

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS**

Letícia Feliciani da Luz

Explorando a biologia do inseto *Galleria mellonella* para o desenvolvimento de novos agentes contra bactérias multirresistentes

UFCSPA
Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

**Porto Alegre
2024**

Letícia Feliciani da Luz

Explorando a biologia do inseto *Galleria mellonella* para o desenvolvimento de novos agentes contra bactérias multirresistentes

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientadora: Prof. Dr^a. Danielle da Silva Trentin
Coorientadora: Dr^a. Gabriela Messias Miranda Menezes

**Porto Alegre
2024**

Catalogação na Publicação

Feliciani da Luz, Letícia

Explorando a biologia do inseto *Galleria mellonella* para o desenvolvimento de novos agentes contra bactérias multirresistentes / Letícia Feliciani da Luz. -- 2024.

129 p. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em BioCiências, 2024.

Orientador(a): Danielle da Silva Trentin ;
coorientador(a): Gabriela Messias Miranda Menezes.

1. *Galleria mellonella*. 2. Infecções multirresistentes. 3. Antibacterianos. 4. Antibiofilme. 5. Bactérias multirresistentes. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

INTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Molecular, situado na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) e contou com a colaboração do Laboratório de Espectroscopia e Laboratório Central de Microanálise e Microscopia (LabCeMM) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). A CAPES concedeu bolsa de mestrado acadêmico para a realização deste projeto, a UFCSPA forneceu auxílio financeiro através do Edital PROPPG nº 24/2023. O projeto foi registrado na Compesq – UFCSPA (número 44/2022).

Dedico este trabalho a minha mãe,
por seu amor e apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter colocado pessoas tão especiais em meu caminho e por serem tantas, não poderia listá-las nesse pequeno espaço.

Muito obrigada à minha mãe, que esteve ao meu lado em todos os momentos, sempre me apoiando e incentivando.

Agradeço ao meu pai, por sempre me fazer ver o lado bom das coisas, mesmo em momentos tão difíceis.

Agradeço ao Gilberto, por toda calma e paciência.

Muito obrigada ao meu namorado Guilherme, por trazer mais amor e leveza aos meus dias.

Agradeço aos meus amigos pela paciência e por entenderem minha ausência em tantos momentos.

Muito obrigada às colegas de laboratório, que se tornaram amigas, dividindo angústias e vitórias do trabalho e da vida: Andressa, Maria, Isadora, Gabriela, Belisa e Bruna.

Muito obrigada à minha professora e orientadora Danielle Trentin e à minha melhor amiga e coorientadora Gabriela Menezes, por toda a paciência, incentivo, amparo e segurança que me deram.

Agradeço a toda equipe do laboratório 302, pela acolhida e parceria.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	27
2.1 Objetivo geral	27
2.2 Objetivos específicos	27
3. RESULTADOS	28
4. DISCUSSÃO GERAL	29
5. CONCLUSÕES	32
6. PERSPECTIVAS	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXO I	40
Avaliação de meios de cultura visando a formação de biofilme e crescimento bacteriano <i>in vitro</i> de cepas bacterianas padronizadas.	40
ANEXO II	43
Colaboração em manuscrito a ser submetido para revista científica	43
ANEXO III	45
Colaboração em manuscrito a ser submetido para revista científica	45
ANEXO IV	47
Guia dos autores – Periódico “Microbiological Research”	47
CURRÍCULO LATTES	58

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

BHI: do inglês *Brain Heart Infusion* (Infusão cérebro-coração)

Bio-AgNP: Nanopartícula de prata biogênica

blaKPC: Gene beta lactamase do tipo *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

blaNDM: Gene beta lactamase do tipo New Delhi Metallo-beta-lactamase

BMIC: do inglês *Biofilm Minimal Inhibitory Concentration* (Concentração inibitória mínima do biofilme)

CE1: do inglês *total aqueous extract of cocoons*

CE2: do inglês *hexane serial extract of cocoons*

CE3: do inglês *aqueous serial extract of cocoons*

GC-MS: do inglês *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry* (Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas)

DMSO: Dimetilsulfóxido

EDS: do inglês *Energy Dispersion X-Ray Spectroscopy* (Espectroscopia de Raios-X por Dispersão em Energia)

EE1: do inglês *total aqueous extract of eggs*

EE2: do inglês *hexane serial extract from the mucous layer of eggs*

EE3: do inglês *serial aqueous extract of eggs without the mucous layer*

EE1C: do inglês *total aqueous extract of control eggs*

EE1GP: do inglês *total aqueous extract of Gram-positive eggs*

EE1GN: do inglês *total aqueous extract of Gram-negative eggs*

EE2C: do inglês *hexane serial extract from the mucous layer of control eggs*

EE2GP: do inglês *hexane serial extract from the mucous layer of Gram-positive eggs*

EE2GN: do inglês *hexane serial extract from the mucous layer of Gram-negative eggs*

EE3C: do inglês *serial aqueous extract of control eggs without the mucous layer*

