

em triplicata. O próprio veículo pode aumentar a produção de IL6, TNF- $\alpha$  e MCP1 ( $p < 0,04$ ), reduzindo o número de fungos fagocitados ( $p < 0,001$ ). Um aumento transitório de RANTES (fator quimiotático para monócitos) foi visto após uma hora do tratamento com *Phosphorus* 200cH, seguido por aumento da atividade lisossomal, após 1 e 24 horas do tratamento ( $p < 0,002$ ). As características ultraestruturais dos fungos interiorizados após tratamento com *Phosphorus* 200cH concordam com os resultados observados na microscopia de fluorescência. *Phosphorus* 200cH apresentou o efeito mais evidente e específico sobre a atividade macrófaga, principalmente após 24 horas da infecção com *E. cuniculi*. O aumento da atividade lisossomal sugere a existência de um aumento da capacidade de digestão do parasita in vivo após um aumento transitório na produção de RANTES, que foi confirmado com a microscopia eletrônica de transmissão. O aumento transitório de RANTES pode ser fruto da monocultura: como não há linfócitos nem células NK in vitro, não há retroalimentação para que se continue a produção de RANTES. Além disso, a própria digestão dos micro-organismos limita a ativação macrófaga. O controle de qualidade de medicamentos, avaliado pelo MEV+EDS, não indicou presença de um contaminante em quantidade relevante para justificar algum efeito inespecífico do *Phosphorus* 200cH (CRAWFORD et al., 2011). RANTES (CCL5) é uma quimiocina expressada por muitos tipos de células hematopoiéticas e não-hematopoiéticas que desempenham papel importante na orientação e migração de células efectoras e células de memória T durante infecções agudas. Não por acaso, o receptor RANTES, CCR5, é um grande alvo de medicamentos anti-HIV, com base em bloqueio de entrada viral nas células-alvo. No entanto, os defeitos na RANTES ou receptores de RANTES CCR5 podem comprometer a imunidade para infecções agudas em modelos animais e levar à doença mais grave em seres humanos infectados com vírus do Oeste do Nilo (WNV). Em contraste, o papel da via RANTES na regulação de respostas de células T durante a infecção crônica permanece obscuro.

### Referências

CRAWFORD, A. et al. A role for the chemokine RANTES in regulating CD8 T cell responses during chronic viral infection. *PLoS Pathogens*, San Francisco, v. 7, n. 7, p. 1-17, jul. 2011. Disponível em: <<https://bit.ly/2Ni0SY6>>. Acesso em: 12 jul. 2018.

RODRÍGUEZ-TOVAR, L. E. et al. Histochemical study of Encephalitozoon cuniculi spores in the kidneys of naturally infected New Zealand rabbits. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Thousand Oaks, v. 29, n. 3, p. 269-277, May 2017. Disponível em: <<https://bit.ly/2utOT7I>>. Acesso em: 12 jul. 2018.

## 04 EFEITO IN VITRO DE BIOTERÁPICO SOBRE LARVAS DE COCHLIOMYIA HOMINIVORAX (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

BARROS, G. P.<sup>1</sup>; SEUGLING, J.<sup>1</sup>; PEREIRA, A.<sup>1</sup>; GUIMARÃES, M. L. P.<sup>1</sup>; BRICARELLO, P. A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Parasitologia Animal, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). E-mail: giuliano.barros@ufrgs.br

Miíases são lesões ocasionadas pelo parasitismo da forma larval da mosca *Cochliomyia hominivorax* nos tecidos vivos de animais de

