capra aegagrus hircus* L.), com esta em seu centro.



Figura 2: . Bandeja de metal recoberta com as larvas que saíram da carcaça buscando o solo para empupar.



Figura 3: Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sombra (CS) na estação quente e úmida.

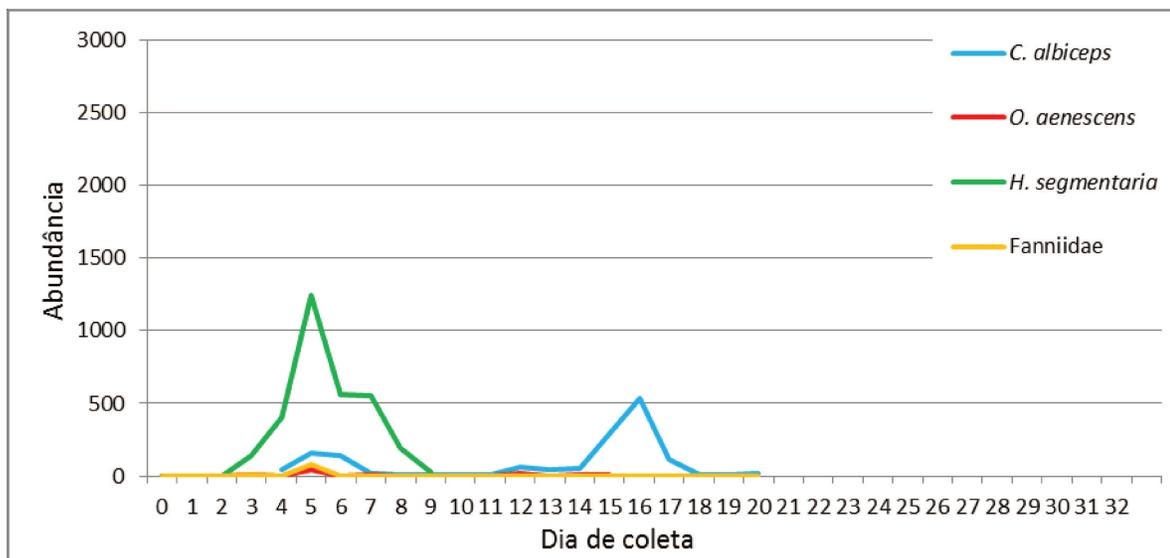


Figura 4: Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sol (CSol), na estação quente e úmida.

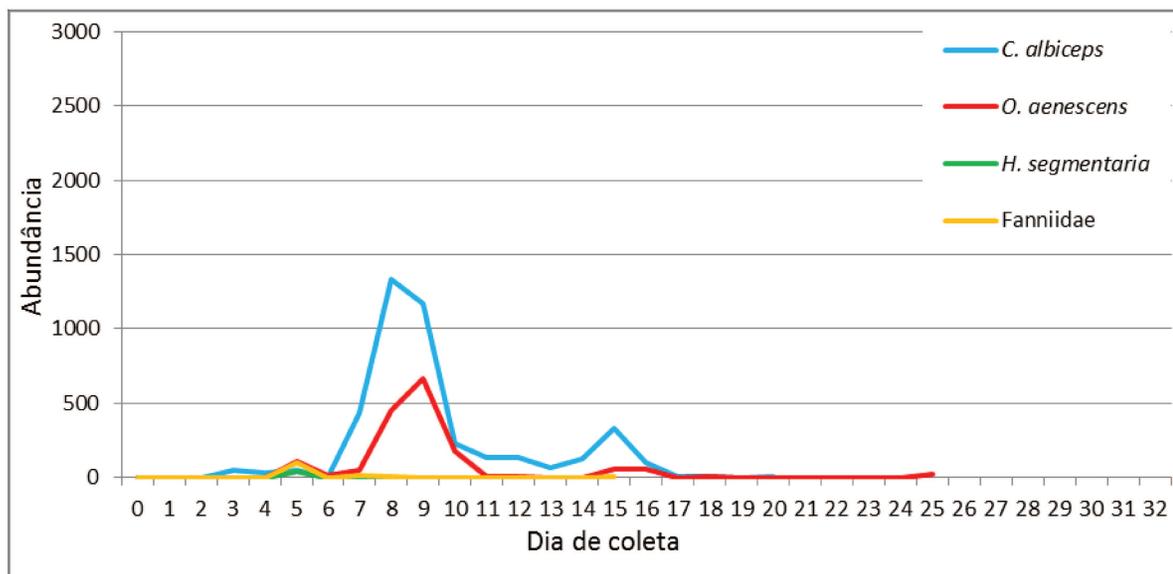


Figura 5: Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sombra (IS) durante a estação quente e úmida.

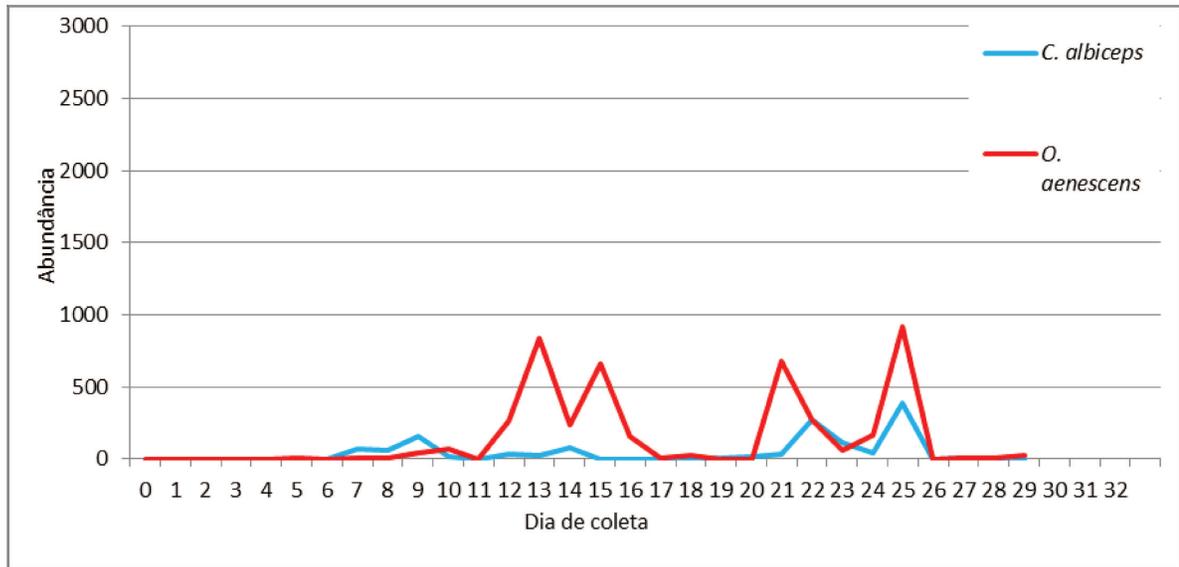


Figura 6 : Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sol (ISol), durante a estação quente e úmida.

