

GALLERIA MELLONELLA:

Desafios das pesquisas com um modelo *in vivo* emergente – como evitar resultados equivocados

LUCAS ADRIANO NASCIMENTO GEHRES, ALEXANDRA LIZANDRA GOMES
ROSAS, YASMIN VÖLZ BEZERRA MASSAUT, THAÍS REGINA RODRIGUES
VIEIRA, ADRIANA DILLENBURG MEINHART

¹Universidade Federal de Pelotas – lucasifsul@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – lizandra.rosas2015@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – yasmin_vbm@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – thattyvieira04@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – adrianadille@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Galleria mellonella, conhecida popularmente como mariposa da cera ou mariposa do favo, é uma espécie pertencente à família *Pyrallidae*. São modelos *in vivo* que têm despertado interesse crescente da comunidade científica devido às suas características biológicas e ao seu potencial como modelo experimental em diversas áreas de pesquisa. (DURIEUX *et. al*, 2021). O inseto passa por diversas modificações ao longo do seu ciclo de vida, como demonstrado na imagem abaixo.



Figura 1 – Estágios da *G. Mellonella*.

A utilização de *G. mellonella* como modelo experimental *in vivo* oferece vantagens significativas, como a facilidade de criação em laboratório, a rápida taxa de crescimento e o baixo custo em comparação com outros modelos animais. Além disso, essa mariposa apresenta uma resposta imune inata comparável a dos humanos, o que a torna um organismo modelo valioso para estudos relacionados à imunologia, microbiologia e toxicologia. O modelo de *G. mellonella* apresenta baixo custo na criação, boa compatibilidade com ensaios em outros modelos *in vivo* e rapidez nos resultados.

No entanto, para obter resultados confiáveis e significativos em experimentos com *G. mellonella*, é crucial seguir boas práticas de pesquisa e considerar as condições ideais para seu cultivo e manipulação em laboratório.

(FURTADO, 2020). Aspectos como a qualidade dos materiais utilizados, a padronização dos protocolos experimentais, o controle adequado de variáveis ambientais e a garantia do bem-estar animal são fundamentais para assegurar a integridade dos resultados obtidos (PIATEK *et. al*, 2021).

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo pontuar algumas situações que foram observadas durante os ensaios de toxicidade em *Galleria mellonella* que causaram a melanização e/ou morte das larvas, resultando em resultados equivocados.

2. METODOLOGIA

No presente estudo, a metodologia adotada envolveu: a coleta e revisão de artigos científicos sobre experimentos *in vivo* em *Galleria mellonella*, e guias para a criação delas, além dos conhecimentos experimentais adquiridos no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA) da Universidade Federal de Pelotas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento para testes em *G. Mellonellas* geralmente envolve sua criação e a inoculação através da aplicação de 10 µL do extrato na pseudopata inferior traseira da larva. Em seguida a larva é mantida à 30 °C e observada por 72 horas. Apresentando sinais de melanização ou insensibilidade ao toque, a larva é considerada morta. Sua taxa de morte é correlacionada com seu peso corporal para estimar a dose segura e a dose letal. Normalmente os experimentos são realizados em 15 animais por dose.

Interferentes externos e erros de manuseio das larvas podem acarretar na morte delas, ou iniciar um processo de melanização. O processo de melanização é comum a vários artrópodes e é ativada como uma reação de defesa contra patógenos invasores, como bactérias, fungos ou parasitas (SMITH *et. al*, 2022). No contexto dos testes de toxicidade foram identificados alguns problemas que inviabilizaram os experimentos, a destacar:

- 1) A contaminação externa é um problema que pode comprometer a validade dos experimentos (PIATEK *et. al*, 2021). Para minimizar esse risco, é necessário garantir condições assépticas adequadas (como uso de luvas e sanitização dos ambientes e materiais utilizados) durante a manipulação das larvas e a preparação das amostras;
- 2) No que se refere à temperatura, *G. mellonella* tem preferência por uma faixa de calor específica para seu desenvolvimento. Portanto, é fundamental manter as condições de aquecimento apropriadas (entre 30 °C e 37 °C) durante todo o experimento. O uso de uma estufa D. B. O. permite que as larvas sejam mantidas à uma temperatura desejada, mesmo quando as condições climáticas naturais não são favoráveis (JORJÃO *et. al*, 2017). No entanto, durante a limpeza e manutenção deve ser preservada a mesma temperatura através do uso de ambientes climatizados;
- 3) A umidade também é um fator crucial para o sucesso da criação, sendo necessário manter as larvas em ambiente controlado com estufa D. B. O. ajustada à temperatura correta e com umidade entre 75 e 85% (JORJÃO *et. al*, 2017). Enquanto a umidade em excesso pode favorecer o surgimento de fungos e bactérias, a falta dela pode ocasionar na morte dos insetos;

