

Galleria mellonella pode ser comparada a modelos mamíferos para ensaios *in vivo*? - Uma Revisão Sistemática

Can *Galleria mellonella* be compared to mammalian models for *in vivo* assays? - a Systematic Review

Puede *Galleria mellonella* compararse con modelos mamíferos para ensayos *in vivo*? - Una revisión sistemática

Vitória Batista Clemente¹, Matheus Fernandes Lasneau Moraes², Taleessa Vieira Gomes³, Amanda Marota de Oliveira⁴, Mariana Simões de Oliveira⁵, Ana Carolina Moraes Apolônio⁶

Como citar esse artigo. Clemente, VB. Moraes, MFL. Gomes, TV. Oliveira, AM. Oliveira, MS. Apolônio, ACM. *Galleria mellonella* pode ser comparada a modelos mamíferos para ensaios *in vivo*? - Uma Revisão Sistemática. Rev Pró-UniversUS. 2025; 16(4):71-80.



Resumo

Objetivo: Conduzir uma revisão sistemática sobre o uso de *Galleria mellonella* como modelo não mamífero para estudos *in vivo* e avaliar seu potencial como análogo a modelos mamíferos. **Métodos:** Esta revisão seguiu as diretrizes PRISMA, com a questão norteadora: “A *G. mellonella* pode ser utilizada como análogo a modelos mamíferos em ensaios biológicos?”, definida pela estratégia PICO. As buscas foram realizadas no PubMed, MEDLINE Ovid, Scopus e Web of Science. Os critérios de inclusão foram estudos *in vivo* que realizaram os mesmos ensaios tanto em *G. mellonella* quanto em modelos mamíferos, publicados como artigos originais em inglês, português ou espanhol. Foram excluídos outros modelos de insetos e revisões. O risco de viés foi avaliado com a ferramenta SYRCL modificada. **Resultados:** Sete estudos foram incluídos, investigando virulência, eficácia antimicrobiana e toxicidade em *G. mellonella* e em modelos mamíferos. Um estudo apresentou baixo risco de viés, cinco risco moderado e um risco alto. Foram observadas tendências comparáveis em virulência e eficácia de fármacos, embora a heterogeneidade metodológica tenha limitado comparações diretas. **Conclusão:** *G. mellonella* é um modelo pré-clínico valioso, mas não pode substituir integralmente os estudos em mamíferos. Seu melhor uso é como ferramenta preliminar de triagem, sendo necessárias pesquisas comparativas adicionais para validar sua relevância translacional.

Palavras-chave: ensaios biológicos; grande traça da cera; modelo mamífero.

Abstract

Purpose: To conduct a systematic review on the use of *Galleria mellonella* as a non-mammalian model for *in vivo* studies and assess its potential as an analogue to mammalian models. **Methods:** This review followed PRISMA guidelines and its guiding question was: “Can *G. mellonella* be used as an analogue to mammalian models in biological assays?”, defined by PICO strategy. Searches were conducted in PubMed, MEDLINE Ovid, Scopus, and Web of Science. Inclusion criteria were *in vivo* studies that performed the same assays in both *G. mellonella* and mammalian models, published as research articles in English, Portuguese, or Spanish. Other insect models and reviews were excluded. Risk of bias was assessed using a modified SYRCL tool. **Results:** Seven studies were included and their assays investigated virulence, antimicrobial efficacy, and toxicity in both *G. mellonella* and mammalian models. One study showed low risk of bias, five moderate risk, and one high risk. Comparable trends were observed for virulence and drug efficacy, although methodological heterogeneity limited direct comparisons. **Conclusion:** *G. mellonella* is a valuable preclinical model but cannot fully replace mammalian studies. It is best applied as a preliminary screening tool, and further comparative research is required to validate its translational relevances.

Key words: biological assays, greater wax moth, mammalian model.

Resumen

Objetivo: Realizar una revisión sistemática sobre el uso de *Galleria mellonella* como modelo no mamífero para estudios *in vivo* y evaluar su potencial como análogo a modelos mamíferos. **Métodos:** Esta revisión siguió las directrices PRISMA, con la pregunta guía: “¿Puede *G. mellonella* utilizarse como análogo a los modelos mamíferos en ensayos biológicos?”, definida mediante la estrategia PICO. Las búsquedas se realizaron en PubMed, MEDLINE Ovid, Scopus y Web of Science. Los criterios de inclusión fueron estudios *in vivo* que ejecutaran los mismos ensayos tanto en *G. mellonella* como en modelos mamíferos, publicados como artículos originales en inglés, portugués o español. Se excluyeron otros modelos de insectos y revisiones. El riesgo de sesgo se evaluó utilizando una versión modificada de la herramienta SYRCL. **Resultados:** Se incluyeron siete estudios que investigaron virulencia, eficacia antimicrobiana y toxicidad en *G. mellonella* y en modelos mamíferos. Un estudio mostró bajo riesgo de sesgo, cinco riesgo moderado y uno riesgo alto. Se observaron tendencias comparables en virulencia y eficacia de los fármacos, aunque la heterogeneidad metodológica limitó las comparaciones directas. **Conclusión:** *G. mellonella* es un modelo preclínico valioso, pero no puede sustituir completamente a los estudios en mamíferos. Su mejor aplicación es como herramienta preliminar de cribado, y se requieren más investigaciones comparativas para validar su relevancia translacional.

