

14878 - Avaliação do crescimento da bactéria *Escherichia coli* tratada com preparados homeopáticos

*Evaluation of growing of the bacterium *Escherichia coli* treated with homeopathic preparations*

SANTOS, Priscila Alves¹; ARAÚJO, Mariane Oliveira²; BITTENCOURT, Luisa Pereira³; ANDRADE, Fernanda Maria Coutinho⁴; CASALI, Vicente Wagner Dias⁵

1 Instituto de Homeopatia na Agricultura e Ambiente (IHAMA), priscasantos@gmail.com; 2 Universidade Federal de Viçosa, marianeoliveiraa@hotmail.com; 3 Universidade Federal de Viçosa, luisa.bittencourt@ufv.br; 4 Instituto de Homeopatia na Agricultura e Ambiente (IHAMA), fernanda@ihama.com.br; 5 Universidade Federal de Viçosa, vwcasali@ufv.br

Resumo

O objetivo foi avaliar o crescimento ao longo do tempo de *Escherichia coli* tratada com preparações homeopáticas. O experimento foi instalado em parcelas subdivididas, tendo na parcela 12 homeopantias, tintura mãe de *E.coli* e 2 controles (água mineral e caldo nutriente acrescido de *E. coli*) e na subparcela o fator tempo, no delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições. A unidade experimental constou de tubos de ensaio contendo 9 ml de água destilada e 1 ml de caldo nutriente acrescido de *E.coli*. Foi aplicada 1 gota dos tratamentos, em cada tubo de ensaio, exceto nos controles. Após a aplicação dos tratamentos foi medida a absorbância em espectrofotômetro, nos tempos 0, 2 e 4 horas de incubação. Os dados foram interpretados por meio da análise de variância e regressão. Verificou-se efeito significativo da interação tratamentos e tempo de crescimento. Ajustaram-se equações lineares na descrição da absorbância das amostras tratadas em função do tempo de crescimento.

Palavras-chave: Nosódios, Homeopatia, Água, Crescimento microbiano

Abstract: The objective was to evaluate the growth over time of *Escherichia coli* treated with homeopathic preparations. The experiment was arranged in a split-plot, with the portion 12 homeopathies, mother tincture of *E.coli* and 2 controls (mineral water and nutrient broth plus *E. coli*) and subplot time factor, in a randomized design with 4 replicates. The experimental unit consisted of test tubes containing 9 mL of 'distilled water and 1 ml of nutrient broth plus *E.coli*. 1 drop was applied treatments in each test tube, with exception of the controls. After the treatments the absorbance was measured in spectrophotometer at 0, 2 and 4 hours of incubation. Data were processed by analysis of variance and regression. It was observed a significant effect of interaction treatments and the growth time. Were adjusted linear equation in the description the absorbance of treated samples as a function of the time of growth.

Keywords: Nosode, Homeopathy, Water, Microbial Growth

Introdução

A água é fundamental na manutenção da vida dos animais, das plantas e seres humanos (VALIAS et al., 2002). Por se apresentar de forma abundante no planeta, causa a falsa impressão de ser recurso inesgotável. Entretanto, especialistas afirmam que apenas 0,147% da água do planeta está apta ao consumo estando a forma de rios, lagos, nascentes e lençóis subterrâneos (BETTEGA et al. 2006).

Em determinados territórios, a água é recurso cada vez mais escasso e de qualidade duvidosa. A qualidade da água é fator de suma importância visto que a mesma pode veicular diversas enfermidades. A avaliação da qualidade

microbiológica da água é importante devido à diversidade de microrganismos patogênicos, principalmente de origem fecal, que podem estar presentes (BRASIL, 2006).

O grupo de bactérias coliformes é adotado como indicador de contaminação da água, pois, só estão presentes na flora intestinal de mamíferos e aves; possuem relação direta com o grau de contaminação fecal da amostra de água; sua exigência nutricional é menor, por isso, permanecem vivas na água por maior período; e por apresentarem ampla resistência a ação de agentes desinfetantes quando comparadas a outros organismos patogênicos (BRASIL, 2004).

A homeopatia é tecnologia social recomendada no tratamento das águas (DOURADO et al., 2012). É método alternativo de baixo custo, que não agride o ambiente e é acessível a todos, beneficiando principalmente a família agrícola (LISBOA et al., 2005).

Na homeopatia é comum usar os organismos desequilibrados no preparo das homeopantias que serão utilizadas no controle destes mesmos organismos. Estas preparações são denominadas nosódios (REZENDE, et al., 2010), por exemplo, o preparado homeopático de *Escherichia coli* seria recomendado no equilíbrio dessa bactéria sendo denominado nosódio.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da tintura mãe e doze preparações homeopáticas, no crescimento da bactéria *E. coli*, por meio da absorbância.

Metodologia

O trabalho foi realizado no Laboratório de Homeopatia, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em junho de 2013.