EE3GP: do inglês *serial aqueous extract of Gram-positive eggs without the mucous layer*

EE3GN: do inglês *serial aqueous extract of Gram-negative eggs without the mucous layer*

EPS: do inglês *extracellular polymeric substances* (substâncias poliméricas extracelulares)

FDA: do inglês *Food and Drug Administration* (Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos)

FTIR: do inglês *Fourier Transformed Infrared Spectroscopy* (Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier)

HE: Hematoxilina e eosina

LabCeMM: Laboratório Central de Microanálise e Microscopia

MEV-FEG: do inglês *Field Emission Gun Scanning Electron Microscopy* (Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo)

MHB: do inglês *Mueller Hinton Broth* (Caldo Mueller Hinton)

MIC: do inglês *Minimal Inhibitory Concentration* (Concentração inibitória mínima)

MRSA: do inglês *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à metilicina)

OD: do inglês *Optical Density* (Densidade óptica)

OMS: Organização Mundial da Saúde

TSB: do inglês *Tryptic Soy Broth* (Caldo Triptona Soja)

VISA: do inglês *Vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* com resistência intermediária à vancomicina)

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

RMN de ^1H e ^{13}C : do inglês *Proton and Carbon Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* (Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton e Carbono)

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1: Modelo anatômico de <i>G. mellonella</i>	18
Figura 2: Ciclo de vida do inseto <i>Galleria mellonella</i>	18
Figura 3: Micrografias da superfície externa (A-D) e da parte interna (E-F) dos ovos de <i>G. mellonella</i>	22
Figura 4. Estrutura do casulo.....	24

ANEXO I

Figura 1: Avaliação de meios de cultura visando a formação de biofilme e crescimento bacteriano <i>in vitro</i> de cepas bacterianas padronizadas.....	41
---	----

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1: Componentes biológicos de <i>Galleria mellonella</i> e descrição de atividade antibacteriana e/ou antibiofilme.....	25
--	----

ANEXO II

Tabela 1: Sobrevivência das larvas de <i>G. mellonella</i>	43
---	----

ANEXO III

Tabela 1: Sobrevivência das larvas de <i>G. mellonella</i>	45
---	----

RESUMO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que até 2050 mais de 10 milhões de pessoas irão morrer anualmente de infecções se a resistência aos antimicrobianos for mantida no nível atual, constituindo a principal causa de morte humana. Produtos naturais são reconhecidos como importante fonte de entidades químicas para o desenvolvimento de agentes anti-infectivos. No ambiente, os insetos são constantemente ameaçados por patógenos e, portanto, desenvolveram estratégias para se proteger de infecções microbianas. O inseto *Galleria mellonella* apresenta ciclo de vida dividido em quatro fases (ovo, larva, pupa e mariposa adulta). Após a oviposição, os ovos ficam expostos no ambiente, mas ainda não é conhecida a forma pela qual os mesmos se protegem de microrganismos. Adicionalmente, antes da formação de pupa, as larvas são envoltas em um casulo de seda. Assim, os ovos e os casulos de seda parecem proteger *G. mellonella* dos ataques de microrganismos. Alguns insetos, podem apresentar um processo denominado *priming* imunológico: a exposição a sub-doses de microrganismos ativa a resposta imune e confere efeito protetor a um próximo contato com o patógeno. O objetivo deste trabalho foi investigar a atividade antibacteriana e antibiofilme de extratos dos ovos e casulos de seda de *G. mellonella*, provenientes de larvas expostas ou não a antígenos bacterianos, frente a cepas bacterianas multirresistentes, contribuindo no desenvolvimento de novos agentes anti-infectivos e no entendimento de como *G. mellonella* se protege de infecções. Especificamente, investigou-se também se os ovos provenientes de larvas expostas a antígenos bacterianos apresentam modificação química e morfológica, e se a exposição aos antígenos afeta a atividade anti-infectiva dos extratos de ovos. As análises histológicas e de MEV-FEG-EDS apontaram espessamento da camada mucosa de ovos desafiados. Extratos aquosos e orgânicos foram obtidos de casulos saudáveis, bem como de ovos controle e desafiados com antígenos bacterianos. Os materiais biológicos apresentaram alterações na composição química antes e após a extração, conforme observados pelas técnicas de FTIR e MEV-FEG. Por meio da análise de CG-MS, foram identificados 43 compostos provenientes dos extratos de casulos e 39 compostos dos extratos de ovos, dos quais vários tem sido reportados na literatura por possuírem ação antibacteriana e/ou antibiofilme. Os extratos foram avaliados, na concentração de 1000 e 350 µg/mL, quanto à ação antibiofilme e antibacteriana pelas técnicas de cristal violeta e microdiluição em caldo, respectivamente. Os extratos CE1, CE3, EE1 e EE2 destacaram-se por sua excelente atividade antibacteriana e/ou antibiofilme que foram obtidas frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* multirresistentes. A identificação de moléculas bioativas capazes de controlar o crescimento ou a virulência de bactérias multirresistentes, através de mecanismos de ação distintos dos antibacterianos clássicos, contribuirá para o desenvolvimento de agentes inovadores no setor farmacêutico e no entendimento da biologia e fisiologia dos insetos.

