

DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL DE INFECÇÃO POR DIFERENTES BACTÉRIAS PATOGÊNICAS HUMANAS EM LARVAS DE *TENEBRIO MOLITOR*.

DEVELOPMENT OF AN EXPERIMENTAL MODEL OF INFECTION BY DIFFERENT HUMAN PATHOGENIC BACTERIA IN *TENEBRIO MOLITOR* LARVAE.

Ridania Vieira Tavares¹
Rodrigo Scaliante de Moura²

Resumo

As larvas de *Tenebrio molitor* tem demonstrado algumas vantagens éticas, logísticas e econômicas como modelo alternativo para experimentos. Desse modo, o objetivo deste subprojeto é criar um modelo experimental de infecção das larvas de *T. molitor* com bactérias patogênicas e definir um modelo adequado de acordo com os materiais disponíveis nos laboratórios da UniEVANGÉLICA. Para se conhecer o perfil de patogenicidade de diferentes bactérias frente às larvas de *T. molitor* e se obter a concentração ideal dessas bactérias foi utilizada a escala nefelométrica de McFarland. O processo de infecção das larvas foi feito por meio da injeção da suspensão bacteriana utilizando uma microseringa de Hamilton com capacidade de 25µL. A verificação da sobrevivência das larvas após a infecção foi realizada dia a dia por 13 dias. Nos grupos infectados com *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* observou-se maior mortalidade entre as larvas infectadas de maneira dose-dependente, demonstrando a eficiência do método de infecção. Desse modo, a infecção das larvas de *T. molitor* com bactérias patogênicas humanas se mostrou um método experimental efetivo, com potencial para que se constitua como um modelo alternativo aos experimentos em outros animais como camundongos.

Palavras-Chave: *Tenebrio molitor*. Bactérias patogênicas. Modelo experimental.

1. Introdução

O uso de insetos como modelo experimental apresenta vantagens éticas, logísticas e econômicas em comparação ao uso de outros animais como roedores e coelhos (Trevijano-Contador & Zaragoza, 2014). Além de não haver restrições éticas no uso de insetos, o custo de cultivo é menor, se comparado a roedores e outros vertebrados, não requerendo laboratórios sofisticados ou mão de obra especializada. O ciclo biológico é rápido, permitindo experimentos em larga escala em períodos curtos. O *T. molitor* apresenta certas vantagens diante de outros modelos alternativos, como a possibilidade de ser incubado a 37°C, temperatura que para muitos patógenos é crítica para a expressão de fatores de virulência e ampla disponibilidade comercial (CANTERI DE SOUZA, *et al.*, 2018; DE SOUZA *et al.*, 2015; LI, DENG, *et al.*, 2013; WILSON-SANDERS, 2011; DESALERMOS *et al.*, 2012).

¹ Discente do curso de medicina da Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA, Brasil. ridania@outlook.com

² Professor doutor do curso de medicina da Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA, Brasil. rodrigoscailant@gmail.com

2. Objetivo

Os objetivos deste trabalho são criar um modelo experimental de infecção das larvas *Tenebrio molitor* com bactérias patogênicas e definir um modelo adequado de acordo com os materiais disponíveis nos laboratórios da UniEVANGÉLICA.

