

ATIVIDADE LARVICIDA *in vitro* DE BIOTERÁPICO SOBRE LARVAS DE *Cochliomyia hominivorax* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

Giuliano Pereira de Barros^{1 2} & Patrícia Ana Bricarello²

¹ RuminAção - Ensino, Pesquisa e Extensão com Ruminantes. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. E-mail: giuliano.barros@ufrgs.br
² Laboratório de Parasitologia Animal, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. E-mail: patricia.bricarello@ufsc.br

INTRODUÇÃO

A mosca *Cochliomyia hominivorax* é a principal espécie causadora de miíase primária nos animais domésticos no hemisfério sul (Brito et al., 2011 [1]). O parasitismo deste díptero ocasiona anualmente um prejuízo de aproximadamente 0,34 bilhões de dólares aos rebanhos bovinos brasileiros (Grisi et al., 2014 [2]). Convencionalmente, o tratamento destas infestações é realizado pela utilização de produtos à base de compostos sintéticos diretamente sobre as larvas (Carvalho, 2010 [3]). Todavia, o uso irracional desses produtos está provocando a diminuição da sua eficácia e a degradação dos agroecossistemas, além de acumular resíduos tóxicos no solo, na água e nos produtos de origem animal (Verissimo, 2003 [4]). Devido à escassez de alternativas à utilização das moléculas sintéticas no tratamento das miíases, este se configura como um importante gargalo dentro dos sistemas agroecológicos de criação animal (Sotomaior, 2009 [5]). Neste contexto, a legislação que regulamenta a produção orgânica no Brasil (Instrução Normativa MAPA nº 46 de 06/10/2011) recomenda a utilização de medicamentos homeopáticos e bioterápicos. Estes podem ser uma importante ferramenta para controlar as populações desse inseto, principalmente em criações agroecológicas e orgânicas, onde o uso de compostos sintéticos é proibido. Para Passeti et al., 2014 [6] os testes *in vitro* envolvendo preparados homeopáticos e bioterápicos podem colaborar muito na evolução das pesquisas em homeopatia aplicada ao tratamento de doenças. Segundo esta pesquisadora, os testes *in vitro* oferecem informações prévias sobre a ação destes medicamentos nas células vivas dos organismos sem as complicações inerentes dos testes clínicos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade larvicida *in vitro* de um bioterápico preparado com larvas de *Cochliomyia hominivorax* nas potências 6CH e 12CH sobre larvas sadias em terceiro estágio deste díptero, oriundas de uma colônia estabelecida em laboratório.

MATERIAIS E MÉTODOS

Colônia de *Cochliomyia hominivorax* em laboratório

A colônia de *Cochliomyia hominivorax* foi constituída e mantida seguindo a metodologia para implantação e manutenção de biotérios de moscas desta espécie proposta por Mastrangelo, 2011 [7]. A colônia foi estabelecida no Laboratório de Parasitologia Animal do Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural, localizado no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, SC.

Bioterápico

O bioterápico utilizado neste estudo foi preparado a partir de larvas selvagens de *Cochliomyia hominivorax* oriundas de uma miíase naturalmente ocorrida em um ovino residente do biotério de ovinos do Núcleo de Agroecologia do Centro de Ciências Agrárias – UFSC, localizada na Fazenda Ressacada. A preparação deste bioterápico seguiu a metodologia da extração em lactose e água, pois segundo a 3ª edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira (Brasil, 2011 [8]) este é um método adequado para a preparação de bioterápicos a partir de tecidos vivos. Foi utilizado álcool 30% (v/v), como veículo para as diluições. Foram empregadas diluições seriadas, seguindo o método centesimal Hahnemanniano até alcançar a sexta e a décima segunda potências através de sucessões manuais.

Teste de atividade larvicida *in vitro*

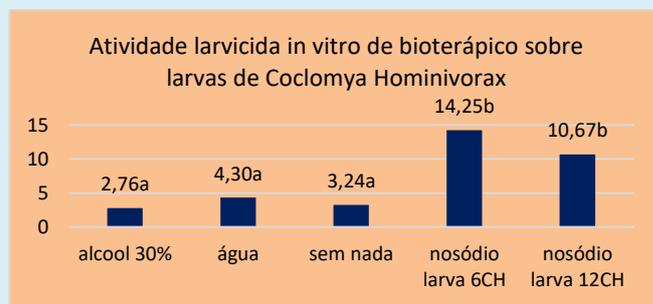
Para averiguar o efeito larvicida do bioterápico, foi seguido a metodologia proposta por Eddy & Gram, 1950 [9] para testes de atividade larvicida *in vitro* com Calliphoridae, com algumas pequenas adaptações. O teste consistiu em submeter um grupo de 15 larvas sadias de *Cochliomyia hominivorax* em terceiro estágio ao contato direto com 1 mL do bioterápico e na observação do efeito deste sob a emergência do inseto adulto. Foram utilizadas um total de 375 larvas divididas em dois grupos tratamento e três grupos controle. Os grupos tratamento foram Bioterápico 6CH e Bioterápico 12CH. Os grupos controle receberam água destilada, álcool etílico 30% (v/v) ou nenhuma substância. Os testes foram realizados sempre em quintuplicatas.