Palabras clave: ensayos biológicos, polilla de la cera, modelo mamífero.

Afiliação dos autores:

¹Discente (Doutorado) Pgrama de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. E-mail: v.clemente99@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2216-5407>. ²Discente (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. E-mail: matheus.flm94@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2270-6794>. ³Discente (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. E-mail: taleessagif@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4245-1363>. ⁴Discente (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. E-mail: amanda.marota@estudante.ufjf.br ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3972-0270>. ⁵Discente (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. E-mail: dra.marismoes@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9104-4599>. ⁶Docente do Programa de Pós-Graduação, departamento de parasitologia, microbiologia e imunologia, Instituto de ciências biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. E-mail: carolinaapolonio@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9049-7660>

E-mail de correspondência: dra.marismoes@gmail.com

Recebido em: 30/09/25 Aceito em: 26/11/25

Introdução

Modelos *in vivo* são essenciais para compreender as interações hospedeiro–patógeno, avaliar a virulência e testar novos agentes antimicrobianos. Modelos mamíferos permanecem como padrão-ouro para a pesquisa translacional, mas seu uso está associado a altos custos, exigências regulatórias e preocupações éticas¹. Os princípios dos 3Rs — refinamento, redução e substituição — têm impulsionado a busca por modelos alternativos que minimizem a dependência de vertebrados sem comprometer o valor científico².

A *Galleria mellonella* (traça-da-cera maior) emergiu como um sistema hospedeiro não mamífero prático. Suas larvas podem ser mantidas em temperaturas fisiológicas humanas, são de baixo custo e não exigem aprovação ética. Além disso, possuem um sistema imune inato com similaridades estruturais e funcionais aos dos mamíferos, incluindo respostas celulares (hemócitos) e humorais, o que as torna adequadas para estudos de infecção e toxicidade^{1,3}.

Apesar de seu uso disseminado, ainda há incertezas sobre o quão próximos os resultados obtidos em *G. mellonella* estão daqueles observados em mamíferos. Embora muitos estudos relatem tendências semelhantes em virulência e eficácia antimicrobiana, a variabilidade metodológica e nas formas de avaliação dos resultados limita comparações diretas^{4,6}. Estabelecer o valor preditivo de *G. mellonella* é fundamental para justificar sua aplicação como ferramenta de triagem pré-clínica.

O objetivo desta revisão sistemática foi avaliar criticamente estudos que compararam *G. mellonella* com modelos mamíferos em ensaios biológicos, examinando

suas concordâncias e limitações. Ao identificar pontos fortes e lacunas nas evidências atuais, esta revisão busca esclarecer o potencial translacional da *G. mellonella* como modelo complementar para pesquisas de infecção e antimicrobianos.

Metodologia

Esta revisão sistemática seguiu as diretrizes Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)⁷ e foi registrada na Open Science Framework (DOI: 10.17605/OSF.IO/F6KYG). A questão norteadora foi: A *Galleria mellonella* pode ser utilizada como análogo a modelos mamíferos em ensaios biológicos?

Estratégia de busca

Foi realizada uma busca eletrônica nas bases PubMed, MEDLINE Ovid, Scopus e Web of Science desde a sua criação até setembro de 2023. Na estratégia de busca, os descritores “*Galleria mellonella*”, “*greater wax moth*”, “biomedical research”, “biological assays”, “model”, “animal model”, “mammals”, “murine”, “mammalian” e “review”, do vocabulário controlado *Medical Subject Headings* (MeSH), foram utilizados em associação com os operadores booleanos “AND”, “OR” e “NOT”. As chaves de busca específicas de cada base podem ser encontradas na Tabela 1. Dois revisores independentes analisaram os artigos em todas as etapas. Os resultados da busca foram carregados no Microsoft Excel (versão 2013), onde os duplicados foram removidos e os títulos selecionados para inclusão.

Critérios de inclusão e exclusão

Após esta triagem inicial, a elegibilidade foi

Tabela 1. Frases de busca utilizadas para os bancos de dados.

Base de dados	Combinação de palavras chave	Resultados
Pubmed	((<i>Galleria mellonella</i>) OR (<i>greater wax moth</i>)) AND ((biomedical research) OR (biological assays)) AND ((model) OR (animal model)) AND ((mammals) OR (murine) OR (mammalian)) NOT (review)	94
Medline Ovid	((<i>Galleria mellonella</i> or <i>greater wax moth</i>) and (biological assays or biomedical research) and (mammals or murine or mammalian) and (model or animal model))	3
Web of Science	(biomedical research OR biological assays) AND (model OR animal model) AND (mammals OR murine OR mammalian) AND (<i>Galleria mellonella</i> OR <i>greater wax moth</i>) NOT (review)	18
Scopus	TITLE-ABS-KEY ("Galleria mellonella" OR "greater wax moth") AND TITLE-ABS-KEY ("model" OR "animal model") AND TITLE-ABS-KEY ("mammal" OR "murine" OR "mammalian") AND TITLE-ABS-KEY ("biomedical research" OR "biological assays") AND NOT TITLE-ABS-KEY ("review")	9
AND NOT TITLE-ABS-KEY ("review")		

Fonte: elaborado pelo autor

avaliada por meio da leitura dos resumos e dos textos completos. Foram incluídos os estudos que atenderam aos seguintes critérios: ensaios *in vivo* comparando diretamente *G. mellonella* com modelos mamíferos; avaliação de virulência, eficácia antimicrobiana ou toxicidade; artigos originais de pesquisa; redigidos em inglês, português ou espanhol. Critérios de exclusão: estudos utilizando modelos de insetos diferentes de *G. mellonella*; estudos que não realizaram os mesmos ensaios em ambos os modelos; revisões, resumos de congressos ou artigos em idiomas fora dos critérios de inclusão. Dois revisores independentes realizaram a triagem dos títulos, resumos e textos completos. Divergências foram resolvidas por consenso ou com a consulta de um terceiro revisor.