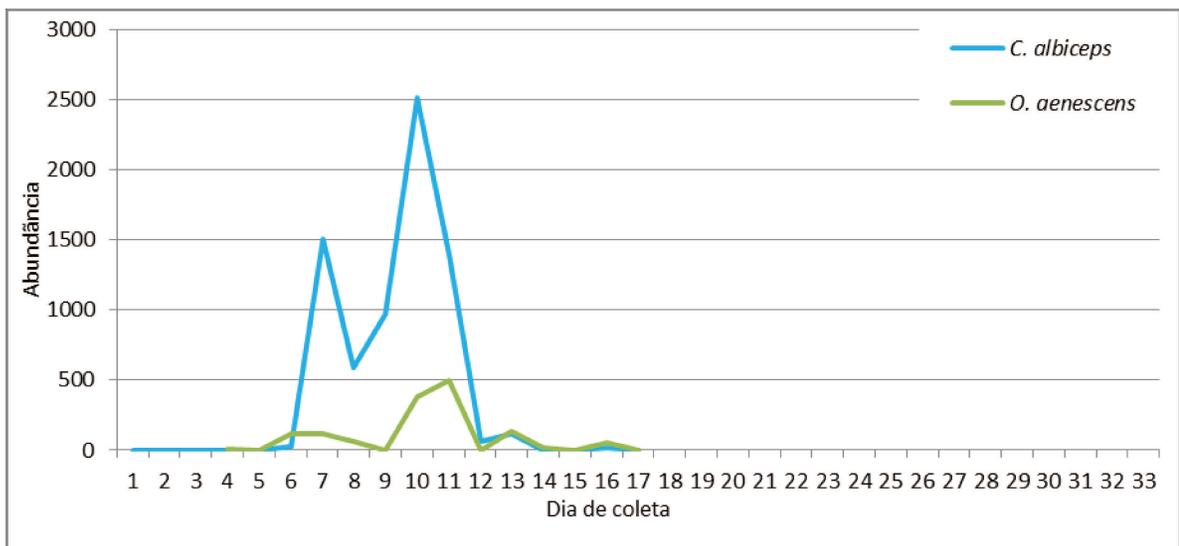


Figura 7 : Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sombra (CS) na estação fria e seca.

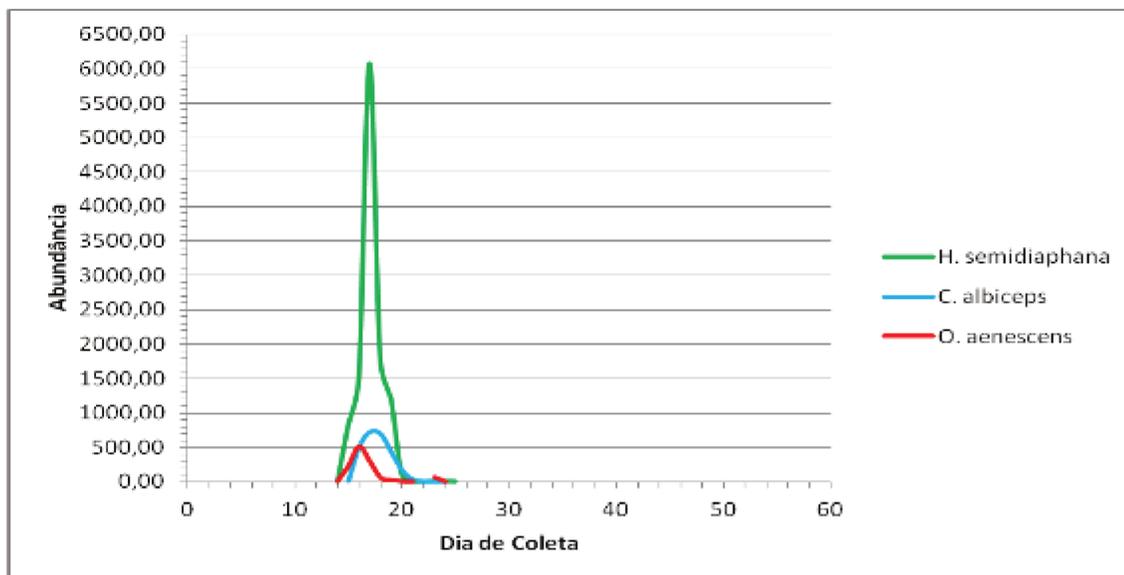


Figura 8 : Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça controle sol (CSol) na estação fria e seca.

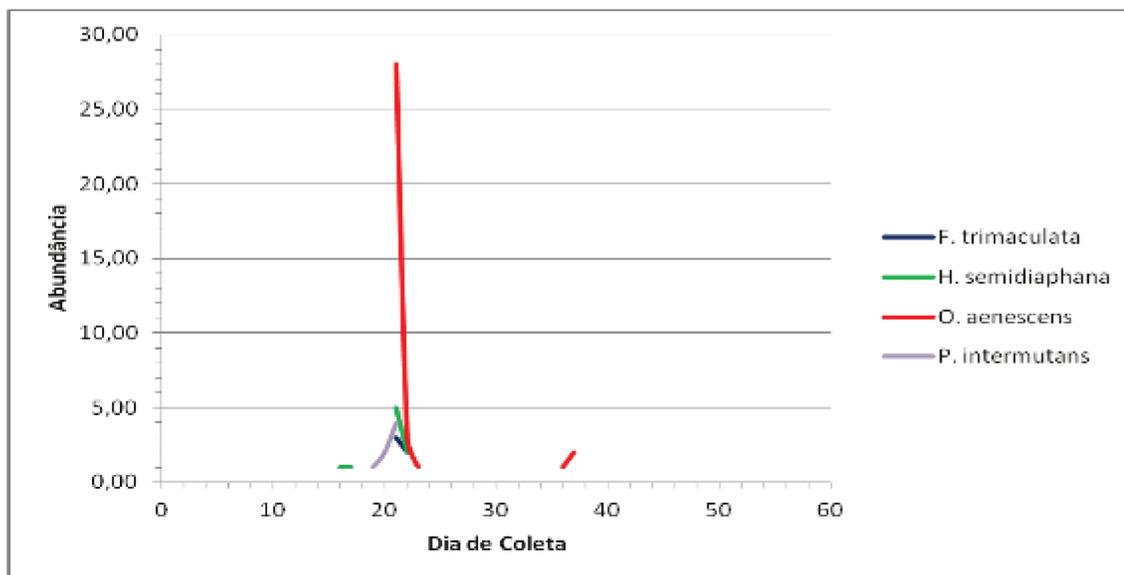


Figura 9 : Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sombra (IS) na estação fria e seca.

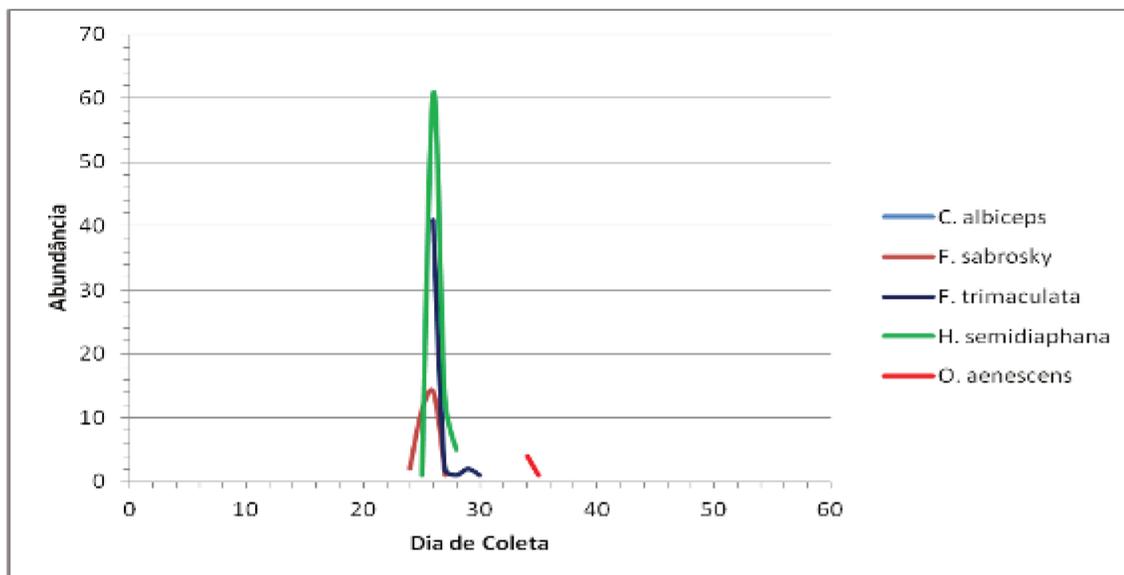


Figura 10 : Distribuição temporal e abundância dos dípteros criados na carcaça ivermectina sol (ISol) na estação fria e seca.

