

## AVALIAÇÃO DE MODELO DE INFECÇÃO ORAL EM MOSCAS DA ESPÉCIE *DROSOPHILA MELANOGASTER* UTILIZANDO CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI*

<sup>1</sup>VITHOR PARADA GARCIA; <sup>2</sup>MATHEUS PEREIRA DE ALBUQUERQUE,

<sup>3</sup>LUANE PINHEIRO GARCIA; <sup>4</sup>RAFAELY PICCIONI ROSADO; <sup>5</sup>JANICE LUEHRING GIONGO <sup>6</sup>RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER;

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – paradavithor@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – matheusalbuquerque813@gmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – luane#garcia25@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – rafaelypiccioni@hotmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal do Rio Grande – janicegiongo@hotmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas – rodvaucher@hotmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

A resistência aos antimicrobianos (RAM) refere-se à capacidade adquirida por microrganismos de resistir à ação de agentes antimicrobianos, por meio de modificações genéticas e bioquímicas. Entre os principais fatores associados à RAM estão as mudanças climáticas, o descarte inadequado de medicamentos, a contaminação ambiental e o uso indiscriminado de antibióticos pela população (ALMEIDA et al., 2023).

No Brasil, estima-se que cerca de 172 mil pessoas sejam acometidas anualmente por infecções causadas por microrganismos resistentes, configurando um dos principais desafios para a saúde pública. Além disso, a RAM acarreta impactos econômicos significativos, como o aumento do tempo de internação, maior consumo de medicamentos e sobrecarga dos recursos hospitalares (Ministério da Saúde, 2025). Nesse contexto, destaca-se a *Escherichia coli*, bacilo gram-negativo comensal do trato gastrointestinal, benéfico à digestão e absorção de nutrientes. Contudo, quando presente em sítios extraintestinais, pode tornar-se patogênica, sendo associada a infecções do trato urinário, bacteremia, pneumonia e pneumonia associada à ventilação mecânica (MUELLE, 2023).

Além da conhecida endemicidade gerada pelo gene *bla<sub>KPC</sub>* dessa bactéria, observou-se um aumento significativo na detecção do gene *bla<sub>NDM</sub>*, cuja frequência variou de 4,2% para 23,8% entre 2015 a 2022 no Brasil (Ministério da Saúde, 2024). Diante desse cenário, a busca por novos modelos experimentais microbiológicos torna-se essencial para o enfrentamento da crescente ameaça representada pela resistência antimicrobiana. Nesse contexto, a espécie *Drosophila melanogaster* (mosca-da-fruta) tem-se destacado como modelo alternativo na investigação de mecanismos conservados da resposta imune de vertebrados, devido à similaridade celular e nas principais vias de transdução de sinal (BUCHON et al, 2014). Além disso, características como fácil manejo, ciclo de vida curto e menores exigências éticas favorecem a utilização dessa espécie em pesquisas científicas (YAMAGUCHI et al, 2022).

Diante desse contexto, este estudo propôs avaliar a presença de cepas da bactéria *Escherichia coli* em espécies de *Drosophila melanogaster*, utilizada como modelo animal experimental, com o objetivo de contribuir para o desenvolvimento de novos testes microbiológicos voltados à avaliação de compostos com potencial terapêutico.

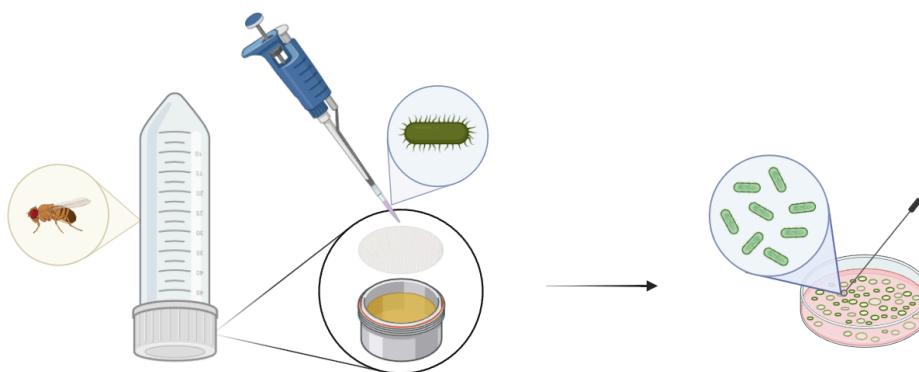
## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Cultivo das Moscas e Preparação das Bactérias

