

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**Efeito *in vitro* de preparados ultra diluídos e dinamizados sobre larvas
de *Cochliomyia hominivorax* (Díptera: Calliphoridae)**

Trabalho apresentado à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária

Discente: Giuliano Barros

Orientadora: Prof.^a Raquel Fraga e
Silva Raimondo

Co-Orientadora: Prof.^a Beatriz Riet
Correa

Co-Orientadora: Prof.^a Patrizia Ana
Bricarello

PORTO ALEGRE, RS.

2017/2

RESUMO

A mosca *Cochliomya hominivorax* é a principal espécie causadora de miíase primária nos animais domésticos na América do Sul. No Brasil, ovinos e bovinos são acometidos durante todo o ano em algumas regiões. As larvas desenvolvem-se nos tecidos dos hospedeiros se alimentando de tecido vivo. Os danos ocasionados muitas vezes são irreparáveis, acarretando em mutilações e até mesmo a morte. O tratamento convencional consiste na utilização de produtos à base de compostos sintéticos, principalmente piretróides, organofosforados, organoclorados e lactonas macrocíclicas. Todavia, o uso contínuo desses produtos, vem provocando a degradação dos agroecossistemas e diminuição da sua eficácia, além de acumular resíduos no solo, na água e nos produtos de origem animal. A utilização de medicamentos homeopáticos pode ser uma alternativa para prevenir e tratar miíases, principalmente em criações agroecológicas, onde não se faz o uso de produtos sintéticos. Assim sendo, o presente estudo avaliou o efeito do *in vitro* do medicamento *Sulphur* 12CH e de um bioterápico preparado com larvas de *C. hominivorax* nas potências 8CH e 12CH sobre larvas de terceiro estágio deste díptero oriundas de uma colônia em laboratório. Os preparados homeopáticos foram produzidos segundo as orientações da Farmacopeia Homeopática Brasileira (2011). A colônia de *C. hominivorax* foi mantida no Laboratório de Parasitologia Animal no Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado no Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, SC. O teste consistiu em submeter um grupo de 15 larvas sadias de terceiro estágio de *C. hominivorax* ao contato direto com os preparados homeopáticos e na avaliação da ação deste na emergência dos insetos adultos após cerca de 9 dias. Em cada repetição foi testado um grupo controle com água e outro sem nenhuma substância, além de um grupo que recebeu álcool 30% (v/v). Foram realizadas 10 repetições de cada teste e controle, totalizando 900 larvas utilizadas, divididas em três grupos controle e três grupos tratamento. Quanto ao bioterápico, não foi encontrada diferença entre os níveis de potencialização testados. O bioterápico 8CH apresentou 61,33% de efeito inibitório no desenvolvimento das larvas de terceiro estágio da mosca e o bioterápico 12CH, 66,66% do mesmo efeito. Para o preparado *Sulphur* 12CH, o efeito inibitório verificado foi de 94,63%. Os resultados encontrados são promissores e testes *in vivo* e ensaios clínicos são os próximos passos do estudo.

Palavras chave: Agroecologia, Homeopatia, Miíases, Controle, Dípteros

ABSTRACT

The *Cochliomya hominivorax* fly is the main cause of primary myiasis in domestic animals in South America. In Brazil, sheep and cattle are affected throughout the year in some regions. Larvae develop in host tissues if fed on living tissue. The damage occasioned is often irreparable, leading to mutilation and even death. The conventional treatment consists of the use of products based on synthetic compounds, mainly pyrethroids, organophosphorates, organochlorines and macrocyclic lactones. However, the continuous use of these products has led to the degradation of agroecosystems and their effectiveness, as well as accumulating residues in soil, water and animal products. The use of homeopathic medicines may be an alternative to prevent and treat myiasis, especially in agroecological creations where synthetic products are not used. Thus, the present study evaluated the effect of the *in vitro* *Sulphur* 12CH and a biotherapeutic prepared with *C. hominivorax* larvae on the 8CH and 12CH potencies on third instar larvae of this Diptera from a colony in the laboratory. Homeopathic preparations were produced according to the guidelines of the Brazilian Homoeopathic Pharmacopoeia (2011). The *C. hominivorax* colony is being kept in the Laboratory of Animal Parasitology in the Department of Animal Science and Rural Development of the Federal University of Santa Catarina, located in the Agricultural Sciences Center, Florianópolis, SC. The test consisted in subjecting a group of 15 healthy third instar larvae of *C. hominivorax* to direct contact with the homeopathic preparations and in the evaluation of the action of this in the emergence of the adult insects after about 9 days. In each repetition, one control group was tested with water and another with no substance, besides a group that received alcohol 30% (v / v). Ten replicates of each test and control were performed, totaling 900 larvae used, divided into three control groups and three treatment groups. As for the biotherapeutic, no difference was found between the potentiation levels tested. The 8CH biotherapeutics showed a 61.33% inhibitory effect on the development of the third stage larvae of the fly and the 12CH biotherapeutic, 66.66% of the same effect. For the sulfur 12CH preparation, the inhibitory effect was 94.63%. The results found are promising and *in vivo* tests and clinical trials are the next step of the study.

Key words: Agroecology, Homeopathy, Myiasis, Control, Diptera.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ação *in vitro* de preparados ultradiluídos (*Sulphur* 12CH, bioterápico de larvas de *C. hominivorax* 8CH e 12CH), água destilada, sem substância, álcool 30%, em larvas de *Cochliomya hominivorax*. **26**

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

CCA: Centro de Ciências Agrárias.

CH: Centesimal Hahnemanniano.

DCC: Delineamento Completamente Casualizado.

FAO: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura.

IFOAM: Federação Internacional dos Movimentos da Agricultura Orgânica.

L1: Larva de primeiro estágio.

L2: Larva de segundo estágio.

L3: Larva de terceiro estágio.

MAPA: Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento.

SC: Santa Catarina.

SIDAN: Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal.

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	07
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Produção Animal Sustentável	10
2.2 Homeopatia Veterinária	11
2.3 Bioterápicos	14
2.4 <i>Cochliomyia hominivorax</i>	16
2.5 Tratamento e controle da <i>C. hominivorax</i>	17
3. ARTIGO: EFEITO <i>IN VITRO</i> DE PREPARADOS ULTRA DILUÍDOS E DINAMIZADOS SOBRE LARVAS DE <i>COCHLIOMYIA HOMINIVORAX</i> (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE)	19
3.1 Resumo	19
3.2 Abstract	20
3.3 Introdução	21
3.4 Materiais e métodos	22
3.4.1 Preparação dos medicamentos homeopáticos	22
3.4.2 Testes <i>in vitro</i> dos preparados ultra diluídos e dinamizados sobre larvas de <i>Cochliomyia hominivorax</i>	23
3.4.3 Análise estatística	25
3.5 Resultados e Discussão	25
3.6 Conclusão	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1. INTRODUÇÃO

A criação animal agroecológica se baseia na construção de sistemas mais próximos aos encontrados na natureza para cada espécie, onde os animais possa expressar seu comportamento alimentar e reprodutivo, tendo seus ciclos de vida respeitados e livres de angústias que podem ser responsáveis pelo adoecimento. A agroecologia se caracteriza pela busca do equilíbrio energético, balanceando as entradas e saídas de componentes em seus sistemas de produção. O uso de insumos deve ser racional e preferencialmente de fontes internas à propriedade/território, integrando a produção animal e vegetal (SOARES et al., 2010).

A homeopatia tem se difundido em todo o mundo nos últimos anos no tratamento e cuidados aos animais. Nos sistemas agroecológicos de produção o uso de medicamentos veterinários é restrito e utilizado somente em casos de risco de vida para o animal. Nestes sistemas a homeopatia veterinária é utilizada como ferramenta indispensável na prevenção e tratamento de doenças infecciosas, parasitárias e distúrbios comportamentais e reprodutivos (BRICARELLO et al., 2015).

A mosca *Cochliomya hominivorax*, popularmente conhecida como mosca da bicheira, é pertencente à família Calliphoridae e é considerada a principal espécie causadora de mífase primária nos animais na América do Sul. As fêmeas desta espécie realizam a postura de seus ovos sobre feridas, tecidos traumatizados, orifícios naturais e as larvas desenvolvem-se nos tecidos superficiais dos hospedeiros, passando por três estágios, todos se alimentado de tecido vivo do animal. Os danos ocasionados no local em que foi acometido muitas vezes são irreparáveis, acarretando em mutilações e até mesmo a morte dos animais. Segundo Grisi et al., (2014) os gastos ocasionados pela *C. hominivorax* nos bovinos, no Brasil, são de 336, 62 milhões/ano.