Coleta e análise de dados

Os dados foram extraídos independentemente por dois revisores utilizando um formulário padronizado. As informações extraídas incluíram desenho do estudo, ano e país, microrganismo testado, tipo de ensaio (virulência, eficácia antimicrobiana ou toxicidade), condições experimentais, número e características das larvas e modelos mamíferos, além dos desfechos relatados. Os resultados foram sintetizados qualitativamente devido à heterogeneidade nas metodologias, desfechos e medidas empregadas. Os dados foram organizados em tabelas para permitir comparações entre estudos, de acordo com o tipo de ensaio.

Avaliação de risco de viés

O risco de viés foi avaliado utilizando uma versão modificada da ferramenta SYRCLE para estudos com animais⁸. Dois revisores avaliaram independentemente cada estudo em dez domínios, incluindo ocultação de alocação, randomização, cegamento e relato de desfechos. A pontuação final foi calculada da seguinte forma: Pontuação final (%) = (Pontuação total x 100) / (2 x 10 critérios avaliados). Com base nisso, os estudos foram classificados em: baixo risco (>70%), médio risco ($\geq 50\%$ e $\leq 70\%$) ou alto risco (<50%).

Resultados

Seleção dos estudos

A busca nas bases de dados resultou em um total de 124 registros. Após a remoção de duplicatas e triagem inicial, sete estudos publicados entre 2000 e 2022 atenderam aos critérios de elegibilidade. O fluxograma PRISMA resumindo o processo de seleção está apresentado na Figura 1.

Características dos estudos

Os sete estudos incluídos foram conduzidos nos Estados Unidos (n = 2), Reino Unido (n = 2), Irlanda (n = 1), Taiwan (n = 1) e China (n = 1), publicados entre

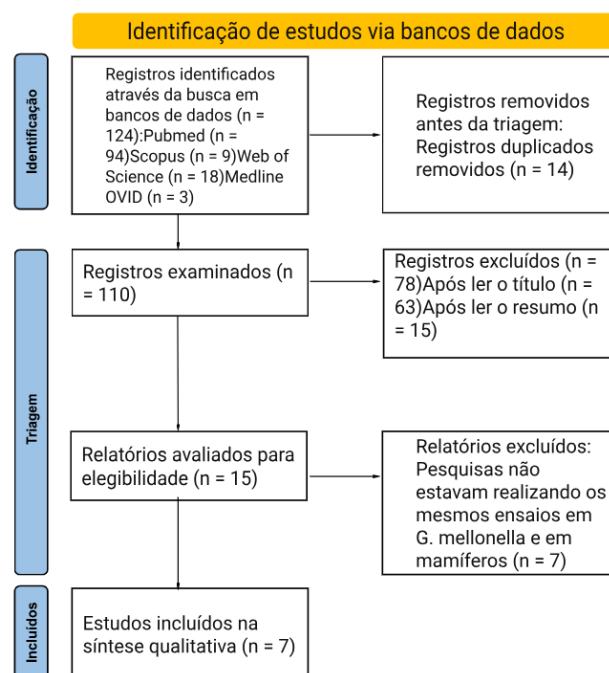


Figura 1. processo de seleção de acordo com o fluxograma do protocolo PRISMA.

2000 e 2022. Os experimentos envolveram comparações utilizando *Elizabethkingia anophelis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida auris* e *Staphylococcus aureus*. Os modelos mamíferos comparadores foram principalmente camundongos C57BL/6J e BALB/c, com referência ocasional às diretrizes de toxicidade da OECD para roedores. A Tabela 2 apresenta os detalhes do desenho experimental e dos resultados.

As condições experimentais variaram entre os estudos. As larvas pesavam entre 200–400 mg e foram mantidas a 25–37 °C; a maioria dos autores utilizou 37 °C¹¹⁻¹⁵, enquanto alguns utilizaram 25 °C ou 30 °C⁹⁻¹⁰. Os tamanhos de grupo variaram entre 5 e 10 larvas. Nos modelos mamíferos, os principais foram C57BL/6J e BALB/c, embora alguns estudos não tenham especificado a linhagem. Em ensaios de toxicidade, um estudo comparou os resultados das larvas com diretrizes da OECD para roedores, em vez de experimentos diretos em animais¹². Nos grupos de mamíferos, os tamanhos amostrais variaram entre 4 e 8 camundongos, e os inóculos bacterianos variaram de 10⁵ a 10⁸ UFC por animal¹⁶.

Ensaio de virulência

Cinco estudos avaliaram a virulência por meio do monitoramento da sobrevivência e de parâmetros clínicos após infecção. Os testes consistiram na inoculação das larvas com microrganismos, em concentrações de 1x10³ a 5x10⁶ UFC/larva, observando-se o número de dias de sobrevivência após a infecção.