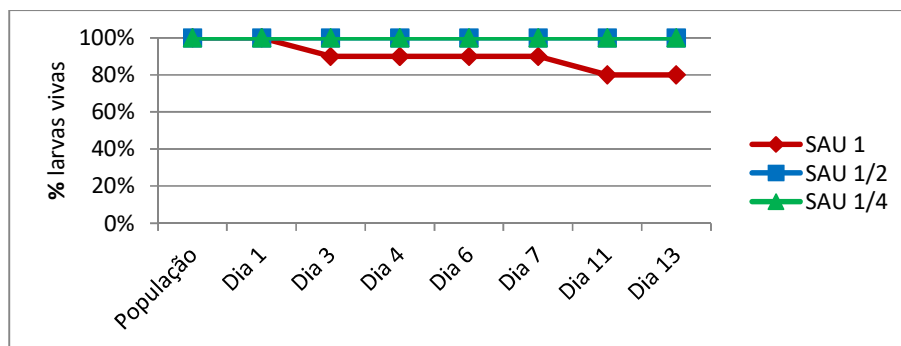
3. Método

Trata-se de um estudo quantitativo experimental realizado no laboratório da UniEVANGÉLICA. Foram feitos experimentos utilizando-se quatro tipos diferentes de bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Foram infectadas 10 larvas em cada grupo estudado, sendo que cada uma recebeu 5µl da suspensão bacteriana pré-determinada. Três concentrações diferentes (1; 1/2; 1/4) de cada tipo de bactéria, sendo 1 aquela com aproximadamente 6×10^8 UFC, e então duas diluições seriadas na base 2 foram feitas. A sobrevivência das larvas foi observada após a infecção mediante contagens sucessivas.

4. Resultados

Como mostram os gráficos 1 e 2, houve uma mortalidade dose-dependente das larvas de *T. molitor* frente a infecção por *S. aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, demonstrando a eficiência do método de infecção.

Gráfico 1 - Sobrevida de *T. molitor* após infecção com *Staphylococcus aureus*



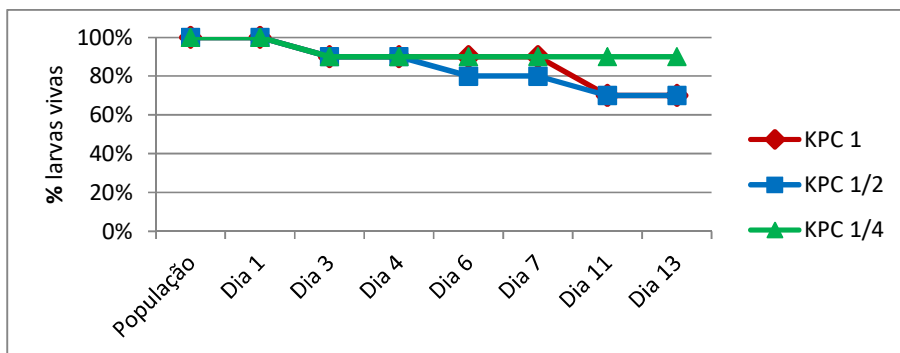
Fonte: Elaborada pela autora
Legenda: SAU: *Staphylococcus aureus*

Gráfico 2 - Sobrevida de *T. molitor* após infecção com *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*

ANAIIS DO PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UniEVANGÉLICA

XII JORNADA DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA UniEVANGÉLICA
II JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UniEVANGÉLICA

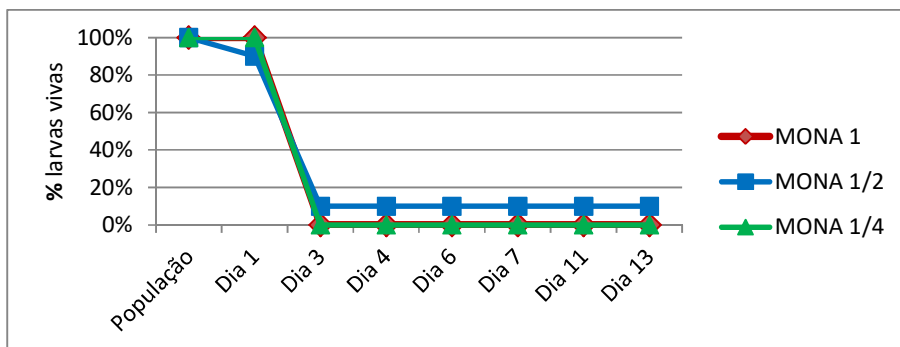
UniEVANGÉLICA
UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS



Fonte: Elaborada pela autora
Legenda: KPC: *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*