Palavras-chave: *Galleria mellonella*; ovos de insetos; casulos de seda; antibacterianos; antibiofilme; infecções multirresistentes.

ABSTRACT

The World Health Organization (WHO) estimates that by 2050 more than 10 million people will die annually from infections if antimicrobial resistance is maintained at its current level, constituting the main cause of human death. Natural products are recognized as an important source of chemical entities for the development of anti-infective agents. In the environment, insects are constantly threatened by pathogens and therefore have developed strategies to protect themselves from microbial infections. The *Galleria mellonella* insect has a life cycle divided into four stages (egg, larva, pupa and adult moth). After oviposition, the eggs are exposed to the environment, but the way in which they protect themselves from microorganisms is not yet known. Additionally, before pupa formation, the larvae are wrapped in a silk cocoon. Thus, eggs and silk cocoons appear to protect *G. mellonella* from attacks by microorganisms. Some insects may present a process called immune priming: exposure to sub-doses of microorganisms activates the immune response and confers a protective effect in the next contact with the pathogen. The aim of this work was to investigate the antibacterial and antibiofilm activity of extracts from the eggs and silk cocoons of *G. mellonella*, and from larvae exposed or not to bacterial antigens, against multi-resistant bacterial strains, contributing to the development of new anti-infective agents and in the understanding of how *G. mellonella* protects itself from infections. Specifically, it was also investigated whether eggs from larvae exposed to bacterial antigens present chemical and morphological modifications, and whether exposure to antigens affects the anti-infective activity of egg extracts. Histological and SEM-FEG-EDS analyses showed mucous layer thickening of challenged eggs. Aqueous and organic extracts were obtained from healthy cocoons, as well as from control eggs and those challenged with bacterial antigens. The biological materials showed changes in the chemical composition before and after extraction, as observed by FTIR and SEM-FEG techniques. Through GC-MS analysis, 43 compounds were identified from cocoon extracts and 39 compounds from egg extracts, of which several have been reported in the literature to have antibacterial and/or antibiofilm action. The extracts were evaluated at concentrations of 1000 and 350 µg/mL for antibiofilm and antibacterial action using crystal violet and broth microdilution techniques, respectively. The extracts CE1, CE3, EE1 and EE2 stood out for their excellent antibacterial and/or antibiofilm activity, which were obtained against *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and multi-resistant *Staphylococcus aureus*. The identification of bioactive molecules capable of controlling the growth or virulence of multidrug-resistant bacteria, through different mechanisms of action than classic antibacterials, will contribute to the development of innovative agents in the pharmaceutical sector, as well as to the understanding of the insect's biology and physiology.

Keywords: *Galleria mellonella*; insect eggs; silk cocoons; antibacterials; antibiofilm; multidrug-resistant infections.

1. INTRODUÇÃO

O crescente aumento no número de infecções causadas por microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos e as consequências a elas atribuídas são preocupações constantes no mundo todo. A taxa de mortalidade e os custos financeiros relacionados às infecções causadas por bactérias resistentes aos antibacterianos são superiores do que os relacionados às infecções causadas por bactérias sensíveis aos antimicrobianos (O'NEILL, 2014; POUDEL et al., 2023). Além disso, estima-se que até 2050 mais de 10 milhões de pessoas irão morrer anualmente se a resistência aos antimicrobianos for mantida no nível atual (O'NEILL, 2014). Em contraste, nos últimos 20 anos, apenas duas novas classes de antibacterianos foram aprovadas (TACCONELLI et al., 2018; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022), tornando evidente a necessidade por novas opções terapêuticas.

Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) elegeu patógenos prioritários no intuito de guiar a pesquisa e o desenvolvimento de novos antibacterianos (TACCONELLI et al., 2018), e entre eles estão *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* multirresistentes (TACCONELLI et al., 2018). No entanto, ainda permanece baixo o número de agentes antibacterianos em estudos clínicos, e a maioria destes não apresenta novos mecanismos de ação, como apontado no relatório do mesmo órgão em 2021 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

Frente a esse cenário, produtos naturais ainda representam uma importante fonte de entidades químicas com ação farmacológica devido, especialmente, à grande diversidade estrutural. Sabe-se que 48% dos fármacos antibacterianos aprovados para uso humano são derivados de produtos de origem natural (NEWMAN; CRAGG, 2020). Produtos naturais estão sendo utilizados no desenvolvimento de novos compostos antibacterianos, os quais inibem a viabilidade das bactérias (TRENTIN et al., 2013), e de compostos capazes de atenuar a virulência bacteriana, tais como a produção de biofilme, toxinas e pigmentos, sem inibir o crescimento do patógeno (SILVA et al., 2016; TRENTIN et al., 2015).