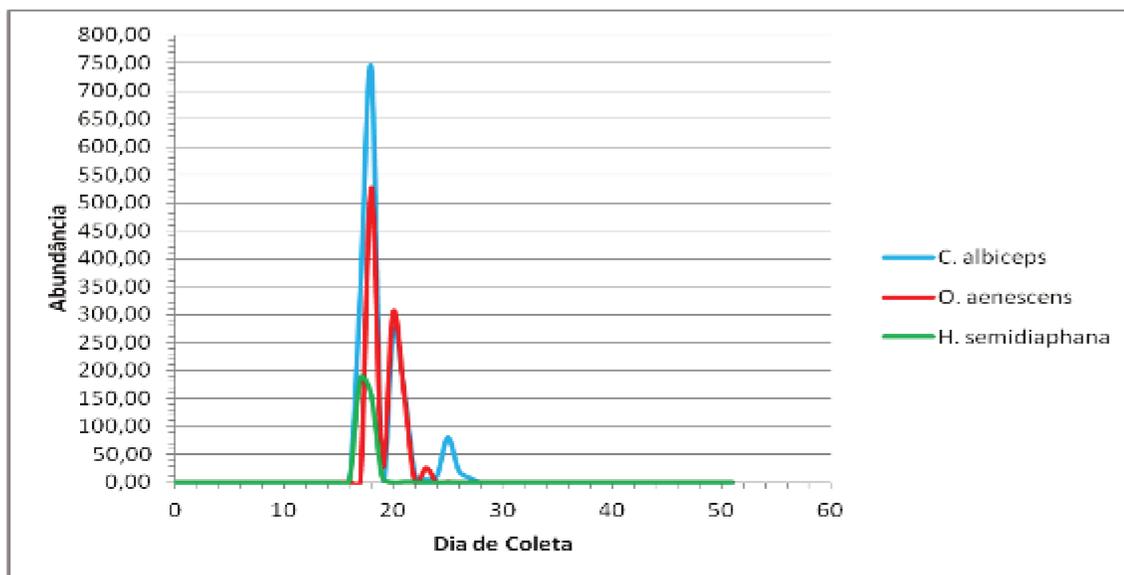


Figura 11. Região oral da carcaça controle sol (CSol) durante a estação fria e seca, mostrando um adulto do gênero *Oxelytrum* (Coleoptera: Silphidae).



Figura 12. Região anal da carcaça controle sol (CSol) durante a estação fria e seca, mostrando diversos imaturos da família Silphidae (Coleoptera).



Figura 13. Região ocular da carcaça controle sol (CSol) durante a estação fria e seca, mostrando um adulto de *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) e, em destaque, um microhimenóptero sobre imaturos de dípteros, provavelmente procurando um hospedeiro.



Tabela 1. Tempo de duração, em dias, dos estágios de decomposição de cada carcaça, durante o experimento realizado na estação quente e úmida.

Estágio de decomposição	Carcaça CS	Carcaça CSol	Carcaça IS	Carcaça ISol
Fresco	2	2	2	2
Gasoso	3	3	3	3
Ativo	8	8	18	8
Esqueletização	8	8	9	10
Total	21	21	32	23

Tabela 2. Tempo de duração, em dias, dos estágios de decomposição de cada carcaça, durante o experimento realizado na fria e seca.

Estágio de decomposição	Carcaça CS	Carcaça CSol	Carcaça IS	Carcaça ISol
Fresco	3	3	3	3
Gasoso	10	11	21	11
Ativo	10	13	24	13
Esqueletização	6	14	2*	6
Total	29	41	50	33

*O estágio de esqueletização não ocorreu nessa estação, sendo substituído pelo estágio de mumificação.

Tabela 3. Abundância das diferentes espécies de Diptera que se criaram nas carcaças e emergiram em laboratório, durante a estação quente e úmida.

Táxon	Carcaça CS	Carcaça CSol	Carcaça IS	Carcaça ISol
<i>Chrysomya albiceps</i>	1527	4232	1328	7099
<i>Hemilucilia. segmentaria</i>	3126	45	1	11
<i>Hemilucilia semidiaphana</i>	0	28	3	4
<i>Peckia (Pattonella) intermutans</i>	7	9	0	20
<i>Musca domestica</i>	10	1	1	1
<i>Ophyra aenescens</i>	86	1636	4446	1407
<i>Bronthea normata</i>	0	0	0	2
<i>Fannia pusio</i>	10	2	0	0
<i>Fannia. sp. (pusio)</i>	54	79	44	99
<i>Fannia. sabrosky</i>	15	25	28	26
<i>Fannia. snyderi</i>	1	0	0	0
<i>Fannia. trimaculata</i>	20	33	17	62
Sepsidae	16	58	0	11
Total	4872	6148	5868	8742

Tabela 4. Abundância das diferentes espécies que se criaram nas carcaças e emergiram em laboratório, durante a estação fria e seca.

Táxon	Carcaça CS	Carcaça CSol	Carcaça IS	Carcaça ISol
<i>Chrysomya albiceps</i>	2555	5	1	1668
<i>Hemilucilia segmentaria</i>	170	5	0	1
<i>Hemilucilia semidiaphana</i>	12240	14	80	355
<i>Lucilia eximia</i>	1	1	0	0
<i>Peckia (Pattonella) intermutans</i>	33	8	0	0
Phoridae	4	0	0	0
<i>Muscina stabulans</i>	0	1	0	0
<i>Ophyra aenescens</i>	1386	54	47	1075
<i>Ophyra chalcogaster</i>	2	0	0	0
<i>Ophyra solitaria</i>	53	0	0	0
<i>Fannia femoralis</i>	3	0	0	0
<i>Fannia parafemoralis</i>	6	0	0	0
<i>Fannia paraiensis</i>	1	0	0	0
<i>Fannia pusio</i>	21	8	0	3
<i>Fannia sp. (pusio)</i>	617	13	107	39
<i>Fannia sabrosky</i>	343	2	46	24
<i>Fannia snyderi</i>	2	0	0	0
<i>Fannia trimaculata</i>	262	8	43	21
<i>Ravinia belforti</i>	1	0	0	0
<i>Syntesiomyia nudiseta</i>	5	0	0	0
Sarcophagidae	11	0	0	0
Sylphidae	0	3017	0	0
Total	17716	3136	324	3180

Tabela 5. Dados climáticos obtidos com termohigrômetro localizado na região de coleta durante a estação quente e úmida.

	Temperatura	Umidade	Desvio Padrão
Média	26,4 °C	58,2 %	6,23
Máxima	31,0° C	92,0%	-
Mínima	15,6 °C	36,0%	-

Tabela 6. Dados climáticos obtidos com um termohigrômetro localizado na região de coleta, durante a estação fria e seca.

	Temperatura	Umidade	Desvio Padrão
Média	22,2 °C	38,7 %	4,13
Máxima	28,4° C	88,0%	-
Mínima	7,5 °C	25,0%	-

5- CAPÍTULO II

INTERPRETAÇÃO TERMOGRÁFICA DA DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA MASSA LARVAL DE DÍPTEROS EM CARÇAÇAS DE CABRAS (*CAPRA AEGAGRUS HIRCUS* L., 1758) SOB EFEITO DA IVERMECTINA.

5.1- INTRODUÇÃO

Com a morte de um vertebrado terrestre inicia uma intensa competição entre os artrópodes para a utilização desse recurso (DENNO & COTHRAN, 1976; KNEIDEL, 1984, 1985). Os insetos são atraídos para o corpo poucos minutos após a morte, e os insetos que compõem a família Calliphoridae estão entre os primeiros colonizadores (Smith, 1986). As fêmeas adultas são inicialmente atraídas para o cadáver ou carcaça pelos odores provenientes da decomposição de tecidos, essa oviposição atrairá outras fêmeas da mesma espécie através de feromônios, causando assim uma oviposição coletiva no substrato (BARTON BROWNE et al, 1969; EISEMANN & RICE, 1987).