Tabela 2. Dados de revisão qualitativa dos principais pontos de cada artigo selecionado na revisão sistemática.

Autor, Ano	País	Estudo Realizado	NLPG	Peso (mg)	Inóculos	Comparação dos grupos	Objetivos	Resultados
CARLILE et al., 2019	UK	Eficiência antibiótica	10	N/S	N/S 20µl de <i>S. aureus</i> (OD600 – 0,25) ou <i>P. aeruginosa</i> (OD600 – 0,1 – diluído 1 em 1.000.000) em PBS ou PBS sozinho. <i>G. mellonella</i> foi tratado com Hc-cath em 20µl de PBS (68,8µM) ou uma segunda injeção de PBS.	Camundongos C57BL6 (n=7-8/ grupo; 100µl de Hc-cath (137,8µM); 17,5x10 ⁶ UFC/ morcego)	O estudo focou em um grupo de proteínas antimicrobianas chamadas catelicidinas. Assim, trabalharam com Hc-cath, uma catelicidina encontrada no veneno da cobra marinha <i>Hydrophis cyanocinctus</i> . Eles tiveram como objetivo avaliar a capacidade do Hc-cath de aliviar a infecção e a inflamação para utilizá-lo posteriormente em aplicações terapêuticas.	<i>G. mellonella</i> : a atividade antimicrobiana foi avaliada neste modelo. <i>G. mellonella</i> foi infectada com <i>S. aureus</i> ATCC 25973 ou <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 antes do tratamento com Hc-cath e sua sobrevivência foi avaliada por um período de 5 dias. <i>G. mellonella</i> infectado com <i>S. aureus</i> tratado com Hc-cath teve uma porcentagem de sobrevivência mais alta quando comparado àqueles sem tratamento com Hc-cath. <i>G. mellonella</i> infectado com <i>P. aeruginosa</i> tratado com Hc-cath mostrou uma taxa de sobrevivência maior quando comparado à infecção isolada. Camundongos: a eficácia do antibiótico foi avaliada através da carga bacteriana 6 horas após a infecção peritoneal com <i>P. aeruginosa</i> . Camundongos infectados com <i>P. aeruginosa</i> tratados com Hc-cath apresentaram uma redução na carga bacteriana no fígado e no baço, mas não no líquido de lavagem peritoneal (PLF).
FAN et al., 2021	China	Virulência através do ensaio da atividade das proteinases aspartil secretadas (SAP)	10	300-400	1x10 ⁶ para duas cepas de <i>Candida auris</i> (BJCA001 e BJCA002)	Camundongas fêmeas BALB/c (n=5; 2x10 ⁷ para cada cepa)	Relatar um isolado resistente ao fluconazol de <i>C. auris</i> de um hospital em Pequim, China.	<i>G. mellonella</i> : Um ensaio de infecção foi realizado e foi avaliado através da taxa de sobrevivência das larvas. Camundongos: Um ensaio de infecção sistêmica em camundongos foi realizado e foi avaliado através da determinação da unidade formadora de colônias (UFC) em meio YPD. Expressão dos SAPs: BJCA001 - comparável a todas as temperaturas. BJCA002 - dependente da temperatura (maior secreção de SAPs em temperaturas mais altas). Secreção de SAP:- <i>G. mellonella</i> : A 37°C todas as larvas infectadas com BJCA001 foram mortas, enquanto mais de 40% das BJCA002 sobreviveram no sétimo dia. A 25°C, todas as larvas infectadas por BJCA001 foram mortas após 5 dias, enquanto mais de 20% das larvas infectadas por BJCA002 haviam sobrevivido após 7 dias de infecção. - Camundongos: Apenas a avaliação dos rins mostrou uma diferença significativa (valor P < 0,01). Assim, os camundongos infectados por BJCA001 apresentaram cerca de 10x10 ⁵ UFC, enquanto os camundongos infectados por BJCA002 apresentaram menos de 5x10 ⁵ UFC.