A utilização de moléculas sintéticas para o controle de ectoparasitas em animais de produção tem sido intensificada desde a década de 80, principalmente devido ao aumento da lotação e tipos de sistemas de criação. O confinamento de animais e a ideia super produtivista da atualidade tem tornado nossos animais verdadeiras máquinas para produção de ovos, carne, leite e couro. A indústria farmacêutica é a que mais lucra no setor de medicamentos veterinários e novas moléculas sintéticas são lançadas todos os

anos. O setor de medicamentos veterinários destinados a ruminantes foi responsável por 56% do faturamento em 2013. Os riscos ambientais da excreção destas substâncias são negligenciados por completo pelos órgãos competentes e os prejuízos têm consequências desastrosas, levando a contaminação do solo, das águas, das pastagens e dos alimentos (BRICARELLO et al., 2015).

O tratamento habitual realizado pelos produtores para o controle de dípteros é através da aplicação de produtos inseticidas contendo organofosforados e piretróides (CARVALHO, 2010). Todavia, o uso contínuo desses produtos, vem provocando a diminuição da sua eficácia, deixando também resíduos na carne e no leite desses animais. Suspeita-se que a *C. hominivorax* esteja se tornando cada vez mais resistente a esses grupos químicos, pois já não impedem mais o desenvolvimento larval e novas posturas no animal (VERISSIMO, 2003). Sendo assim, há carência de produtos que sejam eficazes apenas contra o inseto e que não degradem ou deixem resíduos no meio no qual ele se encontra. A utilização de preparados homeopáticos pode ser uma alternativa para controlar as populações e as larvas dos insetos, além de ser uma ótima opção para os sistemas agroecológicos, que não podem fazer o uso destes produtos sintéticos.

A Homeopatia é uma ciência médica desenvolvida por Samuel Hahnemann, e seu princípio está baseado na “Lei dos Semelhantes”, descrita por Hahnemann baseada nos princípios da similitude descritos e defendidos pelo filósofo grego Hipócrates (460-377 a.C.), considerado o pai da Medicina. Esta ciência médica propõem a utilização de medicamentos dinamizados ultra diluídos no tratamento dos diversos distúrbios que acometem os seres. Na dinamização dessa preparação, a matéria oriunda desta substância impregna as moléculas do veículo (álcool, água ou açúcar) utilizado no processo, determinando nesta as suas impressões energéticas, sem alterar sua forma química (KOSSAK, 1984).

O método de tratamento homeopático baseia-se na aplicação do princípio da similitude (*similia similibus curentur*), utilizando medicamentos que causam efeitos semelhantes aos sintomas da doença. Assim, cada medicamento homeopático possui seu campo eletromagnético próprio, vibrando numa determinada frequência, que entra em ressonância com a do indivíduo que o ingerir, reequilibrando seu campo energético. (KOSSAK, 1984).

Os nosódios ou bioterápicos são medicamentos que tem como matéria prima excreções, secreções, tecidos e órgãos de animais e vegetais, fisiológicos ou

patológicos, ou ainda microrganismos identificados ou não. O seu uso é descrito tanto com aspectos preventivos quanto curativos sobre as enfermidades (BOERICKE, 1993). Na agropecuária sustentável o uso de bioterápicos é corriqueiro e apresenta bons resultados (ORMOND, 2002).

Devido à escassez de alternativas à utilização das moléculas sintéticas no tratamento das miíases que acometem os animais zootécnicos, este se configura como um importante gargalo dentro dos sistemas sustentáveis de criação animal (DELEITO, 2008; SOTOMAIOR, 2009). A normativa vigente que regulamentam a produção orgânica no Brasil (Instrução Normativa MAPA nº 46 de 06/10/2011) recomenda o emprego de medicamentos homeopáticos e de bioterápicos no manejo sanitário dos animais. Estes preparados podem ser uma ferramenta alternativa para controlar as populações de *C. hominivorax*, principalmente em criações agroecológicas e orgânicas. Recentemente, os testes de atividade *in vitro* envolvendo preparações homeopáticas vem ganhando a atenção dos pesquisadores (WAISSE, 2017). Segundo Passeti et al., (2014) a pesquisa com testes de atividade *in vitro* envolvendo preparados homeopáticos/bioterápicos e organismos vivos é extremamente útil ao desenvolvimento do conhecimento da homeopatia aplicada ao tratamento de doenças, pois estes oferecem informações prévias sobre a ação das preparações ultra diluídas nas células vivas dos organismos, além de serem isentos das complicações naturalmente inerentes dos testes clínicos.

O objetivo principal do presente trabalho foi avaliar a ação *in vitro* de um bioterápico preparado a partir de larvas selvagens da mosca *Cochliomya hominivorax* em dois diferentes níveis de potencialização: CH8 e CH12 e o medicamento *Sulphur 12 CH* sobre larvas de terceiro estágio desta mosca.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção Animal Sustentável

Nas últimas décadas, a nossa sociedade vem passando por uma série de transformações, principalmente no que se refere ao nosso modo de viver. Vivemos um momento histórico que o sociólogo polonês Zygmunt Bauman (2001) chama de “interregno”. Este é um momento de transição, de quebra e de desconstrução dos alicerces de uma sociedade sólida (que era vigente até meados deste século) para possibilitar a construção de um mundo mais fluido, mais adaptável e adequado às capacidades de nossa mente frente à modernidade. A este fenômeno é atribuída a denominação de “modernidade líquida” (BAUMAN, 2001). E as reverberações dessa modernidade líquida podem ser percebidas em todos os aspectos contemporâneos de nosso viver, assim como na forma como estes se modificam na contemporaneidade. Dentre estas transformações, os nossos hábitos de consumo são itens particularmente interessantes a serem observados (CAVALCANTE et al., 2007).

Em meio à era de ascensão das comidas sintéticas, como os “fast foods”, surge uma corrente de pensamentos preocupada com a saúde dos ecossistemas e que busca um modelo de produção de alimentos mais saudável e sustentável. Com este apelo socioambiental, a produção orgânica aparece como um novo nicho de mercado para produtos agrícolas e pecuários (ARAÚJO FILHO, 2000).

Nos últimos anos, os produtos orgânicos vêm ganhando espaço nos mercados interno e externo. No Brasil, a estimativa é que estes produtos passem a contribuir com 4,5% da produção agrícola nacional (IFOAM, 2014). A produção de alimentos orgânicos é uma demanda da sociedade moderna (FAO, 2007).

O consumidor contemporâneo deseja e merece alimentos de qualidade, a preços justos, saudáveis do ponto de vista sanitário (livres de zoonoses, como a cisticercose, brucelose, tuberculose etc.) e do ponto de vista toxicológico (isentos de resíduos químicos e biológicos: antibióticos, vermífugos, hormônios, príons etc.), produzidos de forma mais sustentável e em harmonia com a natureza. Além disso, existe a

preocupação atual com a preservação do meio ambiente e da biodiversidade, com a geração de empregos no campo, que diminuem o êxodo rural, e com o bem estar animal (FAO, 2007).

A agroecologia é a ciência que respalda cientificamente a produção de alimentos denominada “orgânica”. Esta é caracterizada por um conjunto de princípios gerais aplicáveis aos sistemas agropecuários sustentáveis. Pode ser descrita como uma ciência que tem por finalidade o estudo holístico dos agrossistemas, que buscam copiar os processos naturais, empregando um enfoque de manejo de recursos naturais a fim de propiciar aos estabelecimentos rurais condições específicas que atendam às necessidades e aspirações de agricultores em determinadas regiões (ALTIERI, 2001).

Atualmente, a produção de alimentos “convencional” (utilizando antibióticos e biocidas de forma irracional e tendo como base manejos insustentáveis como a aquisição constante de insumos exógenos ao estabelecimento rural) pressiona o produtor rural para reduzir as margens de lucro na aquisição de máquinas, equipamentos e insumos cotados em dólar, estimula o aumento da escala de produção, porém com uso intenso de agrotóxicos e medicamentos que geram grande quantidade de dejetos poluentes (PINHEIRO MACHADO & PINHEIRO MACHADO FILHO, 2014). Nesta situação todos perdem: o consumidor, que não encontra no mercado o produto saudável que procura e o produtor, que deixa de receber até três vezes menos pelo produto orgânico. As futuras gerações também sofrem prejuízos com a contaminação dos solos, dos mananciais hídricos e do meio ambiente como todo.