sangue quente. Essas afecções são demasiadamente cruentas e geram severos prejuízos ao bem-estar animal e aos criadores, de forma que seu tratamento é realizado imediatamente após o diagnóstico. O tratamento é quase sempre realizado com o emprego de produtos à base de compostos sintéticos diretamente sobre as larvas, ou uso de endectocidas (CARVALHO, 2010). O uso em demasia desses produtos está provocando o surgimento de dípteros resistentes à sua ação, a deterioração dos agroecossistemas, além de acumular resíduos tóxicos no ambiente e nos produtos de origem animal (VERÍSSIMO, 2003). A indisponibilidade de alternativas à utilização das moléculas sintéticas no enfrentamento desse problema é um gargalo dentro dos sistemas de produção animal sustentáveis (SOTOMAIOR, 2009). Sob este contexto, a Instrução Normativa MAPA nº 46, de 6 de outubro de 2011, recomenda a utilização de medicamentos homeopáticos e bioterápicos em animais de produção. A pesquisa moderna em homeopatia tende a direcionar a atenção aos ensaios in vitro (PASSETTI et al., 2014). Testes in vitro envolvendo preparados homeopáticos e bioterápicos podem oferecer informações prévias sobre a ação desses preparados nas células vivas dos organismos, sem as complicações inerentes dos testes clínicos (WAISSE, 2017). Assim, este trabalho avaliou o efeito in vitro de um bioterápico, preparado nas potências 8cH e 12cH, com larvas de *C. hominivorax* sadias, em terceiro estágio, oriundas de uma colônia estabelecida em laboratório. A colônia de *C. hominivorax* foi estabelecida no Laboratório de Parasitologia Animal do Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural, localizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis. O bioterápico utilizado foi preparado a partir de larvas selvagens de *C. hominivorax*, oriundas de uma miíase que ocorreu naturalmente em um ovino do Núcleo de Agroecologia do Centro de Ciências Agrárias da UFSC. A preparação deste bioterápico seguiu a metodologia da extração em lactose e água que a terceira edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011) considera 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, com succussões manuais. O efeito do bioterápico foi analisado com a metodologia proposta por Eddy e Graham (1950) para testes de atividade de larvicida in vitro com Calliphoridae, com pequenas adaptações. Um grupo de 15 larvas sadias de *C. hominivorax* em terceiro estágio foi submetido ao contato direto com 1mL do bioterápico e, a seguir, foi analisada a emergência dos insetos adultos. Foi utilizado um total de 750 larvas, divididas em dois grupos tratamento e três grupos controle. Os grupos tratamento foram Bioterápico 8cH e Bioterápico 12cH. Os grupos controle receberam água destilada, álcool etílico 30% (v/v), ou nenhuma substância. Os testes foram realizados sempre em quintuplicatas. 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% ( $p < 0,05$ ). As taxas de mortalidade dos grupos controle foram: 1,35% para o grupo que recebeu álcool 30% (v/v); 4,33% para o grupo que recebeu água destilada; e 2,9% para o grupo que não recebeu substância alguma. Estas médias não foram distintas ( $p > 0,05$ ). Esses 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 a ausência de 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 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%. Estas médias não diferiram entre si, porém foram distintas da média dos controles. Os resultados encontrados mostram que, sob as condições dos testes realizados, o bioterápico apresentou considerável efeito inibidor no desenvolvimento das larvas da mosca *C. hominivorax*. Na literatura científica são relatados os efeitos in vitro dos medicamentos homeopáticos e bioterápicos sobre diversas células vivas (WAISSE, 2017). Esses efeitos já foram detectados em carrapatos (MORAIS et al., 2015), bactérias (PASSETTI et al., 2014, 2017), protozoários (SANTANA et al., 2017), culturas celulares (LIMA et al., 2013), células reprodutivas (SOTO et al., 2011), células do sistema imune (IVE; COUCHMAN; REDDY, 2012), e células tumorais em cultura (ARORA et al., 2013). Conclui-se que bioterápicos preparados a partir de larvas de *C. hominivorax* possuem efeito inibidor do desenvolvimento do díptero. A pesquisa com preparados homeopáticos in vitro é promissora e desafiadora.

### Referências

- ARORA, S. Anti-proliferative effects of homeopathic medicines on human kidney, colon and breast cancer cells. *Homeopathy*, Stuttgart, v. 102, n. 4, p. 274-82, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Farmacopeia homeopática brasileira**. 3. ed. Brasília, DF: Anvisa, 2011. Disponível em: <https://bit.ly/2Nd9AMP>. Acesso em: 12 jul. 2018.
- CARVALHO, R. A. **Bases moleculares da resistência a inseticidas organofosforados em Cochliomyia hominivorax (Diptera: Calliphoridae)**. 2010. 127 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- EDDY, G. W.; GRAHAM, O. H. An improved laboratory method for testing materials as screw-worm larvicides. *Journal of Economic Entomology*, Annapolis, v. 43, n. 4, p. 558-559, 1950.
- GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.
- IVE, E. C.; COUCHMAN, I. M. S.; REDDY, L. Therapeutic effect of Arsenicum album on leukocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 13, n. 3, p. 3979-3987, 2012.
- LIMA, L. F. et al. 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. *Complementary Therapies in Medicine*, Edinburgh, v. 25, p. 39-44, 2016.
- MASTRANGELO, T. A. **Metodologia de produção de moscas estereis de Cochliomyia hominivorax (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) no Brasil**. 2011. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- MORAIS, P. G. S. et al. Homeopatia contra carrapatos (*Rhipicephalus microplus*) em bovinos mestiços leiteiros. *Boletim de Indústria Animal*, Nova Odessa, v. 71, p. 58, 2015.
- PASSETTI, T. A. et al. Ação dos medicamentos homeopáticos Arnica montana, Gelsemium sempervirens, Belladonna, Mercurius solubillis