Moscas com 3 dias de idade foram mantidas em frascos de vidros contendo dieta à base de amido de milho, sob temperatura controlada de 25°C e ciclo circadiano de 12h claro/escuro. A dieta foi composta por água destilada (300 mL), farinha de milho (56 mL), fermento biológico fresco (15 g), açúcar (26 mL), metilparabeno (0,0015 g), ágar batata (4 mL) e solução ácida (1,6 mL). A cepa *Escherichia coli* ATCC 35218, proveniente da bacterioteca do laboratório, foi cultivada em ágar MacConkey e incubada a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, preparou-se uma suspensão bacteriana equivalente a 1,0 na escala de McFarland utilizando solução salina estéril.

### 2.2 Infecção Oral e Quantificação Bacteriana

Um grupo de 5 moscas foi submetido a jejum por 4 horas. Em seguida, cerca de 2 mL de ágar padrão foram depositados na tampa de um Falcon estéril. Após a secagem do ágar, inseriu-se um papel filtro estéril sobre sua superfície, contendo 200  $\mu$ L do inóculo bacteriano. As moscas foram então expostas à suspensão bacteriana e analisadas quantitativamente após 6, 12 e 24 horas de contato. Para isso, foram inoculadas em meio de cultura e incubadas a 37 °C para avaliação do crescimento bacteriano, conforme figura 1.



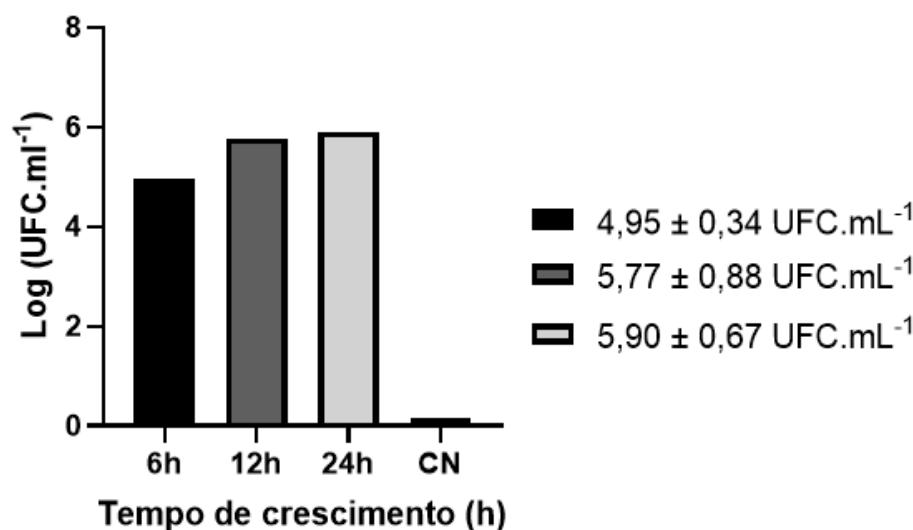
**Figura 1:** Infecção oral das moscas *Drosophila melanogaster*