A pecuária orgânica é um modelo de produção sustentável que tem em sua essência a simplicidade e a harmonia com a natureza, sem deixar de lado a produtividade e a rentabilidade para o produtor, em que todos os princípios de agroecologia podem ser aplicados (ALTIERI, 2001). Segundo Gliessman (1997), é preciso observar que um sistema orgânico de produção não é obtido somente na troca de insumos químicos por insumos orgânicos/biológicos/ecológicos. Nesta perspectiva, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece uma série de procedimentos para que o produto de origem animal de uma propriedade seja considerado orgânico (LEI No 10.831, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2003). Estes procedimentos regulamentam a alimentação do rebanho, as instalações e o manejo, a escolha de animais, a sanidade e até o processamento e empacotamento do produto.

2.2 Homeopatia veterinária

Há mais de dois séculos surgiu uma nova abordagem terapêutica, a homeopatia, baseada na cura através do princípio dos semelhantes "*Similia similibus curantur*" ou "o semelhante cura o semelhante" (HAHNEMANN, 1981). A ideia originou-se com Hipócrates, considerado "Pai da medicina", sendo posteriormente desenvolvida pelo alemão Christian Friedrich Samuel Hahnemann (1755-1843). A abordagem homeopática engloba uma nova forma de compreender o significado de saúde e conseqüentemente de doença (SOARES, 1988; SAMPAIO, 1995).

Samuel Hahnemann desenvolveu e afirmou a referida ideia por Hipócrates: a cura pelo semelhante, largando a medicina convencional para se dedicar à sistematização dessa abordagem, à organização dos conhecimentos obtidos sobre esta ciência e à formulação de uma terapêutica prática e coerente, por meio de um enorme trabalho experimental (BAROLLO, 2003.)

A homeopatia veterinária surgiu na segunda metade do século XVIII, numa época em que surgiam na Europa grandes epidemias em animais como as pestes bovina e equina. Hahnemann acompanha estes surgimentos e em 1796, afirma: "se as leis da medicina que conheço e proclamo são certas e naturais, elas deverão ser aplicadas em todos os seres vivos". Como tal, foi pioneiro também na experimentação nos animais, tratando com sucesso o seu cavalo com uveíte recidivante, com *Natrum muriaticum* (SILVA, 2006).

No Brasil, após estar situada por muitos anos na semi-clandestinidade, exercida por alguns poucos profissionais, a partir da década de oitenta a Homeopatia Veterinária foi elevada à categoria de especialidade médica, quando foram então criados cursos de Homeopatia para veterinários. Antes dessa época, aqueles veterinários que exerciam a Homeopatia o faziam de forma autodidata. Inicialmente a formação homeopática dos Médicos Veterinários ocorria ou por aceitação dos mesmos nos cursos destinados aos médicos. Com a criação de cursos específicos para médicos veterinários, a existência de Médicos Veterinários Homeopatas passou a ser oficializada e praticada por um contingente significativo de profissionais. Isto resultou na presença constante da Homeopatia nos meios veterinários, com uma característica importante de coexistência pacífica com outras modalidades terapêuticas, o que contribuiu significativamente para o reconhecimento da Homeopatia como especialidade médica veterinária pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária, em 1996 (BRUNELLI, 1997).

Hoje a prática homeopática na medicina veterinária começa a vislumbrar os caminhos próprios, se apoiando principalmente numa abordagem eclética, empregando

as diversas teorias e técnicas homeopáticas, adequando a propedêutica e o seu receituário à realidade da casuística do dia a dia, O sucesso alcançado na rotina ambulatorial e hospitalar vem contribuindo para firmar a homeopatia como uma terapêutica de eleição nas diversas situações encontradas dentro do vasto rol de ação da medicina veterinária (PINTO, 1998).

A Homeopatia é uma ciência que tem como princípio básico a utilização de medicamentos dinamizados, ou seja, medicamentos preparados a partir de substâncias animais, vegetais, minerais ou tecidos doentes. Na dinamização dessa preparação, a matéria oriunda desta substância impregna as moléculas do álcool ou açúcar utilizado no processo, determinando nesta suas impressões energéticas, sem alterar sua forma química. A farmacopeia homeopática apresenta diversos medicamentos que agem na cura de diversas doenças determinadas por agentes específicos (KOSSAK, 1984). Desta forma, os indivíduos são medicados com substâncias quimicamente inócuas, para os padrões alopáticos. Na Homeopatia ainda não há estudos que constatem efeitos colaterais como verifica-se em quase todos os tratamentos com medicamentos alopáticos (LOPES, 2004). Além disto, quando o homem manipula esses produtos, não existe qualquer possibilidade de contaminação para ele ou para os animais e vegetais tratados, e enfim, para a natureza. Com isto é de se esperar uma melhoria na qualidade de vida, com o enriquecimento do ambiente e restabelecimento da biodiversidade (ARENALES, 2000).

Os medicamentos homeopáticos não provocam danos aos animais, aos consumidores dos produtos de origem animal, nem ao meio ambiente, o qual é favorecido pelo menor uso de produtos químicos (LOPES, 2004).

A Homeopatia pode contribuir no combate ao desenvolvimento da resistência aos antibióticos e é recomendada pela União Europeia na produção orgânica de animais, sendo utilizada por um número significativo de produtores (VIKSVEEN, 2003).

Uma grande contribuição da Homeopatia para o ambiente é a de devolver ao solo excrementos sem resíduos que propiciem o desenvolvimento natural de insetos e microrganismos, que são responsáveis pela transformação e incorporação da matéria orgânica no solo. Dessa forma, dá condições ao solo de ter saúde e produzir plantas equilibradas, saudáveis, que se constituirão ou se transformarão, juntamente com os animais que as consomem, em alimentos com mais qualidade para o consumo humano (ARAÚJO FILHO, 2000).

A homeopatia veterinária tem sido utilizada na Grã-Bretanha desde 1900, e na América do Norte o seu uso tem aumentado nos últimos 20 anos. Nos Estados Unidos e no Canadá existe anualmente um curso profissional em homeopatia veterinária (VOCKEROTH, 1999). Surge ainda como primeira opção nos sistemas de Produção Agroecológicos (SILVA et al., 2005).

A Homeopatia não é uma proposta de mudança de domínio industrial, uma vez que seus métodos de produção são de conhecimento público. Com isto, os produtores podem construir seus próprios laboratórios, através de associações, cooperativas e outros, sendo necessário, no entanto, técnicos com especialização na área para manipular os medicamentos homeopáticos, bem como para prescrevê-los e garantir-lhes a eficácia (MITIDIERO, 2002).

2.3 Bioterápicos

Além dos medicamentos obtidos diretamente dos três reinos da natureza e de outras fontes, a Homeopatia compreende igualmente outros medicamentos denominados bioterápicos, também chamados de “nosódios”. Os bioterápicos são preparações medicamentosas de uso homeopático, obtidas a partir de produtos biológicos, quimicamente indefinidos: secreções, excreções, tecidos, órgãos ou mesmo o indivíduo inteiro (como no caso de parasitas), produtos de origem microbiana, alérgenos (BOERICKE, 1993).

Os bioterápicos podem ser classificados em: bioterápicos de estoque e Isoterápicos (autoisoterápicos e heteroisoterápicos), segundo a FARMACOPEIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA, 2011.

Os bioterápicos de estoque são produtos, cujo princípio ativo é constituído por amostras preparadas e fornecidas por laboratório especializado. Os isoterápicos são produtos, cujo insumo ativo poderá ser de origem endógena ou exógena (alérgenos, alimentos, cosméticos, medicamentos, toxinas, e outros) (Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011).

O método que utiliza os isoterápicos como tratamento, é chamado de isopatia: *Sensu Latu* é o método de curar as doenças por intermédio de seus agentes casuais, manipulados mediante a técnica de manipulação homeopática: dinamização e ultradiluição (BRUNINI & SAMPAIO, 1993).

O termo ‘nosódio’ foi criado por Constantin Hering, aprendiz de Hahnemann, para designar os medicamentos produzidos a partir de variados produtos patológicos

animais e vegetais. Os nosódios e os isoterápicos foram incorporados ao conceito de ‘bioterápicos’, introduzido pela 8ª edição da FARMACOPEIA FRANCESA de 1965.

Segundo a 3ª edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira, (2011) aprovada através da RDC ANVISA nº 39/2010 em conformidade com a Portaria nº 1.180 de 19 de agosto do ano de 1997, os medicamentos bioterápicos podem ser classificados em autoisoterápicos e heteroisoterápicos. Os autoisoterápicos são produtos, cujo insumo ativo é obtido do próprio paciente (cálculos, fezes, sangue, secreções, urina, etc.) e somente a ele são destinados. Os heteroisoterápicos são produtos, cujos insumos ativos são externos ao paciente e que, de alguma forma, o sensibilizam (alérgenos, poeira, pólen, solventes, parasitas e outros).

