

Ação dos medicamentos homeopáticos *Arnica montana*, *Gelsemium sempervirens*, *Belladonna*, *Mercurius solubillis* e nosódio sobre o crescimento *in vitro* da bactéria *Streptococcus pyogenes*.

**Tânia A. Passeti¹, Ariana de J. Manzoni², Luciana G.P. Ambrozino², Marina L. Ferreira², Priscila F.P. Rodrigues², Leandro R. Bissoli³, Suzana N. Diniz⁴,
Registila L. Beltrame⁵.**

Resumo

Introdução: As bactérias são os micro-organismos com maior potencial patogênico para o ser humano. As infecções causadas por elas são na sua maioria graves e devem ser tratadas com drogas antibacterianas. Uma dessas bactérias patogênicas é *Streptococcus pyogenes*, causadora de diversas infecções, incluindo amigdalite, erisipela e endocardite, sendo que em alguns pacientes ocorre febre reumática como complicação pós-infecção. Diversos trabalhos na literatura demonstram efeitos biológicos em bactérias após contato com soluções ultra-diluídas. Embasados nessas informações, propusemos avaliar o efeito dos medicamentos homeopáticos *Belladonna* (*Bell*), *Mercurius solubillis* (*Merc*), *Gelsemium sempervirens* (*Gels*) e nosódio de *S. pyogenes* no crescimento *in vitro* da bactéria *S. pyogenes*. *Arnica montana* (*Arn*) foi usado no presente trabalho como controle, por não ser, aparentemente, indicada no tratamento de infecções bacterianas. **Materiais e métodos:** Os medicamentos foram utilizados nas diluições de 12cH e 30cH, nas concentrações de 2, 4 e 6 gotas em 3 mL de meio BHI (Brain Heart Infusion) com 100µL da bactérias na concentração 0,5 da escala de McFarland. A solução foi incubada a 37°C por 20 horas e submetida à leitura em espectrofotômetro a 600nm. **Resultados:** Os medicamentos nosódio e *Bell* nas diluições 12cH e 30cH com 2, 4 ou 6 gotas inibiram significativamente o crescimento *in vitro* de *S. pyogenes*, enquanto *Arn* 30cH na concentração de 6 gotas estimulou esse crescimento. **Conclusão:** Medicamentos homeopáticos podem ter ação sobre o crescimento *in vitro* de bactérias, sendo que essa ação pode estar relacionada a sua aplicação clínica.

Palavras-chave

Homeopatia; Isopatia, *Streptococcus pyogenes*; Crescimento *in vitro*

¹PhD, professora auxiliar, Departamento de Patologia, Disciplina de Microbiologia e Imunologia, Faculdade de Medicina do ABC (FMABC); farmacêutica, Universidade Anhanguera; mestrando, Departamento de Patologia, Disciplina de Microbiologia e Imunologia, FMABC; ²PhD, professora, Mestrado Profissional em Farmácia, Universidade Anhanguera; ³professora titular, Departamento de Patologia, Disciplina de Microbiologia e Imunologia, FMABC. ✉tania.passeti@japta.com.br

Action of homeopathic medicines *Arnica montana*, *Gelsemium sempervirens*, *Belladonna*, *Mercurius solubillis* and nosode on *in vitro* growth of *Streptococcus pyogenes*.