Biofilmes são comunidades microbianas incorporadas em uma matriz polimérica extracelular (CIOFU et al., 2022; LIU et al., 2023). A matriz do biofilme é produzida pelos microrganismos e é composta principalmente por substâncias poliméricas extracelulares (EPS), como exopolissacarídeos (FLEMMING; WINGENDER, 2010; WANG; BIAN; WANG, 2022), DNA extracelular, proteínas, lipídios e outras

biomoléculas, formando assim, a estrutura tridimensional do biofilme (KOO; YAMADA, 2016; WANG; BIAN; WANG, 2022). Além disso, a matriz da substância polimérica extracelular proporciona microambientes químicos estáveis e complexos, essenciais para a existência do biofilme, sendo responsável também pela adesão às superfícies e por manter o biofilme coeso (KOO; YAMADA, 2016; WANG; BIAN; WANG, 2022). Os biofilmes agem como uma camada protetora, oferecendo aos microrganismos proteção e resistência a inúmeras ameaças, como a ambientes extremos, radiação ultravioleta, pH extremo, temperatura extrema, alta salinidade, alta pressão, desnutrição e antibióticos (LIU et al., 2023; YIN et al., 2019). A formação de biofilmes bacterianos é uma causa significativa de muitas doenças infecciosas persistentes e crônicas visto que a resistência antimicrobiana aumenta significativamente quando as bactérias formam biofilmes. Além disso, as infecções associadas a eles são de difícil tratamento e altamente resistentes tanto ao sistema imunológico do hospedeiro quanto aos antibióticos (LIU et al., 2023).

Neste contexto, a inibição de fatores de virulência bacterianos representa uma abordagem alternativa, conhecida como terapia antivirulência, na qual a pressão evolutiva para o desenvolvimento de resistência é, potencialmente, mais suave do que nas terapias antibacterianas padrão (RASKO; SPERANDIO, 2010). Agentes que inibem a virulência bacteriana são considerados inovadores pela OMS, pois têm como alvo estruturas bacterianas relacionadas à virulência e as modulam através de novos modos de ação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Conforme o relatório da OMS de 2021, ao todo, 32 antibacterianos não tradicionais estão em desenvolvimento clínico ativo: 6 anticorpos, 9 bacteriófagos e derivados de fagos enzimas, 10 agentes moduladores do microbioma, 1 agente imunomodulador e 6 agentes na categoria miscelânea. Destes 5 estão na fase 3 de desenvolvimento; 10 estão em fase 2; 5 estão na Fase 1/2; 12 estão na Fase 1; e 1 não é atribuído (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Nesse sentido destaca-se o bezlotoxumabe, um anticorpo antitoxina, como exemplo de agente antivirulência aprovado em 2016 para uso humano em infecções causadas por *Clostridium difficile* (VIGNON et al., 2020; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Ainda, dois agentes antibacterianos não tradicionais estão em fase de pedido de autorização de comercialização: o reltecimod (AB103), um modulador imunológico para tratar infecções por *S. aureus*, e o BB128, um produto bioterapêutico de microbiota fecal liofilizado para tratamento de *C. difficile* e colite ulcerativa (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

Agentes antivirulência podem, potencialmente, ser utilizados como fármacos ativos ou em combinação com antibacterianos já estabelecidos, prolongando a vida útil destes. Cabe destacar que a maioria dos produtos não tradicionais que está em desenvolvimento pré-clínico e clínico são destinados para uso em combinação com antibacteriano padrão (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022) e seu potencial para terapia de agente único permanece por ser comprovado (SILVA et al., 2016). A terapia combinada de antibacterianos é realidade para o tratamento de pacientes com infecções por bactérias multirresistentes (SY et al., 2022), e na pesquisa, resultados promissores estão sendo obtidos na combinação de antibacterianos e moléculas antivirulência (PINTO et al., 2020).

Galleria mellonella é um inseto pertencente à ordem Lepidoptera e à família Pyralidae, que apresenta sistema circulatório aberto, cujo fluido corporal circulante é denominado hemolinfa (Figura 1). É conhecido como traça grande da cera, pois colmeias de abelhas fazem parte de seu ambiente natural (ABIDALLA, 2018; MORELO; SILVA TRENTIN, 2016; SINGKUM et al., 2019; TREVIJANO-CONTADOR; ZARAGOZA, 2019; WOJDA et al., 2020). Na natureza, larvas de *G. mellonella* se alimentam de favos de mel, que contêm uma quantidade significativa de cera de abelha, mel, exúvias de larvas de abelha e resíduos de pólen (KWADHA et al., 2017). As larvas também podem se desenvolver em uma dieta artificial composta de produtos de cereais, leite em pó, fermento, mel e glicerol (DESAI et al., 2019). O ciclo de vida de *G. mellonella* envolve 4 fases: ovo, larva (que compreende até 7 estádios), pupa e mariposa adulta (Figura 2) (ABIDALLA, 2018; MORELO; SILVA TRENTIN, 2016; SINGKUM et al., 2019; TREVIJANO-CONTADOR; ZARAGOZA, 2019; WOJDA et al., 2020), e pode variar de ~63 a ~155 dias, devido a diversos fatores, entre eles a disponibilidade de alimento, temperatura, umidade, presença ou ausência de entomopatógenos e microrganismos (ELLIS et al., 2013; KWADHA et al., 2017)