De acordo com a Farmacopeia Homeopática Brasileira (2011) os autoisoterápicos, representam os isoterápicos cujos insumos ativos são obtidos do próprio paciente, que podem ser fragmentos de órgãos e tecidos, sangue, secreções, excreções, cálculos, fezes, urina ou culturas microbianas, estes preparados medicamentosos devem ser destinados somente ao paciente do qual foi obtido às matérias primas.

Os auto-isoterápicos, nosódios e isoterápicos foram incorporados ao conceito de bioterápicos, mais abrangente, o que foi definido pela Farmacopeia Francesa no ano de 1965. Os bioterápicos podem ou não apresentar patogênesias, enquanto o bioterápico experimentado no homem sadio pode ser utilizado conforme a forma reacional, ou sintomatologia, de cada doente, o bioterápico sem patogênesia prioriza o microrganismo, seus produtos e a doença correspondente, bem como o alérgenos e as substâncias biológicas diversas que causam sintomas (BRUNINI & SAMPAIO, 1993).

Os heteroisoterápicos representam os isoterápicos cujos insumos são obtidos externamente ao paciente, que podem ser alérgenos, alimentos, cosméticos, medicamentos, toxinas, poeira, pólen ou solventes, que de alguma forma desencadeiam uma sensibilização no paciente, segundo a Farmacopeia Homeopática Brasileira de (2011).

Conforme a 3ª edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira de 2011, os bioterápicos de estoque são produtos cujo insumo ativo é composto por amostras que são preparadas por laboratórios industriais e são classificados em:

- Códex, os quais são obtidos a partir de vacinas, soros, toxinas ou anatoxinas;
- Simples, os quais são obtidos a partir de culturas microbianas puras, lisadas e atenuadas;

- Complexos, os quais são obtidos a partir de órgão doentes, secreções ou excreções patológicas;
- Ingleses, os quais são obtidos a partir de microrganismos presentes na flora intestinal, também são chamados de nosódios intestinais de Bach-Paterson;
- Vivos ou Roberto Costa, os quais são obtidos a partir de microrganismos vivos, a técnica de coleta para estes microrganismos foi desenvolvida pelo Brasileiro Roberto de Andrade Costa.

De acordo com Amorim & Fontes, (2012) os bioterápicos são utilizados, principalmente nas situações de quadros doentios que se identificam com a totalidade sintomática que foi obtida durante a experimentação no homem sadio, em quadros de infecção o qual o agente etiológico é conhecido, nas hipersensibilidades, em quadros de intoxicações e em quadros sintomáticos provocados por substâncias de origem biológica, na maioria dos casos agindo como neutralizador ou coadjuvante terapêutico.

Mesmo que os bioterápicos sejam empregados pela homeopatia, seu uso no tratamento e na profilaxia de doenças parasitárias e infecciosas tem sido investigado e questionado, pois ainda são poucas as informações disponíveis que evidenciem uma eficácia terapêutica. Assim, é fundamental que seja avaliado o potencial terapêutico e profilático dos bioterápicos (VASCONCELOS, 2011).

2.4 *Cochliomyia hominivorax*

A mosca *Cochliomyia hominivorax* pertencente à família Calliphoridae, ordem Diptera, é considerada a principal espécie causadora de miíase primária nos animais. É popularmente conhecida como mosca da bicheira. As fêmeas desta espécie ovipõem sobre feridas, tecidos traumatizados, orifícios naturais, porém não são atraídas por tecidos mortos ou cadáveres. O parasitismo da *C. hominivorax* é de caráter obrigatório no período larval. As larvas desenvolvem-se nos tecidos superficiais dos hospedeiros, passando por três estágios, todos se alimentando de tecido vivo do animal. Os danos ocasionados no local em que foi acometido muitas vezes são irreparáveis, acarretando em mutilações e até mesmo a morte dos animais (BRITO et al., 2008).

Esta espécie é considerada um dos principais ectoparasitas que mais ocasionam em perdas econômicas na cadeia produtiva de diversos animais de produção, principalmente de bovinos e ovinos. Antes de ser erradicada da América do Norte, a distribuição geográfica histórica estendia-se desde o sul dos Estados Unidos, por toda

América Central, incluindo o Caribe, Argentina, Uruguai, com exceção do Chile aonde ela ocorria apenas no norte do país (HALL & WALL, 1995). BAUMHOVER (1996) estimou que as perdas ocasionadas pela *C. hominivorax* na região sudeste do Estados Unidos foram de US\$ 20 milhões/ano e na região sudoeste de US\$ 50 a 100 milhões/ano. Devido a essas perdas econômicas ocasionadas pela *C. hominivorax*, em 1957, foi realizado na Flórida um programa de erradicação que utilizava a técnica do inseto estéril (MASTRANGELO, 2011).

As miíases ocasionadas pela *C. hominivorax* no Brasil, acontecem em 94% dos municípios dos 26 Estados, principalmente nas regiões Sudeste, Centro – Oeste e Nordeste, uma vez que possuem maior notificação da sua incidência em bovinos (BRITO et al., 2008).

Os adultos de *C. hominivorax* medem de 8 a 10 mm e atingem a maturidade sexual entre 36-48 horas após o nascimento. Assim que a fertilização é dada por completa, a fêmea inicia a postura, entre 4 a 5 dias após a emergência do pupário, chegando a fazer deposição de até 300 ovos durante sua vida. Entre 12 a 24 horas após a ovoposição, eclode uma larva de cada ovo, no qual irão se alimentar de tecidos vivos do hospedeiro. Transcorridos mais dois dias, a larva muda do estágio de L1 para L2 e esta irá se transformar em L3 no terceiro dia, permanecendo por mais 3 dias até atingir a sua maturação, aonde ela irá cessar seu parasitismo, migrando para o solo onde irá se enterrar (3 cm), passando de larva para pupa (LEITE, 2004).

Assim que eclodem, as larvas migram para a epiderme lesionada e vão se agregando em pequenas cavidades, sendo visivelmente ativas. Com seus dentículos e gancho da mandíbula, elas raspam os tecidos moles e se alimentam das secreções resultantes, atingindo outros estágios rapidamente. Em um período de 24 horas, as cavidades se expandem tanto lateralmente como profundamente, podendo atingir até músculos. Nesta fase, um exsudado seroso e sangrento é evidente devido a necrose progressiva da pele, músculo e outros tecidos (LEITE, 2004). Podem ocorrer hemorragias graves nas lesões, o tecido ao seu redor é edematoso e quente ao toque. As lesões passam a emitir um odor característicos e intenso (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007). Essas moscas possuem quimiorreceptores que são altamente sensíveis aos odores oriundos das lesões, principalmente daquelas provenientes da bicheira (MOYA-BORJA, 2003), tornando-se um atrativo para miíases secundárias e infecções bacterianas, podendo ocasionar na morte de animais (SILVA, 2011).

2.5 Tratamento e Controle da *C. hominivorax*

No Brasil, o tratamento habitual para o controle das larvas prevalece com a utilização de produtos químicos inseticidas, uma vez que os adultos e outras formas imaturas de *C. hominivorax* não tem sido alvo de combate eficaz (LEITE, 2004). Esses produtos são popularmente conhecidos como mata-bicheira, tendo na sua composição principalmente organofosforados e piretróides (ALVES BRANCO et al., 2001).

O Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal (SIDAN, 2010), em 2009, tem registrado 59 produtos junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o tratamento de miíases ocasionadas pela *C. hominivorax*. Destes 59 produtos, 42 apresentaram princípios ativos contendo organofosforados ou em combinação com outros princípios ativos (CARVALHO, 2010). Existem ainda produtos sistêmicos compostos principalmente por lactonas macrocíclicas, tais como a ivermectina, doramectina, entre outros, sendo muito utilizados por possuírem ação de amplo espectro no controle de inúmeras parasitoses. Estes são utilizados com intuito de prevenir a infestação de larvas da *C. hominivorax*. São aplicados geralmente quando é realizado algum manejo invasivo no animal. Apesar de serem considerados eficazes para o controle da bicheira (MOYA-BORJA, 1993), atualmente não tem se verificado a mesma eficácia, uma vez que não impedem novas ovoposições (VERÍSSIMO, 2003). O uso inadequado de inseticidas ao longo dos anos proporcionou o surgimento da resistência nas populações dos insetos (CARVALHO, 2010; SILVA et al., 2011).