Abstract

Introduction: Bacteria are the microorganisms with greatest pathogenic potential for human beings. The infections caused by bacteria are usually serious and require treatment with antibacterial drugs. One of such pathogenic bacteria is *Streptococcus pyogenes*, which is associated with several infections diseases, including tonsillitis, erysipela and endocarditis, being that rheumatic fever might occur as a post-infection complication. There are records in the literature of biological effects in bacteria subjected to ultra-diluted solutions. On those grounds, we sought to test the effects of homeopathic medicines *Belladonna* (*Bell*), *Mercurius solubillis* (*Merc*), *Gelsemium sempervirens* (*Gels*) and *S. pyogenes* nosode on the *in vitro* growth of *S. pyogenes*. *Arnica montana* (*Arn*) was used as control, as it is believed not to have any effect in the treatment of infections. **Materials and methods:** The homeopathic medicines were used in dilutions 12cH and 30cH in concentration 2, 4 and 6 drops/3 mL of BHI (Brain Heart Infusion) with 100 µL of bacteria in concentration 0.5 McFarland scale. The solution was incubated at 37 °C for 20 hours and read in spectrophotometer at 600 nm. **Results:** Medicines nosode and *Bell* in dilution 12cH and 30cH and concentration 2, 4 and 6 drops induced significant inhibition of the *in vitro* growth of *S. pyogenes*; *Arn* 30cH in concentration 6 drops promoted bacterial growth. **Conclusion:** Homeopathic medicines might have an action on the *in vitro* growth of bacteria, which might be related with their clinical applications.

Keywords

Homeopathy; Isopathy, *Streptococcus pyogenes*; *In vitro* growth

Introdução

Dentre as causas de infecção no ser humano, as bactérias são os principais patógenos, devido a sua virulência e aos danos causados a tecidos e órgãos. Um desses patógenos relevantes para o ser humano é *Streptococcus pyogenes*, um coco Gram-positivo do grupo A hemolítico, que adere à mucosa faríngea através de pili. Esse patógeno causa caracteristicamente amigdalite, erisipela e endocardite, que podem ser eficazmente tratadas com antibióticos [1]. No entanto, em alguns pacientes ocorre produção de anticorpos capazes de reconhecer concomitantemente a bactéria e proteínas M do miocárdio, causando danos nesse tecido [2]. O resultado é a febre reumática, que leva a lesões nas válvulas cardíacas, com comprometimento das funções do coração [3].

As amigdalites estreptocócicas também podem ser tratadas com medicamentos homeopáticos, destacando-se para esse fim: *Gelsemium sempervirens*, *Belladonna*, *Mercurius solubilis* e o nosódio da bactéria *S. pyogenes* [5]. Esses medicamentos são amplamente usados na clínica homeopática no tratamento dessa infecção, com excelentes resultados [6,7]. No entanto, enquanto diversos estudos clínicos são relatados na literatura, poucos são aqueles que investigaram a ação desses medicamentos diretamente sobre a bactéria *in vitro*.

Em farmacologia, a ação dos antibióticos sobre culturas bacterianas é usada como referência para o tratamento de doenças infecciosas [8]. Baseados nesse conceito, no presente estudo propusemos avaliar a ação de medicamentos homeopáticos sobre culturas bacterianas, de modo similar ao estudo de drogas antimicrobianas na farmacologia convencional. Assim, avaliamos a ação dos medicamentos *Belladonna*, *Mercurius solubillis*, *Gelsemium sempervirens* e o nosódio de *S. pyogenes* no crescimento *in vitro* da bactéria. Como controle, foi utilizado um medicamento que não seria indicado para o tratamento de infecções por *S. pyogenes*, a saber, *Arnica montana*, que é utilizado para traumas e contusões [5].

Materiais e Métodos

Bactéria: Utilizamos para nosso estudo *Streptococcus pyogenes* CCL 0309, lote cis p09, que foi cultivada em meio de cultura ágar-sangue e incubada em estufa a 37°C em ambiente com 5% de CO₂ por 20 horas. Após esse período, a bactéria estava em condições adequadas para ser usada nos testes.

Medicamentos homeopáticos: Os medicamentos homeopáticos foram manipulados de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Homeopática Brasileira 3ª edição [9]. O nosódio da bactéria foi preparado a partir de suspensão de *S. pyogenes* CCL 0309. Todos os medicamentos foram formulados em álcool etílico 30% nas diluições 12cH e 30cH.

