

FÁBIO REZENDE

**“AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE IMATUROS DE
TRÊS ESPÉCIES DE *CHRYSOMYA* (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE) DE IMPORTÂNCIA FORENSE, SOB O
EFEITO DE CLORIDRATO DE METILFENIDATO ISOLADO E
ASSOCIADO A FENOBARBITAL”**

**CAMPINAS - SP
2012**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

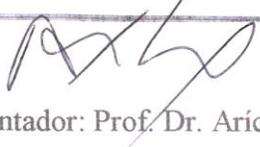
FÁBIO REZENDE

**“AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE IMATUROS
DE TRÊS ESPÉCIES DE *CHRYSOMYA* (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE) DE IMPORTÂNCIA FORENSE, SOB O
EFEITO DE CLORIDRATO DE METILFENIDATO
ISOLADO E ASSOCIADO A FENOBARBITAL”**

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a) <u>FÁBIO REZENDE</u>

e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, como requisito para obtenção do título de Mestre em Parasitologia.


Orientador: Prof. Dr. Arício Xavier Linhares

CAMPINAS - SP

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROBERTA CRISTINA DAL' EVEDOVE TARTAROTTI – CRB8/7430
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

R339a Rezende, Fábio, 1984-
Avaliação do desenvolvimento de imaturos de três espécies de *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) de importância forense, sob o efeito de Cloridrato de Metilfenidato isolado e associado a Fenobarbital / Fábio Rezende. – Campinas, SP: [s.n.], 2012.

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

1. Entomotoxicologia. 2. Mosca-varejeira. 3. Metilfenidato. 4. Intervalo pós-morte. I. Linhares, Arício Xavier, 1950-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em Inglês: Evaluation of the development of three species of immature of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance, under the influence of Methylphenidate Hydrochloride isolated and associated with Phenobarbital

Palavras-chave em Inglês:

Entomotoxicology

Blowflies

Methylphenidate

Postmortem interval

Área de concentração: Parasitologia

Titulação: Mestre em Parasitologia

Banca examinadora:

Arício Xavier Linhares [Orientador]

Cláudio José Von Zuben

Patrícia Jacqueline Thyssen

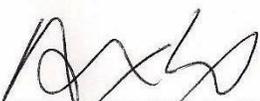
Data da defesa: 09-08-2012

Programa de Pós Graduação: Parasitologia

Campinas, 09 de agosto de 2012

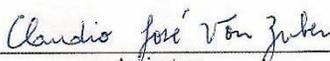
BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Arício Xavier Linhares (Orientador)



Assinatura

Prof. Dr. Cláudio José Von Zuben



Assinatura

Profa. Dra. Patrícia Jacqueline Thyssen



Assinatura

Prof. Dr. Wesley Augusto Conde Godoy

Assinatura

Prof. Dr. Ângelo Pires do Prado

Assinatura

*Aos meus pais,
amor, educação
e apoio,
Sempre*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Arício Xavier Linhares pela orientação, ensinamentos e amizade.

À Profa. Dra. Patricia Jacqueline Thyssen, amiga e mestre que muito me ajudou na realização desse projeto.

Aos Profs. Drs. Luiz Augusto Magalhães, Ana Maria Aparecida Guaraldo, Patrícia Jacqueline Thyssen, Cláudio José Von Zuben e Carolina Reigada, pelas correções e contribuições nos exames de qualificação, pré-banca e defesa.

À minha família, Osvaldo e Avanda, Joel e Fabiana, Raquel e Rodrigo, Gabriel, Bruno e Pedro, por todo o apoio moral e amoroso durante minha formação acadêmica e em todas as minhas decisões. Obrigado pela compreensão nos momentos de ausência, pelos conselhos e motivações que sempre deram força, permitindo a conclusão de mais esta etapa.

À minha namorada e grande companheira Olga, que sempre me apoiou e me ajudou, inclusive na realização dos experimentos, e que sempre aguentou minhas chatices e meus desabafos.

Aos grandes amigos do Laboratório de Entomologia L2B, André, Carina, Carol Palanch, Carol Reigada, Cauê, Daniel, Maicon, Marcela, Mariana, Marina e Rafael, pessoas que me ajudaram muito mesmo na execução desse projeto, perdendo feriados e fins de semana contando e pesando “larvinhas”, montando gaiolas e lavando potes fedorentos.

Aos amigos dos corredores da Parasitologia, pelos momentos de descanso e descontração.

Aos técnicos do Departamento de Biologia Animal/Parasitologia, Tacilda, João, Letícia e Nilson, pela grande ajuda com os materiais, compras, criações e experimentos, e pelos muitos momentos de longas conversas.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Parasitologia, pelos ensinamentos e esclarecimentos.

À Universidade Estadual de Campinas por prover condições necessárias a esta formação, fornecendo subsídios para a realização desta pesquisa.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de estudos por 24 meses.

RESUMO

O aumento no número de óbitos relacionados ao uso de drogas justifica o interesse por estudos entomotoxicológicos. Estes estudos devem focar a obtenção de dados diversos sobre a entomofauna necrófaga que contribuam para a formação de um banco de dados que auxilie em investigações criminais, principalmente quando a estimativa do intervalo pós-morte (IPM) é baseada na idade do inseto, visto que a mesma pode sofrer alteração quando uma dada substância interfere no ciclo de insetos que tenham se alimentado dos tecidos cadavéricos onde tais substâncias estão presentes. Assim, no presente estudo objetivou-se verificar o efeito de diferentes concentrações de Cloridrato de Metilfenidato isolado e associado ao Fenobarbital na taxa de desenvolvimento, sobrevivência e longevidade de imaturos de *Chrysomya putoria* (Wiedemann), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), quando acrescidos em dieta artificial oferecida como único substrato para seu desenvolvimento. Os imaturos foram obtidos a partir de colônias de moscas adultas mantidas em condições controladas de temperatura e umidade em laboratório. Foram feitas seis réplicas para cada grupo experimental, com 150 espécimes de cada espécie em questão, perfazendo um total de 900 larvas por espécie. Além disso, um grupo controle (sem adição da droga) foi mantido sob as mesmas condições de criação. Os imaturos foram pesados individualmente a cada 12h, sendo retirados 10 espécimes de cada grupo, desde as 12 horas após a eclosão até a pupariação. ANOVA de um fator foi realizada para comparar o efeito dos tratamentos no desenvolvimento dos imaturos, usando como resposta o ganho de massa larval. O teste de comparações múltiplas de Duncan também foi realizado para comparar as médias e apontar possíveis diferenças entre os grupos. As duas substâncias alteraram a taxa de desenvolvimento de todas as espécies estudadas, ampliando em até dois dias o tempo total de desenvolvimento dos imaturos. Desse modo seria recomendável que exames toxicológicos para a detecção de drogas em larvas fossem realizados invariavelmente para evitar erros quanto à estimativa do IPM, quando este for baseado no ciclo de desenvolvimento de insetos.

Palavras-chave: entomotoxicologia; varejeiras; taxa de desenvolvimento; intervalo pós-morte.

ABSTRACT

The increase on the number of deaths related to drug abuse justifies the interest in entomotoxicological studies. These studies are focused on obtaining data on the necrophagous insect fauna which contribute to the formation of a database to help in criminal investigations, especially when the estimate of the postmortem interval (PMI) is based on the age of immature necrophagous insect, since it can be altered when a given substance interferes with the larval development of insects that have fed on tissues containing this substance. The present study was aimed to evaluate the effect of different concentrations of methylphenidate hydrochloride isolated and associated with phenobarbital on the developmental rate, survival and longevity of immatures of *Chrysomya putoria* (Wiedemann), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) and *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), reared in artificial diets with different concentrations of the drugs and offered as substrate for their development. The immatures were obtained from colonies of adult flies maintained under controlled temperature and humidity in the laboratory. Six replicates were performed for each experimental group, with 150 specimens of each species of blowfly, comprising a total of 900 larvae per group. In addition, a control group was maintained under the same conditions established for the other groups. Ten specimens of each group were removed and individually weighed every 12 hours, from 12 hours after hatching to pupariation. One-way ANOVA was performed to compare the effect of treatment on development of immatures, using larval weight as response variable. The Duncan Multiple Comparison Test was also performed to compare the means and to identify possible differences among the groups. The two substances were responsible for altering the rate of development of all species studied, retarding up to two days the total developmental time of the immatures. Thus, it is recommended that toxicological tests should be performed to detect drugs eventually present on larvae collected from corpses, in order to prevent errors in the estimation of IPM, when it is based on the developmental cycle of immature saprophagous insects.

Keywords: entomotoxicology; blowflies; developmental rate; postmortem interval.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura química do cloridrato do metilfenidato.....	4
Figura 2.	Estrutura química do fenobarbital	5
Figura 3.	Curvas de desenvolvimento de imaturos de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato	10
Figura 4.	Curvas de desenvolvimento de imaturos de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato	13
Figura 5.	Curvas de desenvolvimento de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato	15
Figura 6.	Curvas de desenvolvimento de imaturos de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital	19
Figura 7.	Curvas de desenvolvimento de imaturos de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital	24
Figura 8.	Curvas de desenvolvimento de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.....	11
Tabela 2.	Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle	12
Tabela 3.	Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.....	13
Tabela 4.	Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle	14
Tabela 5.	Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.....	16
Tabela 6.	Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle	17
Tabela 7.	Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.....	20
Tabela 8.	Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle	22
Tabela 9.	Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.....	25

Tabela 10.	Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle	27
Tabela 11.	Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.....	30
Tabela 12.	Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle	32

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.	Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas)	40
Anexo 2.	Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas)	41
Anexo 3.	Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas)	42
Anexo 4.	Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya putoria</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas)	43
Anexo 5.	Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas)	44
Anexo 6	Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas)	45

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH).....	3
2 – OBJETIVOS.....	7
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	8
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4.1 - O efeito de cloridrato de metilfenidato no desenvolvimento de imaturos	10
<i>Chrysomya putoria</i> (Wiedemann)	10
<i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius)	12
<i>Chrysomya albiceps</i> (Wiedemann)	15
4.2 - O efeito da associação entre cloridrato de metilfenidato e fenobarbital no desenvolvimento de imaturos	18
<i>Chrysomya putoria</i> (Wiedemann)	18
<i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius)	23
<i>Chrysomya albiceps</i> (Wiedemann).....	28
5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

1 – INTRODUÇÃO

A Entomologia Forense é a ciência que estuda os insetos e outros artrópodes a fim de aplicar tais conhecimentos em questões com implicações legais, especialmente em um tribunal de justiça (Catts & Haskell, 1991). A ocorrência de artrópodes, verificação de suas atividades e/ou vestígios de suas presenças no local da descoberta de um cadáver podem auxiliar na investigação criminal, uma vez que estes organismos podem fornecer informações tais como a estimativa do intervalo pós-morte (IPM), a causa e o modo da morte, se houve movimentação do corpo e, até mesmo, associar suspeitos com a cena do crime (Catts & Goff, 1992, Oliveira-Costa, 2007).

Os insetos mais utilizados para esses fins são os dípteros, especialmente os das famílias Calliphoridae e Sarcophagidae, pois eles são os primeiros a encontrarem um cadáver. A oviposição e/ou larviposição de muitas espécies ocorre durante as primeiras horas após a morte (Reed, 1958). Esses dípteros da família Calliphoridae são atraídos pelo odor da carcaça, mesmo a grandes distâncias, colonizando esse substrato logo após a morte e, em alguns casos, permanece na carcaça durante todos os estágios da decomposição (Catts & Goff, 1992).

A determinação da idade desses insetos, parâmetro utilizado para realizar o cálculo da estimativa do IPM, pode estar sujeita a limitações e a alguns erros devido a alterações na biologia da espécie decorrentes de influências extrínsecas e intrínsecas. Dessa forma, algumas variáveis como temperatura, umidade relativa, latitude, devem ser observadas (Ulliyett, 1950; Hanski, 1977; Greenberg, 2002). Alta temperatura e alta umidade do ar, por exemplo, podem acelerar o processo e decomposição por microrganismos, além de influenciar a chegada de insetos decompositores (Monteiro-Filho & Penereiro, 1987; Wells & Kurahashi, 1994). Por isso, para estimativas mais precisas do IPM, deve-se procurar eliminar qualquer possibilidade de erro, considerando todas as variáveis possíveis, como por exemplo, a variabilidade geográfica, horário exato da coleta de ovos ou imaturos, o tempo entre os insetos adultos localizarem o corpo e a ocorrência da oviposição, além da utilização de mais de uma espécie (VanLaerhoven, 2008).

Em áreas tropicais, particularmente na região de Campinas, SP, os dípteros encontrados em maior abundância associados às fases iniciais da decomposição de corpos são as espécies *Chrysomya putoria*, *Chrysomya albiceps* e *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) (Carvalho *et al.*, 2000).

Os indicadores comumente utilizados para precisar a hora da morte, como a temperatura corporal e do fígado, não são tão eficazes quando o período decorrido entre o óbito e o encontro do corpo é superior a quatro dias. Para tais intervalos, a Entomologia Forense passa a ser de grande valia (Catts & Haskell, 1990; Erzinçlioglu, 2003).

Os insetos encontrados em corpos em decomposição podem ser também utilizados em análise toxicológica, principalmente na ausência de tecidos ou fluídos normalmente adotados para essas análises, como sangue e urina (Kintz *et al.*, 1990). Através da análise de larvas encontradas nos cadáveres, é possível detectar a presença de drogas ou toxinas (Introna *et al.*, 2001; Pien *et al.*, 2004; Skopp, 2004).

A transferência de tóxicos presentes no corpo em decomposição para os insetos não é realizada apenas para os dípteros, mas continua em coleópteros predadores. A substância tóxica pode ser detectada quando a taxa de absorção for superior à taxa de eliminação. Estas substâncias podem ser detectadas também em pupas, porém os níveis de concentração serão consideravelmente menores que os níveis detectados em larvas (Introna *et al.*, 2001; Sadler *et al.*, 2005). Já a detecção de substâncias em pupários vazios sugere a ocorrência de metabolização e bioacumulação pelo inseto, ao invés de uma excreção pelo trato digestivo (Pien *et al.*, 2004). Porém, é necessário um cuidado para que não haja interferências externas, pois pupas e pupários no local do óbito podem ser de uma carcaça de algum outro animal ou de larvas que se criaram em qualquer outro tipo de matéria orgânica (Archer *et al.*, 2006). A Entomotoxicologia, um ramo da Entomologia Forense, estuda a utilização de insetos necrófagos em testes toxicológicos, para detecção de drogas e substâncias tóxicas que por ventura estejam presentes em tecido animal, além de investigar o efeito causado por estas substâncias no desenvolvimento dos insetos objetivando uma maior precisão na estimativa do IPM (Introna *et al.*, 2001).