3 ARTIGO: EFEITO IN VITRO DE PREPARADOS ULTRA DILUÍDOS E DINAMIZADOS SOBRE LARVAS DE COCHLIOMYIA HOMINIVORAX (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE)

3.1 Resumo

A mosca *Cochliomya hominivorax* é a principal espécie causadora de miíase primária nos animais domésticos na América do Sul. No Brasil, ovinos e bovinos são acometidos durante todo o ano em algumas regiões. As larvas desenvolvem-se nos tecidos dos hospedeiros se alimentando de tecido vivo. Os danos ocasionados muitas vezes são irreparáveis, acarretando em mutilações e até mesmo a morte. O tratamento convencional consiste na utilização de produtos à base de compostos sintéticos, principalmente piretróides, organofosforados, organoclorados e lactonas macrocíclicas. Todavia, o uso contínuo desses produtos, vem provocando a degradação dos agroecossistemas e diminuição da sua eficácia, além de acumular resíduos no solo, na água e nos produtos de origem animal. A utilização de medicamentos homeopáticos pode ser uma alternativa para prevenir e tratar miíases, principalmente em criações agroecológicas, onde não se faz o uso de produtos sintéticos. Assim sendo, o presente estudo avaliou o efeito do *in vitro* do medicamento *Sulphur* 12CH e de um bioterápico preparado com larvas de *C. hominivorax* nas potências 8CH e 12CH sobre larvas de terceiro estágio deste díptero oriundas de uma colônia em laboratório. Os preparados homeopáticos foram produzidos segundo as orientações da Farmacopeia Homeopática Brasileira (2011). A colônia de *C. hominivorax* está sendo mantida no Laboratório de Parasitologia Animal no Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado no Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, SC. O teste consistiu em submeter um grupo de 15 larvas sadias de terceiro estágio de *C. hominivorax* ao contato direto com os preparados homeopáticos e na avaliação da ação deste na emergência dos insetos adultos após cerca de 9 dias. Em cada repetição foi testado um grupo controle com água e outro sem nenhuma substância, além de um grupo que recebeu álcool 30% (v/v). Foram realizadas 10 repetições de cada teste e controle, totalizando 900 larvas utilizadas, divididas em três grupos controle

e três grupos tratamento. Quanto ao bioterápico, não foi encontrado diferença entre os níveis de potencialização testados. O bioterápico 8CH apresentou 61,33% de efeito inibitório no desenvolvimento das larvas de terceiro estágio da mosca e o bioterápico 12CH, 66,66% do mesmo efeito. Para o preparado Sulphur 12CH, o efeito inibitório verificado foi de 94,63%. Os resultados encontrados são promissores e testes *in vivo* e ensaios clínicos são o próximo passo deste estudo.

Palavras chave: Agroecologia, Homeopatia, Míases, Controle, Dípteros.

3.2 Abstract

The *Cochliomya hominivorax* fly is the main cause of primary myiasis in domestic animals in South America. In Brazil, sheep and cattle are affected throughout the year in some regions. Larvae develop in host tissues if fed on living tissue. The damage occasioned is often irreparable, leading to mutilation and even death. The conventional treatment consists of the use of products based on synthetic compounds, mainly pyrethroids, organophosphorates, organochlorines and macrocyclic lactones. However, the continuous use of these products has led to the degradation of agroecosystems and their effectiveness, as well as accumulating residues in soil, water and animal products. The use of homeopathic medicines may be an alternative to prevent and treat myiasis, especially in agroecological creations where synthetic products are not used. Thus, the present study evaluated the effect of the *in vitro* Sulphur 12CH and a biotherapeutic prepared with *C. hominivorax* larvae on the 8CH and 12CH potencies on third instar larvae of this Diptera from a colony in the laboratory. Homeopathic preparations were produced according to the guidelines of the Brazilian Homoeopathic Pharmacopoeia (2011). The *C. hominivorax* colony is being kept in the Laboratory of Animal Parasitology in the Department of Animal Science and Rural Development of the Federal University of Santa Catarina, located in the Agricultural Sciences Center, Florianópolis, SC. The test consisted in subjecting a group of 15 healthy third instar larvae of *C. hominivorax* to direct contact with the homeopathic preparations and in the evaluation of the action of this in the emergence of the adult insects after about 9 days. In each repetition, one control group was tested with water and another with no substance, besides a group that received alcohol 30% (v / v). Ten replicates of each test and control were performed, totaling 900 larvae used, divided into three control groups and three treatment groups. As for the biotherapeutic, no difference was found between

the potentiation levels tested. The 8CH biotherapeutics showed a 61.33% inhibitory effect on the development of the third stage larvae of the fly and the 12CH biotherapeutic, 66.66% of the same effect. For the sulfur 12CH preparation, the inhibitory effect was 94.63%. The results found are promising and in vivo tests and clinical trials are the next step of the study.

Key words: Agroecology, Homeopathy, Myiasis, Control, Diptera.

3.3 Introdução

As miíases podem causar inúmeros prejuízos além das perdas econômicas, como é o caso da deterioração do couro, mas também podem comprometer a saúde animal por permitirem a entrada de germes patogênicos no organismo (BRITO, 2008). Dentre as espécies que causam miíase, a *C. hominivorax*, merece atenção redobrada, pois se estabelece em tecidos vivos, e os danos ocasionados no local em que foi acometido muitas vezes são irreparáveis, acarretando em mutilações e até mesmo na morte dos animais. No Brasil, o tratamento convencional para o controle das larvas, consiste na utilização de produtos comerciais que contenham compostos sintéticos em diferentes formulações, com ação inseticida (pó, unguento e spray), associados a produtos bactericidas e cicatrizantes ou o tratamento sistêmico, que é o caso das lactonas macrocíclicas, sendo muito utilizadas em tratamentos preventivos no caso de castração, descorna, entre outros (GRISI et al, 2014). Mas nem sempre foi assim, antes da década de 40, usavam-se inseticidas compostos por substâncias inorgânicas tais como: arsênico, cobre, enxofre, e também compostos naturais como nicotina e piretrina (extraída do crisântemo) (SILVA, 2009). Entretanto, na década de 30, muitas companhias químicas começaram a pesquisar sobre compostos sintéticos, dando origem a um dos primeiros inseticidas, um organoclorado, o Diclorodifenil Tricloroetano. Desde então, diferentes classes de inseticidas sintéticas foram desenvolvidas. (CECCATI, 2004).

Por um tempo, estes inseticidas obtiveram sucesso durante a sua administração, no entanto o seu uso contínuo e impróprio fez com surgisse a resistência (MOYA BORJA et al. 1993). A resistência é caracterizada pelo fato do inseto sobreviver a uma dose de inseticida que seria letal para a maioria dos indivíduos da mesma espécie. Isto se concretizou porque foram utilizadas doses cada vez maiores destes inseticidas na expectativa de dizimar estas populações, contudo além do surgimento da resistência vieram também os resíduos que estas substâncias deixam nos produtos de origem

animal e a degradação do meio ambiente (HEMINGWAY et al., 2004). Neste cenário, insere-se como alternativa a utilização de utradiluições homeopáticas. A sociedade vem buscando cada vez mais por alimentos que não tenham nenhum tipo de resíduos, isso impulsiona a produção de sistemas de produção como o orgânico e o agroecológico.

A oficialização da produção animal orgânica no Brasil ocorreu em maio de 1999 pela Instrução Normativa 07 do Ministério da Agricultura, sendo recomendados a utilização de homeopatia e fitoterapias. Mais tardar no ano de 2012, foi instituída a Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica, pelo decreto de 7.794 de 20 agosto, tornando-se cada vez mais necessário o desenvolvimento de pesquisas relacionadas na otimização de alternativas de controle não químicas, para os diversos tipos parasitoses que acometem os animais, sendo este um dos principais entraves da produção animal.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação *in vitro* de um bioterápico preparado a partir de larvas selvagens da mosca *Cochliomya hominivorax* em dois diferentes níveis de potencialização: CH8 e CH12 e o medicamento *Sulphur* 12 CH sobre larvas de terceiro estágio desta mosca.

3.4 Materiais e métodos

3.4.1 Preparação dos medicamentos homeopáticos

Os bioterápicos e o medicamento *Sulphur* utilizados neste trabalho foram produzidos no Laboratório de Estudos e Práticas em AgroHomeopatia, localizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina – CCA UFSC.

O medicamento *Sulphur* foi escolhido devido a sua ação geral sobre a pele, positiva e persistente (LATHOUD, 2001). Além disso, a fetidez da pele, característica deste medicamento também foi considerado. As miíases ocorrem na pele e em cavidades naturais e são causadas pelas larvas de *C. hominivorax*. Estas lesões cutâneas apresentam-se de caráter grave, traumático e emanam cheiro fétido e característico, que são produtos de excreção das larvas em desenvolvimento, atrativos para novas posturas de moscas.