Análise estatística

As informações coletadas foram avaliadas estatisticamente de acordo com o método paramétrico de análise de variância (ANOVA) seguido ao teste de comparação de Tukey, com desvio padrão e probabilidade mínima aceitável de 95% (p<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de mortalidade dos grupos controle foram de 2,7% para o grupo que recebeu Álcool 30% (v/v), 4,3% para o grupo que recebeu água destilada e 3,2% para o grupo que não recebeu substância alguma. Estas médias não diferem estatisticamente entre si (p>0,05). Estes resultados demonstram a lisura das metodologias empregadas no desenvolvimento dos testes. O controle água e nenhuma substância atestam a sanidade das larvas utilizadas, enquanto que o controle álcool atesta que não houve influência sobre a mortalidade das larvas pelo veículo utilizado na manipulação do bioterápico. O bioterápico de larvas de *Cochliomyia hominivorax* CH6 apresentou 14,28% de eficácia nos testes enquanto o CH12 obteve 10,66% de sucesso em inibir o desenvolvimento das larvas. Estas médias não diferem estatisticamente entre si, porém são estatisticamente diferentes da média dos controles.



Os resultados encontrados mostram que sob as condições dos testes realizados, o bioterápico não apresentou um poder larvicida suficiente para inibir o desenvolvimento da maior parte das larvas da mosca *Cochliomyia hominivorax*. Porém, ficou constatado que o bioterápico apresentou um efeito larvicida *in vitro* sobre as larvas deste inseto. Mesmo que discreto, este efeito foi significativo e representa um dado importante para a pesquisa homeopática. O efeito de medicamentos homeopáticos e bioterápicos em testes *in vitro* sobre células vivas é uma realidade cientificamente consolidada [10]. Recentemente, Waisse, 2017 [10] mostrou em uma revisão de literatura que existem relatos dos efeitos *in vitro* dos medicamentos homeopáticos e bioterápicos sobre bactérias [6, 11], protozoários [12] e culturas celulares [13]. Porém, ainda não existiam reportagens do efeito de bioterápicos sobre larvas de insetos.

CONCLUSÕES

Bioterápicos preparados a partir de larvas de *Cochliomyia hominivorax* na sexta e na décima segunda potências Hahnemannianas possuem discreto efeito larvicida sobre larvas de terceiro estágio deste díptero em testes *in vitro*. A pesquisa com preparados homeopáticos *in vitro* é promissora, porém ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas.

REFERÊNCIAS

- BRITO, L. G.; OLIVEIRA, M. C. S.; GIGLIOTTI, R.; BARBIERI, F. S.; NETTO, F. G. S.; CHAGAS, A. C. S.; CELESTINO, O. O. Manual de identificação, importância e manutenção de colônias estoque de dípteros de interesse veterinário em laboratório. Documento/Embrapa Rondônia, ISSN 0103-9865; 125, p. 25. 2008.
- GRISI, L., LEITE, R. C., MARTINS, J. R. D. S., BARROS, A. T. M. D., ANDREOTTI, R., CANCELO, P. H. D., ... & VILLELA, H. S. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 23(2), 150-156.
- CARVALHO, R. A. de. Base moleculares da resistência a inseticidas organofosforados em *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). 2010. 127 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- VERISSIMO, C. J. MORTE DE RUMINANTES DEVIDO A INFECÇÃO NA ORELHA CONSEQUENTE À MIÍASE CAUSADA POR COCHLIOMYIA HOMINIVORAX (COQUEREL, 1858). Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 2, n. 70, p.187-189, jun. 2003.
- SOTOMAIOR, C. S.; MORAES, F. R.; SOUZA, F. P.; MILCZEWSKI, C. A.; PASQUALIN, C. A. Parasitoses gastrintestinais dos ovinos e caprinos: alternativas de controle. Curitiba, Paraná. Emater-PR, 2009.
- PASSETI, T. A., MANZONI, A. J., AMBROZINO, L. G. P., DINIZ, S. N., BISSOLI, L. R., RODRIGUES, P. F. P., FERREIRA, M. L., BELTRAME, R. L. Ação dos medicamentos homeopáticos Arica montana, Gelsemium sempervirens, Belladonna, Mercurius solubilis e nosódio sobre o crescimento *in vitro* da bactéria *Streptococcus pyogenes* Rev. homeopatia (São Paulo); 77(1/2): 1-9, 2014.
- MASTRANGELO, T. A. METODOLOGIA DE PRODUÇÃO DE MOSCAS ESTÉREIS DE COCHLIOMYIA HOMINIVORAX (COQUEREL, 1858) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) NO BRASIL. 116 f. Tese (Doutorado) - Curso de Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- FARMACOPEIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA. Métodos Gerais para a preparação de Bioterápicos. 3ª edição. Brasil, 2011.
- EDDY, G. W., & GRAHAM, O. H. An improved Laboratory Method for test-ing Materials as Screw-worm Larvicides. Journal of Economic Entomology, v. 43, n. 4, 1950.
- WAISSE, S. Efeito de ultradiluições homeopáticas em modelos *in vitro*: revisão de literatura. Rev. homeopatia (São Paulo); 80 (1/2): 89-112, 2017.
- PASSETI, T. A.; BISSOLI, L. R.; MACEDO, A. P.; BELTRAME, R. L.; DINIZ, S.; WAISSE, S. Action of antibiotic oxacillin on *in vitro* growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) previously treated with homeopathic medicines. Homeopathy. 106: 27-31. 2017.
- SANTANA, F. R.; DALBONI, L. C.; NASCIMENTO, K. F. High dilutions of antimony modulate cytokines production and macrophage – Leshmania (L.) amazonensis interaction *in vitro*. Cytokine. 92 : 33-47. 2017