Para o preparo dos medicamentos homeopáticos, partimos da tintura-mãe, que foi submetida a 3 diluições na escala centesimal com álcool etílico com o mesmo teor da tintura-mãe ou, no caso de mineral solúvel, água purificada ou solução alcoólica que o solubilizasse. Para estocar e preparar as demais formas derivadas foi utilizado álcool etílico a 77% (v/v) ou superior. Para a dispensação foi utilizado álcool etílico a 30% (v/v). As diluições e agitações foram feitas manualmente.

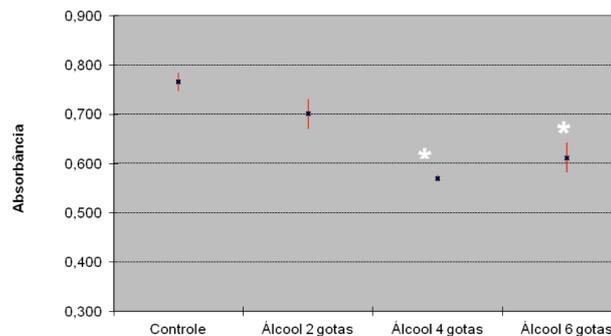
Procedimento experimental: Em diferentes tubos contendo 3 ml de meio BHI, foram colocadas 2, 4 e 6 gotas dos medicamentos homeopáticos nas diluições 12cH e 30cH. A seguir, foram pipetados 100 µl da suspensão bacteriana na concentração 0,5 da escala de McFarland. Após incubação por 24 h em estufa a 37°C, os tubos foram retirados e o crescimento bacteriano foi avaliado em espectrofotômetro a 600 nm [10]. Todos os testes foram realizados em quadruplicata.

A verificação da ação do álcool 30% sobre o crescimento bacteriano foi realizada nas mesmas condições dos testes com os medicamentos. A esterilidade dos medicamentos foi avaliada pela semeadura de 5 gotas de cada medicamento em meio BHI, sendo verificado o crescimento ou não de microrganismos contaminantes.

Análise estatística: Os dados experimentais foram avaliados estatisticamente de acordo com o método paramétrico de análise de variância (ANOVA) e o teste de comparação de Tukey, com desvio padrão e probabilidade aceitável de $p < 0,05$. Os valores representados nos gráficos são a média de dois experimentos isolados feitos em quadruplicata.

Resultados

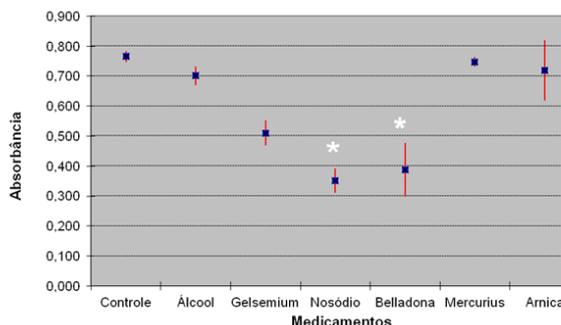
Ação de álcool 30% sobre o crescimento *in vitro* de *S. pyogenes*: Álcool 30% induziu redução do crescimento *in vitro* da bactéria de modo dose-dependente (Fig. 1). Tanto álcool 30% quanto os medicamentos testados foram avaliados quanto à contaminação, e os resultados foram negativos (dados não apresentados).



A Fig. 1 demonstra ação de álcool 30% sobre o crescimento bacteriano *in vitro*. Observamos diferenças estatisticamente significativas nas concentrações 4 e 6 gotas do álcool 30% por comparação ao grupo controle ($p < 0,05$).