O preparado foi realizado a partir de uma matriz homeopática obtida em empresa comercial reconhecida (Miligramm Farmácia de Manipulação, Florianópolis-SC). A manipulação do preparado homeopático *Sulphur* 12CH foi realizada pelo método Centesimal Hahnemanniano para substancias insolúveis, seguindo as

orientações da terceira edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011). Foi utilizado álcool 30% (v/v), como veículo para as diluições e foram empregadas diluições seriadas até alcançar a décima segunda potência Hahnemanniana através de succussões manuais.

O bioterápico utilizado neste estudo foi preparado a partir de larvas selvagens de *Cochliomyia hominivorax* oriundas de uma mífase naturalmente ocorrida em um ovino residente do biotério de ovinos do Núcleo de Agroecologia do Centro de Ciências Agrárias – UFSC, localizado na Fazenda Ressacada. A preparação deste bioterápico seguiu a metodologia da extração em lactose e água, seguindo recomendações da 3ª edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011), que cita este como sendo 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 oitava e a décima segunda potências através de succussões manuais. A escolha da potência 12CH para o medicamento *Sulphur* ocorreu pelo caráter agudo das manifestações clínicas geradas pela infestação pelas larvas de *C. hominivorax*. As potências 8CH e 12CH para os testes envolvendo o bioterápico foram escolhidas após uma revisão de literatura científica em que constatou que estas seriam as mais utilizadas pelos pesquisadores para testes *in vitro* envolvendo preparados ultra diluídos e dinamizados.

3.4.2 Testes *in vitro* dos preparados ultra diluídos e dinamizados sobre larvas de *Cochliomyia hominivorax*

Para a realização dos testes foram utilizadas larvas sadias de terceiro estágio oriundas da colônia estabelecida no Laboratório de Parasitologia Animal no Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado no Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis –SC.

A dieta dos insetos adultos consistia em uma mistura de água, mel e ágar, Já a dieta larval era composta por carne moída fresca e dieta líquida, que é uma mistura de água, sangue em pó, ovo em pó, leite em pó e formol.

Os insetos adultos permaneciam em gaiolas de 35 x 35 cm² em uma sala com temperatura e umidade controladas, 33°C e 60% respectivamente. Estes atingem a maturidade sexual e estão aptos para reproduzir-se, em 48 horas para as fêmeas e 36 horas para os machos (LEITE, 2004). A partir do quinto de emergência começava a ovoposição. Colocar-se dentro da gaiola uma placa de Petri com três pequenas porções

separadas de carne moída, pinceladas com sangue ovino por toda sua extensão. A ovoposição era feita no final da tarde, período de preferência das moscas (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007), a placa permanecia por até 24 horas dentro da gaiola, garantindo assim que todas ovopositassem. A seguir, a massa de ovos era retirada cuidadosamente e colocada em cima da carne moída com a dieta larval, onde permaneciam por 48 horas dentro de uma Incubadora B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) com Fotoperíodo controlado, a 37°C e 60% de umidade, até atingir o primeiro estágio larval (L1). Após as 48 horas iniciais de crescimento larval, as L1 foram transferidas para um recipiente maior (de modo a comportar em torno de 100 larvas L1), contendo uma camada em torno de 3 cm de carne moída misturada com dieta larval por toda a sua extensão. Após dois dias, as larvas foram transferidas juntamente com a carne moída para um recipiente maior, possibilitando o seu desenvolvimento até o último estágio larval (L3) para o desenvolvimentos dos testes.

Para a realização dos testes *in vitro* foi utilizado um recipiente de vidro especialmente desenvolvido para este fim, depositado um papel filtro de forma a cobrir o fundo dos 60 recipientes e servir como substrato para a fixação dos preparados testados, aumentando seu tempo de contato com as larvas. As L3 foram retiradas dos recipientes com auxílio de uma pinça e depositadas nos frascos de testes, estes já preparados com o papel filtro. Cada recipiente de teste recebia quinze larvas em média e o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado.

Foram realizadas 10 repetições de cada grupo tratamento e grupo controle, totalizando 900 larvas divididas em três grupos tratamento (*Sulphur* 12CH, Bioterápico 8CH e Bioterápico 12CH) e três grupos controle, um que recebia apenas água destilada, outro que não recebia nenhuma substancia e um terceiro controle com álcool a 30% (v/v).

O teste consistiu em submeter um grupo de 15 L3 sadias de *C. hominivorax* ao contato direto com 1 mL do preparado ou medicamento homeopático testado ou da substancia controle, através da pulverização realizada com o auxílio de uma pipeta calibrada.

Após a realização dos tratamentos, os recipientes foram vedados com tule preso por liga de borracha para facilitar a aeração e foram mantidos à 37°C±1°C e umidade relativa de 70±10% em câmara incubadora B.O.D, com fotoperíodo, alternância e controle de umidade – NL-41-02. A ação dos tratamentos foi avaliada através da observação e contabilização da taxa de emergência de insetos adultos após a exposição

ao teste, que deve ocorrer em 9 dias. Foram contabilizadas como vivas todas aquelas moscas que conseguiram realizar o processo de pupagem e de emergência, e mortas aquela que não conseguiram realizar este processo. Através desta informação, foi possível calcular a ação de cada um dos tratamentos testados em inibir o desenvolvimento das larvas de terceiro estágio de *C. hominivorax* em situação experimental.

3.4.3 Análise estatística

Os testes foram Experimentos Fatoriais com variação da potencialização dos bioterápicos. O Delineamento experimental adotado para ambos os testes foi Delineamento Completamente Casualizado (DCC) e a unidade experimental considerada será frascos de vidros (9 cm altura x 4 cm de diâmetro) com papel filtro impregnado com 1 mL dos produtos a serem testados.

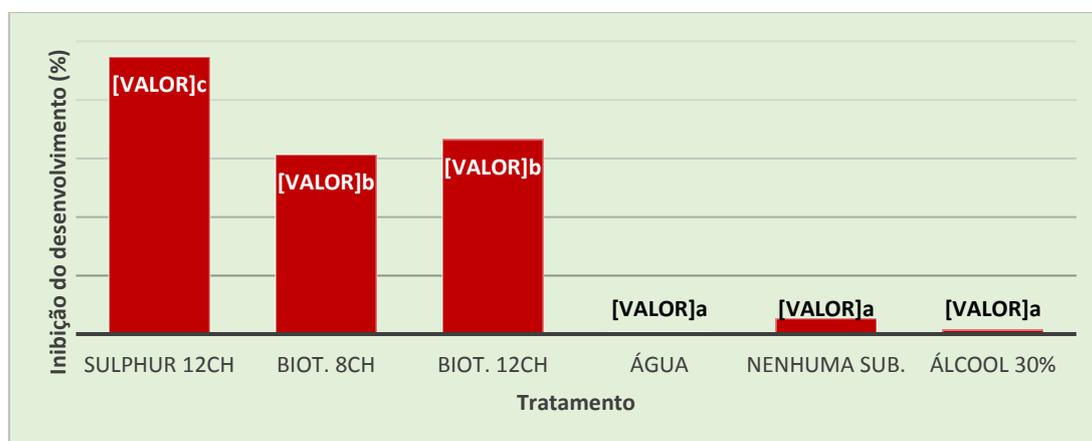
A avaliação da taxa de emergência dos insetos adultos após contato com os preparados e medicamento homeopáticos e dos grupos controle foi analisada por estatística descritiva e expressas em médias do grupo, seguidas da análise de variância com ajustamento para Tukey. A homogeneidade das variâncias foi testada. Os efeitos foram considerados estatisticamente significativos para valores de $P < 0,05$.

3.5. 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 substancia alguma. Estas médias não diferirem estatisticamente entre si ($p > 0,05$). Estes resultados demonstram a lisura das metodologias empregadas no desenvolvimento dos testes. O controle água e nenhuma substancia 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. Das larvas submetidas ao contato com o bioterápico de *C. hominivorax* 8CH, 61,33% não completaram o seu desenvolvimento e não emergiram como insetos adultos após o período de pupagem das larvas controle. Para o bioterápico 12CH o efeito de inibição no desenvolvimento observado foi de 66,66% (Figura 1). Estas médias não diferem entre si, porém são diferentes da média dos controles e da média verificada no teste com

o preparado *Sulphur* 12CH. Quanto as larvas submetidas ao contato com o *Sulphur* 12CH, 94,63% não completaram o seu desenvolvimento e não emergiram como insetos adultos após o período de pupagem das larvas controle. Esta média é diferente da média dos controles e das médias encontradas para este efeito quando o contato ocorreu com o bioterápico testado.