No início da colonização as fêmeas geralmente realizam a postura em aberturas naturais do corpo (por exemplo, boca, nariz, orelhas, ânus) ou, quando presentes, em feridas e lesões. Oviposições compostas por centenas de ovos, somadas a postura coletiva, favorecem a formação de agregações desses imaturos próxima à região onde correu a oviposição. Essas agregações são mais comumente conhecidas como massas larvais e representam uma condição dinâmica ecológica dentro de um recurso efêmero: a massa pode variar em tamanho, localização (sítios anatômicos) e composição de espécies dependentes da geografia local, a época, a quantidade de luz solar, e estágio de decomposição no qual a carcaça ou cadáver se encontra. (LEVOT et al.,1979; HANSKI, 1987).

Talvez a característica mais marcante das massas larvais seja a geração de calor. Temperaturas internas de agregações larvais podem variar consideravelmente em comparação com a temperatura ambiente e do solo. Em alguns casos, têm sido relatadas temperaturas de massas larvais superiores a 30°C (TURNER & HOWARD, 1992; ANDERSON & VANLAERHOVEN, 1996; SLONE & GRUNER, 2007). Essa temperatura a qual as larvas são

submetidas talvez seja o principal fator que norteie o desenvolvimento desses imaturos. Dependendo da temperatura que esses animais estão expostos, seu desenvolvimento pode ser acelerado ou retardado, sendo assim um fator de vital importância a ser estudado, quando esses insetos são utilizados como evidências periciais. (SHARPE & DEMICHELE, 1983). Entretanto, a mensuração do tamanho e da temperatura dessa massa larval é de extrema dificuldade tendo em vista que muitas massas larvais se formam dentro de uma área protegida do corpo ou em áreas escondidas da superfície. Também, pode ser difícil mensurar as características físicas dessas massas em corpos humanos ou animais, quando as larvas se encontrarem alojadas em cavidades, como no esqueleto facial. Finalmente, é difícil de realizar pesquisas sobre o comportamento dessas larvas nas carcaças, devido à necessidade de se investigar invasivamente a massa ou dissecar em torno dela para determinar seu volume, o que provocaria a dispersão dos indivíduos, modificando assim as características originais da agregação (JONHSON et al., 2012).

Uma ferramenta que pode vir a auxiliar os estudos das massas larvais é a termografia remota. As câmeras térmicas ou de imagens térmicas, são dispositivos que convertem energia térmica (calor) em luz visível (cor) para analisar um determinado objeto ou cena. Essa tecnologia já é empregada na área médica para fins de diagnóstico (BRIOSCHI et al., 2006) e na área veterinária (KLIR et al., 1988; EDDY et al., 2001). Os equipamentos mais recentes possuem sensibilidade térmica de 0.05°C , ou seja, conseguem distinguir locais com diferenças mínimas de temperatura, tornando-os bastante confiáveis na avaliação térmica de qualquer objeto.

Assim, tendo em vista a crescente importância de moscas necrófagas como evidência em investigações criminais, e os casos de intoxicação por ivermectina relatados em diversos animais domésticos (SEIXAS, 2006; MEDEIROS, 2009) há uma necessidade de explorar mais profundamente a dinâmica das massas larvais para entendermos melhor a influência de fatores bióticos e abióticos nessas agregações. Propõe-se então nesse estudo, uma alternativa para o estudo das massas larvais através do uso de câmeras termográficas, permitindo a avaliação de parâmetros físicos e comportamentais das massas larvais, quando essas colonizam tecidos com a presença de ivermectina, que podem ser de grande valia para estudos periciais no âmbito médico e veterinário.

5.2- MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas oito carcaças de cabra (*Capra aegagrus hircus* L.), de aproximadamente 15kg, as quais foram expostas sob condições naturais, em duas estações do ano, uma quente e úmida e outra fria e seca, seguindo a classificação proposta por Morellato & Leitão-Filho (1995). Os animais foram mortos através de concussão cerebral utilizando insensibilizador mecânico modelo Paragado tec 10 ®, tendo o grupo tratado submetido a tratamento pela ivermectina via subcutânea, sete horas antes da morte. Esse tempo se fez necessário para a absorção completa do medicamento. Ainda, foram separadas entre expostas à luz solar e expostas em local abrigado, sendo assim denominadas: Carcaça controle em local sombreado (CS); Carcaça controle exposta à luz solar (CSol); Carcaça tratada em local sombreado (IS); Carcaça tratada exposta à luz solar (ISol). Todos os procedimentos utilizados neste trabalho seguiram as determinações éticas do Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e foram revisados pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da UNICAMP.

As carcaças foram expostas em um fragmento de mata atlântica no campus da Universidade Estadual de Campinas, com aproximadamente 1,4 km², com as coordenadas: -22° 49' 31.11"S, -47° 3' 34.59"O, e para evitar a interferência de predadores, as carcaças foram mantidas dentro de gaiolas, para que apenas insetos conseguissem acessá-las.

Diariamente foram realizados registros fotográficos com uma máquina termográfica do modelo Flir T 400® , visando avaliar a temperatura, localização e deslocamento das massas larvais presentes sobre e no interior das carcaças .Ainda foram realizados registros com máquinas fotográficas convencionais, a fim de acompanhar o aspecto das mesmas durante a decomposição.

5.3- RESULTADOS

5.3.1- GRUPO CONTROLE

As massas larvais que colonizaram as carcaças do grupo controle, excluindo a CSol da estação fria e seca, tiveram um comportamento bastante semelhante em todos os aspectos observados na termografia, sendo descritos a seguir.

No terceiro dia de exposição, as carcaças do grupo controle inicialmente apresentaram duas massas larvais, uma na região da cabeça e outra na região anal. A presença dessas massas é visível de maneira clara, como um aumento da temperatura nos registros termográficos (FIGURA 1). Ao quarto dia pode-se perceber o aparecimento de uma terceira massa larval na região do abdômen, próxima ao membro anterior direito (FIGURA 2). Ao chegar ao sétimo dia de decomposição, as massas da região da cabeça e do abdômen confluem, formando então uma massa que ocupa toda a região anterior da carcaça, separada ainda da massa da região anal, que continua restrita a essa região anatômica (FIGURA 3). A formação de uma massa única, que ocupa toda a extensão da carcaça, ocorre ao nono dia de exposição. Nesse ponto pode-se observar um aumento de temperatura em toda a carcaça de forma homogênea (FIGURA 4). Nos dias que se seguiram, a massa permaneceu por toda a extensão da carcaça, até o décimo sétimo dia, quando a massa perde extensão, se limitando a região da cabeça e pescoço e continua a reduzir seu tamanho até o décimo nono dia, quando já não é mais possível captar massas larvais através da termografia. (FIGURA 5).

5.3.2- GRUPO TRATADO COM IVERMECTINA

O grupo tratado, assim como o grupo controle, apresentou um comportamento padrão na colonização das carcaças pelos imaturos de dípteros, com uma pequena variação nas datas dos eventos entre as carcaças do verão e as carcaças do inverno. A carcaça IS da estação fria foi a única que apresentou um padrão termográfico diferenciado.

Pôde-se perceber que a ivermectina levou a um atraso na formação de massas larvais nas carcaças do grupo tratado (FIGURA 6), não sendo possível perceber a presença desses imaturos nas mesmas até o sexto dia de exposição, quando se fez visível na termografia uma massa na região da cabeça e pescoço. (FIGURA 7). Somente no nono dia após o início do experimento, foi

visualizada a formação de uma segunda massa, na região posterior. Porém, diferentemente das carcaças do grupo controle, essa massa se encontrava nas proximidades do membro direito e não na região anal (FIGURA 8). Essas massas permaneceram limitadas a essas regiões até o 24º dia, quando finalmente ocorreu uma migração de ambas as massas para a região abdominal. Diferente das carcaças do grupo controle, essas massas não passaram a ocupar toda a extensão da carcaça, mas apenas a região abdominal, abandonando os antigos sítios de colonização (FIGURA 9).