Fig. 1 Ação de álcool 30% sobre o crescimento bacteriano *in vitro*

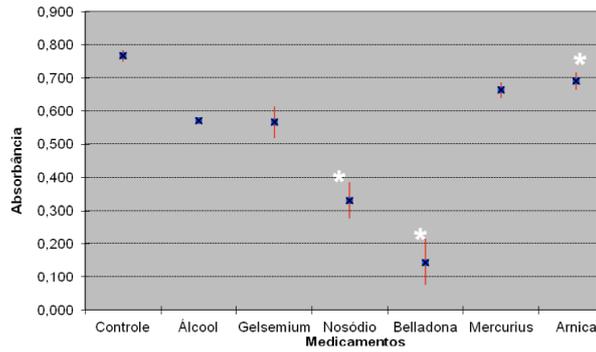
Ação dos medicamentos homeopáticos sobre o crescimento bacteriano *in vitro* na diluição 12cH e concentração 2 gotas: A ação dos medicamentos homeopáticos na diluição 12cH e concentração 2 gotas/3 mL de meio BHI mostrou resultados individuais de acordo com o medicamento usado. Os resultados obtidos demonstram que *Bell* e nosódio diminuíram o crescimento bacteriano *in vitro*, quando comparados com os resultados do controle com álcool 30% (Fig. 2).



Ao lado, na Fig. 2, observamos diferenças estatisticamente significativas no crescimento bacteriano *in vitro* na presença dos medicamentos *Bell* ($p < 0,01$) e nosódio ($p < 0,001$) em relação ao controle com álcool 30% em 3 mL de meio BHI.

Fig. 2 Ação dos medicamentos homeopáticos na diluição 12cH e concentração 2 gotas sobre crescimento bacteriano *in vitro*

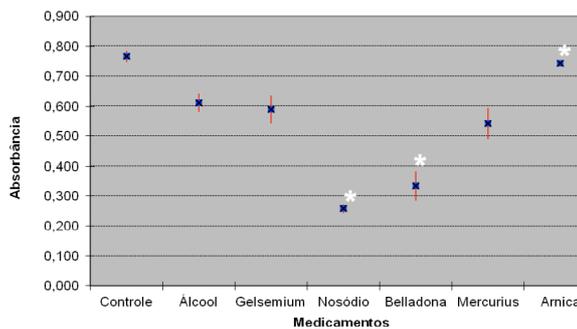
Ação dos medicamentos homeopáticos sobre o crescimento bacteriano *in vitro* na diluição 12cH e concentração 4 gotas: Os resultados indicam que *Bell* e nosódio produziram inibição do crescimento bacteriano *in vitro*, enquanto que *Arn* estimulou o crescimento das bactérias nas mesmas condições. A estatística foi realizada comparando-se os dados com os medicamentos em relação ao controle com álcool 30% (Fig. 3).



Os resultados representados na Fig. 3 foram estatisticamente significativos para os medicamentos *Bell* ($p < 0,001$), nosódio ($p < 0,01$) e *Arn* ($p < 0,01$) em relação ao controle com álcool 30% na concentração de 4 gotas.

Fig. 3 Ação dos medicamentos homeopáticos na diluição 12cH e concentração 4 gotas sobre crescimento bacteriano *in vitro*

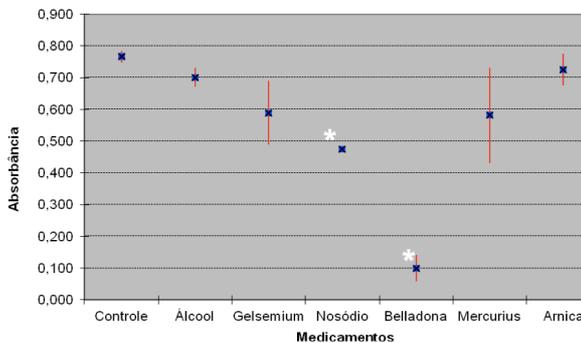
Ação dos medicamentos homeopáticos sobre o crescimento bacteriano *in vitro* na diluição 12cH e concentração 6 gotas: Na diluição 12cH e concentração 6 gotas em 3 mL de meio BHI, *Bell* e nosódio induziram diminuição do crescimento bacteriano *in vitro*, enquanto que *Arn* produziu aumento da população bacteriana. Os resultados foram comparados ao controle com álcool 30% (Fig. 4).