Figura 1 – Ação *in vitro* de preparados ultradiluídos (*Sulphur* 12CH, bioterápico de larvas de *C. hominivorax* 8CH e 12CH), água destilada, sem substância, álcool 30%, em larvas de *Cochliomya hominivorax*.



A pesquisa *in vitro* tem se mostrado uma importante ferramenta para o avanço da ciência médica, segundo Passeti et al., 2014. Em se tratando da pesquisa homeopática, Waisse (2017) destaca que essa ferramenta vem ganhando uma atenção especial dos pesquisadores na última década. Com o uso de testes *in vitro* envolvendo preparados homeopáticos e o avanço do conhecimento de física quântica, muitos pesquisadores (ASSUMPCÃO, 2008; BOTHÁ & ROSS, 2008; MAITY et al., 2010; MARCHOLLEK et al., 2010; WOLF et al., 2011; SHARNA & PURKAIT, 2012.) já relatam os efeitos físico de mudanças no estado dos veículos que carregam as informações contidas nestes medicamentos ou preparados. Segundo Waisse (2017) a pesquisa *in vitro* usando preparados e medicamentos homeopáticos e microrganismos ou culturas celulares possibilita a averiguação de efeitos diretos nos mecanismos biológicos, além de dispensar o uso de modelos animais e humanos e com isso se torna isenta de muitos dos possíveis erros que podem ser encontrados com a pesquisa clínica.

O efeito de preparados homeopáticos sobre células vivas é uma realidade consolidada academicamente através de diversos estudos cientificamente reconhecidos (BONAMIN, 2017). Existem relatos do seu efeito sobre bactérias (PASSETI et al., 2014; 2017), protozoários (LOPES et al., 2017; SANTANA et al., 2017), fungos (MALARCZYK, 2009) e culturas celulares (SAHA & KHUDA-BUKHSH, 2015; LIMA et al., 2016; BONAFINI et al., 2017). Porém, ainda não existiam reportagens do efeito de preparados homeopáticos sobre larvas de insetos até o momento.

Passeti et al., (2017) demonstraram em estudos *in vitro* envolvendo cepas patogênicas de *Staphylococcus aureus* e medicamentos homeopáticos, que esta exposição ocasionou o aumento da susceptibilidade da bactéria a ação do antibiótico oxacilina. Da mesma forma, os resultados encontrados no presente estudo podem sugerir que o uso de medicamentos homeopáticos na medicina veterinária pode ser uma importante ferramenta no enfrentamento a grave crise de resistência aos biocidas que estamos vivendo atualmente.

3.7 Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo mostram que bioterápicos produzidos com larvas da mosca *Cochliomyia hominivorax* nas potências 8CH e 12CH e o medicamento *Sulphur* 12CH possuem um considerável efeito inibidor no desenvolvimento de larvas de terceiro estágio desta mosca e estes resultados podem vir a ser correlacionados ao uso clínico destes medicamentos homeopáticos e preparado em animais acometidos por miíases.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L.R.; SILVA, F.S.; FONSECA, A.H.; SOARES, J.P.G.; LUCKE, I. (2007) **Tratamento homeopático da infestação por *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr, 1781) (Diptera: Cuterebridae) em bovinos em manejo orgânico.** Embrapa Comunicado Técnico 104.

ALTIERI, M. **Agroecologia. A dinâmica produtiva da agricultura sustentável.** 3.ed.(S.l.):Editora da Universidade. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. 110 p.

ALVES-BRANCO, F. DE. P. J.; PINHEIRO, A. C.; SAPPER, M. F. M. **O controle da Mosca das Mííases ou Bicheiras.** Comunicado técnico 40, Bagé – RS, 2001.

AMORIM, V. O. & FONTES, O. L. Bioterápicos. In: FONTES, O.L, CESAR, A. T., CHAUND, M. V., TEIXEIRA, M.Z., KISHI, M.A., AMORIM, V.O. **Farmácia Homeopática: Teoria e prática.** Barueri: Manole; 2012. p. 216-237.

ANIMAL HEALTH AUSTRLIA (2007). **DISEASE STRATEGY: SCREW-WORM FLY (VERSION 3.0).** AUSTRALIAN VETERINARY EMERGENCY PLAN (AUSVETPLAN), Edition 3, Primary Industries Ministerial Council, Canberra, ACT, 2007.

ARAÚJO FILHO, R. **Introdução à pecuária ecológica: a arte e a ciência de criar animais sem drogas ou venenos.** Porto Alegre: São José, 2000. 136p.

ARENALES, M.C.; ROSSI, F. **Produção orgânica de carne bovina.** Viçosa: CPT, 2000. 158p.

ASSUPÇÃO, R. **Electrical impedance and HV plasma images of high dilutions of sodium chloride.** Homeopathy, n. 97, p.129-33, 2008.

BAUMAN, Z. **Modernidade Líquida.** Rio de Janeiro: Jorge Zahar Ed., 2001.

BAUMHOVER A. H. **Eradication of the screwworm fly, an agent of myiasis.** Journal of the American Medical Association, Chicago, v. 196, n. 3, p. 240-248, 1966.

BAROLLO, C. R. **Homeopatia e pesquisa: Uma Medicina baseada na Investigação**. Informativo da Associação Paulista de Homeopatia, ed. 89, 2003.

BONAFINI, C.; MARZOTTO, M.; BELLAVITE, P. **In vitro effects of Zinc in soluble and homeopathic formulations on macrophages and astrocytes**. Homeopathy n. 106, p.103-113, 2017.

BOERICKE, W. **Matéria médica homeopática com índice terapêutico**. 2ed. Rio de Janeiro: Fraenkel Vervolet. 1993. 561 p.

BONAMIN, L. V. **A solidez da pesquisa básica em homeopatia**. Revista de Homeopatia n. 80, p. 89-97, 2017.

BOTHA, I. & ROSS, A. H. **A nuclear magnetic resonance spectroscopy comparison of 3C trituration derived and 4C trituration derived remedies**. Homeopathy, n. 97, 196-201, 2008.

BRASIL. **Lei nº 10831, de 23 de dezembro de 2003**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 dez. 2003. Seção 1, p.8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n 46. Legislação para os sistemas orgânicos de produção animal e vegetal**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 dez. 2011. Brasília: MAPA, 2011.

BRICARELLO, P. A.; SEÓ, H. L. S.; PINHEIRO MACHADO FILHO, L. C.; HONORATO, L. A.; AMARANTE, A. F. T. **The Effect of Gastrointestinal Nematode Infection Level on Grazing Distance from Dung**. Plos One, v. 10, p. 126, 2015.

BRITO, L. G.; OLIVEIRA, M. C. S.; GIGLIOTI, 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 dípteras de interesse veterinário em laboratório**. Documento/Embrapa Rondônia, ISSN 0103 -9865; 125), p. 25, 2008.

BRUNELLI, S. R. A. **História da Homeopatia Veterinária**. Homeopatia Brasileira, 3 (1): 318-320, 1997

BRUNINI, D SAMPAIO, C. **Homeopatia Princípios, Doutrina e Farmácia** IBHE. 2 ed. São Paulo. Mythos Editora, p. 231-234. 1993.

CAPRONI JUNIOR, L.; UMEHARA, O.; GONÇALVES, L. C. B.; MORO, E. Persistent efficacy of doramectin and ivermectin in the prevention of natural *Cochliomyia hominivorax* infestations in cattle castrated 10 days after treatment. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 1, n. 7, p.57-61, 1998.

CARVALHO, R. A. **Base moleculares da resistência a inseticidas organofosforados em *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae)**. 127 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

CAVALCANTE, A. C. R.; CAVALCANTE, E. V. H. J.; GUIMARÃES, J. P. **Produção orgânica de caprinos e ovinos**. Sobral: Embrapa Caprinos, 2007. 40 p. - (Documentos / Embrapa Caprinos, ISSN 1676-7659; 69).

CECCATI, J.S. **Resisting insects: shifting strategies in chemical control**. Endeavour, n. 28, v. 1, p.14-19, 2004.

COLASSO, C.; AZEVEDO, F. A. **Riscos da utilização de Armas Químicas. Parte I-Histórico**. RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, São Paulo, v. 4, n. 3, p. 137-172, 2011.

DELEITO, C. S. R. **Inseticidas alternativas no controle de moscas sinantrópicas**. 2008. 123 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

DELFINO, R. T.; RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. **Compostos organofosforados como agentes químicos de guerra: uma revisão**. Revista da sociedade Brasileira de Química. São Paulo, v. 20. n. 3, p. 1-32, 2009.