O experimento foi instalado no esquema de parcelas subdivididas, tendo na parcela 12 homeopantias + 1 tintura mãe + 2 controles (água mineral e caldo nutriente acrescido de *E. coli*) e na subparcela o fator tempo, no delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. As homeopantias utilizadas nos tratamentos foram: dinamizações D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12 de *E. coli*.

Na manipulação da tintura mãe (TM) utilizou-se a cepa de *E. coli* 5α. A TM e as dinamizações de D1 a D12 foram preparadas de acordo com as técnicas de preparação de nosódio vivo propostas por Roberto Costa (ARRUDA, et al., 2005). Assim, na placa de Petri que continha a cultura da bactéria foi introduzido 10 ml de soro fisiológico. Esta solução foi homogeneizada e armazenada em vidro âmbar, sendo devidamente rotulada como TM. Posteriormente, foram manipuladas as dinamizações D1 a D12. No preparo da D1, foram introduzidos 18 ml de soro fisiológico em vidro âmbar e 2 ml da tintura mãe. Após, a diluição foi realizada a sucussão (100 vezes), originando a primeira dinamização, D1 (escala decimal). No preparo da D2, foram diluídos 2 mL da D1 em 18 mL de soro fisiológico e realizada a sucussão e, assim sucessivamente, até D12 (ARRUDA et al., 2005).

O caldo nutriente (composto de 3g de extrato de carne e preparado enzimático de gelatina 5g, com pH 6,8 a 25°C) foi preparado de acordo a orientação do fabricante.

Foram misturados em béquer 4 gramas do pó e 500 ml de água destilada, até ficar homogêneo. Em seguida o caldo foi inoculado, com auxílio da alça de platina, com a cultura bactéria *E. coli* e incubado em estufa a 37°C por 12 horas.

A unidade experimental constou de tubos de ensaio, que foram identificados e organizados em estante tipo grade. Com auxílio de pipeta volumétrica, os tubos de ensaio foram preenchidos com 9 ml de água destilada e 1 ml de caldo nutriente acrescido de *E.coli*. Foi aplicada uma gota dos tratamentos, em cada tubo de ensaio, com exceção dos controles, que não receberam nenhuma aplicação.

Após a aplicação dos tratamentos foi realizada a leitura da densidade ótica (DO) através da absorbância em espectrofotômetro modelo SP 2000 UV a 600 nm, ajustado 0% de absorbância com água destilada. Os tubos de ensaio foram homogeneizados no vórtex e posteriormente o conteúdo foi despejado em cubeta e inserido no espectrofotômetro. A primeira leitura foi referente ao tempo zero. Após cada leitura, o conteúdo retornava ao seu respectivo tubo de ensaio que foram colocados em estufa a 37°C, por 2 horas. Esse procedimento foi repetido até a totalização de 4 horas de crescimento das bactérias.

Os dados foram interpretados por meio da análise de variância e regressão. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. No fator qualitativo (tempo de crescimento) os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando o teste T, no coeficiente de determinação (r^2) e no fenômeno em estudo.

Resultados e discussões

Foi verificado efeito significativo dos tratamentos e do tempo de crescimento na absorbância das amostras (Tabela 1). Apenas no tempo 4 horas, foi verificado efeito significativo dos tratamentos na absorbância das amostras. Todos os tratamentos causaram maior absorbância em relação ao controle 1.

A medida de absorbância por espectrofotometria é indicativa do crescimento de microrganismos. Quanto maior o valor da absorbância maior crescimento bacteriano (MESSETI et al., 2010).

Assim, de acordo com os dados da Tabela 1, é possível inferir que com o passar do tempo houve crescimento bacteriano devido ao aumento da absorbância. Entretanto, não foi quantificado este crescimento.

Foram ajustadas equações lineares na descrição da absorbância das amostras tratadas em função do tempo de crescimento (Tabela 2).

Foram escolhidos modelos lineares em todos os tratamentos, exceto no controle 1, provavelmente devido ao curto período de crescimento da bactéria adotado nesse trabalho. É recomendável a adoção de maior número de medidas em experimentos de regressão visando curvas mais representativas dos fenômenos.

Tabela 1. Valores médios de absorvância (%) das amostras de *E.coli* tratadas com a TM e dinamizações de *E.coli* ao longo do tempo de crescimento. Viçosa/MG, 2013.