- 4) Os reagentes químicos utilizados para a realização de testes com *G. mellonella* precisam passar por testes de qualidade, afim de evitar que produtos contaminados ou deteriorados afetem o resultado do experimento;
- 5) No caso de inoculação, é importante se observar para a temperatura do líquido a ser injetado, porque eles podem reduzir a temperatura interna das larvas;
- 6) A higienização, bem como o preparo e administração da ração especial para *G. mellonella*, devem ser feitos por pessoas treinadas e de acordo com as Boas Práticas de Fabricação para que os modelos possam crescer saudáveis. A higienização dos recipientes onde as larvas são criadas e o cuidado durante a manipulação são essenciais para evitar o estresse e garantir o bom desenvolvimento dos animais. As larvas são separadas manualmente e colocadas em potes com cera e ração esfarelada, sendo que a quantidade de alimento varia de acordo com o estágio de desenvolvimento das larvas. Segundo metodologia interna do DCTA, elas devem ser higienizadas e alimentadas três vezes por semana.

A avaliação e o monitoramento desses aspectos são essenciais para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos nos testes de toxicidade com *G. mellonella*. Através do procedimento adequado de criação e manutenção de *Galleria mellonella*, é possível obter um número consistente de larvas saudáveis e utilizá-las como modelo experimental em diversos estudos *in vivo*.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, a realização de experimentos de toxicidade *in vivo* com *Galleria mellonella* é útil para compreender seus efeitos em organismos vivos. No entanto, durante esses testes, é fundamental estar atento a problemas que podem comprometer a validade dos experimentos, como a contaminação externa e a temperatura inadequada. Seguir boas práticas de pesquisa, considerar as condições ideais de cultivo e observar os possíveis problemas são fundamentais para maximizar a qualidade e a confiabilidade dos resultados obtidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DURIEUX, Marie-Fleur *et al.* **Galleria mellonella as a screening tool to study virulence factors of Aspergillus fumigatus.** 2021. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2021.1893945>. Acesso em: 20 jul. 2023.

CUTULI, Marco Alfio *et al.* **Galleria mellonella as a consolidated in vivo model hosts: new developments in antibacterial strategies and novel drug testing.** New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31142220/>. Acesso em: 20 jul. 2023.

FURTADO, Ana Karina dos Santos. **A IMPORTÂNCIA DO BEM-ESTAR EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO E SUA INFLUÊNCIA NOS RESULTADOS DE ENSAIOS CIENTÍFICOS.** 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/341831982_A_IMPORTANCIA_DO_BE M-

ESTAR_EM_ANIMAIS_DE_LABORATORIO_E_SUA_INFLUENCIA_NOS_RESU
LTADOS_DE_ENSAIOS_CIENTIFICOS. Acesso em: 19 jul. 2023.

PIATEK, Magdalena. **Galleria mellonella**: the versatile host for drug discovery, in vivo toxicity testing and characterising host-pathogen interactions. The Versatile Host for Drug Discovery, In Vivo Toxicity Testing and Characterising Host-Pathogen Interactions. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/12/1545/htm>. Acesso em: 14 jul. 2023.

SMITH, Daniel F Q *et al.* **Galleria mellonella immune melanization is fungicidal during infection.** 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36510005/>. Acesso em: 15 jul. 2023.

JORJÃO, Adeline L. *et al.* **From moths to caterpillars**: ideal conditions for galleria mellonella rearing for in vivo microbiological studies. Ideal conditions for Galleria mellonella rearing for in vivo microbiological studies. 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2017.1397871>. Acesso em: 20 jul. 2023.