5.4- DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Diversas metodologias foram empregadas no intuito de se mensurar a temperatura alcançada pelas massas larvais. Turner e Howard (1992) utilizaram termômetros digitais para medir as temperaturas de massas larvais em carcaças de coelhos, enquanto Anderson e VanLaerhoven (1996), utilizaram uma metodologia semelhante, porém usando porcos como modelo animal. Charabdze (2011), também com o auxílio de termômetros digitais, realizou um experimento *in vitro* a fim de estudar o calor produzido pelas larvas e quais fatores influenciam na produção desse calor, como quantidade de alimento, número e idade das larvas, e temperatura ambiente. Jonhson et al. (2012) propôs a utilização de tomografia computadorizada no intuito de mensurar o volume da massa larval, e assim, utilizando fórmulas desenvolvidas por Slone e Gruner, estimar a temperatura produzida por essa agregação.

Indo de encontro às observações de Amendt em 2004, a colonização se iniciou pelos orifícios naturais, assim, cabeça e ânus foram os locais de predileção, portanto foram os primeiros locais aonde foi observado o aumento da temperatura, indicando a presença de massas larvais. O aumento da temperatura observado no decorrer da decomposição concorda com Slone e Gruner 2007, que observaram o aumento da temperatura em carcaças de porcos usando sensores termais fixos nas carcaças. Nesse estudo foi demonstrado que o aumento da densidade larval era refletido no aumento da temperatura registrada pelos sensores termais presentes na carcaça.

Richards (2008) reportou variações na temperatura de massas larvais compostas por diferentes espécies de moscas necrófagas, *Chrysomya albiceps* e *C. marginalis*, duas espécies bastante semelhantes, mas que possuem preferências ecológicas distintas. Os imaturos de ambas as espécies formavam uma massa larval única, porém ocupavam áreas distintas dessa mesma

massa, gerando temperaturas diferentes. Aparentemente, um fenômeno semelhante foi observado no presente estudo, ao se cruzar os dados de emergência dos adultos com as datas quando foram realizadas as imagens termográficas percebemos que em estágios diferentes da decomposição, a carcaça foi colonizada por imaturos de *C. albiceps* e *Hemilucilia segmentaria*, apresentando assim duas massas com aspectos termográficos distintos, demonstrando assim que essas espécies também possuem preferências ecológicas diferenciadas.

Entretanto, o uso da temperatura, a qual os imaturos estão submetidos, para o cálculo do IPM não se apresenta como uma ferramenta ideal para esse fim. Niederegger e colaboradores (2010) demonstrou em estudo realizado em laboratório, que espécies diferentes de Califorídeos de Sarcófagídeos, usados como indicadores forenses, respondem de forma diferentes quando expostos á temperaturas constantes e flutuantes. E ainda, ao se usar apenas a temperatura, não são levados em consideração todos os outros fatores bióticos e abióticos que certamente regem de alguma forma o desenvolvimento dos imaturos e conseqüentemente o processo de decomposição.

Pôde-se concluir que a termografia se demonstrou uma ótima ferramenta alternativa na análise das massas larvais em comparação com outros métodos já utilizados. Jonhson (2012) utilizou tomografia computadorizada conseguindo mensurar com precisão o volume total na massa larval, apresentando uma metodologia bastante precisa para tal fim. Porém, uma desvantagem desse método, é a incapacidade de ser utilizada em campo, necessitando deslocar o cadáver/carcaça do local. Já através das imagens termográficas, conseguimos avaliar com precisão características físicas e comportamentais dos imaturos de forma não-invasiva, preservando assim o alvo do estudo pericial, além de ser uma ferramenta portátil que pode ser levada ao local da perícia, mantendo a integridade das massas larvais. Dessa forma, propõe-se o uso dessa nova metodologia no auxílio da criminalística, visando aumentar a precisão dos estudos forenses.

5.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMENDT, J.; KRETTEK, R.; ZEHNER, R.. 2004. Forensic Entomology. **Naturwissenschaften**, 91: 51–65.

ANDERSON, G.S.; VANLAERHOVEN, S.L. 1996. Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. **Journal of Forensic Sciences**, 41: 617–625.

BARTON BROWNE, L., BARTELL, R.J.; SHOREY, H.H. 1969. Pheromone-mediated behaviour leading to group oviposition in the blowfly *Lucilia cuprina*. **Journal of Insect Physiology**, 15: 1003–1014.

BRIOSCHI, M.L., MEHL, A., OLIVEIRA, A.G.N., FREITAS, MAS, MACEDO, JF, MATIAS, 2007. Diabetic foot evaluation by infrared skin thermometry. **Revista Medica do Paraná**, 65(1): 33–41.

CHARABIDZE, D.; BOUREL, B.; GOSSET, D. 2011. Larval-mass effect: characterisation of heat emission by necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) larval aggregates. **Forensic Science International**, 211(1–3): 61–66.

DENNO, F.R.; COTHRAN, W.R. 1976. Competitive interactions and ecological strategies of sarcophagid ad calliphorid flies inhabiting rabbit carrion. **Annals of the Entomological Society of America**. 69(1): 109–113.

EDDY, A.L.; HOOGMOED, V.L.M.; SNYDER, J.R. 2001. The role of thermography in the management of equine lameness. **The Veterinary Journal**, 162: 172–181.

EISEMANN, C.H.; RICE, M.J. 1987. The origin of sheep blowfly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), attractants in media infested with larvae. **Bulletin of Entomology Research**, 77: 287–294.

HANSKI, I. 1987. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. **Ecological Entomology**, 12: 257–266.

JONHSON, A.; ARCHER, M.; LEIGH-SHAW L, PAIS M, O'DONNELL C, WALLMAN J. 2012. Examination of forensic entomology evidence using computed tomography scanning: case studies and refinement of techniques for estimating maggot mass volumes in bodies. **International Journal of Legal Medicine**, 126(5):693-702.

KLIR, J.J.; HEATH, J.E.; BENNAMI, N. 1988. An infrared thermographic study of surface temperature in relation to external thermal stress in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Company Biochemical Physiology**; 96(1): 141–146.

KNEIDEL, K.A. 1984. Competition and disturbance in communities of carrion-breeding Diptera. **Journal of Animal Ecology**. 53: 849–865.

KNEIDEL, K.A. 1985. Patchiness, aggregation, and the coexistence of competitors for ephemeral resources. **Ecological Entomology**. 10: 441–448.

LEVOT, G.W.; BROWN, K.R.; SHIPP, E. 1979. Laval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. **Bulletin Entomology Research**, 69: 469–475.

MEDEIROS, R.J.; MONTEIRO, F.O.; SILVA, G.C.; NASCIMENTO JUNIOR, A. Casos de intoxicações exógenas em cães e gatos atendidos na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense durante o período de 2002 a 2008. **Ciência Rural** [online]. 2009. 39(7):2105-2110. Acessado em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782009000700023&lng=en&nrm=iso>. Epub July 31, 2009. ISSN 0103-8478.

NIEDEREGGER, S.; PASTUSCHEK, J.; MALL, G. 2010. Preliminary studies of the influence of fluctuating temperatures on the development of various forensically relevant flies. **Forensic Science International**, 199: 72-78.

RICHARDS, C.S.; PATERSON, I.D.; VILLET, M.H. 2008. Estimating the age of immature *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae), correcting for temperature and geographical latitude. **International Journal of Legal Medicine**, 122: 271–279.

SEIXAS, J.N.; PEIXOTO, P.V.; ARMIÉN A.G.; JABOUR F.F.; BRITO M.F. 2006. Aspectos clínicos e patogénicos da intoxicação por abamectina em bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 26 (3): 161–166.

SHARPE, P.J.H.; DEMICHELE, D.W. 1977. Reaction kinetics of poikilotherm development. **Journal of Theoretical Biology**, 64: 649–670.

SLONE, D.H.; GRUNER, S.V. 2007. Thermoregulation in larval aggregations of carrion-feeding blow flies (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, 44: 516–523.

SMITH, K.G.V. 1986. A manual of forensic entomology. **Cornell Univ. Press**, Ithaca, NY, 205.

TURNER, B.; HOWARD, T. 1992. Metabolic heat generation in dipteran larval aggregations: a consideration for forensic entomology. **Medical and Veterinary Entomology**, 6: 179–181.

Figura 1. Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando o início da formação das massas larvais na região da cabeça e ânus após 24 horas de exposição da carcaça.