Autor, Ano	País	Estudo Realizado	NLPG	Peso (mg)	Inóculos	Comparação dos grupos	Objetivos	Resultados
GORR, FLORY & SCHUMACHER, 2019	USA	Toxicidade e eficiência antibiótica	10	200-300	1x10 ³ para <i>P. aeruginosa</i> Xen41 125 µg/g de DGL13K	Camundongas fêmeas BALB/c (4 camundongas/grupo para toxicidade da pele; camundongas/grupo para o modelo de infecção por ferida queimada, com 105 CFU de <i>P. aeruginosa</i>)	Para descrever o potencial de tradução do DGL13K, um peptídeo antimicrobiano, com foco na toxicidade do peptídeo e na atividade in vivo em dois modelos animais.	<i>G. mellonella</i> : O ensaio de toxicidade de peptídeos e a eficácia do antibiótico foram avaliados. A toxicidade foi avaliada pela movimentação ao toque e pela ausência de melanização. DGL13K apresentou 50% de mortalidade. A eficácia do antibiótico foi avaliada através de luminescência ao vivo in vivo; mostrou que DGL13K inibiu o crescimento contínuo de <i>P. aeruginosa</i> . Camundongos: O ensaio de toxicidade na pele e a eficácia do antibiótico foram avaliados. A toxicidade do DGL13K na pele não mostrou irritação visível (edema, vermelhidão), nem mostrou infiltração inflamatória. A eficácia do antibiótico foi avaliada por meio de um modelo de infecção em ferida por queimaduras; mostrou redução da carga de bactérias vivas de 10 para 4 vezes.
IGNASIAK & MAXWELL, 2017	UK	Toxicidade	5-10	250-320	Amsacrina, Cloroquina, Ciprofloxacino, DMSO, Doxorubicina, Etoposídeo, Glicose, Novobiocina, Cloreto de sódio, Estreptomicina e Tetraciclina.	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) para testes de toxicidade em camundongos e ratos (PUBLICAÇÃO DA OCDE, 2001)	Para avaliar a eficiência de <i>G. mellonella</i> em testes de suscetibilidade a antibióticos e explorar se poderiam também ser usados rotineiramente em ensaios de toxicidade aguda.	Toxicidade (LD50 mg/kg de peso corporal): <i>G. mellonella</i> : Amsacrina: 40Cloroquina: 125Ciprofloxacino: >2000 DMSO: 100Doxorubicina: 5.5Etoposídeo: 100Glicose: >2000Novobiocina: 100Cloreto de sódio: >2000Estreptomicina: 300Tetraciclina: >2000Ratos:Amsacrina (Oral): 100Cloroquina (Oral): 623Ciprofloxacino (Oral): >2000DMSO (Oral): 14.500Doxorubicina (Intraperitoneal): 16Etoposídeo (Oral e Intraperitoneal): 1784 e 58Glicose (Oral): 25.800Novobiocina (Oral): 3500Cloreto de sódio (Oral): 3000Estreptomicina (Oral): 430Tetraciclina (Oral e Intraperitoneal): 6443 e 318Camundongo:Amsacrina (Oral): 243Cloroquina (Oral): 500Ciprofloxacino (Oral): >2000DMSO (Oral): 7920Doxorubicina (Oral e Intraperitoneal): 698 e 1.2Etoposídeo (Oral): 215Glicose: N/SNovobiocina (Oral): 962Cloreto de sódio (Oral): 4000Estreptomicina (Oral): 430Tetraciclina (Oral e Intraperitoneal): 2759 e 368

Autor, Ano	País	Estudo Realizado	NLPG	Peso (mg)	Inóculos	Comparação dos grupos	Objetivos	Resultados
JANDER, RAHME & AUSUBEL, 2000	USA	Virulência de <i>P. aeruginosa</i> PA14	10	250	1x10 ⁴ para <i>P. aeruginosa</i> PA14	Camundongos	Apresentar uma nova descoberta de uma correlação positiva significativa entre a virulência de mutantes PA14 em camundongos e insetos.	<p>O crescimento da PA14 foi monitorado por meio de medições da concentração bacteriana nas larvas em intervalos de 8 horas após a injeção da dose letal (DL). As DL de <i>G. mellonella</i> foram de 25 células de PA14/larva. 50% da dose letal (DL50) em <i>G. mellonella</i> e a sobrevivência de camundongos queimados após a infecção por <i>P. aeruginosa</i>: Todas as mutantes da PA14 com DL50 superior a 25 bactérias em <i>G. mellonella</i> apresentaram virulência reduzida em camundongos.</p> <p>frvA é essencial para o crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em condições de ferro restrito e para a infecção sistêmica. O estudo também avaliou dois tipos de mutantes frvA, chamados ΔfrvA[85-416] (criado pela deleção do gene lmo0641, dos resíduos 85-416 inclusos) e ΔfrvA (criado pela deleção de todo o quadro de leitura aberto). Ambos os mutantes foram complementados usando o plasmídeo pPL2 para reintroduzir uma única cópia de frvA (designados ΔfrvA::pPL2frvA e ΔfrvA[85-416]::pPL2frvA). <i>G. mellonella</i> e ΔfrvA:- Nenhuma morte observada ao longo do tempo para os insetos que receberam PBS- Tipo selvagem: LT-50 de 26 horas- ΔfrvA: mais de 50% dos insetos ainda vivos após 43 horas.</p>
MCLAUGHLIN et al., 2012	Irlanda	Potencial de virulência de loci regulados por Fur (regulador de captura de ferro) - Fator de virulência A regulado por Fur (frvA)	10	N/S	1x10 ⁶ <i>Listeria monocytogenes</i>	BALB/c camundongos (4x10 ⁵ CFU)	Realizar uma busca genômica independente para identificar sequências de consenso de Fur-box putativas no genoma de <i>L. monocytogenes</i> .	Camundongos: 3 dias após a infecção (baço/figado dos camundongos):- ΔfrvA = 1 UFC/órgão.- ΔfrvA::pPL2frvA ~ 4 UFC/órgão.- Tipo selvagem ~ 4 UFC/órgão.A reintrodução de frvA restaurou completamente o potencial de virulência.