e nosódio sobre o crescimento in vitro da bactéria *Streptococcus pyogenes*. *Revista de Homeopatia*, São Paulo, v. 77, n. 1/2, p. 1-9, 2014.

- \_\_\_\_\_. Action of antibiotic oxacillin on in vitro growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) previously treated with homeopathic medicines. *Homeopathy*, Stuttgart, v. 106, n. 1, p. 27-31, 2017.
- SANTANA, F. R. et al. High dilutions of antimony modulate cytokines production and macrophage: leishmania (*L.*) amazonensis interaction in vitro. *Cytokine*, Oxford, v. 92, p. 33-47, 2017.
- SOTO, F. R. M. et al. Effects of the utilization of homeopathic elements in commercial diluent on swine sperm viability. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Animal*, Columbia, v. 47, n. 3, p. 205-209, 2011.
- SOTOMAIOR, C. S. et al. **Parasitoses gastrintestinais dos ovinos e caprinos: alternativas de controle**. Curitiba: Instituto Emater, 2009. 36 p.
- VERÍSSIMO, 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, 2003.
- WAISSE, S. Efeito de ultradiluições homeopáticas em modelos in vitro: revisão de literatura. *Revista de Homeopatia*, São Paulo, v. 80, n. 1/2, p. 89-112, 2017.

## 05 EFEITO IN VITRO DO MEDICAMENTO SULPHUR SOBRE LARVAS DE COCHLIOMYIA HOMINIVORAX (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

BARROS, G. P.<sup>1</sup>; SEUGLING, J.<sup>1</sup>; PEREIRA, A.<sup>1</sup>; GUIMARÃES, M. L. P.<sup>1</sup>; BRICARELLO, P. A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Parasitologia Animal, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). E-mail: giuliano.barros@ufpr.br

O controle das populações da mosca *Cochliomyia hominivorax* representa um sério desafio para a criação animal no Brasil (MOYA BORJA, 2003). Anualmente, a invasão dos tecidos vivos dos animais zootécnicos pelas larvas deste díptero determina prejuízos da ordem de 34 bilhões de reais ao setor agropecuário, além de afetar ao bem-estar e a saúde dos animais (GRISI et al., 2014). O tratamento geralmente é realizado com a aplicação de produtos químicos sintéticos diretamente sobre as larvas. Esses produtos possuem ação inseticida inespecífica e, ao controlar as populações desta mosca, também afetam todos os outros artrópodes residentes no ambiente. O uso indiscriminado desses produtos, impulsionado, em grande parte, pela revolução verde, gerou a seleção de dípteros resistentes a estas moléculas e o desequilíbrio dos agroecossistemas naturais (OLIVEIRA; BRITO, 2005). Atualmente, é reconhecida a urgência em buscar por sistemas produtivos sustentáveis que ofereçam um modo mais ético para a produção de alimentos (FAO, 1992). Porém, o controle deste díptero ainda permanece como um gargalo neste panorama, pois não existem alternativas ao uso dos químicos sintéticos no controle das populações da mosca *C. hominivorax*, e no tratamento das miíases (DELEITO, 2008). A Instrução Normativa MAPA nº 46, de 6 de outubro de 2011, que regulamenta a produção orgânica, recomenda a utilização de medicamentos homeopáticos e bioterápicos em animais de produção para controle de doenças. O modelo de estudo in vitro comprova os efeitos das substâncias ultradiluídas e dinamizadas sobre células vivas, e é independente da maioria das complexidades inerentes aos testes clínicos in vivo, sendo, por esta razão, um avanço para o desenvolvimento da