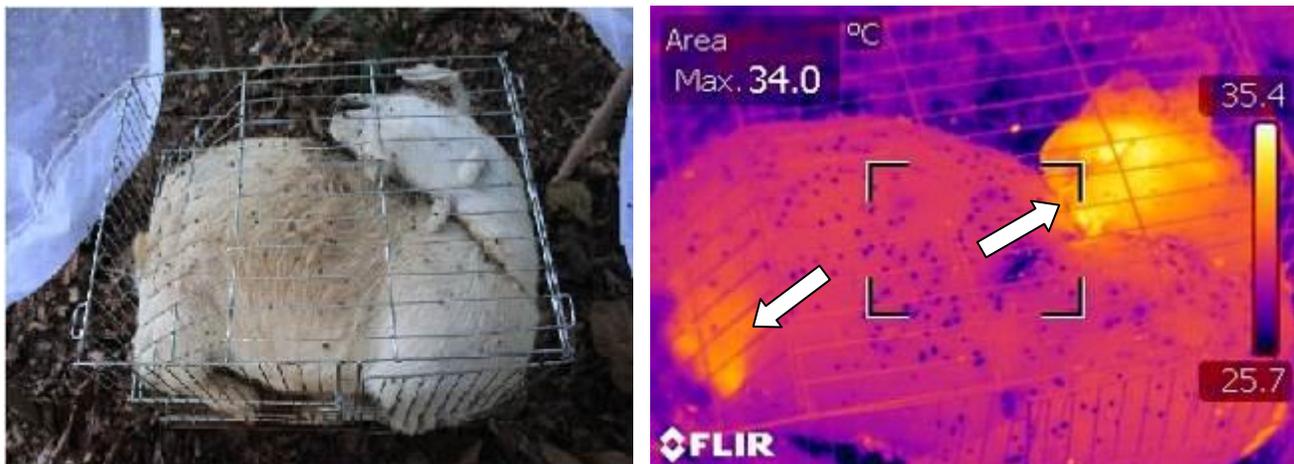


Figura 2. . Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando a formação de uma terceira massa larval abaixo do membro anterior direito, sendo possível observar também a massa presente na cabeça, após 72 horas de exposição da carcaça.

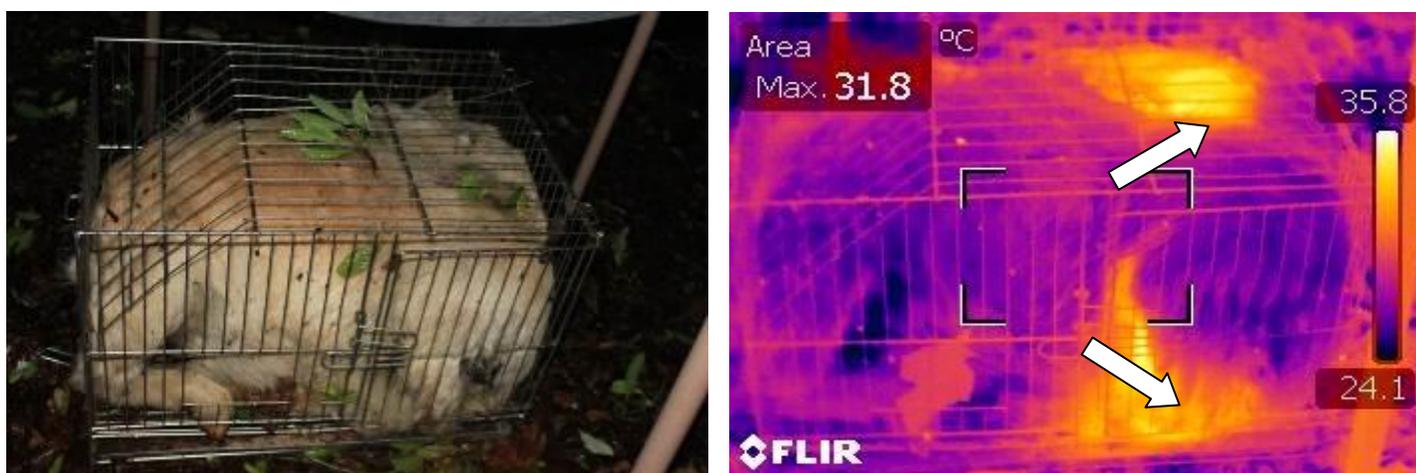


Figura 3. Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando fusão das massas presentes na cabeça e no abdômen, e uma pequena massa na região anal, após 120 horas exposta.



Figura 4. Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando a formação de uma massa única. Áreas com coloração amarelada tendendo a 36°C e áreas de coloração azul escuro tendem a temperatura mínima observada de 23° C, após 240 horas exposta.



Figura 5. Foto termográfica da carcaça controle sombra (CS) demonstrando a ausência de massas larvais perceptíveis, sugerindo a saída dos imaturos da carcaça após o consumo dos recursos disponíveis para esses insetos, após 408 horas exposta. (17 dias).



Figura 6. Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a ausência de massas larvais perceptíveis no terceiro dia de exposição, após 24 horas exposta.



Figura 7. Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a presença de uma massa larval na região da cabeça/pescoço no sexto de dia de exposição. Outras pequenas manchas são oriundas de incidência solar na carcaça, após 144 horas exposta.



Figura 8. Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a presença de massas larvais na região da cabeça e pescoço e na região posterior, após 312 horas exposta.



Figura 9. Foto termográfica da carcaça ivermectina sombra (IS) demonstrando a presença de uma única massa larval na região abdominal no 24º dia. Nota-se que as regiões anterior e posterior estão frias, indicando uma migração dos imaturos dessas áreas para a região abdominal após o total consumo dos tecidos, após 408 horas exposta (17 dias).



6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, P.G. ; ABREU, V.M. ;COLDEBELA, A. . 2011. Thermographic analysis of the superficial temperature of roof tiles. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** [online]., 15 (11): 1193–1198.

AMENDT, J.; KRETTEK, R.; ZEHNER, R.. 2004. Forensic Entomology. **Naturwissenschaften**, 91: 51–65.

ANDERSON, G.S.; CERVENKA, V.J. 2001. Insects associated with the body: Their use and analyses. *In: Modern Methods in Forensic Taphonomy*. HAGLUND, W.; SORG, M. (eds.) CRC Press. (Invited).

ANDERSON, G.S.; VANLAERHOVEN, S.L. 1996. Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. **Journal of Forensic Sciences**, 41: 617–625.

ANDRADE, S.F.; SANTARÉM, V.A. 2002. Endoparasiticida e ectoparasiticida. *In: ANDRADE, S.F. (ed.). Manual Terapêutica Veterinária*. São Paulo: Roca, 2 ed, p.469–470.

AYRES, M.C.C.; ALMEIDA, M.A.O. 2002. Agentes antinematódeos, agentes antiparasitários. *In: SPINOSA, H.S., GÓRNIAC, S.L.; BERNADI, M.M. (eds.) Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3 ed, p.476–488.

AZEREDO-SPIN, A.M. 1982. **Análise cariotípica de cinco espécies de Calliphoridae (Diptera) do Estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Biologia), Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 223f.

BARTON BROWNE, L., BARTELL, R.J.; SHOREY, H.H. 1969. Pheromone-mediated behaviour leading to group oviposition in the blowfly *Lucilia cuprina*. **Journal of Insect Physiology**, 15: 1003–1014.

BEYER, J.C.; ENOS, W.F.; STAJIC, M. 1980. Identification through analysis of maggots. **Journal of Forensic Sciences**, 25: 411–412.