Campobasso e colaboradores (2004) detectaram a presença de drogas como opiáceos, cocaína, barbitúricos e alguns antidepressivos em fluidos corporais e fígado, provenientes de exame de necropsias. Essas mesmas drogas foram detectadas por meio de testes toxicológicos nas larvas de dípteros encontradas nesses corpos, confirmando a confiabilidade da entomotoxicologia. Na análise de larvas de dípteros encontradas em necropsias entre 1988 a 2002 (Tracqui *et al.*, 2004), foram encontrados benzodiazepínicos, barbitúricos, antidepressivos, fenotiazina e opióides.

A extração de substâncias para análises toxicológicas a partir de amostras entomológicas é mais fácil e mais rápida que a extração de amostras de origem humana, sendo também mais viável uma vez que a amostra de tecido humano pode sofrer interferência de outras substâncias resultantes do avançado estágio de decomposição (Gagliano-Candela & Aventaggiato, 2001).

O efeito dessas drogas e toxinas sobre a taxa de desenvolvimento de imaturos de dípteros de interesse forense deve ser analisado com cautela (Introna *et al.*, 2001), pois a presença de substâncias tóxicas no corpo em decomposição, ingeridas pelos insetos durante sua fase imatura, pode interferir direta ou indiretamente nos parâmetros da taxa de desenvolvimento desses, causando um erro na estimativa do IPM (Ullyett, 1950; Hanski, 1977; Greenberg, 2002).

Em um estudo em que foi administrado Diazepam[®] a coelhos e amostras dos fígados desses animais oferecidas a larvas de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae) recém-eclodidas, relatou-se uma aceleração no desenvolvimento em relação ao grupo controle (Carvalho *et al.*, 2001). Imaturos de *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) (Diptera: Calliphoridae) expostos ao paracetamol apresentaram um crescimento acelerado nos primeiros dias de desenvolvimento se comparados ao grupo controle (O'Brien & Turner, 2004). Em teste para detecção de morfina em imaturos de *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) criados em coelhos, Bourel *et al.* (1998) observaram que as larvas expostas à droga apresentaram um crescimento maior em relação ao grupo controle.

1.1 - Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH)

O TDAH é um transtorno mental comum na infância e na adolescência que se caracteriza por desatenção, atividade motora excessiva e impulsividade, inadequados à fase do desenvolvimento (A.P.A., 1994). A prevalência do TDAH entre crianças em idade escolar varia de 3% e 6% (Rohde *et al.*, 1999). O TDAH persiste na fase adulta em cerca de 40% dos indivíduos afetados durante a infância, sendo importante o uso de medicamentos para a melhora acadêmica e social do indivíduo.

O cloridrato de metilfenidato tem sido o fármaco mais utilizado na última década para o tratamento deste distúrbio, pois combate com sucesso os sintomas do transtorno, controlando a hiperatividade e a distração, tornando o indivíduo menos inquieto e mais concentrado em seus afazeres (Carmo-Filho, 1998). Age bloqueando a recaptção de dopamina e noradrenalina no

cérebro, aumentando a concentração desses neurotransmissores. O déficit na regulação dessas substâncias parece estar ligado ao aparecimento dos sintomas da doença (Mattos, 2004; Pereira & Del Bel, 2010).

Além de ser utilizado no tratamento dessa doença, é usado para melhoria das funções cognitivas em pessoas saudáveis (Ortega *et al.*, 2010). Estima-se que seja grande o número de homens de negócios e alunos de ensino médio e universitário, que também usam a droga aspirando o pó (Hall, 2003).

No Brasil, é a primeira escolha para o tratamento farmacológico de TDAH em adultos, possuindo considerada eficácia e um perfil de segurança satisfatório (Louzã & Mattos, 2007). Estudos realizados mostraram que todas as crianças envolvidas, tratadas com metilfenidato apresentaram melhora clínica após avaliação dos sintomas do TDAH (Andrade & Scheuer, 2004). Em um trabalho com 24 crianças com TDAH tratadas com metilfenidato, houve quase 80% de eficácia no controle dos sintomas, e apenas duas crianças apresentaram efeitos colaterais, como cefaleia e náuseas, comprovando a segurança do medicamento (Guerreiro *et al.*, 1996).

O número de prescrições mais que dobrou de 2001 e 2003. Em 2003, foram vendidas 500 mil caixas no Brasil, e aproximadamente 25000 crianças brasileiras consumiram a substância (Buchalla, 2004). Nos Estados Unidos, de 1990 a 1995, houve um aumento de seis vezes na produção e utilização dessa droga. Aumentos significativos também foram registrados em países europeus, como Reino Unido e Suíça (US Dep. of Justice, 1995). A fabricação mundial passou de 2,8 toneladas em 1990 para 19 em 1999 e 38 toneladas em 2006. Deste total, o Brasil produziu 226 quilos, e importou outros 91 para suprir o consumo interno (O.N.U., 2008), tendo as vendas desse medicamento no país um aumento de aproximadamente 80% entre 2004 e 2008.

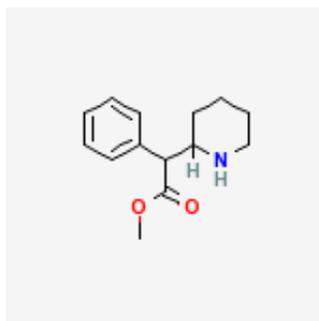


Figura 1: Estrutura química do cloridrato do metilfenidato

Fonte: <http://www.chemicalregister.com/upload/cr/113-45-1.png>

Coetzee e colaboradores (2002) relataram um paciente que consumiu 700mg de metilfenidato em três dias, aspirando o pó de forma intranasal. Esse método faz com que o metabolismo não aconteça no fígado, tendo efeito semelhante ao da cocaína.

Nota-se a possibilidade de abuso e uso indevido da droga, decorrente de erro de diagnóstico em crianças com comportamento agitado e do uso por adolescentes e estudantes buscando melhora em suas funções cognitivas. O TDAH frequentemente coexiste com epilepsia (W.H.O., 2008), sendo frequente a associação entre o metilfenidato e medicamentos como o fenobarbital, um barbitúrico hipnótico usado no tratamento de várias doenças, dentre elas a epilepsia, eclampsia, tétano e espasmofilia (Smith, 1993).

Essa substância age inibindo a liberação de neurotransmissores excitatórios e reduz a transmissão sináptica (Rein, 2007). Quando associado ao álcool e outros agentes depressores do sistema nervoso central, pode ter sua ação potencializada (Smith, 1993).

Em um estudo contabilizando as crises convulsivas de pacientes internados em um hospital psiquiátrico, foi demonstrada a eficácia do fenobarbital como anticonvulsivante após sua administração (Schmidt, 1998). Por ter um baixo custo, ser de fácil utilização e possuir eficácia comprovada, o fenobarbital é o medicamento antiepilético mais prescrito no mundo (Brodie & Kwan, 2004).

Em um corpo encontrado em avançado estágio de decomposição, identificado como sendo de uma mulher com histórico de tentativa de suicídio e possível superdosagem de fenobarbital, na ausência de tecidos e fluidos corporais, foi usada cromatografia nas larvas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) coletadas durante a necropsia, tendo sido confirmada a presença da droga em altas concentrações (Beyer *et al.*, 1980).

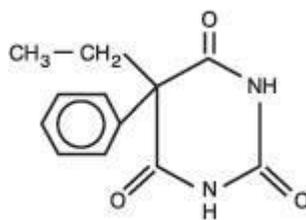


Figura 2: Estrutura química do fenobarbital

Fonte: http://people.ufpr.br/~qmf/index_arquivos/propriedadesfisicoquimicas.pdf

O aumento de óbitos relacionados ao consumo de drogas ou consumo acidental ou proposital de toxinas e venenos justifica o aumento do interesse por estudos entomotoxicológicos (Introna *et al.*, 2001). Estudos que enfoquem a obtenção de dados diversos sobre a entomofauna necrófaga são de grande importância para a formação de um extenso banco de dados que auxilie em investigações médico-criminais (Pujol-Luz *et al.*, 2008). Mais pesquisas com o intuito de verificar a ação de drogas e outras substâncias tóxicas no desenvolvimento e comportamento de espécies de importância forense devem ser realizadas. Tais pesquisas permitirão que o cálculo da estimativa do IPM torne-se mais acurado, evitando erros provenientes da falta de conhecimento acerca da alteração da taxa de desenvolvimento que pode ser ocasionada quando há a presença de substâncias tóxicas nos tecidos cadavéricos, dos quais estes insetos tenham se alimentado.

2 – OBJETIVOS

1. Estudar e comparar o efeito de diferentes concentrações de Cloridrato de Metilfenidato (CM) na taxa de desenvolvimento, sobrevivência e longevidade de imaturos de *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), quando acrescidas em dieta artificial, oferecida como único substrato para criação;

2. Estudar e comparar o efeito de diferentes concentrações da associação de Cloridrato de Metilfenidato e Fenobarbital (FB) na taxa de desenvolvimento, sobrevivência e longevidade de imaturos de *Chrysomya putoria*, *Chrysomya albiceps* e *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), quando acrescidas em dieta artificial, oferecida como único substrato para criação.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares adultos de *Chrysomya putoria*, *Chrysomya albiceps* e *Chrysomya megacephala* foram coletados na região urbana de Campinas, SP, e levados para as dependências do laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia Animal, no Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, onde foram realizadas todas as etapas deste trabalho.

As coletas foram feitas com auxílio de armadilhas apropriadas, seguindo a metodologia proposta por Ferreira (1978) e modificada por Moretti *et al.* (2009), utilizando como iscas víscera de frango e fígado bovino, permanecendo expostas no ambiente por 24 h. Após esse período foram retiradas e os insetos presentes no seu interior foram levados para triagem em laboratório. Os espécimes adultos coletados foram anestesiados por baixas temperaturas (-20°C/3 min) e identificados através de chaves taxonômicas (Carvalho & Ribeiro, 2000). Após a identificação, os exemplares de interesse para este estudo foram colocados em gaiolas plásticas transparentes (30x30x50cm), com aberturas laterais revestidas com telas de náilon, sendo alimentados com açúcar, água e proteína (fígado bovino cru). Essas gaiolas permaneceram no Laboratório, sob condições controladas de temperatura (25±1°C), umidade relativa (70±10%) e fotofase (12h).

Considerando-se a dosagem terapêutica (DT) de cloridrato de metilfenidato (Ritalina[®]), recomendada para um adulto, igual a 0,29mg/kg, foram usadas as concentrações de 10 x DT (= 2,9 mg/kg), 50 x DT (= 14,5 mg/kg) e 100 x DT (= 29 mg/kg), e na associação com Fenobarbital (Gardenal[®]), desse último foram utilizadas as concentrações 1 x DT (= 150 mg/kg), 3,3 x DT (= 500 mg/kg) e 6,7 x DT (= 1000 mg/kg). Para o Fenobarbital, foram usadas tais dosagens seguindo testes preliminares realizados por Estrada (2008).

Para obtenção de exemplares imaturos, foi oferecida como substrato para oviposição carne bovina moída crua. Após a postura e eclosão das larvas, estas foram retiradas com auxílio de pincel fino e pinça, contadas e depositadas em frascos plásticos apropriados (6x8cm) contendo dieta artificial proposta por Estrada *et al.* (2009), em uma proporção aproximada de 1,0g/larva, sendo acrescidas à dieta as diferentes concentrações das drogas.

Para cada grupo, foram feitas seis réplicas, contendo em cada 150 larvas recém eclodidas de cada espécie em estudo totalizando 900 larvas por grupo. Quatro réplicas (quatro frascos) foram denominadas manipuláveis, de onde foram retirados os espécimes para realizar as medições de massa corporal, e dois frascos, denominados não manipuláveis, mantidos assim

durante todo período de medição de massa corporal. Os frascos foram mantidos em câmara de germinação modelo Fanen 387 sob temperatura controlada de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, com fotofase de 12h e umidade relativa de $70\pm 10\%$, onde todas as etapas vitais foram acompanhadas. Os grupos controles receberam dieta artificial sem adição de droga.

Antes da pesagem, os espécimes foram limpos com água destilada e secos em papel filtro a fim de retirar os resíduos da dieta, para que desta forma as pesagens apresentassem a massa real dos imaturos. Estes foram pesados individualmente a cada 12h, sendo retirados aleatoriamente 10 espécimes de cada grupo, seguindo tal medição até que atingissem o estágio de pupa. Para as pesagens iniciais, foi feita a média da massa dos 10 espécimes pesados juntos, uma vez que a sensibilidade da balança não é suficiente para o peso do imaturo nas horas iniciais do desenvolvimento.

Para determinar o estágio larval de cada grupo, foi observada, com o auxílio de um microscópio óptico e lupa estereoscópica, a quantidade de fendas estigmáticas no espiráculo posterior do imaturo.

Após a pesagem, os imaturos foram descartados. Nenhuma medição foi feita após a pupariação, uma vez que não há mais ganho de peso. Para a obtenção do peso dos imaturos, foi utilizada uma balança analítica modelo Scientech[®] SA 210, com precisão de 0,0001.

Os frascos denominados não-manipuláveis foram utilizados para que se pudesse avaliar, analisar e calcular o tempo total de desenvolvimento, o intervalo de emergência do adulto (em horas), assim como a percentagem de emergência e a razão sexual para cada grupo estudado.

Análise de variância (ANOVA) de um fator foi realizada para comparar o efeito dos tratamentos no desenvolvimento dos imaturos, usando como resposta o ganho de massa larval. O teste de comparações múltiplas de Duncan também foi realizado, para comparar os dados entre os grupos e apontar possíveis diferenças. 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 2008).