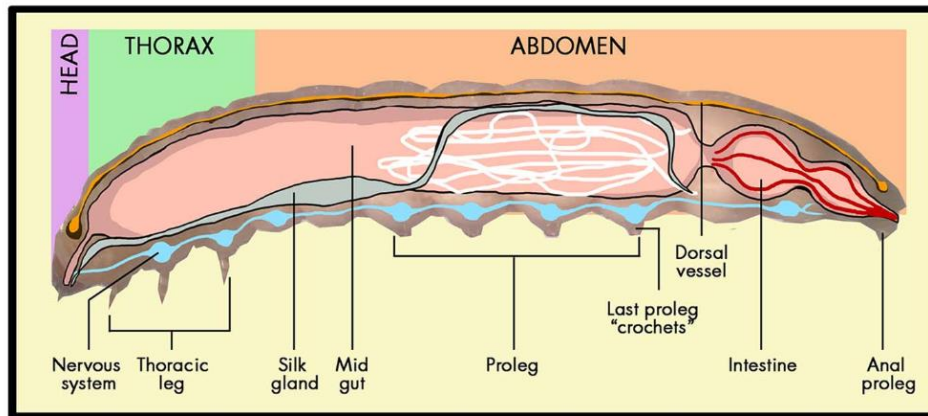


Figura 1: Modelo anatômico de *G. mellonella*. A imagem aponta a divisão do inseto em cabeça, tórax e abdômen e indica localização das glândulas e outros órgãos principais. (Imagem de Singkum et al., 2019).

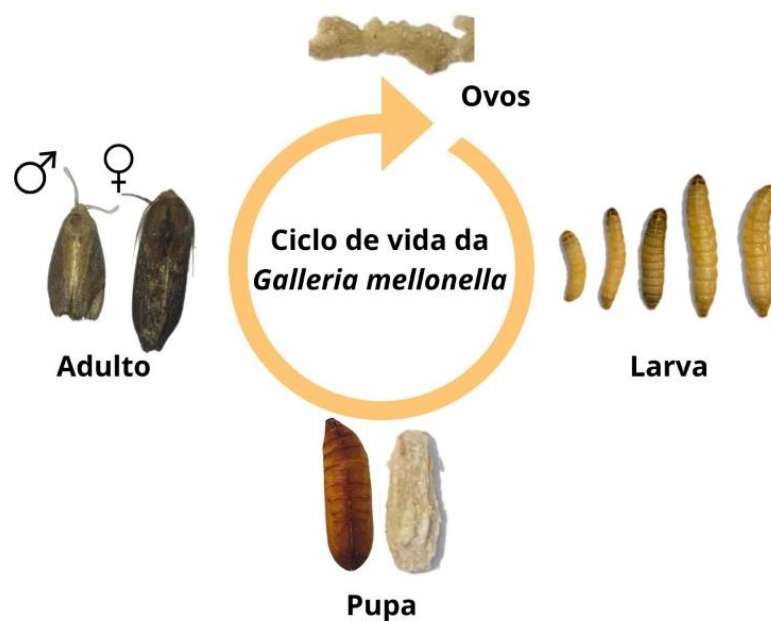


Figura 2: Ciclo de vida do inseto *Galleria mellonella*. O esquema mostra os estágios de ovos, larvas, pupa (envolta e não envolta por casulo de seda) e o estágio adulto de mariposa (macho e fêmea). Fonte: Grupo de Pesquisa Bacteriologia & Modelos Experimentais Alternativos - UFCSPA.

Este inseto possui resposta imune do tipo inata, formada por: (i) barreiras físicas e químicas que o protegem do ambiente externo, como por exemplo a cutícula, composta principalmente por quitina (HADJ SAADOUN et al., 2022), (ii) resposta humoral, composta por enzimas líticas, peptídeos antimicrobianos, opsoninas e melanina, e (iii) resposta celular, formada por hemócitos com ação fagocítica (HADJ SAADOUN et al.,

