



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21.25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

| | |
|-------------------|---|
| Evento | Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS |
| Ano | 2019 |
| Local | Campus do Vale - UFRGS |
| Título | Padronização do uso de Galleria mellonella como modelo biológico para o estudo da patogenicidade in vivo de Escherichia coli patogênica aviária |
| Autor | THAÍNA DE BRITES WEBER |
| Orientador | CARLOS TADEU PIPPI SALLE |

Padronização do uso de *Galleria mellonella* como modelo biológico para o estudo da patogenicidade *in vivo* de *Escherichia coli* patogênica aviária

Autor: Thaína de Brites Weber

Orientador: Prof. Carlos Tadeu Pippi Salle

Instituição de origem: Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

A larva da traça grande da cera (*Galleria mellonella*) vem sendo utilizada como modelo biológico para o estudo da virulência de bactérias de interesse para a saúde pública, como uma alternativa aos modelos que utilizam animais vertebrados não-humanos, usualmente mais caros e que envolvem conflitos éticos. O uso deste inseto se justifica principalmente pela habilidade da larva em sobreviver a 37°C, fundamental para o estudo de agentes patogênicos, e pela similaridade, em termos gerais, do seu sistema imune inato ao dos vertebrados. Acredita-se que o modelo de infecção com *G. mellonella* possa também ser adotado em estudos de avaliação da patogenicidade de isolados de *E. coli* patogênica aviária (APEC). Para alcançar adequada repetibilidade e reprodutibilidade, a metodologia de inoculação das larvas com bactérias, vinculada a este tipo de modelo, requer a padronização de procedimentos a serem realizados e de parâmetros a serem avaliados. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo definir o peso mínimo das larvas na técnica de inoculação, o período de tempo necessário para contabilização das mortes e a dose letal para 50% das larvas (DL₅₀), a partir da inoculação de diferentes cepas de APEC. Para padronização do peso mínimo, larvas de *G. mellonella* obtidas de uma criação em laboratório foram agrupadas em cinco categorias de peso (10 larvas/categoria): (1) 241-250 mg, (2) 251-260 mg, (3) 261-270 mg, (4) 271-280 mg e (5) 281-290 mg. Todas as larvas selecionadas foram inoculadas com 10µL de solução salina estéril 0,85% por meio de microseringa de precisão. O procedimento foi realizado por três diferentes inoculadores previamente treinados. A escolha do peso mínimo das larvas para uso em provas posteriores teve como critério a não ocorrência de mortes após as inoculações. Posteriormente, 15 isolados de APEC foram inoculados em larvas para o estabelecimento do período de observação de mortes e da DL₅₀. Quatro concentrações (10⁴, 10⁵, 10⁶ e 10⁷ unidades formadoras de colônias - UFC/10µL) de cada um dos inóculos bacterianos foram padronizadas em espectrofotômetro (OD_{620nm}). Para cada suspensão bacteriana um grupo de 10 larvas foi inoculado. A morte de larvas em todos os testes foi computada a cada 12 horas ao longo dos sete dias de observação. A DL₅₀ individual das cepas APEC foi calculada através da análise de regressão pelo modelo Probit. A definição da DL₅₀ média das cepas permitiu ainda a elaboração das curvas de sobrevivência das larvas, por meio do método Kaplan–Meier, e a comparação múltipla entre elas através do teste Log-rank (Mantel-Cox). Todos os testes foram realizados em triplicata. Com a análise descritiva dos dados verificou-se que a categoria de peso mínimo das larvas para uso no modelo de infecção foi a de 261-270 mg. A taxa de mortalidade geral encontrada após sete dias de observação foi de 39,6%, considerando-se a totalidade de larvas inoculadas com as diferentes concentrações de cada isolado APEC. Do total de mortes, 55,1% ocorreram em até 12 h e 91,7% em até 72 h pós-inoculação. A DL₅₀ mínima, média e máxima observada foram 3,744, 5,580±0,99 e 7,056 Log₁₀ UFC/10µL, respectivamente. Dentre as 15 cepas de APEC testadas, algumas apresentaram diferença significativa (p≤0,05) entre si na comparação das curvas de sobrevivência das larvas, o que denota diferentes graus de patogenicidade dos isolados. Além da definição da DL₅₀, os resultados obtidos permitem concluir não ser possível o uso de larvas de *G. mellonella* no modelo de infecção com peso corporal inferior a 260 mg e evidenciam a possibilidade de redução do período de observação de mortes para menos de 72 horas, diminuindo-se o tempo necessário para conclusão dos futuros ensaios de inoculação.