Testes de Qui-Quadrado com um grau de liberdade foram realizados para se testar a razão sexual dos adultos emergidos, e detectar a presença de possíveis diferenças significativas nas viabilidades de larvas e adultos entre os grupos, quando comparadas as drogas com o controle.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - O efeito de cloridrato de metilfenidato no desenvolvimento de imaturos

Chrysomya putoria (Wiedemann)

A droga interferiu no tempo do desenvolvimento larval da espécie, retardando seu desenvolvimento até atingir o estágio de pupa em 12 horas, em relação ao controle, como apresentado na Figura 3. As médias dos pesos dos imaturos foram próximas (valores dos pesos são apresentados no Anexo 1), sendo observadas diferenças pontuais entre os grupos em cinco períodos, apontadas pelo teste de Duncan, como mostra a Tabela 1. Esses pontos significativos não podem ser explicados, pois não tem uma relação aparente com o efeito esperado da droga. Apesar do aparente atraso apresentado, o padrão de desenvolvimento até pupa não foi significativamente diferente ($F=0,06$; $p=0,97$).

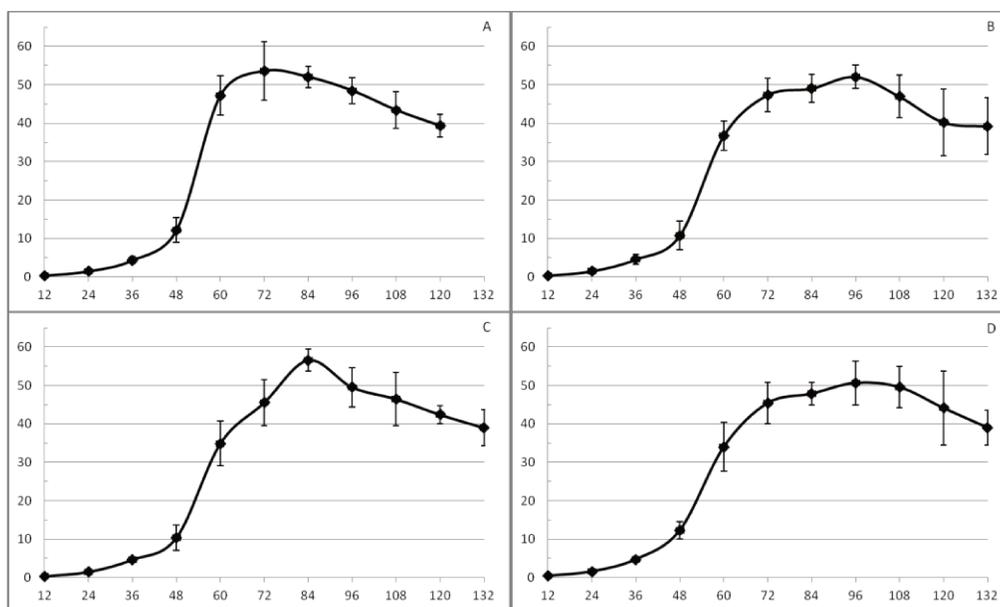


Figura 3: Curvas de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato [A-controle; B-10xDT; C-50xDT; D-100xDT].

Tabela 1. Médias dos pesos ($\bar{x} \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.

<i>C. putoria</i>	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
12h	0,36±0,45 a, b	0,39±0,15 a, b	0,33±0,40 b	0,41±0,26 a
60h	47,24±5,20 a	36,72±3,86 b	34,86±5,82 b	34,01±6,33 b
72h	53,58±7,64 a	47,34±4,35 b	45,54±6,03 b	45,43±5,34 b
84h	51,99±2,82 b	49,04±3,64 c	56,58±2,91 a	47,86±3,02 c
108h	43,38±4,76 b	46,92±5,56 a, b	46,45±6,90 a, b	49,55±5,37 a

Para cada coluna (tratamento), valores seguidos pela mesma letra minúscula não foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan (taxa global de erro $\alpha = 0.05$).

O tempo de desenvolvimento dos imaturos submetidos a diferentes dosagens da droga foi o mesmo, independente da concentração acrescida à dieta. A mudança do segundo para o terceiro estágio larval aconteceu no mesmo momento nos quatro grupos (48h), porém, o início do estágio de pré - pupa aconteceu com um dia de antecedência no grupo controle (84h), em relação aos grupos tratados (108h), o que sugere que essa interferência no tempo total de desenvolvimento ocorra apenas na segunda metade do estágio larval.

A Tabela 2 mostra a porcentagem de larvas que concluíram os estádios larvais, chegando ao estágio de pupa, e também a proporção de machos e fêmeas observada.

Tabela 2: Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle.

Parâmetros	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
Viabilidade larval	111 (74%)	131 (87%)	112 (74%)	115 (76%)
V. de adultos	104 (93,7%)	119 (90,8%)	107 (95,5%)	105 (91,3%)
Machos	48 (46,15%)	67 (56,30%)	54 (50,47%)	52 (49,52%)
Fêmeas	56 (53,85%)	52 (43,70%)	53 (49,53%)	53 (50,47%)
1º estágio larval (h)	6	6	6	6
2º estágio larval (h)	42	42	42	42
3º estágio larval (h)	36	60	60	60
Pré - pupa (h)	36	24	24	24
Int. de emergência*	96±12	96±12	96±12	96±12
Total: larva + pupa	216	228	228	228

*Tempo decorrido desde o início da pupariação da maioria das larvas até a emergência da maioria dos adultos.

A proporção esperada da razão sexual, com aproximadamente metade dos adultos machos e metade fêmeas, parece ocorrer em todos os grupos de tratamentos, com uma diferença apenas em 10 x DT, em que o número de fêmeas foi um pouco menor, porém, não significativo pelo teste Qui-Quadrado. A viabilidade larval também foi aproximada em todos os tratamentos e controle, e o intervalo de emergência não foi afetado pela droga.

***Chrysomya megacephala* (Fabricius)**

Para essa espécie, a droga não interferiu no tempo de desenvolvimento até a formação de pupas, sendo de 120 horas para todos os grupos, tratados e controle, como mostrado na Figura 4. As médias dos pesos dos imaturos foram próximas (valores dos pesos são apresentados no Anexo 2), não sendo apontada qualquer diferença significativa ($F=0,12$; $p=0,94$). Já pelo teste de Duncan (Tabela 2), foram algumas diferenças pontuais, que não podem ser explicadas, pois não tem uma relação aparente com o efeito esperado da droga.

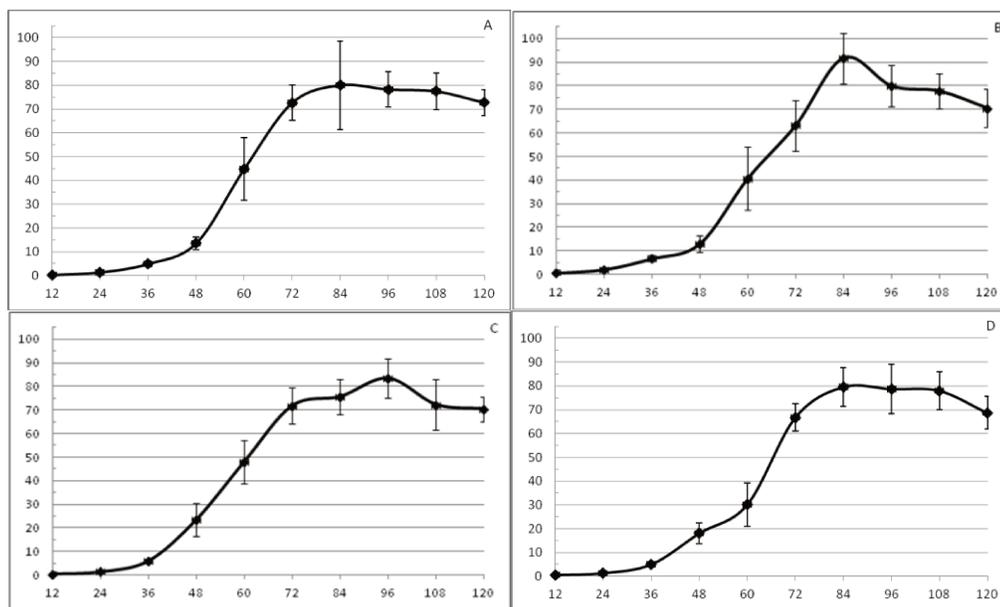


Figura 4: Curvas de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato [A-controle; B-10xDT; C-50xDT; D-100xDT].

Tabela 3. Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.

<i>C. megacephala</i>	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
12h	0,27±0,80 b	0,57±1,65 a	0,45±1,21 a, b	0,50±0,57 a
36h	4,90±1,28 b	6,63±1,33 a	6,00±0,95 a	4,95±0,94 b
48h	13,61±2,72 c	13,01±3,56 c	23,54±6,97 a	18,05±4,33 b
60h	44,78±13,08 a	40,72±13,56 a	48,09±9,26 a	30,15±9,10 b
72h	72,64±7,50 a	63,22±10,64 c	71,76±7,73 a	66,75±5,64 a, b
84h	80,03±18,65 b	91,74±10,71 a	75,61±7,58 b	79,55±8,18 b
108h	82,06±10,00 a	77,69±7,50 a, b	72,25±10,70 b	77,96±7,99 a, b

Para cada coluna (tratamento), valores das médias seguidos pela mesma letra minúscula não foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan (taxa global de erro $\alpha = 0.05$).

A mudança do segundo para o terceiro estágio larval aconteceu no mesmo momento nos quatro grupos (48h), porém, o início do estágio de pré - pupa aconteceu com 12 horas de atraso no grupo com a concentração de 10 x DT (108h), o mesmo grupo em que foi observado um ponto

isolado nas curvas das médias dos pesos. A Tabela 4 mostra a viabilidade dos imaturos e a proporção de machos e fêmeas observada.

Tabela 4: Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) submetidas à diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle.

Parâmetros	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
Viabilidade larval	126 (84%)	124 (83%)	119 (79%)	139 (93%)
V. de adultos	117 (92,8%)	108 (87,1%)	101 (84,8%)	125 (89,9%)
Machos	50 (42,73%)	57 (52,77%)	44 (43,56%)	62 (49,60%)
Fêmeas	67 (57,27%)	51 (47,23%)	57 (56,44%)	63 (50,40%)
1º estágio larval (h)	6	6	6	6
2º estágio larval (h)	42	42	42	42
3º estágio larval (h)	48	60	48	48
Pré - pupa (h)	24	12	24	24
Int. de emergência	144±12	144±12	144±12	144±12
Total: larva + pupa	264	264	264	264

A proporção esperada da razão sexual, com aproximadamente metade dos adultos machos e metade fêmeas, ocorre em todos os grupos de tratamentos. A viabilidade larval também foi aproximada em todos os grupos, apenas com um número um pouco menor na concentração 50 x DT, porém, acima de 75% do número inicial de larvas e não significativa pelo teste Qui-Quadrado. O intervalo de emergência nessa espécie não foi afetado pela droga.

O cloridrato de metilfenidato agiu de maneiras distintas em relação aos imaturos de *C. putoria* e *C. megacephala*, causando um pequeno retardo no desenvolvimento da primeira e não interferindo na segunda. Testando a possível interferência de Escopolamina em dieta artificial oferecida a larvas de *C. putoria*, Thyssen & Grella (2011) relataram um retardo de até 48 horas no desenvolvimento desses imaturos. A mesma droga, testada por Oliveira e colaboradores (2009) em imaturos de *C. megacephala*, também provocou atraso no tempo total de desenvolvimento. Com isso, podemos concluir que a mesma droga pode ou não ter o mesmo efeito sobre imaturos de diferentes espécies, não sendo possível generalizar a ação dessa substância, mesmo que em espécies do mesmo gênero.

Chrysomya albiceps (Wiedemann)

Para essa espécie, o cloridrato de metilfenidato teve um maior efeito no tempo de duração do estágio larval, retardando em um dia o tempo de desenvolvimento até a formação das pupas dos grupos tratados em relação ao grupo controle, independente da concentração, como mostrado na Figura 5. As médias dos pesos dos imaturos foram próximas (valores dos pesos são apresentados no Anexo 3), não sendo a diferença dessas médias estatisticamente significativa ($F=0,16$; $p=0,92$), sendo apontados pelo teste de Duncan muitos pontos na curva do desenvolvimento, como mostra a Tabela 5, que não podem ser explicados pois não tem uma relação aparente com o efeito esperado da droga.

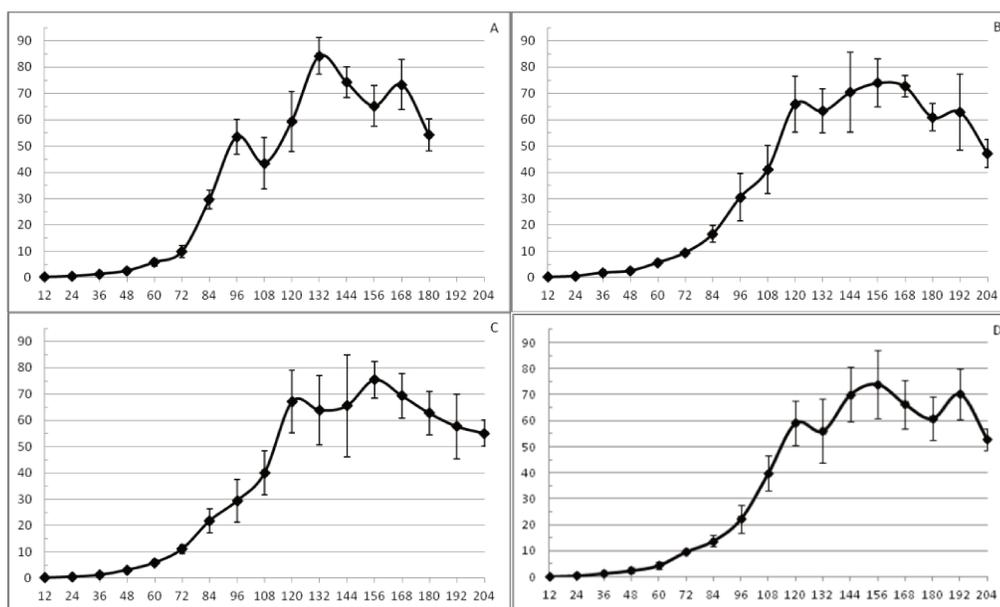


Figura 5: Curvas de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato [A-controle; B-10xDT; C-50xDT; D-100xDT].

Tabela 5. Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.