Os resultados representados na Fig. 4 foram estatisticamente significativos para os medicamentos *Bell* ($p < 0,05$), nosódio ($p < 0,01$) e *Arn* ($p < 0,01$) em relação ao controle com álcool 30% na concentração de 6 gotas.

Fig. 4 Ação dos medicamentos homeopáticos na diluição 12cH e concentração 6 gotas sobre crescimento bacteriano *in vitro*

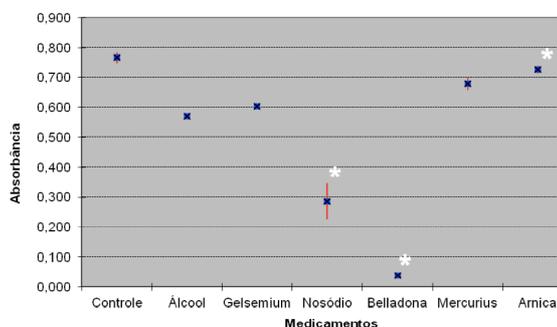
Ação dos medicamentos homeopáticos sobre o crescimento bacteriano *in vitro* na diluição 30cH e concentração 2 gotas: Na diluição 30cH e concentração 2 gotas em 3 mL de meio BHI, a *Bell* e nosódio atuaram no crescimento bacteriano *in vitro*, produzindo diminuição da população bacteriana. Os resultados foram comparados ao controle com álcool 30% (Fig. 5).



Nos resultados apresentados na Fig. 5, observamos diferença estatisticamente significativa no crescimento bacteriano *in vitro* na presença dos medicamentos *Bell* ($p < 0,001$) e nosódio ($p < 0,05$) em relação ao controle com álcool 30% e concentração de 2 .

Fig. 5 Ação dos medicamentos homeopáticos na diluição 30cH e concentração 2 gotas sobre crescimento bacteriano *in vitro*

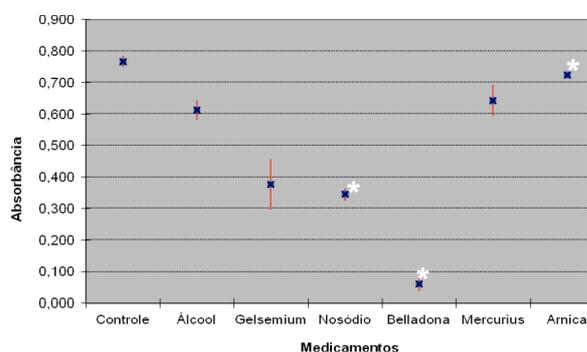
Ação dos medicamentos homeopáticos sobre o crescimento bacteriano *in vitro* na diluição 30cH e concentração 4 gotas: Na diluição 30cH e concentração de 4 gotas em 3 mL de meio BHI, *Bell* e nosódio produziram inibição do crescimento bacteriano *in vitro*, enquanto que *Arn* estimulou o crescimento das bactérias nas mesmas condições (Fig. 6).



Os resultados representados na Fig. 6 indicam influência estatisticamente significativa no caso de *Bell* ($p < 0,001$), nosódio ($p < 0,01$) e *Arn* ($p < 0,01$) em relação à ação do álcool 30% na concentração de 4 gotas.

Fig. 6 Ação dos medicamentos homeopáticos na diluição 30cH e concentração 4 gotas sobre crescimento bacteriano *in vitro*

Ação dos medicamentos homeopáticos sobre o crescimento bacteriano *in vitro* na diluição 30cH e concentração 6 gotas: Na diluição 30cH e concentração 6 gotas em 3 mL de meio BHI, *Bell* e nosódio produziram inibição do crescimento bacteriano *in vitro*, enquanto que *Arn* estimulou o crescimento da população bacteriana (Fig. 7).