2022; TREVIJANO-CONTADOR; ZARAGOZA, 2019). Recentemente, o peptídeo Kazal Pr13a foi purificado e caracterizado pelas suas propriedades antimicrobianas contra *Pseudomonas entomophila* e *Bacillus thuringiensis*. Além disso, foi encontrado em maior quantidade em larvas de *G. mellonella* estimuladas por *P. entomophila* (SULEK et al., 2024). Dezoito peptídeos da hemolinfa foram purificados e caracterizados após *G. mellonella* ser desafiada com as bactérias *Micrococcus luteus* e *Escherichia coli* (BROWN et al., 2009). Os peptídeos diferiram consideravelmente nas sequências de aminoácidos, valores de pontos isoelétricos e espectro de atividade antimicrobiana. Em um estudo onde *G. mellonella* foi desafiada por *E. coli*, o peptídeo Gm defensina-like (*Galleria mellonella* defensina-like) apresentou melhor resposta antimicrobiana (CYTRYŃSKA et al., 2007). A apolipoforina-III (apoLp-III) é uma proteína identificada na hemolinfa da *G. mellonella*, que atua como opsonina e foi responsável pelo aumento da lise bacteriana (HALWANI; DUNPHY, 1999). As apolipoforinas são descritas como moléculas de sinalização que respondem de maneira dependente à exposição de patógenos nas etapas iniciais da resposta imune (STAŹCZEK et al., 2018). Além disso, apoLp-III e o peptídeo Gm defensina-like exibiram atividade contra *Legionella dumoffii* em *G. mellonella* imunologicamente desafiadas, e a apoLp-III atuou também contra *Legionella pneumophila* (PALUSIŃSKA-SZYSZ et al., 2012; ZDYBICKA-BARABASA et al., 2014). A lisozima desse inseto também é capaz inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas e a atividade contra bactérias Gram-negativas aumentou consideravelmente na presença do peptídeo de defesa aniônico GMAP2 (ZDYBICKA-BARABAS et al., 2012).

Alguns insetos podem apresentar um processo denominado *priming* imunológico, que ocorre quando há introdução de microrganismos mortos ou de uma dose subletal de patógeno vivo no hospedeiro, ativando a resposta imune e conferindo um efeito protetor contra um novo desafio, permitindo assim que eles resistam a infecções que seriam potencialmente fatais (COOPER; ELEFThERIANOS, 2017; SHEEHAN; FARRELL; KAVANAGH, 2020; WU et al., 2014). Esse processo é mediado pelo aumento de componentes das respostas imunes celular e humoral, entre eles estão os hemócitos circulantes e peptídeos antimicrobianos (SHEEHAN; FARRELL; KAVANAGH, 2020). Apesar do *priming* imunológico ser observado em muitos invertebrados, o mecanismo envolvido ainda não é totalmente compreendido (SHEEHAN; FARRELL; KAVANAGH, 2020; WU et al., 2014). Wu e colaboradores (2014) demonstraram em seu estudo que larvas de *G. mellonella* desafiadas com antígenos bacterianos de

Photorhabdus luminescens e *Bacillus thuringiensis* apresentaram proteção aumentada em uma infecção subsequente, prolongando a sobrevivência das larvas (WU et al., 2014). A fim de investigar o *priming* imunológico transgeracional, Freitak e colaboradores (2014) suplementaram a alimentação de larvas de *G. mellonella* com uma mistura de *E. coli* e *M. luteus*, *Pseudomonas entomophila* ou *Serratia entomophila*. Os autores observaram que houve translocação de bactérias ingeridas (inteiras ou fragmentos) do lúmen intestinal para a hemocele, cavidade onde se encontra a hemolinfa, e então deposição nos ovos, podendo justificar os efeitos da resposta imune transgeracional específica dependente de espécies bacterianas observados na imunidade da prole (FREITAK et al., 2014). Em 2022 foi demonstrado que a intensidade do *priming* imunológico está correlacionada com os níveis de peptídeos antimicrobianos e a capacidade de fagocitose dos hemócitos. Larvas de *G. mellonella* foram expostas à dose subletal de *B. thuringiensis*, e 72 horas depois foi observado aumento da resistência das larvas a uma dose letal, acompanhada do aumento da capacidade de fagocitose de hemócitos e da expressão de peptídeos antimicrobianos e proteínas relacionadas ao sistema imunológico (WU et al., 2022).

Importantemente, após a oviposição, os ovos do inseto *G. mellonella* ficam expostos em média três dias no ambiente em temperaturas mais alta (29 a 35 °C) e por até trinta dias em temperaturas menores (18 °C) (WILLIAMS, 1997), estando ameaçados por patógenos. Ainda não é conhecida a forma pela qual os ovos de *G. mellonella* são protegidos de microrganismos, no entanto a literatura aponta que ovos de insetos sejam recobertos por uma serosa que confere resposta antibacteriana de amplo espectro, como reportado para o besouro *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (JACOBS; SPAINK; VAN DER ZEE, 2014). Ainda há a descrição da presença de peptídeo antimicrobiano nos ovos do besouro *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) (DUBUFFET et al., 2015). Além disso, foi observado atividade antibacteriana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas na ooteca de um louva-a-deus pigmeu egípcio, o *Miomantis paykullii* (Mantodea: Mantidae), e identificados 48 compostos provenientes da ooteca do mesmo inseto (MOHAMED, 2021). Quitina e quitosana, extraídas dos ovos e pupas do bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae), mostraram ação antibacteriana principalmente contra *E. coli*, sendo que a quitosana de pupas mostrou taxa de atividade semelhante à quitosana comercialmente disponível e melhor do que a quitosana da casca do ovo (BATTAMPARA et al., 2020).