<i>C. albiceps</i>	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
36h	1,30±0,28 b	1,77±0,57 a	1,20±0,22 b	1,38±0,24 b
60h	5,73±1,35 a	5,60±1,10 a	5,84±1,09 a	4,41±1,24 b
72h	9,85±2,22 a, b	9,40±1,03 b	11,06±1,64 a	9,64±0,86 a, b
84h	29,63±3,59 a	16,51±3,15 c	21,78±4,47 b	13,88±2,17 c
96h	53,51±6,64 a	30,49±8,89 b	29,42±8,16 b	22,23±5,23 c
132h	84,21±7,00 a	63,25±8,38 b	63,95±13,20 b	56,11±12,46 b
156h	65,22±7,73 b	73,97±9,08 a, b	75,43±7,03 a	74,04±13,05 a, b
180h	54,13±6,10 b	60,92±5,28 a, b	62,73±8,31 a	60,89±8,48 a, b
192h	-	62,91±14,44 a, b	57,68±12,30 b	70,28±9,78 a
204h	-	47,22±5,31 b	55,07±5,03 a	52,76±4,24 a

Para cada coluna (tratamento), valores das médias seguidos pela mesma letra minúscula não foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan (taxa global de erro $\alpha = 0.05$).

A mudança do segundo para o terceiro estágio larval dos grupos com a droga aconteceu com um atraso de 12 horas (72h) em relação ao controle (60h), e o início do estágio de pré - pupa ocorreu com um dia de atraso, 144h (controle) e 168h (tratados). Essa diferença sugere que a interferência no tempo total de desenvolvimento ocorra já na primeira metade do desenvolvimento do imaturo e continue até a formação das pupas, fase final desse desenvolvimento.

A Tabela 6 mostra a porcentagem de larvas que concluíram os estágios larvais, chegando ao estágio de pupa.

Tabela 6: Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) submetidas à diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato em relação ao grupo controle.

Parâmetros	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
Viabilidade larval	133 (88%)	114 (76%)	118 (79%)	118 (79%)
V. de adultos	125 (93,9%)	98 (85,9%)	112 (94,9%)	109 (92,3%)
1º estágio larval (h)	6	6	6	6
2º estágio larval (h)	54	66	66	66
3º estágio larval (h)	84	96	96	96
Pré - pupa (h)	36	36	36	36
Int. de emergência	120±12	120±12	120±12	120±12
Total: larva + pupa	300	324	324	324

A viabilidade larval também foi um pouco maior no grupo controle em relação aos tratados, porém, em todos os grupos, essa viabilidade foi superior a 75% e não apresentou diferença significativa pelo teste Qui-Quadrado. O intervalo de emergência foi o mesmo em todos os grupos.

Para essa espécie, é esperado um desequilíbrio da razão sexual, sendo esse dado desconsiderado no presente trabalho, pois, segundo Queiroz (1996), *C. albiceps* é monogênica, ou seja, origina proles femininas puras (teligênicas) ou proles masculinas puras (arrenogênicas), sendo a regulação da razão sexual efetuada em nível populacional.

Ferrari e colaboradores (2008) observaram que larvas de *C. albiceps* tratadas com testosterona de uso veterinário, acrescida em dieta artificial, apresentaram massa corporal, em média, cinco vezes maior do que a observada para o grupo controle. Mesmo não havendo diferença significativa nas médias dos pesos de todos os grupos, das três espécies observadas, *C. albiceps* foi a que teve uma maior interferência em seu desenvolvimento larval provocada pela ação da droga testada, o que também foi relatado por Estrada (2008), em estudo sobre a interferência de diferentes dosagens de fenobarbital feito com as mesmas espécies de *Chrysomya*.

A interferência de uma mesma droga testada nas mesmas três espécies deste estudo também foi verificada por Souza *et al.* (2011), que relataram o efeito do decanato de nandrolona, sendo que não houve alteração no tempo de desenvolvimento de nenhuma das três espécies de

Chrysomya, porém, para cada espécie, a droga afetou em diferentes momentos do desenvolvimento dos imaturos.

4.2 - O efeito da associação entre cloridrato de metilfenidato e fenobarbital no desenvolvimento de imaturos

Chrysomya putoria (Wiedemann)

O cloridrato de metilfenidato retardou o tempo total de desenvolvimento da espécie em 12 horas, independente da concentração. Já com o fenobarbital, o retardo no desenvolvimento foi de 24 horas, independente da concentração. Na associação das duas drogas, aparentemente prevalece a interferência do fenobarbital, com um dia de atraso nas três associações em relação ao grupo controle, como mostrado na Figura 6. Apesar das curvas geradas a partir das médias serem heterogêneas (valores dos pesos são apresentados no Anexo 4), a ANOVA não apontou diferenças significativas ($F=0,67$; $p=0,73$), porém, muitas diferenças pontuais foram apontadas pelo teste de Duncan, mostradas na Tabela 7, que não podem ser explicadas por não terem uma relação aparente com o efeito esperado da droga.

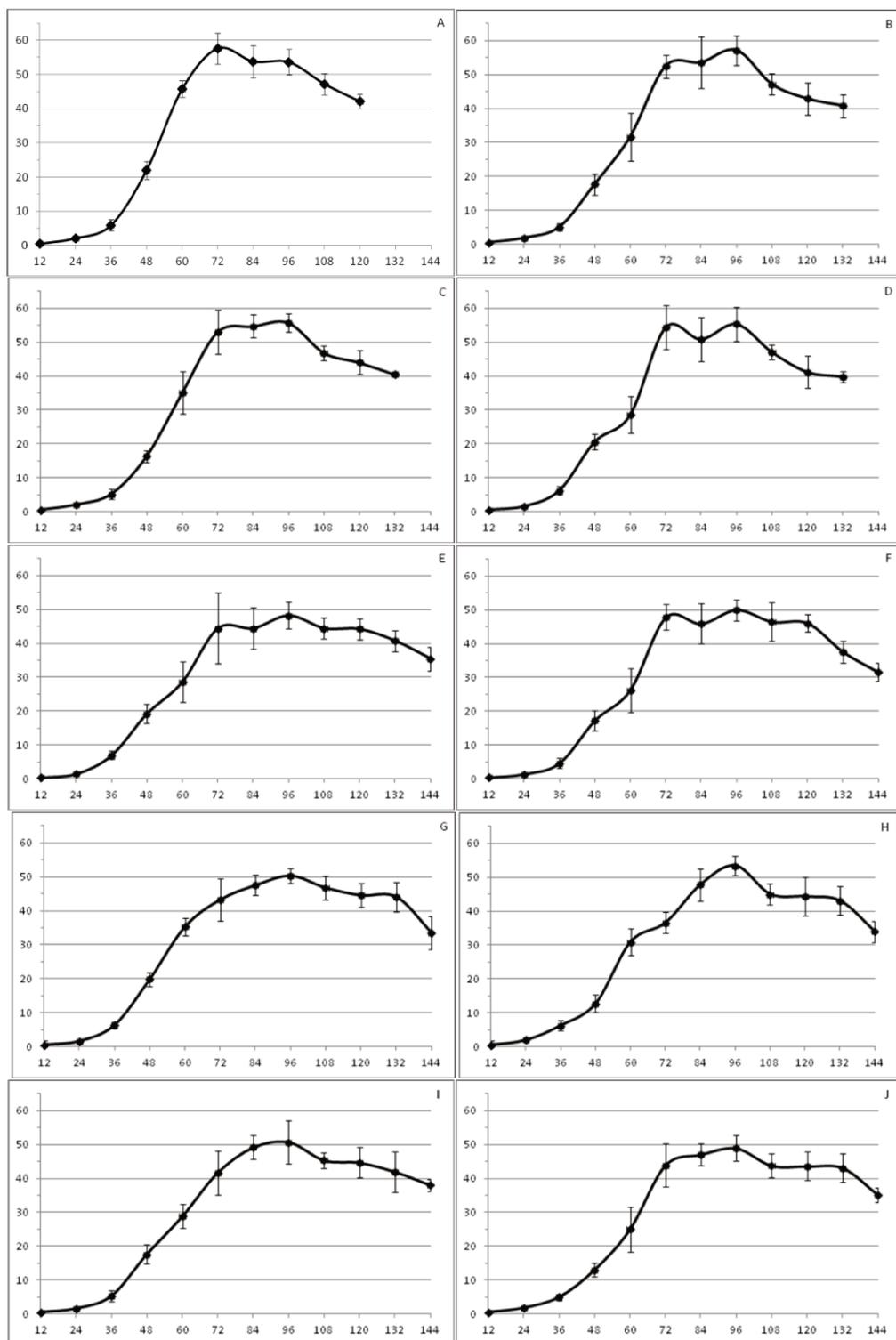


Figura 6: Curvas de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital [A-contrôle; B-10xDT(CM); C-50xDT(CM); D-100xDT(CM); E-1xDT(FB); F-3,3xDT(FB); G-6,7xDT(FB); H-10xDT+1xDT; I-50xDT+3,3xDT; J-100xDT+6,7xDT].

Tabela 7. Médias dos pesos ($\bar{x}\pm DP$) de imaturos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.

<i>C. putoria</i>	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT	1 x DT	3,3 x DT	6,7 x DT	1 + 10	3,3 + 50	6,7 + 100
12h	0,49±0,25 a, b	0,45±0,55 a, b	0,44±0,15 a, b	0,48±0,40 a, b	0,40±0,47 b	0,38±0,12 b	0,48±1,39 a, b	0,54±1,25 a	0,55±0,40 a	0,50±0,17 a, b
24h	2,06±0,28 a	1,84±0,24 a, b, c	1,97±0,41 a, b	1,53±0,42 c, d	1,49±0,41 c, d	1,36±0,34 d	1,55±0,34 c, d	1,95±0,61 a, b	1,62±0,30 b, c, d	1,78±0,39 a, b, c
36h	5,94±1,63 a, b, c	5,06±1,12 b, c	5,14±1,41 b, c	6,20±1,22 a, b	6,96±1,20 a	4,60±1,46 c	6,30±0,86 a, b	6,26±1,58 a, b	5,33±1,74 b, c	4,94±0,85 b, c
48h	22,02±2,61 a	17,72±3,10 c, d, e	16,32±1,84 e	20,59±2,37 a, b	19,22±2,88 b, c, d	17,24±3,01 d, e	19,83±2,15 a, b, c	12,75±2,57 f	17,63±2,94 c, d, e	12,99±1,98 f
60h	45,79±2,37 a	31,65±7,03 b, c	35,01±6,22 b	28,52±5,43 c, d, e	28,63±6,08 c, d, e	26,31±6,50 d, e	35,33±2,62 b	30,91±3,84 b, c, d	28,84±3,50 c, d, e	24,99±6,70 e
72h	57,61±4,48 a	52,43±3,34 a, b	53,03±6,58 a, b	54,36±6,49 a	44,41±10,43 c	47,78±3,84 b, c	43,30±6,26 c	36,53±3,14 d	41,73±6,53 c, d	43,90±6,29 c
84h	53,78±4,65 a, b	53,54±7,51 a	54,74±3,33 a, b	50,89±6,55 b, c	44,43±6,10 d	45,93±5,98 d	47,58±3,06 c, d	47,75±4,70 c, d	49,16±3,47 c, d	47,07±3,17 c, d
96h	53,63±3,78 a, b	57,14±4,39 a, b, c, d	55,77±2,65 a	55,37±5,05 a	48,23±3,88 e	50,00±3,10 c, d, e	50,36±2,17 b, c, d, e	53,38±2,81 a, b, c	50,71±6,28 b, c, d, e	48,93±3,78 d, e
120h	42,08±2,04 b, c	42,86±4,73 c	44,00±3,48 a, b, c	41,20±4,80 c	44,22±3,19 a, b, c	46,09±2,50 a, b	44,61±3,61 a	44,26±5,69 a, b, c	44,65±4,45 a, b, c	43,59±4,25 a, b, c
132h	-	40,79±3,36 a, b, c	40,48±0,84 a, b, c	39,81±1,64 b, c	40,78±3,15 a, b, c	37,59±3,16 c	44,13±4,33 a	43,02±4,22 a, b	41,94±5,98 a, b	43,08±4,19 a, b
144h	-	-	-	-	35,52±3,54 a, b	35,52±2,69 c	33,57±4,88 b, c	33,95±3,17 b, c	38,00±1,67 a	35,10±2,21 a, b

Para cada coluna (tratamento), valores das médias seguidos pela mesma letra minúscula não foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan (taxa global de erro $\alpha = 0.05$).

Em todos os grupos, a mudança de segundo para terceiro estágio ocorreu em 48 horas de desenvolvimento. O início do estágio de pré - pupa aconteceu com um dia de antecedência no grupo controle (84h), em relação aos grupos tratados (108h), independente da droga e concentração, o que sugere que essa interferência no tempo total de desenvolvimento ocorra apenas na segunda metade do estágio larval, como apresentado na Tabela 8.

A Tabela 8 também mostra a porcentagem de larvas que concluíram os estágios larvais, chegando ao estágio de pupa e a proporção de machos e fêmeas observada.

Tabela 8: Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) submetidas à diferentes concentrações de metilfenidato e fenobarbital em relação ao grupo controle.

Parâmetros	Viabilidade larval	Viabilidade de adultos	Machos	Fêmeas	1º estágio larval (h)	2º estágio larval (h)	3º estágio larval (h)	Pré - pupa	Intervalo de emergência	Total: larva + pupa
Controle	133 (88%)	132 (99,2%)	69 (52,27%)	63(47,73%)	6	42	36	36	96±12	216
10 x DT	132 (88%)	127 (96,2%)	66 (51,97%)	61 (48,03%)	6	42	60	24	96±12	228
50 x DT	118 (78%)	111 (94%)	48 (43,24%)	63 (56,76%)	6	42	60	24	96±12	228
100 x DT	126 (84%)	109 (86,5%)	54 (49,54%)	55 (50,46%)	6	42	60	24	96±12	228
1 x DT	110 (73%)	97 (88,1%)	48 (49,48%)	49 (50,52%)	6	42	60	36	96±12	240
3,3 x DT	112 (74%)	104 (92,8%)	54 (48,21%)	50 (51,79%)	6	42	60	36	96±12	240
6,7 x DT	89 (59%)	79 (88,7%)	34 (38,20%)	45 (61,80%)	6	42	60	36	96±12	240
10 + 1	139 (92%)	120 (86,3%)	56 (46,66%)	64 (53,34%)	6	42	60	36	96±12	240
50 + 3,3	92 (61%)	69 (75%)	39 (56,52%)	30 (43,47%)	6	42	60	36	96±12	240
100 + 6,7	120 (80%)	82 (68,3%)	45 (54,88%)	37 (45,12%)	6	42	60	36	96±12	240

A proporção esperada da razão sexual, com aproximadamente metade dos adultos machos e metade fêmeas, parece ocorrer em todos os grupos de tratamentos, com uma diferença apenas em 6,7 x DT de fenobarbital, onde o número de fêmeas foi um pouco maior, porém, não significativo segundo o teste Qui-Quadrado. A viabilidade larval também foi aproximada em todos os tratamentos e controle, exceto em alguns grupos de fenobarbital, nos quais a viabilidade foi menor que 75%. O intervalo de emergência não foi afetado pelas drogas.