- BORNEMISSZA, G. F. 1957. An analysis of arthropod succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. **Australian Journal of Zoology**, 5: 1–12.
- BOUREL, B.; HÉDOUIN, V.; MARTIN-BOUYER, L.; BÉCART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; GOSSET, D. 1999. Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Forensic Sciences**, 44(2): 354–358.
- BRIOSCHI, M.L., MEHL, A., OLIVEIRA, A.G.N., FREITAS, MAS, MACEDO, JF, MATIAS. 2007. Diabetic foot evaluation by infrared skin thermometry. **Revista Médica do Paraná**, 65(1): 33–41.
- CAMPOBASSO, C.P.; VELLA, G.D.; INTRONA, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science International**, 120: 18–27.
- CARRERA, M. 1991. **Insetos de Interesse Médico e Veterinário**. Curitiba: Editora UFPR, 1 ed. pp. 228.
- CATTS, E.P.; GOFF, M.L. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. **Annual Review of Entomology**, 37: 253–272.
- CATTS, E.P.; HASKELL, N.H. 1990. **Entomology & Death: A procedural Guide**. USA: Joyce's Print Shop. pp. 182.
- CARVALHO, L.M.L.; LINHARES, A.X. 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, 46(3): 604–608.
- CARVALHO, L.M.L.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X.; PALHARES, F.B. 2000. A checklist of arthropods associated with carrion and human corpses in southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 95: 135–138.

CHARABIDZE, D.; BOUREL, B.; GOSSET, D. 2011. Larval-mass effect: characterisation of heat emission by necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) larval aggregates. **Forensic Science International** , 211(1–3): 61–66.

CORNABY, B.W. 1974. Carrion reduction by animals in contrasting tropical habitats. **Biotropica**, 6: 51–63.

COURTNEY, C.H.; ROBERSON, E.L. 1995. Chemotherapy of parasitic disease. Antinematodal drugs. *In*: ADAMS, H.R. (ed.) **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. Iowa, 7 ed. Iowa State University Press, p. 916–922.

DENNO, F.R.; COTHRAN, W.R. 1976. Competitive interactions and ecological strategies of sarcophagid and calliphorid flies inhabiting rabbit carrion. **Annals of the Entomological Society of America**. 69(1): 109–113,

EDDY, A.L.; HOOGMOED, V.L.M.; SNYDER, J.R. 2001. The role of thermography in the management of equine lameness. **The Veterinary Journal**, 162: 172–181.

EISEMANN, C.H.; RICE, M.J. 1987. The origin of sheep blowfly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), attractants in media infested with larvae. **Bulletinn of Entomology Research**, 77: 287–294.

ESTRADA, D.A.; GRELLA, M.D.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X. 2009. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) developmental rate on artificial diet with animal tissues for forensic purpose. **Neotropical Entomology**, 38: 203–207.

ERZINCLIOGLU, Y.Z. 1983. The application of entomology to forensic medicine. **Medical, Science and Law**, 23(1): 57–63.

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

FETENE, T., WORKU, N. 2008. Public health importance of non-biting cyclorrhaphan flies, **Royal Society of Tropical and Medical Hygiene**, 103(2):187-91

FREIRE, O. 1914. Algumas notas para o estudo da fauna cadavérica da Bahia. **Gazeta Médica da Bahia**, 46: 149–162.

GAUDRY, E.; MYSKOWIAK, J.B.; CHAUVET, B.; PASQUERAULT, T.; LEFEBVRE, F.; MALGORN, Y. 2001. Activity of the forensic entomology department of the French Gendarmerie. **Forensic Science International**. 120(1–2): 68–71.

GAGLIANO-CANDELA, R.; AVENTAGGIATO, L. 2001. The detection of toxic substances in entomological specimens, **International Journal of Legal Medicine**, 114: 197–203.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GEORGE K.A., ARCHER M.S., GREEN L.M., CONLAN X.A., TOOP T. 2009. Effect of morphine on the growth rate of *Calliphora stygia* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) and possible implications for forensic entomology. **Forensic Science International**., 193(1–3): 21–25.

GOFF, M.L.; BROWN, W.A.; HEWADIKARAM, K.A.; OMORIA, A.I. 1991. Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrine* (Diptera, Sarcophagidae) and implications of this effect on estimation do postmortem intervals using arthropod development patterns. **Journal of Forensic Sciences**, v. 36, n. 2, p. 537–542.

GOFF, M.; LORD, W.D. 1994. Entomotoxicology: a new area for forensic investigations, **American Journal of Forensic Medical Patology** (15):51–57.

GOFF, M.L.; MILLER, M.L.; PAULSON, J.D.; LORD, W.D.; RICHARDS, E.; OMORI, A.I. 1997. Effects of 3, 4-methylenedioxyamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver tissue, larvae, and puparia, **Journal of Forensic Science**, 42(2): 276–280.

GOFF, M.L.; OMORI, A.I.; GOODBROD, J.R. 1989. Effect of cocaine in tissues on the rate of development of *Boettcherisca peregrina* (Diptera, Sarcophagidae), **Journal of Medical Entomology**. 26: 91–93.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M.S. 2005. **Evolution of the insects**. New York: Cambridge University Press, 15 ed, 755pp.

HEDOUIN, V.; BOUREL, B.; BECART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, A.; GOFF, M.L.; GOSSET, D. 2001. Determination of drug levels in larvae of *Protophormia terraenovae* and *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) reared on rabbit carcasses containing morphine. **Journal of Forensic Sciences**, 46: 12–14.

HEDOUIN, V.; BOUREL, B.; MARTIN-BOUYER, L.; BECART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; GOSSET, D. 1999. Determination of drug levels in larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) reared on rabbit carcasses containing morphine. **Journal of Forensic Sciences**, 44(2): 351–353.

HOBSON, R.P. 1932. Studies on the nutrition of blow-fly larvae. III. The liquefaction of muscle. **Journal of Experimental Biology**. 9: 359–365.

HANSKI, I. 1987. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. **Ecol Entomol**, 12: 257–266.

HOWDEN, A.T. 1950. The succession of beetles on carrion. Unpublished Dissertation for Degree of M.S., North Carolina State College, Raleigh.

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

JOHNSON, M.F.; ARCHER, M.; O'DONNELL, C.; LEIGH-SHAW, L.; BROWN, M.; KEH, B. 1985. Scope and Applications of Forensic Entomology. **Annual Review of Entomology**, 30: 137–154,

KHARBOUCHE, H.; AUGSBURGER, M.; CHERIX, D.; SPORKERT, F.; GIROUD, C.; WYSS, C.; CHAMPOD, C.; MANGIN, P. 2008. Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. **International Journal of Legal Medicine**, 122: 205–211.

KINTZ, P.; TRACQUI, A.; MANGIN, P. 1990. Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. **Journal of Forensic Sciences**, 30: 243–246.

KLIR, J.J.; HEATH, J.E.; BENNAMI, N. 1988. An infrared thermographic study of surface temperature in relation to external thermal stress in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Company Biochemical Physiology**; 96(1): 141–146.

KNEIDEL, K.A. 1984. Competition and disturbance in communities of carrion-breeding Diptera. **Journal Animal Ecology** 53: 849–865.

KNEIDEL, K.A. 1985. Patchiness, aggregation, and the coexistence of competitors for ephemeral resources. **Ecological Entomology** 10: 441–448.

LANKAS, G.R.; GORDON, L.R. 1989. Toxicology. *In*: CAMPBELL W.C. (ed.) **Ivermectin and Abamectin**. New York; Springer Verlag, p. 89–112.

LEITE, L.C.; JÚNIOR, J.A.; CIRIO, S.M.; LEITE, S.C.; SILVA, A.W.; DINIZ, J.M.; LUNELLI, D.; ZADOROSNEI, A.C.; SOUZA, L.M.; WEBER, S. 2006. Veterinarian Medicines Prescription by Laypeople: an Ethical Problem. **Revista Acadêmica de Curitiba**, 4(4) 43–47.