Autor, Ano	País	Estudo Realizado	NLPG	Peso (mg)	Inóculos	Comparação dos grupos	Objetivos	Resultados
YANG et al., 2022	Taiwan	Eficiência antibiótica	6-8	250	1x10 ⁴ para <i>Elizabethkingia anophelis</i> (três isolados representativos de <i>E. anophelis</i> : 2002N07-090, 2008N07-201 e 2008S01-229)	Maus C57BL/6J (8 maus/grupo; infectados com 10 ⁶ ou 10 ⁸ UFC de cada cepa; injeções com minociclina e/ou rifampicina)	Usar modelos de infecção com <i>Galleria mellonella</i> e camundongos para determinar a eficácia in vivo da monoterapia com minociclina e da terapia combinada contra isolados de <i>E. anophelis</i> suscetíveis à minociclina.	<i>G. mellonella</i> : 10µL de <i>E. anophelis</i> a 10 ⁴ UFC foram injectados nas larvas. Elas receberam minociclina e rifampicina. Os índices de saúde e o número de lagartas mortas foram registrados. O tratamento com minociclina atrasou o tempo de morte para 24h ou mais em todas as três cepas avaliadas e melhorou os índices de saúde. Camundongos: Modelo de pneumonia em camundongos: Eles foram observados por 3 dias para comparação de sobrevivência sob terapia combinada (minociclina e rifampicina) e/ou apenas monoterapia. A monoterapia com minociclina atrasou a morte das cepas 2002N07-090 e 2008S01-229 por 36 a 40h, enquanto a cepa 2008N07-201 atrasou a redução da percentagem de sobrevivência.

Em *G. mellonella*, os desfechos incluíram mortalidade, perda de mobilidade, melanização e formação de pupas, enquanto nos modelos mamíferos foram frequentemente avaliadas a sobrevivência ou a carga bacteriana tecidual. Foram observadas tendências comparáveis em vários estudos, como a redução da virulência de mutantes de *P. aeruginosa* tanto em larvas quanto em camundongos. No entanto, algumas discrepâncias foram relatadas: cepas de *Candida auris* apresentaram maior virulência do que *C. haemulonii* em larvas, mas essa diferença foi menos pronunciada em modelos murinos.

Eficácia antimicrobiana

Três estudos testaram tratamentos antimicrobianos^{10,12,13}. De modo geral, as melhorias na sobrevivência observadas em larvas foram consistentes com os benefícios terapêuticos relatados em camundongos, particularmente em regimes à base de minociclina contra *E. anophelis*. Contudo, a heterogeneidade nos esquemas terapêuticos e nas medidas de desfecho limitou a possibilidade de comparações diretas entre os modelos.

Ensaio de toxicidade

Dois estudos investigaram a toxicidade de

fármacos. Um relatou perfis semelhantes entre larvas e roedores quando aplicados os padrões da OECD, enquanto outro encontrou maior sensibilidade das larvas em comparação aos ratos frente ao mesmo composto. Esses achados sugerem que *G. mellonella* pode, em alguns casos, superestimar a toxicidade em relação aos mamíferos. Nos ensaios de toxicidade, os fármacos foram inoculados nas larvas para determinar a dose subletal, a qual posteriormente foi utilizada nos modelos mamíferos.

Risco de viés

De acordo com a análise de risco de viés utilizando a ferramenta SYRCLE, cinco estudos apresentaram escore final equivalente a risco médio de viés. Um estudo apresentou risco alto e um risco baixo. Alguns parâmetros avaliados, como: “*A alocação dos grupos foi adequadamente ocultada durante o experimento?*”, “*Os cuidadores e/ou pesquisadores foram cegados quanto à intervenção recebida por cada animal?*” e “*O avaliador dos desfechos foi cegado?*” receberam pontuação incerta em todos os estudos, o que reduziu os escores finais de maneira geral. Esses resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. SYRCLE’s RoB ferramenta para risco de viés

Autor	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
Carlile et al., 2019	2	2	1	1	1	2
Fan et al., 2021	1	1	1	1	1	1
Gorrl et al., 2019	1	2	1	1	1	1
Ignasiak & Maxwell, 2017	2	2	1	2	1	2
Jander et al., 2000	1	2	1	1	1	1
McLaughlin et al., 2012	2	1	1	2	1	1
Yang et al., 2022	2	2	1	1	1	1

Nota. Q1: A sequência de alocação foi adequadamente gerada e aplicada?; Q2: Os grupos eram semelhantes na linha de base ou foram ajustados para confundidores na análise?; Q3: A alocação aos diferentes grupos foi adequadamente ocultada durante o experimento?; Q4: Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento?; Q5: Os cuidadores e/ou investigadores estavam cegos quanto ao conhecimento de qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?; Q6: Os animais foram selecionados aleatoriamente para a avaliação de desfechos?; Q7: O avaliador de desfechos estava cego?; Q8: Os dados de desfecho incompletos foram adequadamente tratados?; Q9: Os relatos do estudo estão livres de relatórios de desfechos seletivos?; Q10: O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que possam resultar em alto risco de viés? | 0= Não; 1= Incerteza; 2= Sim.

Discussão

Modelos animais continuam sendo centrais para a pesquisa em infecção, fornecendo informações sobre interações hospedeiro–patógeno, respostas imunes e eficácia terapêutica¹⁷. No entanto, a dependência de modelos mamíferos é limitada por exigências éticas, custos elevados e aprovações regulatórias¹⁹. Os princípios dos 3Rs têm incentivado o uso de sistemas alternativos, como *Galleria mellonella*, que oferece vantagens práticas e éticas².