As médias finais dos pesos dos imaturos submetidos ao cloridrato de metilfenidato foram mais próximas à média do controle que as médias dos grupos submetidos ao fenobarbital, que, aparentemente, tiveram médias menores em todos os períodos do desenvolvimento, o que sugere que, além de retardar o desenvolvimento, é possível que essa droga possa também alterar a quantidade do alimento assimilado pelas larvas ou alterar o seu metabolismo, ou ainda influenciar hormônios que possam causar esse estresse metabólico.

***Chrysomya megacephala* (Fabricius)**

Para essa espécie, as drogas não interferiram no tempo de desenvolvimento até pupa, sendo de 120 horas em todos os grupos, como mostra a Figura 7 (valores dos pesos são apresentados no Anexo 5). As análises estatísticas não apontaram diferenças significativas ($F=1,68$; $p=0,08$), mas muitos pontos foram evidenciados pelo teste de Duncan, como mostra a Tabela 9.

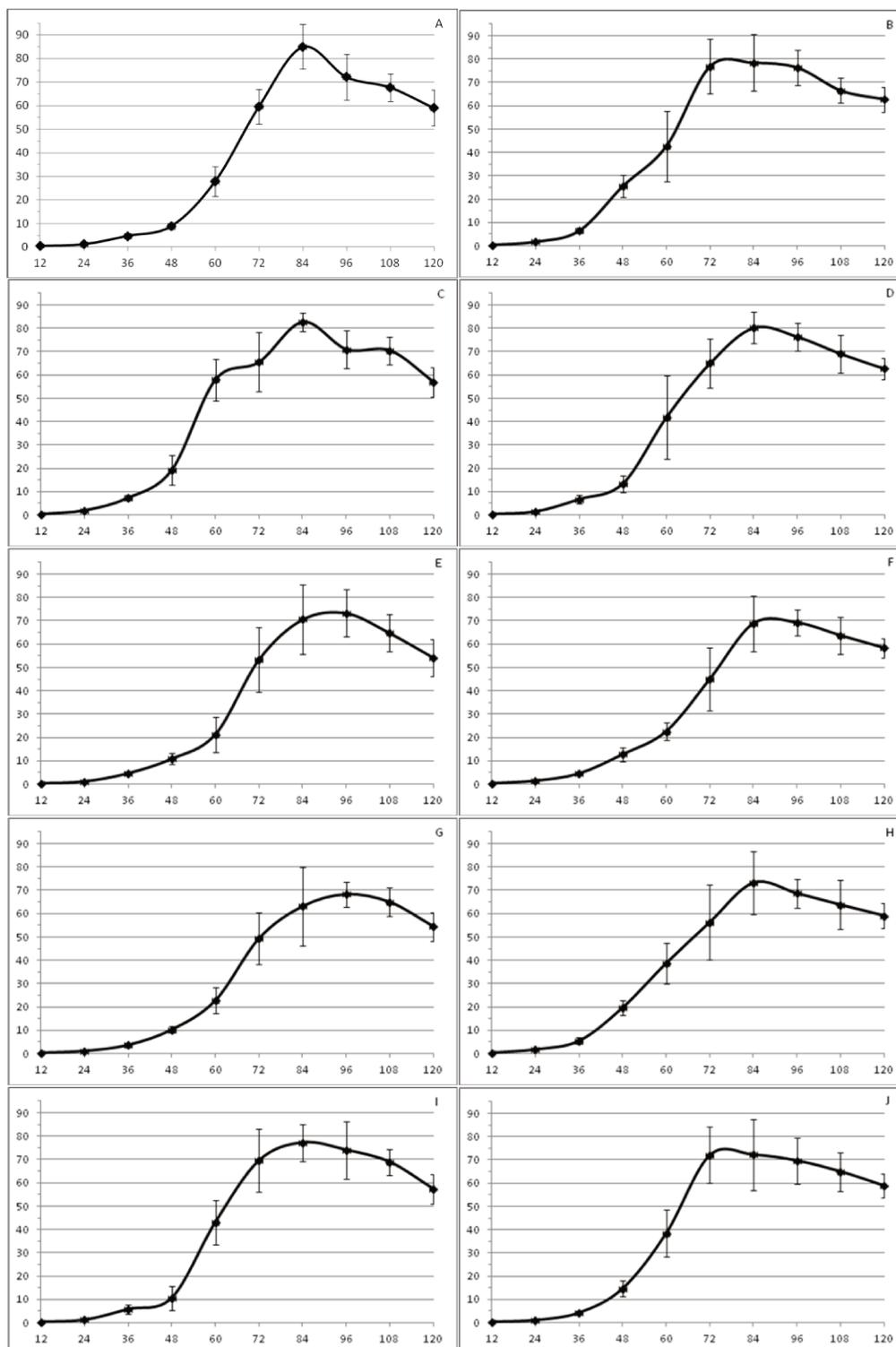


Figura 7: Curvas de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital [A- controle; B-10xDT(CM); C-50xDT(CM); D-100xDT(CM); E-1xDT(FB); F-3,3xDT(FB); G-6,7xDT(FB); H-10xDT+1xDT; I-50xDT+3,3xDT; J-100xDT+6,7xDT].

Tabela 9. Médias dos pesos ($\bar{x} \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.

C. <i>megacephala</i>	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT	1 x DT	3,3 x DT	6,7 x DT	1 + 10	3,3 + 50	6,7 + 100
12h	0,36±0,60 a, b	0,38±0,06 a, b	0,36±0,42 a, b	0,38±0,26 a, b	0,36±0,57 a, b	0,30±0,23 b	0,33±0,72 a, b	0,37±0,49 a, b	0,42±0,81 a	0,41±0,57 a, b
24h	1,11±0,14 d	1,70±0,46 a, b, c	1,93±0,68 a	1,45±0,48 b, c, d	1,13±0,17 d	1,40±0,35 c, d	1,11±0,25 d	1,80±0,36 a, b	1,25±0,35 d	1,11±0,26 d
36h	4,64±1,15 d, e, f	6,42±1,16 a, b	7,30±1,10 a	6,76±1,88 a, b	4,64±0,87 d, e, f	4,46±0,79 e, f	3,66±0,96 f	5,44±1,41 c, d, e	5,82±2,13 b, c, d	4,29±0,68 e, f
48h	8,80±1,25 e	25,54±4,81 a	19,25±6,42 b	13,48±3,59 c, d	10,85±2,33 d, e	12,72±3,03 c, d	10,26±1,39 d, e	19,65±2,97 b	10,68±5,11 d, e	14,68±3,19 c
60h	27,84±6,27 c	42,79±15,03 b	57,91±9,06 a	41,94±17,86 b	21,34±7,55 c	22,60±3,68 c	22,76±5,53 c	38,70±8,56 b	43,05±9,68 b	38,41±10,00 b
72h	59,59±7,31 b, c, d	76,89±11,72 a	65,49±12,76 a, b, c	65,08±10,60 a, b, c	53,43±13,96 c, d, e	45,04±13,37 e	49,35±11,21 d, e	56,26±16,00 c, d, e	69,46±13,53 a, b	71,97±12,07 a, b
84h	84,92±9,52 a	78,34±12,10 a, b, c	82,67±4,10 a, b	80,28±6,66 a, b, c	70,56±14,85 b, c, d	68,83±11,94 c, d	63,10±16,94 d	73,16±13,63 a, b, c, d	77,14±7,87 a, b, c, d	72,19±15,14 b, c, d
96h	72,17±9,74 a, b	76,25±7,60 a, b	70,92±8,28 a, b	76,39±5,93 a, b	73,24±10,17 a, b	69,16±5,68 b	68,23±5,23 b	68,61±6,06 b	73,96±12,19 a	69,65±9,94 a, b
120h	58,96±7,59 a	62,68±5,24 a, b, c	56,97±6,40 a, b, c	62,66±4,72 a, b, c	54,13±8,05 c, d	58,30±4,19 a, b, c	54,41±6,18 d	59,05±5,47 a, b, c	57,22±6,29 a, b	58,83±5,16 a, b, c

Para cada coluna (tratamento), valores das médias seguidos pela mesma letra minúscula não foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan (taxa global de erro $\alpha = 0.05$).

Não houve diferença na mudança do segundo para o terceiro estágio larval entre o grupo controle e os grupos submetidos ao cloridrato de metilfenidato (48h), assim como para o início do estágio de pré - pupa (96h). Já para os grupos submetidos ao fenobarbital e a associação entre as duas drogas, o atraso até o terceiro estágio foi de 12 horas em todos os tratamentos, de segundo para terceiro em 60 horas e de terceiro para pré-pupa em 108 horas, o que sugere que mesmo não alterando o tempo total de desenvolvimento dessa espécie, o fenobarbital interfere no metabolismo do imaturo durante seu desenvolvimento.

São descritos vários casos em que a droga, mesmo não alterando a média da massa ao final e também o tempo total do desenvolvimento, influencia de algum modo durante o estágio larval. Kharbouche e colaboradores (2008) testaram diferentes concentrações de codeína adicionadas a fígado suíno, oferecido como substrato para o desenvolvimento de *Lucilia sericata*. O tempo total de desenvolvimento dos grupos com a droga foi igual. Porém, entre 48 e 96 horas desenvolveram-se mais rapidamente que o controle. Essa mesma espécie também não teve seu tempo total de desenvolvimento alterado por concentrações de metadona, mas altas dosagens dessa substância retardam o ganho de massa larval (Gosselin *et al.*, 2011).

A Tabela 10 mostra a porcentagem de larvas que concluíram os estágios larvais, chegando ao estágio de pupa e a proporção observada de machos e fêmeas.

Tabela 10: Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) submetidas à diferentes concentrações de metilfenidato e fenobarbital em relação ao grupo controle.

Parâmetros	Viabilidade larval	Viabilidade de adultos	Machos	Fêmeas	1º estágio larval (h)	2º estágio larval (h)	3º estágio larval (h)	Pré - pupa	Intervalo de emergência	Total: larva + pupa
Controle	127 (85%)	125 (98,4%)	62 (49,6%)	63 (50,4%)	6	42	48	24	120±12	240
10 x DT	131 (87%)	129 (98,4%)	63 (48,83%)	66 (51,17%)	6	42	48	24	120±12	240
50 x DT	138 (92%)	129 (93,4%)	67 (51,93%)	62 (48,07%)	6	42	48	24	120±12	240
100 x DT	133 (88%)	122 (91,7%)	59 (48,36%)	63 (51,64%)	6	42	48	24	120±12	240
1 x DT	137 (91%)	127 (92,7%)	67 (52,75%)	60 (47,25%)	6	54	48	12	120±12	240
3,3 x DT	142 (95%)	136 (95,7%)	70 (51,47%)	66 (48,53%)	6	54	48	12	120±12	240
6,7 x DT	133 (88%)	123 (92,4%)	70 (56,91%)	53 (43,09%)	6	54	48	12	120±12	240
10 + 1	140 (93%)	134 (95,7%)	68 (50,75%)	66 (49,25%)	6	54	36	24	120±12	240
50 + 3,3	124 (83%)	113 (91,1%)	55 (48,67%)	58 (51,33%)	6	54	36	24	120±12	240
100 + 6,7	141 (94%)	132 (93,6%)	66 (50%)	66 (50%)	6	54	36	24	120±12	240

A proporção esperada da razão sexual, com aproximadamente metade dos adultos machos e metade fêmeas, parece ocorrer em todos os grupos de tratamentos, com uma diferença apenas em 6,7 x DT de fenobarbital, em que o número de machos foi um pouco maior, porém, não significativo. A viabilidade larval também foi aproximada em todos os tratamentos e controle, e o intervalo de emergência não foi afetado pela droga.

***Chrysomya albiceps* (Wiedemann)**

As drogas interferiram no tempo total de desenvolvimento da espécie, sendo que o cloridrato de metilfenidato retardou em 24 horas e o fenobarbital em 12 horas. A associação das duas drogas também retardou em 12 horas, o que sugere que o fenobarbital tenha inibido, de alguma forma, a interferência causada pelo cloridrato de metilfenidato. As curvas do desenvolvimento são apresentadas na Figura 8. As análises estatísticas apontaram grande diferença significativa entre as médias dos pesos dos grupos tratados com diferentes concentrações das substâncias testadas ($F=109,21$; $p=0,0001$), e muitos pontos foram apontados pelo teste de Duncan, como mostra a Tabela 11. Os valores dos pesos são apresentados no Anexo 6.