Os ovos de *G. mellonella* variam de forma esferoidal a elipsoide, ovoide ou obovoide, com diâmetro máximo de $0,70 \pm 0,05$ mm e mínimo de $0,55 \pm 0,03$ mm

(ABIDALLA, 2018). As trocas gasosas podem ocorrer em toda a superfície do ovo, mas se dão principalmente em orifícios conhecidos como aerópilas (Figura 3A e B) (BARBIER; CHAUVIN, 1974). Cada ovo possui de 150-200 aerópilas, com abertura medindo $1,6 \pm 0,6 \mu\text{m}$ (Figura 3A e B). Elas estão em toda a superfície do ovo, mas o polo anterior apresenta um número menor. Os lepidópteros apresentam uma camada externa ao ovo que é denominada córion, composto predominantemente por proteínas ricas em cisteína, favorecendo ligações cruzadas de pontes dissulfeto entre proteínas fibrilares. À medida que a larva emerge do ovo, ela é capaz de mastigar e ingerir grande parte do córion como sua primeira refeição (KRISTENSEN, 2003; TELFER EMERITUS, 2009).

Após a oviposição, o córion dos ovos de *G. mellonella* é macio, frágil e fino, tendo espessura de $3,5 \mu\text{m}$ (Figura 3C), e é coberto por secreções das glândulas acessórias femininas, as quais são compostas por uma substância mucosa que tem a função de proteger os ovos externamente (ABIDALLA, 2018; BARBIER; CHAUVIN, 1974; KRISTENSEN, 2003). Na extremidade anterior do ovo (Figura 3F), está a pétala da roseta micropilar (Figura 3D) (ABIDALLA, 2018), uma série de impressões semelhantes a pétalas e que vão gradualmente mudando para uma estrutura com formas pentagonais a hexagonais (Figura 3A), que se tornam a escultura principal do ovo (KRISTENSEN, 2003). A micrópila, um orifício que comunica o meio externo ao oócito (gameta feminino), localiza-se próximo da roseta micropilar (Figura 3D) (KRISTENSEN, 2003). Logo abaixo do córion, está localizado o envelope vitelino interno, que é fino, granular e poroso (KRISTENSEN, 2003; TELFER EMERITUS, 2009). Internamente, os ovos apresentam uma massa homogênea de gema granular (Figura 3E). A camada de citoplasma abaixo do córion e do envelope vitelino é o periplasma (PR), seguido pela zona de transição da gema (TZ), que compreende a região entre o periplasma e a gema (YK). O ooplasma central (CO) é o citoplasma do ovo que contém a gema, a reserva nutricional (ABIDALLA, 2018) (Figura 3E). A gema consiste em grandes vesículas cheias de proteínas intercaladas com gotículas lipídicas menores e partículas de glicogênio (TELFER EMERITUS, 2009). A vitelogenina é uma glicolipofosfoproteína, precursora das proteínas da gema e considerada uma reserva energética para os embriões, e que apresenta importante papel na resposta imune inata (ZHANG et al., 2011). Vitelogenina de *B. mori* foi isolada e purificada e mostrou forte atividade antibacteriana contra a bactéria *E. coli* e *Bacillus subtilis* (SINGH et al., 2013). Adicionalmente, evidências apontam que o *priming* imunológico transgeracional em insetos pode se dar

pela transferência materna de bactérias ou fragmentos bacterianos da hemocele para os ovos em desenvolvimento, juntamente com a captação de lipoforinas e vitelogeninas durante a oogênese (FREITAK et al., 2014; VILCINSKAS, 2021).