Os resultados representados na Fig. 7 indicam que os medicamentos homeopáticos *Bell* ($p < 0,001$), nosódio ($p < 0,01$) e *Arn* ($p < 0,05$) tiveram ação sobre o crescimento bacteriano, estatisticamente significativa quando comparados ao controle com álcool 30% na concentração de 6 gotas.

Fig. 7 Ação dos medicamentos homeopáticos na diluição 30cH e concentração 6 gotas sobre crescimento bacteriano *in vitro*

Discussão e conclusões

Os resultados do nosso trabalho demonstram que, dentre os medicamentos homeopáticos avaliados no estudo, *Belladonna* e o nosódio da bactéria *S. pyogenes* apresentaram influência sobre o crescimento bacteriano *in vitro*. *Bell* 12cH e 30cH apresentou ação inibitória sobre o crescimento bacteriano, que variou significativamente de 45 a 90% em relação ao álcool 30%. Assim, podemos inferir que *Bell* teve ação direta sobre o crescimento bacteriano e que esse medicamento poderia, numa eventual infecção, colaborar com o organismo para a rápida eliminação do patógeno.

O medicamento nosódio, feito a partir do lisado da bactéria *S. pyogenes* CCL 0309 nas diluições 12cH e 30cH, associou-se com diminuição significativa do crescimento bacteriano, variando de 32 a 75%. Esse resultado nos deixa intrigados, pois envolve a inibição de bactérias por um medicamento isopático. Normalmente, a taxa de multiplicação das bactérias patogênicas é alta, o que ocasiona rápido esgotamento dos nutrientes do meio onde ela se encontra. Assim, uma hipótese plausível para explicar esse achado seria que a o medicamento isoterápico agiu regulando a taxa de crescimento, permitindo que a população bacteriana sobrevivesse mais tempo no mesmo meio de cultura. Na literatura especializada, os trabalhos com avaliações experimentais do uso de isoterápicos em bactérias são escassos, demonstrando que o campo conhecido como isopatia é praticamente inexplorado, nesse sentido.

Em nosso trabalho não avaliamos a ação efetiva de *Bell* e do nosódio sobre a bactéria, pois não foi mensurada a taxa de mortalidade bacteriana. Assim, não é possível determinar se essa ação foi bactericida ou bacteriostática. No entanto, os nossos resultados sugerem que os medicamentos homeopáticos *Bell* e nosódio de *S. pyogenes* poderiam ser utilizados juntamente com os antimicrobianos no tratamento da amigdalite estreptocócica, a fim de contribuir a eliminação mais rápida do patógeno, e eventualmente favorecer um uso mais racional das drogas antimicrobianas.

Arn é um medicamento usado classicamente em casos de traumas e como anti-inflamatório [11,12]. Alguns trabalhos também demonstraram ação desse medicamento na diminuição do tempo de coagulação do sangue humano [13]. Em nosso trabalho, *Arn* apresentou ação estimulante do crescimento *in vitro* de *S. pyogenes*, que variou significativamente em torno de 20%. Na literatura pertinente não foi encontrado nenhum trabalho demonstrando esse comportamento. Quando se trabalha com bactérias *in vitro* é necessário repicá-las várias vezes em diferentes meios de cultura, o que pode acarretar traumas na célula bacteriana intrínsecos ao método. Sugerimos, de modo hipotético, que *Arn* poderia ter ação nesses traumas, fornecendo melhores condições de crescimento às bactérias.

Embora os medicamentos *Gels* e *Merc* sejam frequentemente usados no tratamento de amigdalites infecciosas, não apresentaram ação sobre o crescimento da bactéria *S. pyogenes in vitro*. Esses resultados sugerem que *Gels* e *Merc* não teriam ação sobre a bactéria na vigência de uma infecção. No entanto, isso não implica em falta de efetividade no tratamento de infecções, pois esses medicamentos podem atuar estimulando o sistema imunológico do hospedeiro e garantindo, assim, a eliminação do micro-organismo infectante [14].