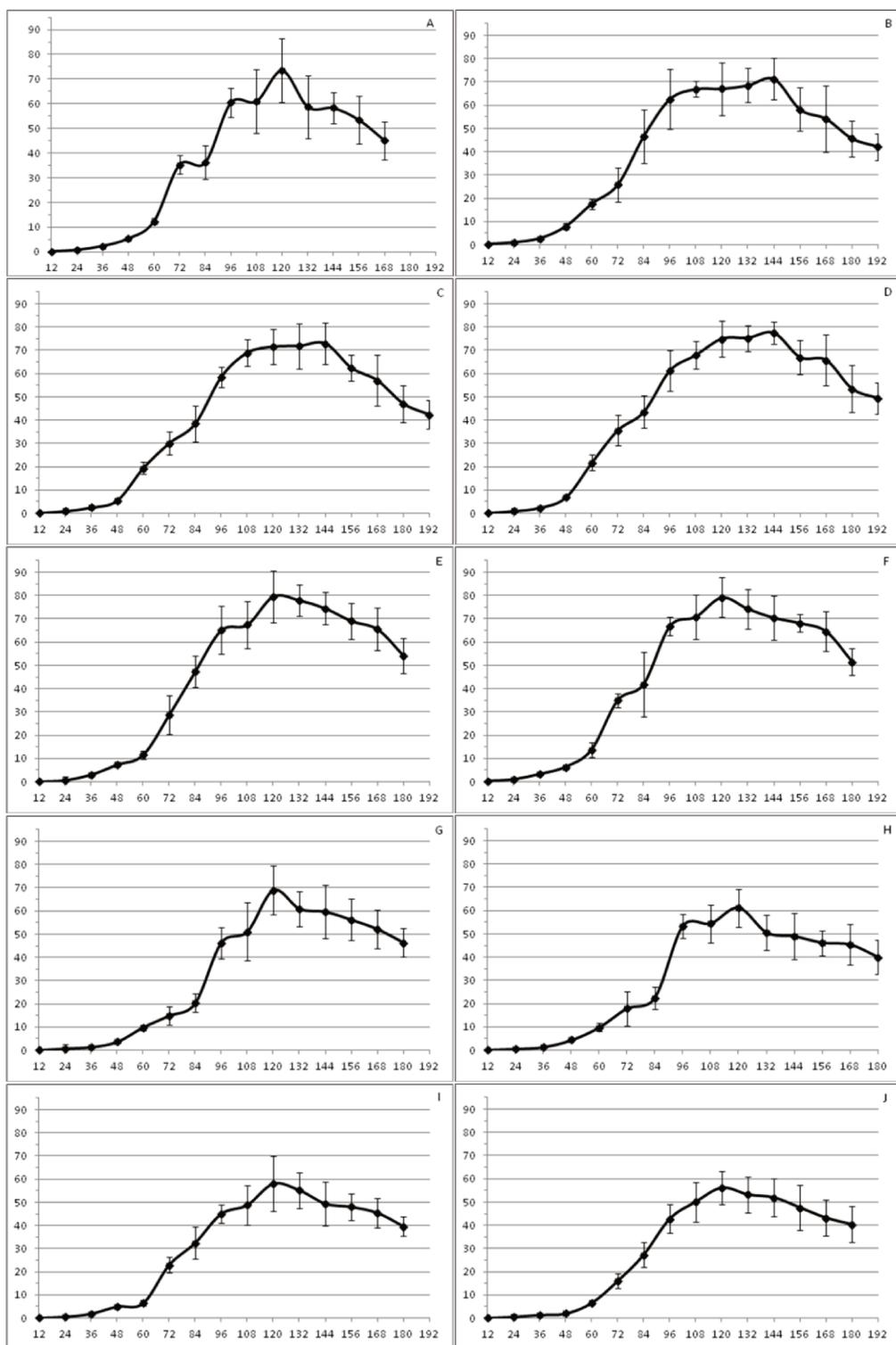


Figura 8: Curvas de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) criados em dieta artificial acrescida de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital [A- controle; B-10xDT(CM); C-50xDT(CM); D-100xDT(CM); E-1xDT(FB); F-3,3xDT(FB); G-6,7xDT(FB); H-10xDT+1xDT; I-50xDT+3,3xDT; J-100xDT+6,7xDT].

Tabela 11. Médias dos pesos ($x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) nos pontos em que foram observadas diferenças entre os tratamentos.

C.	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT	1 x DT	3,3 x DT	6,7 x DT	1 + 10	3,3 + 50	6,7 + 100
<i>albiceps</i>										
12h	0,26±0,26 a	0,25±0,06 a, b	0,21±0,12 b, c	0,16±0,15 d, e	0,21±0,21 c	0,26±0,29 a	0,14±0,20 e	0,20±0,35 c	0,19±0,30 c, d	0,22±0,21 a, b, c
24h	0,86±0,61 a, b, c, d	0,96±0,92 a, b	1,01±1,21 a	0,98±1,32 a, b	0,79±1,55 b, c, d	0,91±0,21 a, b, c	0,78±1,82 b, c, d	0,65±0,56 d	0,66±0,95 d	0,73±1,04 c, d
36h	2,42±0,59 d, c	2,69±0,56 b, c	2,54±0,69 c	2,40±0,51 d, c	3,15±0,80 a, b	3,21±0,48 a	1,38±0,35 f	1,40±0,32 f	1,99±0,48 d, e	1,55±0,36 f, e
48h	5,43±0,92 e	7,82±1,43 a	5,55±0,87 d, e	6,79±0,63 b, c	7,43±0,97 a, b	6,27±1,03 d, c	3,62±0,59 g	4,42±0,40 f	5,06±0,85 e, f	2,13±0,55 h
60h	12,34±1,23 c, d	17,58±2,15 b	19,42±2,73 b	21,67±3,40 a	11,61±1,77 d, e	13,74±3,24 c	9,89±1,21 e	9,83±1,70 e	6,45±1,13 f	6,67±0,92 f
72h	35,38±3,69 a	25,79±7,25 c, d	30,13±4,96 b, c	35,62±6,61 a	28,72±8,21 c	34,93±2,83 a, b	14,90±3,85 e	18,03±7,35 e	22,96±3,34 d	16,12±3,15 e
84h	36,23±6,72 b, c	46,71±11,49 a	38,47±7,65 b, c	43,51±6,91 a, b	47,24±6,75 a	41,97±13,92 a, b	20,29±4,00 e	22,59±4,73 e	32,49±6,87 c, d	27,36±5,27 d, e
108h	61,10±12,98 b, c	66,96±3,51 a, b	68,88±5,80 a, b	67,85±5,92 a, b	67,42±10,25 a, b	70,85±9,48 a	51,10±12,61 d	54,39±8,02 c, d	48,78±8,53 d	50,07±8,52 d
120h	73,50±12,89 a, b	67,09±11,29 b, c, d	71,50±7,45 a, b	74,90±7,65 a, b	79,56±11,06 a	79,18±8,47 a	68,96±10,65 b, c	61,15±8,20 c, d, e	57,96±11,88 d, e	56,04±7,01 e
132h	58,82±12,75 c	68,56±7,34 b	71,84±9,77 a, b	75,26±5,57 a, b	77,91±6,70 a	74,23±8,56 a, b	60,95±7,50 c	50,55±7,64 d	55,14±7,84 c, d	53,15±7,59 c, d
156h	53,47±9,70 c, d	58,20±9,36 b, c	62,41±5,70 a, b	66,92±7,27 a	69,04±7,60 a	68,11±3,85 a	56,20±8,97 b, c	46,18±5,34 d	47,98±5,56 d	47,53±9,84 d
168h	45,09±7,62 c, d	54,19±14,21 b, c	57,08±11,03 a, b	65,75±10,85 a	65,49±9,11 a	64,56±8,64 a	52,17±8,25 b, c, d	45,40±8,85 c, d	45,36±6,23 c, d	43,19±7,79 d
180h	-	45,66±7,67 c, d, e	47,11±7,94 b, c, d	53,47±9,96 a, b	54,18±7,47 a	51,51±5,59 a, b, c	46,36±6,15 c, d, e	40,04±7,27 d, e	39,58±4,15 e	40,37±7,74 d, e

Para cada coluna (tratamento), valores das médias seguidos pela mesma letra minúscula não foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan (taxa global de erro $\alpha = 0.05$).

O tempo de desenvolvimento dos imaturos submetidos à mesma droga foi o mesmo, 192 horas para metilfenidato, 180 horas para fenobarbital e 180 horas para os grupos submetidos à associação, independente das concentrações. A mudança do segundo para o terceiro estágio larval aconteceu em 60 horas e a mudança do terceiro para pré - pupa em 132 horas para o grupo controle, tratados com fenobarbital e associação dos fármacos. Já nos grupos tratados com metilfenidato, essa mudança de estágio ocorreu em 72 horas, 12 horas depois que o controle, o que sugere que a influência dessa droga no tempo total do desenvolvimento já começa nas primeiras horas do desenvolvimento. Em um estudo com larvas de *Boettcherisca pererina* (Robineau-Desvoidy, 1830) criadas em fígados de coelhos submetidos à heroína, observou-se que a influência da substância no desenvolvimento ocorreu desde o início do desenvolvimento, sendo as larvas maiores que as do controle desde as primeiras horas (Goff *et al.*, 1990).

A Tabela 12 mostra a porcentagem de larvas que concluíram os estágios larvais, chegando ao estágio de pupa e a emergência de adultos.

Tabela 12: Taxas de viabilidade larval e de adultos (%), intervalo de emergência (h) e duração média de cada estágio de desenvolvimento (h) de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) submetidas à diferentes concentrações de metilfenidato e fenobarbital em relação ao grupo controle.

Parâmetros	Viabilidade larval	Viabilidade de adultos	1º estágio larval (h)	2º estágio larval (h)	3º estágio larval (h)	Pré - pupa	Intervalo de emergência	Total: larva + pupa
Controle	130 (86%)	120 (92,3%)	6	54	72	36	120±12	288
10 x DT	139 (92%)	126 (90,6%)	6	66	84	36	120±12	312
50 x DT	124 (82%)	104 (83,8%)	6	66	84	36	120±12	312
100 x DT	132 (88%)	104 (78,7%)	6	66	84	36	120±12	312
1 x DT	139 (92%)	110 (79,1%)	6	54	72	48	120±12	300
3,3 x DT	139 (92%)	121 (87%)	6	54	72	48	120±12	300
6,7 x DT	104 (69%)	91 (87,5%)	6	54	72	48	120±12	300
10 + 1	132 (88%)	122 (92,4%)	6	54	72	48	120±12	300
50 + 3,3	128 (85%)	117 (91,4%)	6	54	72	48	120±12	300
100 + 6,7	132 (88%)	122 (92,4%)	6	54	72	48	120±12	300

A viabilidade larval também foi aproximada em todos os tratamentos e controle, tendo apenas um tratamento (6,7 x DT fenobarbital) com o número de larvas chegando à pupa, menor que 75%, porém, não significativo segundo o teste Qui-Quadrado. O intervalo de emergência não foi afetado pelas drogas, individualizadas ou associadas. Nesse experimento, não houve a pesquisa de razão sexual, visto que essa espécie é monogênica.

As duas substâncias estudadas interferiram de maneiras distintas no desenvolvimento das espécies estudadas: apenas em pontos isolados durante o estágio de larva, em *Chrysomya megacephala*, em 12h ou 24 horas, em *Chrysomya putoria*, ou em até dois dias no tempo desse desenvolvimento, em *Chrysomya albiceps*. A presença dessas drogas em um corpo em decomposição utilizado como substrato para criação de insetos necrófagos, se não detectada, pode gerar um erro na estimativa do intervalo pós-morte. Por isso, é fundamental a realização de exames toxicológicos, tanto no cadáver como nos imaturos encontrados no local da perícia, para que, junto aos dados da necropsia e do local, essas informações possam auxiliar na investigação, evitando erros e subestimativas no cálculo do IPM.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. Washington: Am Psychiatric Assoc, 4 ed., 1994. 886 p.
- ANDRADE, E.R.; SCHEUER, S. Análise da eficácia do metilfenidato usando a versão abreviada do questionário de conners em transtorno de déficit de atenção/hiperatividade. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, n.1, v.62, 2004.
- ARCHER, M. S.; ELGAR, M. A.; BRIGGS, C. A.; RANSON, D.L. Fly pupae and puparia as potential contaminants of forensic entomology samples from sites of body discovery. **International Journal of Legal Medicine**. n.120, p.364–368, 2006.
- BEYER, J. C., ENOS, W. F., AND STAJIG M. Drug identification through analysis of maggots. **Journal of Forensic Sciences**. n.2, v.25, p.411-412, 1980.
- BOUREL, B.; HÉDOUIN, V.; MARTIN-BOUYER, L.; BÉCART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; GOSSET, D. Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Forensic Sciences**, n.2, v.44, p.354-358, 1998.
- BRODIE, M. J.; KWAN, P. Phenobarbital: a drug for the 21st century? **Epilepsy & Behavior**. n.5, p.802–803, 2004.
- BUCHALLA, A. P. Ritalina, usos e abusos - O remédio para hiperativos ganha adeptos entre executivos, estudantes e moças que querem emagrecer. **Revista Veja**. [on line]. São Paulo: Editora Abril, ano 37, n.43, edição 1877, 27 de outubro e 2004. Disponível na internet: <http://veja.abril.com.br/271004/p_068.html>
- CAMPOBASSO, C. P.; GHERARDI, M.; CALIGARA, M.; SIRONI, L.; INTRONA, F. Drug analysis in blowfly larvae and in human tissues: a comparative study. **International Journal of Legal Medicine**, n.118, p.210–214, 2004.
- CARMO FILHO, W.B. Uso do Metilfenidato no transtorno do déficit de atenção. **Infanto – Revista de Neuropsiquiatria da Infância e Adolescência**, n.6, v.2, p.62-64, 1998.
- CARVALHO, L.M.L.; LINHARES, A.X., TRIGO, J.R. Determination of drug levels and the effect of diazepam[®] on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil. **Forensic Science International**, n.120, p.140–144, 2001.
- CARVALHO, L.M.L.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X.; PALHARES, F.B. A checklist of arthropods associated with carrion and human corpses in southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n.95, p.135-138, 2000.

- CATTS, E.P. & HASKELL, N.H. **Entomology and death: a procedural guide**. Clemson: Joyce's Print Shop, 1990. 180 p.
- CATTS, E.P.; GOFF, M.L. Forensic entomology in criminal investigations. **Annual Review of Entomology**, n.37, p.253-272, 1992.
- COETZEE, M.; KAMINER, Y.; MORALES, A. Megadose Intranasal Methylphenidate (Ritalin) Abuse in Adult Attention Deficit Hyperactivity Disorder. **Substance Abuse**, n.3, v.23, p.165-16, 2002.
- ERZINÇLIOĞLU, Z. Forensic entomology. **Clinical Medicine**, n. 1, v.3, p.74–76, 2003.
- ESTRADA, D.A.S. **Avaliação da taxa de desenvolvimento de três espécies de Califorídeos (DIPTERA) de importância forense sob o efeito de dois barbitúricos**. 2008, 82f. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- ESTRADA, D. A. S.; GRELLA, M. D.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X. Taxa de Desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em dieta artificial acrescida de tecido animal para uso forense. **Neotropical Entomology**, n.2, v.38, p.203-207, 2009.
- FERRARI, A. C.; SOARES, A. T. C.; GUIMARÃES, M. A.; THYSSEN, P. J. Efeito da testosterona no desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). **Medicina (Ribeirão Preto)**, n.41, v.1, p.30-34, 2008.
- FERREIRA, M.J.M. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba, Paraná. I. Calliphoridae. **Revista Brasileira de Biologia**, n.38, p.445-454, 1978.
- HALL, S. S. A busca da pílula da inteligência - Drogas que melhoram a memória e o desempenho cognitivo estão longe de ser aprovadas, mas suas implicações sociais já despertam debates acirrados. **Revista Scientific American Brasil**. [on line]. São Paulo: Duetto Editorial, n.2, n.17, edição 17, Outubro 2003. Disponível na internet: <http://www2.uol.com.br/sciam/reportagens/a_busca_da_pilula_da_inteligencia_6.html>
- GAGLIANO-CANDELA, R.; AVENTAGGIATO, L.. The detection of toxic substances in entomological specimens. **International Journal of Legal Medicine**, n.114, p.197–203, 2001.
- 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 - Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz. 2002. 920p.

