

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

¹*Universidade Federal de Pelotas – lucasifsul@gmail.com*

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

³*Universidade Federal de Pelotas – yasmin_vbm@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – thattyvieira04@gmail.com*

⁵*Universidade 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 *Pyralidae*. 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_RESULTADOS_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.