Em conformidade com os princípios dos 3Rs, pesquisadores buscam novas formas de realizar estudos *in vivo*, direcionando o foco para modelos não mamíferos^{2,19,20}. Nesta revisão sistemática, destacam-se alguns pontos que elucidam os ensaios biológicos possíveis tanto em *G. mellonella* quanto em modelos mamíferos. Muitos pesquisadores já utilizam *G. mellonella* como modelo *in vivo* para avaliar virulência de patógenos, toxicidade e eficácia antimicrobiana, por se tratar de uma alternativa ética e econômica ao uso de roedores.

Os estudos revisados enfatizaram uma correlação significativa entre os resultados de virulência em *G. mellonella* e em mamíferos, sugerindo que muitos mecanismos de infecção e respostas imunes são conservados entre esses grupos. Isso torna a *G. mellonella* uma ferramenta útil para identificar fatores de virulência relevantes em infecções de mamíferos. Além disso, seu uso não se justifica apenas pela eficiência em reproduzir aspectos de infecções humanas, mas também por representar uma alternativa mais ética e de menor custo, especialmente em estudos preliminares de eficácia antimicrobiana e toxicidade. Portanto, a utilização de *G. mellonella* pode acelerar a identificação de novos fatores de virulência e tratamentos antimicrobianos eficazes antes da transição para modelos mamíferos mais complexos, economizando tempo e recursos sem comprometer a qualidade dos dados^{10,12}.

Os estudos incluídos demonstraram que *G. mellonella* pode reproduzir características-chave das respostas de mamíferos em ensaios de virulência e eficácia antimicrobiana²⁰. Por exemplo, Yang et al.¹⁴ avaliaram tanto *G. mellonella* quanto camundongos C57BL/6J infectados com três diferentes cepas de *E. anopheles* (2002N07-090, 2008N07-201 e 2008S01-229) por meio da taxa de sobrevivência. Peng et al.²⁴ também analisaram a sobrevivência de *E. anopheles* ANO15 em camundongos BALB/c. Apesar das diferenças entre cepas e linhagens de camundongos, este foi o único artigo identificado que avaliou a sobrevivência com esse microrganismo em ambos os modelos. Para os demais estudos incluídos que realizaram ensaios de eficácia antibiótica, não foi possível estabelecer comparações diretas, uma vez que

as avaliações dos resultados diferiram entre os modelos de larvas e mamíferos.

Entretanto, discrepâncias também foram evidentes. *Candida auris* apresentou maior virulência do que *C. haemulonii* em larvas²⁵, enquanto nos camundongos essa diferença foi menos expressiva. Nos testes de toxicidade, as larvas às vezes mostraram maior sensibilidade do que os roedores, sugerindo que os resultados podem superestimar efeitos adversos^{9,12}. Essas diferenças provavelmente refletem a ausência de um sistema imune adaptativo em *G. mellonella* e a fisiologia mais simples dos insetos em comparação aos mamíferos^{19,20}.

Um estudo¹⁰, foi observado que certas mutações bacterianas em *P. aeruginosa*, que resultaram em redução da virulência em plantas ou nematoides, também exibiram menor virulência em camundongos. Essa correlação pode sugerir que os mecanismos de infecção subjacentes são semelhantes em ambos os hospedeiros, e que os insetos servem como modelos adequados para identificar e caracterizar genes bacterianos envolvidos em infecções de mamíferos. No entanto, tal afirmação não pode ser confirmada, pois o ensaio em camundongos não foi claramente descrito no artigo.

As limitações metodológicas também complicam a interpretação. A maioria dos estudos apresentou risco médio de viés, devido principalmente à falta de clareza na ocultação da alocação, ausência de cegamento e relato limitado de cálculos amostrais. A padronização das condições experimentais — como tamanho do inóculo, temperatura e medidas de desfecho — é essencial para melhorar a reprodutibilidade e facilitar comparações entre modelos^{3,23}.

De modo geral, *G. mellonella* não deve ser considerada como substituto dos modelos mamíferos, mas sim como sistema complementar. Seu uso pode reduzir a necessidade de testes em mamíferos em estudos de fase inicial²⁰, acelerar triagens e orientar o desenho de experimentos mamíferos mais direcionados, promovendo eficiência científica e adesão aos princípios éticos.

Conclusão

Com base na presente revisão sistemática, observou-se que, embora o modelo de *Galleria mellonella* seja uma ferramenta valiosa em diversos contextos, ele não pode substituir integralmente a necessidade de estudos em mamíferos na pesquisa biológica. A hipótese deste estudo não pôde ser totalmente rejeitada, visto que *G. mellonella* pode servir como modelo piloto para avaliar e ajustar metodologias antes de sua aplicação em mamíferos.

Seguindo a estratégia de busca pré-definida, esta revisão não identificou um número substancial

de estudos que comparassem diretamente ambos os grupos. Portanto, a escolha do modelo experimental deve depender dos objetivos específicos da pesquisa e da validade dos resultados esperados. Novos estudos são fortemente encorajados a comparar os dois modelos em ensaios biológicos utilizando metodologias padronizadas.

Conflito de interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesse.