- LEVINE, B.; GOLLE, M.; SMIALEK, J.E. 2000. An unusual drug death involving maggots. **American Journal of Forensic and Medical Pathology**., 21(1): 59–61.
- LEVOT, G.W.; BROWN, K.R.; SHIPP, E. 1979. Laval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. **Bulletin of Entomology Research**, 69: 469–475.
- LORD, W.D.; STEVENSON, J.R. 1986. **Directory of forensic Entomologists**. Def. Pest Mgmt. Info. Anal. Center (eds.), Washington: Walter Reed Army Medical Center, 44p.
- LOVELL, R.A. 1990. Ivermectin and piperazine toxicoses in dogs and cats. **Veterinary Clinical of North American Small Animal Practise**, 20(2): 453–468.
- MAHAT, N.A.; ZAFARANA, Z.; JAYAPRAKASH, P.T. 2009. Influence of rain and malathion on the oviposition and development of blowflies (Diptera: Calliphoridae) infesting rabbit carcasses in Kelantan, Malaysia, **Forensic Science International**, 192(1–3): 19–28.
- MEDEIROS, R.J.; MONTEIRO, F.O.; SILVA, G.C.; NASCIMENTO JUNIOR, A. Casos de intoxicações exógenas em cães e gatos atendidos na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense durante o período de 2002 a 2008. **Ciencia Rural** [online]. 2009. 39(7):2105-2110. Acessado em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782009000700023&lng=en&nrm=iso>. Epub July 31, 2009. ISSN 0103-8478.
- MÉGNIN, P. 1894. La Faune des cadavres. Paris: **Encyclopédie Scientifique des Aide-Memoire**.
- MILLER, M.L.; LORD, W.D.; GOFF, M.L.; DONNELLY, D.; McDONOUGH, E.T.; ALEXIS, J.C. 1994. Isolation of amitriptyline and nortriptyline from fly puparia (Phoridae) and beetle exuviae (Dermestidae) associated with mummified human remains. **Journal of Forensic Science**, v. 39, p. 1305–1313.
- MORELLATO, P.C.; LEITÃO-FILHO, H.F. 1995. **Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra**. Editora da Unicamp, Campinas, SP. 136 p.

MOURA, M.O.; CARVALHO, C.J.B.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. 1997. A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paran. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**; 92: 269–274.

NOBMANN, S.; BAUER, B.; FRICKER, G. 2001. Ivermectin excretion by isolates functionally intact brain endothelial capillaries. **British Journal of Pharmacology**.132 (722–728.)

NOLTE, K.B.; PINDER, R.D.; LORD, W.D. 1992. Insect larvae used to detect cocaine poisoning in a decomposed body. **Journal of Forensic Sciences**, v. 37, n. 4, p. 1179–1185.

NUORTEVA, P. 1977. Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. *In*: TEDESCHI, C.G.; ECKERT, W.G.; TEDESCHI, L.G. (ed). **Forensic medicine: a study in trauma and environmental hazards**. Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders Company, v. 2, p. 1072–1095.

OLIVEIRA-COSTA, J. 2007. **Entomologia forense: quando os insetos são vestígios**. Campinas: Millennium, 2 ed., 456p.

OLIVEIRA, H.G., GOMES, G., MORLIN-Jr, J.J., VON-ZUBEN C.J., LINHARES A.X. 2009. The effect of buscopan on the development of the blow fly *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Forensic Science**. 54(1): 202–206.

PESSÔA, S.; LANE, F. 1941. Coleópteros de interesse médico-legal. Ensaio monográfico sobre a família Scarabaeidae de São Paulo e regiões vizinhas. **Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo**, 2: 389–504.

PAYNE, J.A. 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. **Ecology** 46(5): 592–602.

PIEN, K., LALOUP, M., PIPELEERS-MARICHAL, M., GROOTAERT, P., BOECK, G.D., SAMYN, N., BOONEN, T., VITS, K.; WOOD, M. 2004. Toxicological data and growth characteristics of single post-feeding larvae and puparia of *Calliphora vicina*

(Diptera:Calliphoridae) obtained from a controlled nordiazepam study. **International Journal of Legal Medicine**.118: 190–193.

PIMPÃO C.T. 2005. Evaluation of Ivermectin Toxicosis in Dogs, **Revista Academica de Curitiba**. 3(4): 19-24.

PUJOL-LUZ, J.R.; ARANTES, L.C.; CONSTANTINO, R. 2008. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). **Revista Brasileira de Entomologia**, 52(4): 485–492.

PULLIAM J.D.; PRESTON J.M. 1989. Safety of ivermectin in target animals. *In*: CAMPBELL, W.C. (ed.) **Ivermectin and Abamectin**. NY: Springer Verlag, p. 149–161.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. 2002. Doenças causadas por substâncias químicas inorgânicas e produtos químicos utilizados nas fazendas. *In*: IBID (ed.) **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 9 ed, p.1417–1471.

REED, H.B. 1958. A study dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. **The American Midland Naturalist**, 59: 213–245,

RIBEIRO R.C., MÓTA SILVA T.R., FREITAS FILHO J.R. 2009. Medicamentos mais vendidos em farmácias veterinárias sem prescrição médica vs. Análise da bula. *In*: Jornada de ensino pesquisa e extensão, Pernambuco, 2009. **Anais da JEPEX**. Disponível em: <www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0580-1.pdf>. Acesso em: 13 fev 2013.

RICHARDS, C.S.; PATERSON, I.D.; VILLET, M.H. 2008. Estimating the age of immature *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae), correcting for temperature and geographical latitude. **International Journal of Legal Medicine**, 122: 271–279.

ROETERDINK, E.M.; DADOUR, I.R.; WATLING, J.R. 2004. Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). **International Journal of Legal Medicine**, 118: 63–70.

- SADLER, D.W.; RICHARDSON, J.; HAIGH, S.; BRUCE, G.; POUNDER, D.J. 1997. Amitriptyline accumulation and elimination in *Calliphora vicina* larvae, **American Journal Forensic Medical Pathology**, 18: 397–403.
- SEIXAS, J.N.; PEIXOTO, P.V.; ARMIÉN A.G.; JABOUR F.F.; BRITO M.F. 2006. Aspectos clínicos e patogênicos da intoxicação por abamectina em bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 26 (3): 161–166.
- SHARPE, P.J.H.; DEMICHELE, D.W. 1977. Reaction kinetics of poikilotherm development. **Journal of Theoretical Biology**, 64: 649–670.
- SHERMAN R.A. 1995. A simple, sterile food source for rearing the larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Medical and Veterinary Entomology**, 9: 393–398.
- SKOPP, G. 2004. Preanalytic aspects in postmortem toxicology. **Forensic Science International**, 142: 75–100.
- SLONE, D.H.; GRUNER, S.V. 2007. Thermoregulation in larval aggregations of carrion-feeding blow flies (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, 44: 516–523.
- SMITH, K.G.V. 1986. A manual of forensic entomology. **Cornell Univ. Press**, Ithaca, NY, 205.
- SOUZA, A.S.B.; KIRST, F.D.; KRÜGER, R.F. 2008. Insects of forensic importance from Rio Grande do Sul state in southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, n. 52, v. 4, p. 641–646.
- SOUZA, A.P.; RAMOS, C.I.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; SCHELBAUER, C.A. 2008. Anthelmintics resistance of bovine gastrointestinal helminths in Santa Catarina Plateau, **Ciência Rural, Santa Maria**, v.38, n.5, p.1363–1367.
- SOUZA, C.M.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X. 2011. Effect of Nandrolone Decanoate on the Development of Three Species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae), Flies of Forensic Importance in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 1, p. 111–117.

SOUZA, A.M.; LINHARES, A.X. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 11, p. 8–12.

THOMAZ-SOCCOL V. 2008. Resistance of Gastrointestinal Nematodes to Anthelmintics in Sheep (*Ovis aries*), **Brazilian archives of biology and technology**, 47(1): 41–47.

THYSSEN, P.J. 2000. Decomposição e sucessão entomológica em carcaças de suínos (*Sus scrofa* L.) de tamanhos diferentes: estudos em ambiente de mata natural na região de Campinas, SP. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 79p

TURNER, B.; HOWARD, T. 1992. Metabolic heat generation in dipteran larval aggregations: a consideration for forensic entomology. **Medical and Veterinary Entomology**, 6: 179–181.

WILSON, Z.; HUBBARD, S.; POUNDER, D.J. 1993. Drug analysis in fly larvae. **Am. J. Forensic Med. Pathol.**, 14(2): 118–120.