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria dos peptídeos antimicrobianos (AMPs) são expressos em abundância no organismo humano em resposta a processos infecciosos, inflamatórios ou lesivos, auxiliando na resposta imune deste hospedeiro. De forma semelhante, ocorre a produção e liberação de AMPs em moscas da espécie *Drosophila melanogaster* decorrente da resposta humoral mediada por três vias de sinalização: a via Imd, a via Toll e a JAK/STAT. A via Imd, é responsável pelo controle da expressão de AMPs que atua tanto localmente quanto de forma sistêmica, frente a infecções bacterianas, especialmente de bactérias gram-negativas. Esse fenômeno ocorre devido ao reconhecimento da proteína PGRP-LC e a PGRP-LE presente nas moscas ao peptidoglicano do tipo ácido diaminopimélico (DAP) das bactérias. Tal como os mamíferos que possuem células sanguíneas, as moscas possuem células circulantes chamadas de

hemócitos, que ativam a melanização, capazes de gerar espécies reativas de oxigênio causando a morte bacteriana no local da infecção. A similaridade de ambas espécies na resposta imune reforça o potencial da *Drosophila* como modelo para estudo de patologias infecciosas causadas por microrganismos, além de servir como resistência para (IGBOIN et al., 2012; BUCHON et al, 2014).

Diante disso, amostras de cada tempo foram preparadas com 100  $\mu\text{L}$  de PBS e diluídas até 0,0625% da concentração inicial. O controle negativo obteve o crescimento de nenhuma cepa em todos os horários analisados (figura 2).



**Figura 2.** Quantificação de  $\text{UFC.ml}^{-1}$  em meio de cultura de cepas bacterianas de *Escherichia coli* em intervalos de 6h, 12h, 18h e 24h.

O início do processo infeccioso demarcado em 6h, estabeleceu uma carga bacteriana de  $\log 4,95 \pm 0,34 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Após 12h, a concentração da infecção aumentou para  $\log 5,77 \pm 0,88 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ . No período de 24h, a concentração bacteriana demonstrou um aumento gradual de  $\log 5,90 \pm 0,67 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

A ausência da mortalidade das moscas diante da infecção bacteriana está diretamente relacionada à resposta imune da espécie discutida previamente. Padrões de crescimento bacteriano foram descritos por PINHEIRO et al. (2024) e por (SIVA-JOTHY et al. (2018) em modelos de infecção com *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, respectivamente, em que foi observado o crescimento exponencial, seguido de estabilização da carga bacteriana nos intervalos de 6h, 12h e 24h, sustentando a validade do método empregado neste estudo.

#### 4. CONCLUSÕES

Este estudo comprovou a eficiência do modelo de infecção oral por *Drosophila melanogaster* através da quantificação bacteriana presente em diferentes intervalos de tempo, permitindo analisar a progressão da infecção sem comprometer a viabilidade do organismo. Essa abordagem mostra-se promissora para investigações sobre a relação hospedeiro-patógeno e os mecanismos envolvidos na resposta imune inata da espécie, além de ser uma ferramenta útil na triagem de compostos com potencial aplicação antimicrobiana.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. L. et al. Resistência bacteriana: uma ameaça global. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 5, p. 19741–19748, 6 set. 2023.

BUCHON, N. et al. Immunity in *Drosophila melanogaster* — from microbial recognition to whole-organism physiology. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 12, p. 796–810, 25 nov. 2014.

IGBOIN, C. O. et al. The *Drosophila melanogaster* host model. **Journal of Oral Microbiology**, v. 4, n. 1, p. 10368, jan. 2012.

Ministério da Saúde. **RAM no Brasil**. Brasil, 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/r/ram/ram-no-brasil>>.

Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. v. 55, Brasil, 17 jan. 2024 Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidem-vol-55-n-2>>.

MUELLER, M. et al. **Escherichia coli Infection**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>>.

PINHEIRO, F. C. et al. Antimicrobial Effect of Diphenyl Ditelluride (PhTe)2 in a Model of Infection by *Escherichia coli* in *Drosophila melanogaster*. **Indian Journal of Microbiology**, v. 64, n. 4, p. 1619–1626, 3 fev. 2024.

SIVA-JOTHY, J. A. et al. Oral Bacterial Infection and Shedding in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Visualized Experiments**, n. 135, 31 maio 2018.

YAMAGUCHI, M. et al. Role of *Drosophila* in Human Disease Research 2.0. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 8, p. 4203, 11 abr. 2022.