FAO. **COMMITTEE ON AGRICULTURE - Managing Livestock – Environment Interactions**. 25-27 abril 2007. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/011/j9421e.pdf>

FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA. **Métodos Gerais**. 3º edição. Brasil, 2011.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecology: researching the basis for sustainable agriculture**. New York: Verlang, 1997.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANCADO, P. H. D.; PEREZ DE LEON, A. A.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. **Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil**. Rev Bras Parasitol, n. 23, p.150-156, 2014.

HALL, M. & WALL, R. **Myiasis of human and domestic animals**. Advances in Parasitology, London, v. 35, p. 257-334, 1995.

HAHNEMANN, C. F. S. **Organon da Arte de Curar**. Trad. 6a. ed. Organon de Hahnemann. São Paulo: Associação Paulista de Homeopatia.1981.236 p.

HEMINGWAY, J., HAWKES, N.J., MCCARROL, L., RANSON, H. **The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes**. Insect Biochem Mol Biol 34: 653-665, 2004.

IFOAM – International Federation of Organic Agriculture Movements. **Relatório sobre a produção de alimentos orgânicos no mundo em 2014**. Disponível em: <http://www.ifoam.bio/sites/default/files/ar2014_web.pdf> Alemanha: Die Deutsche Bibliothek, 2014. 24p.

KOSSAK, A. R. **Homeopatia em 1000 conceitos**. 2 ed. São Paulo: editora ELCID, 1984. 587 p.

LATHOUD, J.A. **Estudos de Matéria Média Homeopática**. São Paulo: Editora Organon, 2001.

LEITE, A. C. R. **BIOLOGIA E CONTROLE DE *Cochliomyia Hominivorax* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)**. XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA & I SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETISIOSES, 2004.

LIMA, L. F.; ROCHA, R. M. P.; ALVES, A. M. V. C. **Comparison between the additive effects of dituited (rFSH) and diluted/dynamized (FSH 6CH) recombinant follicle-stimulating hormone on the in vitro culture of ovine preantral follicles enclosed in ovarian tissue**. *Compl Ther Med*, n. 25, p.39-44. 2016.

LOPES, E. G. **Homeopatia aplicada à parasitologia veterinária**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINARIA, 12.; SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE RICKETSIOSES, 1., 2004. Ouro Preto. Anais... Ouro Preto, Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004. p. 150-155.

LOPES, C. R. **Highly diluted medication reduces tissue parasitism and inflammation in mice infected by *Trypanosoma cruzi***. *Homeopathy*, n. 105.2 p.186-193, 2016.

MAITY, T. ; GHOSH, D. ; MAHAT, C. R. **Effect of dielectric dispersion on potentised homeopathic medicines**. *Homeopathy*, n. 99, v. 2, p.99-103, 2010.

MARSCHOLLEK, B. ; NELLE, M. ; WOLF, M. ; BAUMGARTNER, S. ; HEUSSER, P. ; WOLF, U. **Effects of exposure to physical factors on homeopathic preparations as determined by ultraviolet light spectroscopy**. *ScientificWorldJournal*, n.10, p. 49-61, 2010.

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.

MITIDIERO, A. M. A. **Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia como opção na bovinocultura leiteira, avaliação dos aspectos sanitários e de produção**. 2002. Dissertação (Mestrado) - PGAGR, CCA-UFSC, Florianópolis, 2002.

MLARCZYK, E.; KOCHMANSKA-RDEST, J.; JAROSZ-WILKOLAZKA, A. **Influence of very low doses of mediators on fungal laccase activity – nonlinearity beyond imagination**. *Nonlinear Biomed Phys*, n. 3, v.10. 2009.

MOYA-BORJA, G.E. **Erradicação ou manejo integrado das miíases neotropicais das Américas**. *Pesq. Vet. Bras.*, n. 23, p.131-138, 2003.

MOYA BORJA G.E.; OLIVEIRA, C.M.B.; MUNIZ, R.A.; GONÇALVES, L.C.B. 1993. **Prophylactic and persistent efficacy of doramectin against *cochliomyia hominivorax* in cattle.** Vet. Parasitol., n. 4(1), p. 95-105.

ORMOND, J. G. P. **Agricultura Orgânica: Quando o passado é futuro.** BNDES Setorial. Rio de Janeiro, n. 15, p. 3-34, mar. 2002.

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, n. 106, p. 27-31. 2017.

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 *Arnica montana*, *Gelsemium sempervirens*, *Belladonna*, *Mercurius solubillis* e nosódio sobre o crescimento in vitro da bactéria *Streptococcus pyogenes*.** Rev. homeopatia (São Paulo); n. 77(1/2): 1-9, 2014.

PINHEIRO MACHADO, L. C. & PINHEIRO MACHADO FILHO, L. C. **Dialética da Agroecologia. Contribuição para um mundo com alimentos sem veneno.** 1.ed. São Paulo: Expressão popular. 2014. 360 p.

PINTO, L.F. **Homeopatia Veterinária.** Rio de Janeiro, Imprensa Universitária da U.F.R.R.J., 1994. 87 p.

SAHA, S. K.; ROY, S.; KHUDA-BUKSHS, A. R. **Ultra-highly diluted plant extracts of *Hydrastis canadensis* and *Marsdenia condurango* induce epigenetic modifications and alter gene expression profiles in HeLa cells in vitro.** J Integr Med, n.13, v.6, p.400-11, 2015.

SAMPAIO, A. **Homeopatia em Medicina Veterinária.** Curitiba: ed. El Erial Ltda, 1995.

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, n.92, p.33-47, 2017.

SHARMA, A. & PURKAIT, B. **Identification of medicinally active ingredient in Ultradiluted *Digitalis purpurea*: fluorescence spectroscopic and cyclic-voltammetric study.** J Anal Methods Chem. 2012.

SILVA, C. P. S.; CARDOSO, M. V.; CÉSAR, A. T; SOLLERO, P. A. **Uso de Bioterápico de *Mycoplasma Spp.* em rebanho Bovino Leiteiro.** Cultura Homeopática, 2005. 13: p. 43-48.

SILVA, F. B. **Los Animales y la Homeopatía - Teoría y Experiencia.** 1ª Ed, pp. 161-169 Dilema Editorial. Madrid, 2006.

SILVA, N. M.; CARVALHO, R. A.; AZEREDO-ESPIN, A. M. L. **Acetylcholinesterase cDNA sequencing and identification of mutations associated with organophosphate**

resistance in *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). Veterinary Parasitology, n. 177, p. 190-195, 2011.

SILVA, N. M. **Investigação da resistência a inseticidas na mosca-da-bicheira *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae).** 2009. 103 f. Tese (Doutorado em Biologia). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

SILVA, N. M. & AZEREDO-ESPIN, A. M. L. **Investigation of mutations associated with pyrethroid resistance in populations of the New World Screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae).** *Genetics and Molecular Research* n. 8(3), p. 1067-1078, 2009.

SOARES, I. C. **Homeopatia Fundamentos Básicos.** Ribeirão Preto: IHFL. 1988. p 47.

SOARES, J. P., CAVALCANTE, A. C. R., JUNIOR, E. V. H.; **Agroecologia e sistemas de produção orgânica para pequenos ruminantes.** Embrapa Caprinos e Ovinos, 2010.

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.

VANIN, J.A.; ALCANTARA, M.R.; **Armas Químicas.** Química Nova. São Paulo, n. 15, v.1, p. 62-72, 1992.

VASCONCELOS, V. L., & CHAVES, C. V. **A busca pela verdadeira causa do adoecer.** Rev Homeopat. 2011; 74(3):68.

VERISSIMO, C. J. **MORTE DE RUMINANTES DEVIDO A INFECCÃO NA ORELHA CONSEQÜENTE À MIÍASE CAUSADA POR *COCHLIOMYIA HOMINIVORAX* (COQUEREL, 1858).** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 2, n. 70, p.187-189, jun. 2003.

VIKSVEEN, P. **Antibiotics and development of resistant microorganisms. Can homeopathy be an alternative?** Homeopathy, v. 92, n. 2, p. 99-107, 2003.

VOCKEROTH, W. G. (1999). **Veterinary Homeopathy: An overview.** Can Vet J, 40, 592-594.

WAISSE, S. **Efeito de ultradiluições homeopáticas em modelos in vitro: revisão de literatura.** Rev. homeopatia (São Paulo), n. 80, v.1/2, p. 89-112, 2017.

WOLF, U. ; WOLF, M. ; HEUSSER, P. ; THURMEYSEN, A. ; BAUMGARTNER, S. **Homeopathic preparations of quartz, sulfur and copper sulfate assessed by UV-spectroscopy.** EvidBased Complement Alternat Med. 2011;2011:692798.