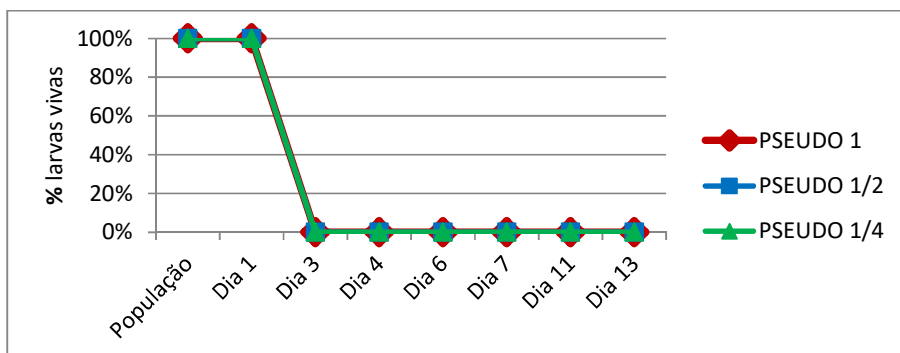
Em relação aos grupos que foram infectados com *Salmonella sp.* (gráfico 3) ou *Pseudomonas aeruginosa* (gráfico 4), uma elevada e rápida mortalidade das larvas foi observada, demonstrando eficácia do modelo experimental, porém baixa resistência das larvas frente a estas bactérias.

Gráfico 3 - Sobrevida de *T. molitor* após infecção com *Salmonella sp.*



Fonte: Elaborada pela autora
Legenda: MONA: *Salmonella sp.*

Gráfico 4 - Sobrevida de *T. molitor* após infecção com *Pseudomonas aeruginosa*



Fonte: Elaborada pela autora
Legenda: PSEUDO: *Pseudomonas aeruginosa*

5. Conclusão

A infecção das larvas *T. molitor* com bactérias patogênicas humanas se mostrou um método experimental efetivo. Porém, para que esse modelo seja uma alternativa eficaz aos experimentos com animais mais estudos são necessários para o aprimoramento da técnica a fim de evitar viés por concentrações abaixo ou acima da ideal e por mortes devido a ferida de inoculação.

Referências

- CANTERI DE SOUZA, P., *et al.* "An Invertebrate Host to Study Fungal Infections, Mycotoxins and Antifungal Drugs: *Tenebrio molitor*", **Journal of Fungi**, v. 4, n. 4, p. 125, 12 nov. 2018. DOI: 10.3390/jof4040125. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2309-608X/4/4/125>. Acesso em: 2 maio 2020.
- DE SOUZA, P. C., *et al.* "*Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as an alternative host to study fungal infections", **Journal of Microbiological Methods**, v. 118, p. 182–186, 1 nov. 2015. DOI: 10.1016/J.MIMET.2015.10.004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701215300828>. Acesso em: 2 maio 2020.
- DESALERMOS, A., FUCHS, B. B., MYLONAKIS, E. "Selecting an Invertebrate Model Host for the Study of Fungal Pathogenesis", **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 2, 2012. DOI: 10.1371/JOURNAL.PPAT.1002451. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3271057/>. Acesso em: 2 maio 2020.
- LI, D.-D., *et al.* "Using *Galleria mellonella*–*Candida albicans* Infection Model to Evaluate Antifungal Agents", **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 9, p. 1482–1487, 2013. DOI: 10.1248/bpb.b13-00270. Disponível em: <http://jlc.jst.go.jp/DN/JST.JSTAGE/bpb/b13-00270?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>. Acesso em: 2 maio 2020.
- TREVIJANO-CONTADOR, N., ZARAGOZA, O. "Expanding the use of alternative models to investigate novel aspects of immunity to microbial pathogens", **Virulence**, v. 5, n. 4, p. 454–456, 15 maio 2014. DOI: 10.4161/viru.28775. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/viru.28775>. Acesso em: 2 maio 2020.
- WILSON-SANDERS, S. E. "Invertebrate Models for Biomedical Research, Testing, and Education", **ILAR Journal**, v. 52, n. 2, p. 126–152, 1 jan. 2011. DOI: 10.1093/ilar.52.2.126. Disponível em: <https://academic.oup.com/ilarjournal/article-lookup/doi/10.1093/ilar.52.2.126>. Acesso em: 2 maio 2020.