Tratamentos	Tempo		
	0 horas	2 horas	4 horas
Controle1: Água Destilada	0,567A	0,692A	0,682B
Controle2: Caldo Nutriente + <i>E.coli</i>	0,567A	0,735A	0,842A
Tintura Mãe	0,576A	0,735A	0,847A
<i>E. coli</i> D1	0,577A	0,728A	0,840A
<i>E. coli</i> D2	0,575A	0,712A	0,812A
<i>E. coli</i> D3	0,580A	0,714A	0,837A
<i>E. coli</i> D4	0,574A	0,719A	0,837A
<i>E. coli</i> D5	0,575A	0,725A	0,854A
<i>E. coli</i> D6	0,573A	0,736A	0,805A
<i>E. coli</i> D7	0,582A	0,731A	0,866A
<i>E. coli</i> D8	0,576A	0,728A	0,860A
<i>E. coli</i> D9	0,566A	0,716A	0,812A
<i>E. coli</i> D10	0,567A	0,710A	0,836A
<i>E. coli</i> D11	0,568A	0,733A	0,853A
<i>E. coli</i> D12	0,587 ^a	0,742A	0,887A

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Segundo CRUZ (2012), o efeito de preparados homeopáticos no crescimento de *E. coli* só foi detectado após 6 horas de crescimento da bactéria e, como as medidas de absorvância foram realizadas de 0 a 12 horas, em intervalos de 2 horas, foram ajustados modelos polinomiais de terceira ordem na representação do fenômeno. Segundo o autor o término do experimento foi determinado quando as colônias atingiram uma constância de absorvância, revelando que estavam na fase estacionária.

Cabe inferir que o curto tempo de avaliação (0 a 4 horas) adotado neste experimento foi deficiente na manifestação dos efeitos das preparações homeopáticas bem como na adoção de equações mais representativas do fenômeno.

Conclusões

Há efeito da TM e das preparações homeopáticas de *E. coli*, D1 a D12, no crescimento da bactéria *E. coli*, sinalizado pelo aumento da absorvância, em função do tempo de crescimento.

Tabela 2. Valores estimados de absorvância em amostras de *E.coli* tratadas com homeopatia em função do tempo de crescimento (T). Equações ajustadas e coeficientes de determinação (r^2).

Tratamento	Equação Regressão	R ²
Controle Água Destilada	$y = 0,532667 + 0,0286250T$ ^{ns}	0,68
Controle Caldo Nutriente + <i>E.coli</i>	$y = 0,440167 + 0,0686875T$ **	0,98
Tintura Mãe	$y = 0,449083 + 0,0676875T$ **	0,99
D1	$y = 0,452417 + 0,0656875T$ **	0,99
D2	$y = 0,463333 + 0,0591875T$ **	0,99
D3	$y = 0,454250 + 0,0641250T$ *	0,99
D4	$y = 0,446667 + 0,0658750T$ *	0,99
D5	$y = 0,440167 + 0,0695625T$ *	0,99
D6	$y = 0,473750 + 0,0578750T$ *	0,94
D7	$y = 0,442500 + 0,0710625T$ *	0,99
D8	$y = 0,437333 + 0,0711250T$ *	0,99
D9	$y = 0,452000 + 0,0616250T$ **	0,98
D10	$y = 0,435417 + 0,0673750T$ *	0,99
D11	$y = 0,433500 + 0,0712500T$ **	0,99
D12	$y = 0,438500 + 0,0751250T$ **	0,99

**significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste “t”. Viçosa/MG, 2013.

Referências bibliográficas

- ARRUDA, V.M.; CUPERTINO, M.C.; LISBOA, S.P.; CASALI, V.W.D. **Homeopatia tri-una na agronomia: as propostas de Roberto Costa e algumas relações com os agrossistemas**. Viçosa, MG, 2005. 119p.
- BETTEGA, J.M.P.R, MACHADO, M.R.; PRESIBELLA, M.; BANISKI, G.; BARBOSA, C.A. **Métodos analíticos no controle microbiológico da água para consumo humano**. Lavras, Revista Ciência Agrotécnica, v. 30, n. 5, 2006. 4 p.
- BRASIL, Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. 1ª ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2004. 146 p.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 212p.
- DOURADO, G.F; et al. **Homeopatia no Saneamento Rural: Promovendo a qualidade de vida e a Sustentabilidade ambiental**. Viçosa, 2012. 91p.
- LISBOA, S.P. **Alterações de propriedades físico-químicas da água tratada com homeopatia**. 2010, 57p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, MG, 2010.
- MESSETTI, M.A; SANTOS, A.M.; ANGELIS, D.F.; CHIERICE, G.O.; NETO, S.C. **Estudo do derivado do óleo de *Ricinus communis* L. (mamona) como agente biocida e redutor da viscosidade produzida por *Leuconostoc mesenteroides* em indústrias sucroalcooleiras**. São Paulo, Arq. Inst. Biol., v.77, n.2, p.301-308, 2010.
- REZENDE, J.M. et al. **Caderno de Homeopatia: Instruções práticas geradas por agricultores sobre o uso da homeopatia no meio rural**. Viçosa, 2010. 59p.

VALIAS, A.P.G.S.; ROQUETO, M.A.; HORNINK, D.G.; KOROIVA, E.H.; VIEIRA, F.C.; ROSA, G.M.; SILVA, M.A.M L. **Avaliação da qualidade microbiológica de águas de poços rasos e de nascentes de propriedades rurais do município de São João da Boa Vista.** São Paulo, Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, v.5, n.1, p.21-28, 2002.