Referências

- Mikulak E, Gliniewicz A, Przygodzka M, Solecka J. *Galleria mellonella* L. as model organism used in biomedical and other studies. *Przegl Epidemiol.* 2018;72(1):57-73.
- EBioMedicine. The 3Rs of animal research. *EBioMedicine.* 2022;76:103900. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103900>.
- Junqueira JC, Mylonakis E, Borghi E. *Galleria mellonella* experimental model: advances and future directions. *Pathog Dis.* 2021;79(5):ftab021. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftab021>.
- Desbois AP, Coote PJ. Utility of greater wax moth larva (*Galleria mellonella*) for evaluating the toxicity and efficacy of new antimicrobial agents. *Adv Appl Microbiol.* 2012;78:25-53. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394805-2.00002-6>.
- Wojda I, Staniec B, Sulek M, Kordaczuk J. The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. *Pathog Dis.* 2020;78(9):ftaa057. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftaa057>.
- Pereira MF, Rossi CC, Silva GC, Rosa JN, Bazzolli DM. *Galleria mellonella* as an infection model: an in-depth look at why it works and practical considerations for successful application. *Pathog Dis.* 2020;78(8):ftaa056. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftaa056>.
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *J Clin Epidemiol.* 2021;134:178-89. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2021.03.001>.
- Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RB, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol.* 2014;14:43. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>.
- Gorr SU, Flory CM, Schumacher RJ. In vivo activity and low toxicity of the second-generation antimicrobial peptide DGL13K. *PLoS One.* 2019;14(5):e0216669. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216669>.
- Jander G, Rahme LG, Ausubel FM. Positive correlation between virulence of *Pseudomonas aeruginosa* mutants in mice and insects. *J Bacteriol.* 2000;182(13):3843-5. <https://doi.org/10.1128/jb.182.13.3843-3845.2000>.
- Carlile SR, Shiels J, Kerrigan L, Delaney R, Megaw J, Gilmore BF, et al. Sea snake cathelicidin (Hc-cath) exerts a protective effect in mouse models of lung inflammation and infection. *Sci Rep.* 2019;9(1):6071. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42537-8>.
- Ignasiak K, Maxwell A. *Galleria mellonella* (greater wax moth) larvae as a model for antibiotic susceptibility testing and acute toxicity trials. *BMC Res Notes.* 2017;10(1):428. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2757-8>.
- McLaughlin HP, Caly DL, McCarthy Y, Ryan RP, Dow JM. An orphan chemotaxis sensor regulates virulence and antibiotic tolerance in the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One.* 2012;7(8):e42205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042205>.
- Yang YS, Huang TW, Huang YC, Huang WC, Hsu SY, Wu HC, et al. In vitro and in vivo efficacy of minocycline-based therapy for *Elizabethkingia anophelis* and the impact of reduced minocycline susceptibility. *Int J Antimicrob Agents.* 2022;60(5-6):106678. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106678>.
- Fan S, Zhan P, Bing J, Jiang N, Huang Y, Chen D, et al. A biological and genomic comparison of a drug-resistant and a drug-susceptible strain of *Candida auris* isolated from Beijing, China. *Virulence.* 2021;12(1):1388-99. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1928410>.
- OECD. Guidance document on acute oral toxicity testing. Paris: OECD Publishing; 2001.
- Phillips NL, Roth TL. Animal models and their contribution to our understanding of the relationship between environments, epigenetic modifications, and behavior. *Genes.* 2019;10(1):47. <https://doi.org/10.3390/genes10010047>.
- Durieux MF, Melloul É, Jemel S, Roisin L, Dardé ML, Guillot J, et al. *Galleria mellonella* as a screening tool to study virulence factors of *Aspergillus fumigatus*. *Virulence.* 2021;12(1):818-34. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1893945>.
- Ménard G, Rouillon A, Cattoir V, Donnio PY. *Galleria mellonella* as a suitable model of bacterial infection: past, present and future. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:782733. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.782733>.
- Scully LR, Bidochka MJ. An alternative insect pathogenic strategy in an *Aspergillus flavus* auxotroph. *Mycol Res.* 2009;113(2):230-9. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.10.007>.
- Tsai CJ, Loh JM, Proft T. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence.* 2016;7(3):214-29. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>.
- Kavanagh K, Sheehan G. The use of *Galleria mellonella* larvae to identify novel antimicrobial agents against fungal species of medical interest. *J Fungi.* 2018;4(3):113. <https://doi.org/10.3390/jof4030113>.
- Ten KE, Muzahid NH, Rahman S, Tan HS. Use of the waxworm *Galleria mellonella* larvae as an infection model to study *Acinetobacter baumannii*. *PLoS One.* 2023;18(4):e0283960. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283960>.
- Peng SY, Chen LK, Wu WJ, Paramita P, Yang PW, Li YZ, et al. Isolation and characterization of a new phage infecting *Elizabethkingia anophelis* and evaluation of its therapeutic efficacy in vitro and in vivo. *Front Microbiol.* 2020;11:728. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00728>.
- Muñoz JE, Ramirez LM, Dias LDS, Rivas LA, Ramos LS, Santos ALS, et al. Pathogenicity levels of Colombian strains of *Candida auris* and Brazilian strains of *Candida haemulonii* species complex in both murine and *Galleria mellonella* experimental models. *J Fungi.* 2020;6(3):104. <https://doi.org/10.3390/jof6030104>.
- Amorim-Vaz S, Delarze E, Ischer F, Sanglard D, Coste AT. Examining the virulence of *Candida albicans* transcription factor mutants using *Galleria mellonella* and mouse infection models. *Front Microbiol.* 2015;6:367. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00367>.