- GOFF, M. L.; BROWN, W. A.; HEWADIKARAM, K.A.; OMORIM, A. I. Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrine* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on estimation of postmortem intervals using arthropod development patterns. **Journal of Forensic Sciences**. n.2, v.36. p.537-542, 1991.
- GOSSELIN, M.; DIFAZIO, V.; WILLE, S. M. R.; FERNANDEZ, M. M. R.; SAMYN, N.; BOUREL, B.; RASMONT, P. Methadone determination in puparia and its effect on the development of *Lucilia sericata* (Diptera, Calliphoridae). **Forensic Science International**. n.209, p.154-159, 2011.
- GREENBERG, B. 2002. **Problems in estimating the time of death**. In: GREENBERG, B.; KUNICH, J.C. **Entomology and the law: flies as forensic indicators**. Cambridge: University Press. 2002. 356p.
- GUERREIRO, M. M.; MONTENEGRO, M. A., PIVA, R. T.; MOURA-RIBEIRO, M. V. L. Distúrbio do déficit de atenção – tratamento com metilfenidato. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. n.54, v.1, p.25-29, 1996.
- HANSKI, I. Biogeography and ecology of carrion flies in the Canary Islands. **Annual Entomology Fenn**, n.43, p.101-107, 1977.
- INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C.P.; GOFF, M.L. Entomotoxicology. **Forensic Science International**, n.120, p.42-47, 2001.
- KHARBOUCHE, H.; AUGSBURGER, M.; CHERIX, D.; SPORKERT, F.; GIROUD, C.; WYSS, C.; CHAMPOD, C.; MANGIN, P. Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. **International Journal of Legal Medicine**. n.122, p.205–211, 2008.
- KINTZ, P., GODELAR, B., TRACQUI, A., MANGIN, P., LUGNIER, A. A., CHAUMONT, A. J., Fly Larvae: A New Toxicological Method of Investigation in Forensic Medicine. **Journal of Forensic Sciences**, n.1, v.35, p.204-207, 1990.
- LOUZÃ, M. R.; MATTOS, P. Questões atuais no tratamento farmacológico do TDAH em adultos com metilfenidato. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**. [on line]. v.56. Rio de Janeiro: 2007. Disponível na internet: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0047-20852007000500012>> issn 0047-2085.
- MATTOS, P. **No mundo da Lua. Perguntas e respostas sobre TDAH em crianças, adolescentes e adultos**. São Paulo: Lemos Editorial. 4 ed., 2004. 167p.
- MONTEIRO-FILHO E.L.A.; PENEREIRO, J.L. Estudo da decomposição e sucessão sobre uma carcaça animal numa área do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Biologia**, n.47, p.289-295, 1987.

- MONTHEI, D. R. **Entomotoxicological and Thermal Factors Affecting the Development of Forensically Important Flies**. 2009, 122f. Dissertation submitted to the Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University for the degree of Doctor of Philosophy in Entomology, Blacksburg, 2009.
- MORETTI, T.C.; THYSSEN, P.J.; SOLIS, D.R. Breeding of the Scuttle Fly *Megaselia scalaris* in a fish Carcass and Implications for the use in Forensic Entomology (Diptera: Phoridae). **Entomol. Gen.**, n.31, p. 349-353, 2009.
- O'BRIEN, C.; TURNER, B.. Impact of paracetamol on *Calliphora vicina* larval development. **International Journal of Legal Medicine**, n.118, p.188–189, 2004.
- OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios**. Campinas: Ed. Millenium, 2 ed., 2007. 456p.
- OLIVEIRA, H. G.; GOMES, G.; MORLIN-JR, J. J.; ZUBEN, C. J. V.; LINHARES, A. X. The effect of Buscopan[®] on the development of the blow fly *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Forensic Science**, n.1, v.54, p.202-206, 2009.
- ONU: INTERNATIONAL NARCOTICS CONTROL BOARD. **Psychotropic substances: statistics for 2007**. [on line]. Disponível na internet: <http://www.incb.org/pdf/technical-reports/psychotropics/2008/psy_2008.pdf> issn 0253-9403.
- ORTEGA,F.; BARROS, D., CALIMAN, L.; ITABORAHY, C.; JUNQUEIRA, L.; FERREIRA, C. P. A ritalina no Brasil: produções, discursos e práticas. **Interface - Comunicação, Saúde, Educação**. n.34, v.14, p.499-510, 2010.
- PEREIRA, A. C. C. I., DEL BEL, E. Metilfenidato - principal tratamento para o Déficit de Atenção e Hiperatividade: características neuroquímicas e seus efeitos em modelos experimentais. **Neurobiologia**, n.73, v.2, p.127-132, 2010.
- PIEN, K., LALOUP, M., PIPELEERS-MARICHAL, M., GROOTAERT, P., BOECK, G.D., SAMYN, N., BOONEN, T., VITS, K.; WOOD, M. Toxicological data and growth characteristics of single post-feeding larvae and puparia of *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) obtained from a controlled nordiazepam study. **International Journal of Legal Medicine**, n.118, p.190-193, 2004.
- PUJOL-LUZ, J.R.; ARANTES, L.C.; CONSTANTINO, R. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1938-2008). **Revista Brasileira de Entomologia**, n.52, p.485-492, 2008.
- QUEIROZ, M. M. C. Algumas características do comportamento reprodutivo e observações preliminares sobre o horário de oviposição de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**, n.40, p.133-136, 1996.
- REIN, A. G. N. Tratamiento de La epilepsia. **Medicine**. n.9, v.75, p.4820-4829, 2007.

- ROHDE, L.A.; BIEDERMAN, J.; BUSNELLO, E.A.; ZIMMERMANN, H; SCHMITZ, M.; MARTINS, S. ADHD in a school sample of Brazilian adolescents: a study of prevalence, comorbid conditions and impairments. **Journal of Amer Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, n.38, p.716-722, 1999.
- SADLER, D. W.; FUKER, C.; COURT, F.; POUNDER, D. J. Drug accumulation and elimination in *Calliphora vicina* larvae. **Forensic Science International**, n.71, p.191-197, 1995.
- SAS Institute. 2008. PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- SCHMIDT, D. **Drug Trial in Epilepsy. A physician's guide**. London: Martin Dunitz, 1 ed., 1998. 136p.
- SKOPP, G. Preanalytic aspects in postmortem toxicology. **Forensic Science International**, n. 142, p.75-100, 2004.
- SMITH, M.L. **Ethical considerations in the treatment of epilepsy**. In: WYLLIE, E. **Epilepsy: Principles and Practice**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1 ed., 1993. 1247p.
- SOUZA, C. M.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A.X. Effect of Nandrolone Decanoate on the Development of Three Species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae), Flies of Forensic Importance in Brazil. **Journal of Medical Entomology**. n.48, v.1, p.111-117, 2011.
- THYSSEN, P. J.; GRELLA, M. D. Efeito da escopolamina sobre o desenvolvimento de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) e sua importância para a estimativa do intervalo pós-morte. **Revista Brasileira de Criminalística**. n.1, v.1, p.39-42, 2011.
- TRACQUI, A; KEYSER-TRACQUI, C.; KINTZ, P.; LUDES; B. Entomotoxicology for the forensic toxicologist: much ado about nothing? **International Journal of Legal Medicine**, n.118, p.194-196, 2004.
- ULLYETT, G.C. Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. **Philosophical Transactions Royal Society**, n.234, p.77-174, 1950.
- U.S. DEPARTMENT OF JUSTICE - Drug Enforcement Administration. 1995. Death from Ritalin, the Truth behind ADHD. Disponível na internet: <<http://www.ritalindeath.com/>> acessado em 16 de março de 2010.
- VANLAERHOVEN, S. L. Blind validation of postmortem interval estimates using developmental rates of blow flies. **Forensic Science International**, n.180, p.76-80, 2008.
- WELLS, F. D.; KURAHASHI, H.. *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development: Rate, variation and the implications for forensic entomology. **Japanese Journal of Sanitary Zoology**, n.4, v.45, p.303-309, 1994.

W.H.O. - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Second Meeting of the Subcommittee of the Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines. **Essential Drugs for Common Psychiatric Disorders in Children.** Geneva, 29 Set. – 3 Out., 2008. 7f.

Anexo 1: Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas). Os valores grifados mostram o momento em que houve o maior ganho de massa em 12 horas.

Idade (h)	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
12	0,36 \pm 0,45	0,39 \pm 0,15	0,33 \pm 0,40	0,41 \pm 0,26
24	1,48 \pm 0,24	1,52 \pm 0,23	1,48 \pm 0,18	1,57 \pm 0,28
36	4,34 \pm 0,98	4,58 \pm 1,23	4,65 \pm 0,73	4,73 \pm 0,73
48	<u>12,18</u> \pm 3,26 ^a	<u>10,78</u> \pm 3,75 ^a	<u>10,38</u> \pm 3,27 ^a	<u>12,31</u> \pm 2,26 ^a
60	<u>47,24</u> \pm 5,20	<u>36,72</u> \pm 3,86	<u>34,86</u> \pm 5,82	<u>34,01</u> \pm 6,33
72	53,58 \pm 7,64*	47,34 \pm 4,35	45,54 \pm 6,03	45,43 \pm 5,34
84	51,99 \pm 2,82 ^b	49,04 \pm 3,64	56,58 \pm 2,91*	47,86 \pm 3,02
96	48,44 \pm 3,44	52,06 \pm 3,08*	49,54 \pm 5,14	50,68 \pm 5,70*
108	43,38 \pm 4,76	46,92 \pm 5,56 ^b	46,45 \pm 6,90 ^b	49,55 \pm 5,37 ^b
120	39,32 \pm 2,96 ^c	40,22 \pm 8,67	42,39 \pm 2,28	44,13 \pm 9,56
132	-	39,20 \pm 7,40 ^c	38,99 \pm 4,68 ^c	39,55 \pm 4,54 ^c

^a Fim do segundo estágio larval

^b Fim do terceiro estágio larval (pré-pupa)

^c Fim das pesagens (pupa)

*Maior massa corporal

Anexo 2: Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas). Os valores grifados mostram o momento em que houve o maior ganho de massa em 12 horas.

Idade (h)	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
12	0,27 \pm 0,80	0,57 \pm 1,65	0,45 \pm 1,21	0,50 \pm 0,57
24	1,36 \pm 0,46	2,04 \pm 0,96	1,36 \pm 0,29	1,28 \pm 0,21
36	4,90 \pm 1,28	6,63 \pm 1,33	6,00 \pm 0,95	4,95 \pm 0,94
48	13,61 \pm 2,72 ^a	13,01 \pm 3,56 ^a	<u>23,54\pm6,97^a</u>	18,05 \pm 4,33 ^a
60	<u>44,78\pm13,08</u>	40,72 \pm 13,56	<u>48,09\pm9,26</u>	<u>30,15\pm9,10</u>
72	<u>72,64\pm7,50</u>	<u>63,22\pm10,64</u>	71,76 \pm 7,73	<u>66,75\pm5,64</u>
84	80,03 \pm 18,65*	<u>91,74\pm10,71*</u>	75,61 \pm 7,58	79,55 \pm 8,18*
96	78,27 \pm 7,30 ^b	79,84 \pm 8,65	83,36 \pm 8,37 ^{b*}	78,72 \pm 10,43 ^b
108	82,06 \pm 10,00	77,69 \pm 7,50 ^b	72,25 \pm 10,70	77,96 \pm 7,99
120	72,68 \pm 5,58 ^c	70,53 \pm 7,93 ^c	70,39 \pm 5,17 ^c	68,66 \pm 6,88 ^c

^a Fim do segundo estágio larval

^b Fim do terceiro estágio larval (pré-pupa)

^c Fim das pesagens (pupa)

*Maior massa corporal

Anexo 3: Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas). Os valores grifados mostram o momento em que houve o maior ganho de massa em 12 horas.

Idade (h)	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT
12	0,13 \pm 0,06	0,09 \pm 0,12	0,09 \pm 0,46	0,13 \pm 0,26
24	0,48 \pm 0,53	0,48 \pm 0,50	0,46 \pm 0,10	0,49 \pm 0,96
36	1,30 \pm 0,28	1,77 \pm 0,57	1,20 \pm 0,22	1,38 \pm 0,24
48	2,53 \pm 0,63	2,46 \pm 0,91	3,06 \pm 0,65	2,44 \pm 0,66
60	5,73 \pm 1,35 ^a	5,60 \pm 1,10	5,84 \pm 1,09	4,41 \pm 1,24
72	9,85 \pm 2,22	9,40 \pm 1,03 ^a	11,06 \pm 1,64 ^a	9,64 \pm 0,86 ^a
84	29,63 \pm 3,59	16,51 \pm 3,15	21,78 \pm 4,47	13,88 \pm 2,17
96	53,51 \pm 6,64	30,49 \pm 8,89	29,42 \pm 8,16	22,23 \pm 5,23
108	43,41 \pm 9,86	<u>41,09\pm9,14</u>	<u>39,99\pm8,35</u>	<u>39,82\pm6,58</u>
120	<u>59,38\pm11,40</u>	<u>65,88\pm10,61</u>	<u>67,08\pm11,92</u>	<u>59,13\pm8,41</u>
132	<u>84,21\pm7,00*</u>	63,25 \pm 8,38	63,95 \pm 13,20	56,11 \pm 12,46
144	74,17 \pm 5,87 ^b	70,36 \pm 15,23	65,55 \pm 19,44	70,07 \pm 10,42
156	65,22 \pm 7,73	73,97 \pm 9,08*	75,43 \pm 7,03*	74,04 \pm 13,05*
168	73,32 \pm 9,51	72,67 \pm 3,99 ^b	69,36 \pm 8,52 ^b	66,33 \pm 9,34 ^b
180	54,13 \pm 6,10 ^c	60,92 \pm 5,28	62,73 \pm 8,31	60,89 \pm 8,48
192	-	62,91 \pm 14,44	57,68 \pm 12,30	70,28 \pm 9,78
204	-	47,22 \pm 5,31 ^c	55,07 \pm 5,03 ^c	52,76 \pm 4,24 ^c

^a Fim do segundo estágio larval

^b Fim do terceiro estágio larval (pré-pupa)

^c Fim das pesagens (pupa)

*Maior massa corporal

Anexo 4: Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas). Os valores grifados mostram o momento em que houve o maior ganho de massa em 12 horas.