Nosso trabalho demonstra que os medicamentos homeopáticos têm ação sobre células vivas. Esses dados corroboram os trabalhos de Malarczyk [15,16] indicando que bactérias e fungos são sensíveis à presença de soluções ultra-diluídas. Igualmente, corroboram o trabalho de Giorgi et al. [17] (2004), que demonstrou ação significativa do medicamento *Sanguinaria canadensis* sobre o crescimento *in vitro* da bactéria *Streptococcus mutans*.

Para concluir, no nosso estudo observamos que a resposta das células bacterianas variou de acordo com o medicamento testado. Os resultados obtidos podem, talvez, ser correlacionados ao uso clínico dos medicamentos homeopáticos correspondentes. Nossas observações indicam a existência de um mecanismo de ação envolvido na ação de soluções ultra diluídas sobre células vivas.

Referências bibliográficas

1. Casey JR, Pichichero ME. Meta-analysis of short course antibiotic treatment for group A streptococcal tonsillopharyngitis. *Pediatr Infect Dis J.* 2005; 24 (1): 909-917.
2. Henningham A, Barnett TC, Maamary PG, Walker MJ. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Discov Med.* 2012; 13(72): 329-3342.
3. Tandon R. Preventing rheumatic fever: M-protein based vaccine. *Indian Heart J.* 2014; 66(1): 64-67.
4. Cilliers AM. Rheumatic fever and its management. *BMJ* 2006; 333 (7579): 1153-1156.
5. Vieira, GR. Homeopatia e saúde: do reducionismo ao sistêmico. Acre: Edufac; 2013.
6. Melnick AJ. Microbiologia médica. 24ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2009.
7. Harvey R, Champe PC, Fisher BD. Microbiologia ilustrada. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2008.
8. Zurita J; Mejia C, Guzman-Blanco, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. *Braz J Infect.* 2010; 14(2): 97-106.
9. Farmacopeia Homeopática Brasileira. 3ª edição. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/3a_edicao.pdf Acesso em 20/05/2014.
10. Gudiña EJ, Rocha V, Teixeira JA, RodriguesLR. Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* A20. *Lett Appl Microbiol.* 2010; 50 (4): 419-424.
11. Macedo SB, Ferreira LR, Perazzo FF, Carvalho JC. Anti-inflammatory activity of Arnica montana CH6: preclinical study in animals. *Homeopathy.* 2004; 93(2): 84-87.
12. Ernest E. The benefits of Arnica: 16 case reports. *Homeopathy.* 2004; 93 (1): 217-219.
13. Baillargeon L, Drouin J, Desjardins L, Leroux D, Audet, D. The effects of Arnica montana on blood coagulation: randomized controlled trial. *Can. Fam. Physician.* 1994; 40: 2362-2367.
14. de Oliveira SM, de Oliveira CC, Abud AP, Guimarães F de S, Di Bernardi RP, Coletto EL, Buchi D de F. Mercurius solubilis: action on macrophages. *Homeopathy.* 2011; 100(4) 228-36.
15. 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.* 2009; 3: 10.

16. Malarczyk E, Pazdziuch-Czochra M, Graz M, Kochmanska-Rdest J, Jarosz Wilkolazka A. Nonlinear changes in the activity of the oxygen-dependent demethylase system in *Rhodococcus erythropolis* cells in the presence of low and very low doses of formaldehyde. *Nonlinear Biomed Phys.* 2011; 5: 9.
17. Giorgi MS, Paseti, TA, Hinsberger A, Carvalho JCT, Valentim C. In-vitro-Aktivität der homöopathischen Arznei *Sanguinaria canadensis* auf *Streptococcus mutans*. *Ärztezeitschrift für Naturheilverfahren.* 2004; 9: 45-49.