Idade (h)	Cloridrato de Metilfenidato				Fenobarbital			Associação		
	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT	1 x DT	3,3 x DT	6,7 x DT	10 + 1	50 + 3,3	100 + 6,7
12	0,49 \pm 0,25	0,45 \pm 0,55	0,44 \pm 0,15	0,48 \pm 0,40	0,40 \pm 0,47	0,38 \pm 0,12	0,48 \pm 1,39	0,54 \pm 1,25	0,55 \pm 0,40	0,50 \pm 0,17
24	2,06 \pm 0,28	1,84 \pm 0,24	1,97 \pm 0,41	1,53 \pm 0,42	1,49 \pm 0,41	1,36 \pm 0,34	1,55 \pm 0,34	1,95 \pm 0,61	1,62 \pm 0,30	1,78 \pm 0,39
36	5,94 \pm 1,63	5,06 \pm 1,12	5,14 \pm 1,41	6,20 \pm 1,22	6,96 \pm 1,20	4,60 \pm 1,46	6,30 \pm 0,86	6,26 \pm 1,58	5,33 \pm 1,74	4,94 \pm 0,85
48	<u>22,02</u> \pm 2,61 ^a	<u>17,72</u> \pm 3,10 ^a	<u>16,32</u> \pm 1,84 ^a	<u>20,59</u> \pm 2,37 ^a	<u>19,22</u> \pm 2,88 ^a	<u>17,24</u> \pm 3,01 ^a	<u>19,83</u> \pm 2,15 ^a	<u>12,75</u> \pm 2,57 ^a	<u>17,63</u> \pm 2,94 ^a	<u>12,99</u> \pm 1,98 ^a
60	<u>45,79</u> \pm 2,37	<u>31,65</u> \pm 7,03	<u>35,01</u> \pm 6,22	<u>28,52</u> \pm 5,43	<u>28,63</u> \pm 6,08	<u>26,31</u> \pm 6,50	<u>35,33</u> \pm 2,62	<u>30,91</u> \pm 3,84	<u>28,84</u> \pm 3,50	<u>24,99</u> \pm 6,70
72	57,61 \pm 4,48*	<u>52,43</u> \pm 3,34	53,03 \pm 6,58	<u>54,36</u> \pm 6,49	<u>44,41</u> \pm 10,43	<u>47,78</u> \pm 3,84	43,30 \pm 6,26	36,53 \pm 3,14	<u>41,73</u> \pm 6,53	<u>43,90</u> \pm 6,29
84	53,78 \pm 4,65 ^b	53,54 \pm 7,51	54,74 \pm 3,33	50,89 \pm 6,55	44,43 \pm 6,10	45,93 \pm 5,98	47,58 \pm 3,06	47,75 \pm 4,70	49,16 \pm 3,47	47,07 \pm 3,17
96	53,63 \pm 3,78	57,14 \pm 4,39*	55,77 \pm 2,65*	55,37 \pm 5,05*	48,23 \pm 3,88*	50,00 \pm 3,10*	50,36 \pm 2,17*	53,38 \pm 2,81*	50,71 \pm 6,28*	48,93 \pm 3,78*
108	47,20 \pm 3,16	47,16 \pm 3,09 ^b	46,91 \pm 2,17 ^b	47,14 \pm 2,20 ^b	44,43 \pm 3,20 ^b	46,50 \pm 5,78 ^b	46,79 \pm 3,48 ^b	44,97 \pm 3,08 ^b	45,34 \pm 2,39 ^b	43,74 \pm 3,50 ^b
120	42,08 \pm 2,04 ^c	42,86 \pm 4,73	44,00 \pm 3,48	41,20 \pm 4,80	44,22 \pm 3,19	46,09 \pm 2,50	44,61 \pm 3,61	44,26 \pm 5,69	44,65 \pm 4,45	43,59 \pm 4,25
132	-	40,79 \pm 3,36 ^c	40,48 \pm 0,84 ^c	39,81 \pm 1,64 ^c	40,78 \pm 3,15	37,59 \pm 3,16	44,13 \pm 4,33	43,02 \pm 4,22	41,94 \pm 5,98	43,08 \pm 4,19
144	-	-	-	-	35,52 \pm 3,54 ^c	35,52 \pm 2,69 ^c	33,57 \pm 4,88 ^c	33,95 \pm 3,17 ^c	38,00 \pm 1,67 ^c	35,10 \pm 2,21 ^c

^a Fim do segundo estágio larval

^b Fim do terceiro estágio larval (pré-pupa)

^c Fim das pesagens (pupa)

*Maior massa corporal

Anexo 5: Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas). Os valores grifados mostram o momento em que houve o maior ganho de massa em 12 horas.

Idade (h)	Cloridrato de Metilfenidato				Fenobarbital			Associação		
	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT	1 x DT	3,3 x DT	6,7 x DT	10 + 1	50 + 3,3	100 + 6,7
12	0,36 \pm 0,60	0,38 \pm 0,06	0,36 \pm 0,42	0,38 \pm 0,26	0,36 \pm 0,57	0,30 \pm 0,23	0,33 \pm 0,72	0,37 \pm 0,49	0,42 \pm 0,81	0,41 \pm 0,57
24	1,11 \pm 0,14	1,70 \pm 0,46	1,93 \pm 0,68	1,45 \pm 0,48	1,13 \pm 0,17	1,40 \pm 0,35	1,11 \pm 0,25	1,80 \pm 0,36	1,25 \pm 0,35	1,11 \pm 0,26
36	4,64 \pm 1,15	6,42 \pm 1,16	7,30 \pm 1,10	6,76 \pm 1,88	4,64 \pm 0,87	4,46 \pm 0,79	3,66 \pm 0,96	5,44 \pm 1,41	5,82 \pm 2,13	4,29 \pm 0,68
48	8,80 \pm 1,25 ^a	25,54 \pm 4,81 ^a	19,25 \pm 6,42 ^a	13,48 \pm 3,59 ^a	10,85 \pm 2,33	12,72 \pm 3,03	10,26 \pm 1,39	19,65 \pm 2,97	10,68 \pm 5,11	14,68 \pm 3,19
60	27,84 \pm 6,27	42,79 \pm 15,03	57,91 \pm 9,06	41,94 \pm 17,86	21,34 \pm 7,55 ^a	22,60 \pm 3,68 ^a	22,76 \pm 5,53 ^a	38,70 \pm 8,56 ^a	43,05 \pm 9,68 ^a	38,41 \pm 10,00 ^a
72	59,59 \pm 7,31	76,89 \pm 11,72	65,49 \pm 12,76	65,08 \pm 10,60	53,43 \pm 13,96	45,04 \pm 13,37	49,35 \pm 11,21	56,26 \pm 16,00	69,46 \pm 13,53	71,97 \pm 12,07
84	84,92 \pm 9,52*	78,34 \pm 12,10*	82,67 \pm 4,10*	80,28 \pm 6,66*	70,56 \pm 14,85	68,83 \pm 11,94	63,10 \pm 16,94	73,16 \pm 13,63*	77,14 \pm 7,87*	72,19 \pm 15,14*
96	72,17 \pm 9,74 ^b	76,25 \pm 7,60 ^b	70,92 \pm 8,28 ^b	76,39 \pm 5,93 ^b	73,24 \pm 10,17*	69,16 \pm 5,68*	68,23 \pm 5,23*	68,61 \pm 6,06 ^b	73,96 \pm 12,19 ^b	69,65 \pm 9,94 ^b
108	67,72 \pm 5,83	66,43 \pm 5,37	70,46 \pm 5,89	69,02 \pm 8,05	64,65 \pm 7,94 ^b	63,61 \pm 7,83 ^b	64,88 \pm 6,16 ^b	63,70 \pm 10,47	68,76 \pm 5,44	64,94 \pm 8,38
120	58,96 \pm 7,59 ^c	62,68 \pm 5,24 ^c	56,97 \pm 6,40 ^c	62,66 \pm 4,72 ^c	54,13 \pm 8,05 ^c	58,30 \pm 4,19 ^c	54,41 \pm 6,18 ^c	59,05 \pm 5,47 ^c	57,22 \pm 6,29 ^c	58,83 \pm 5,16 ^c

^a Fim do segundo estágio larval

^b Fim do terceiro estágio larval (pré-pupa)

^c Fim das pesagens (pupa)

*Maior massa corporal

Anexo 6: Massa corporal (mg) (media de $x \pm DP$) de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato e fenobarbital, em relação ao tempo de desenvolvimento (horas). Os valores grifados mostram o momento em que houve o maior ganho de massa em 12 horas.

Idade (h)	Cloridrato de Metilfenidato				Fenobarbital			Associação		
	Controle	10 x DT	50 x DT	100 x DT	1 x DT	3,3 x DT	6,7 x DT	10 + 1	50 + 3,3	100 + 6,7
12	0,26 \pm 0,26	0,25 \pm 0,06	0,21 \pm 0,12	0,16 \pm 0,15	0,21 \pm 0,21	0,26 \pm 0,29	0,14 \pm 0,20	0,20 \pm 0,35	0,19 \pm 0,30	0,22 \pm 0,21
24	0,86 \pm 0,61	0,96 \pm 0,92	1,01 \pm 1,21	0,98 \pm 1,32	0,79 \pm 1,55	0,91 \pm 0,21	0,78 \pm 1,82	0,65 \pm 0,56	0,66 \pm 0,95	0,73 \pm 1,04
36	2,42 \pm 0,59	2,69 \pm 0,56	2,54 \pm 0,69	2,40 \pm 0,51	3,15 \pm 0,80	3,21 \pm 0,48	1,38 \pm 0,35	1,40 \pm 0,32	1,99 \pm 0,48	1,55 \pm 0,36
48	5,43 \pm 0,92	7,82 \pm 1,43	5,55 \pm 0,87	6,79 \pm 0,63	7,43 \pm 0,97	6,27 \pm 1,03	3,62 \pm 0,59	4,42 \pm 0,40	5,06 \pm 0,85	2,13 \pm 0,55
60	12,34 \pm 1,23 ^a	17,58 \pm 2,15	19,42 \pm 2,73	21,67 \pm 3,40	11,61 \pm 1,77 ^a	13,74 \pm 3,24 ^a	9,89 \pm 1,21 ^a	9,83 \pm 1,70 ^a	6,45 \pm 1,13 ^a	6,67 \pm 0,92 ^a
72	35,38 \pm 3,69	25,79 \pm 7,25 ^a	30,13 \pm 4,96 ^a	35,62 \pm 6,61 ^a	28,72 \pm 8,21	34,93 \pm 2,83	14,90 \pm 3,85	18,03 \pm 7,35	22,96 \pm 3,34	16,12 \pm 3,15
84	36,23 \pm 6,72	46,71 \pm 11,49	38,47 \pm 7,65	43,51 \pm 6,91	47,24 \pm 6,75	41,97 \pm 13,92	20,29 \pm 4,00	22,59 \pm 4,73	32,49 \pm 6,87	27,36 \pm 5,27
96	60,51 \pm 5,81	62,62 \pm 12,87	58,53 \pm 4,29	61,20 \pm 8,84	65,06 \pm 10,31	66,79 \pm 4,12	46,29 \pm 6,78	53,32 \pm 5,11	44,96 \pm 4,09	42,78 \pm 6,28
108	61,10 \pm 12,98	66,96 \pm 3,51	68,88 \pm 5,80	67,85 \pm 5,92	67,42 \pm 10,25	70,85 \pm 9,48	51,10 \pm 12,61	54,39 \pm 8,02	48,78 \pm 8,53	50,07 \pm 8,52
120	73,50 \pm 12,89*	67,09 \pm 11,29	71,50 \pm 7,45	74,90 \pm 7,65	79,56 \pm 11,06*	79,18 \pm 8,47*	68,96 \pm 10,65*	61,15 \pm 8,20*	57,96 \pm 11,88*	56,04 \pm 7,01*
132	58,82 \pm 12,75 ^b	68,56 \pm 7,34	71,84 \pm 9,77	75,26 \pm 5,57	77,91 \pm 6,70 ^b	74,23 \pm 8,56 ^b	60,95 \pm 7,50 ^b	50,55 \pm 7,64 ^b	55,14 \pm 7,84 ^b	53,15 \pm 7,59 ^b
144	58,33 \pm 6,39	71,34 \pm 8,75*	72,85 \pm 8,88*	77,35 \pm 4,75*	74,44 \pm 6,98	70,42 \pm 9,46	59,63 \pm 11,48	48,97 \pm 9,77	49,36 \pm 9,57	51,86 \pm 8,03
156	53,47 \pm 9,70	58,20 \pm 9,36 ^b	62,41 \pm 5,70 ^b	66,92 \pm 7,27 ^b	69,04 \pm 7,60	68,11 \pm 3,85	56,2 \pm 8,97	46,18 \pm 5,34	47,98 \pm 5,56	47,53 \pm 9,84
168	45,09 \pm 7,62 ^c	54,19 \pm 14,21	57,08 \pm 11,03	65,75 \pm 10,85	65,49 \pm 9,11	64,56 \pm 8,64	52,17 \pm 8,25	45,4 \pm 8,85	45,36 \pm 6,23	43,19 \pm 7,79
180	-	45,66 \pm 7,67	47,11 \pm 7,94	53,47 \pm 9,96	54,18 \pm 7,47 ^c	51,51 \pm 5,59 ^c	46,36 \pm 6,15 ^c	40,04 \pm 7,27 ^c	39,58 \pm 4,15 ^c	40,37 \pm 7,74 ^c
192	-	42,18 \pm 5,71 ^c	42,41 \pm 6,14 ^c	49,40 \pm 6,58 ^c	-	-	-	-	-	-

^a Fim do segundo estágio larval

^b Fim do terceiro estágio larval (pré-pupa)

^c Fim das pesagens (pupa)

*Maior massa corporal