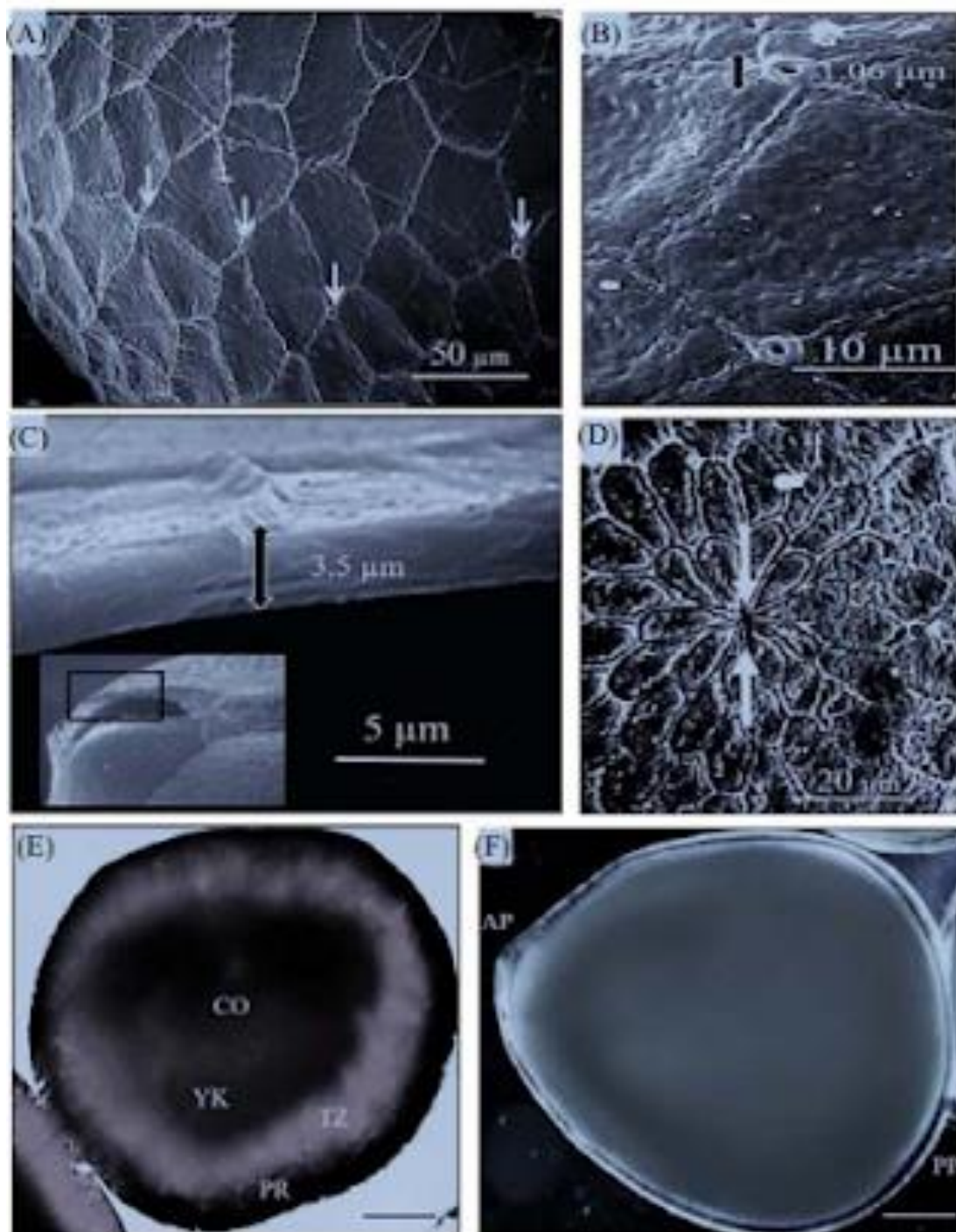


Figura 3: Micrografias da superfície externa (A-D) e da parte interna (E-F) dos ovos de *G. mellonella*: A) estrutura com formas pentagonais a hexagonais, onde observa-se as aerópilas (setas); B) abertura das aerópilas; C) Corte do córion mostrando a espessura; D) Polo anterior do ovo, mostrando a micrópila (setas); E) Micrografia de microscopia de contraste de interferência diferencial da estrutura interna dos ovos após a oviposição, mostrando as diferentes zonas do ooplasma (PR: Periplasma, TZ: Zona de transição, YK:

Deutoplasma, CO: Ooplasma central); F) Ovo logo após a oviposição (pp: polo posterior do ovo, ap: polo anterior do ovo). Barras de escala nas imagens - A: 50 μm , B: 10 μm , C: 5 μm , D: 20 μm , E e F: 100 μm . (Imagem de Abidalla, 2018).

Larvas de lepidópteros possuem um par de glândulas salivares, também conhecidas como “glândulas de seda”, pois produzem e excretam a seda, um polímero proteico gelatinoso que se solidifica em contato com o ar. A produção ocorre durante toda a fase larval, sendo intensificada no estágio prévio à formação de pupa quando as larvas ficam envoltas em um casulo de seda. A seda é produzida por *G. mellonella* como forma de defesa tanto para larvas, por moverem-se através de “tubos de seda” sem atrair a atenção das abelhas, quanto para as pupas, que em estado de latência metabólica e imóveis, protegem-se em casulos de ataques de microrganismos e abelhas.

A seda é composta por proteínas estruturais, tais como as fibroínas e as sericinas, e por proteínas não estruturais, como as seroínas que possuem potencial antimicrobiano, bem como por outras proteínas com estruturas ou funções desconhecidas (KLUDKIEWICZ et al., 2019; SEHNAL, 1990; ZUROVEC et al., 2013, 1998). Além disso, também apresenta inibidores de protease, enzimas, proteínas de ligação e transporte, proteínas de função desconhecida e pequenos componentes não proteicos, como carboidratos, ácidos orgânicos, ácidos graxos, aminoácidos, hidrocarbonetos, alcalóides, flavonóides e/ou carotenóides, que podem apresentar atividade antimicrobiana (DONG et al., 2013; DONG; XIA; ZHAO, 2023; KLUDKIEWICZ et al., 2019; ÖZÇELİK; KARTAL; ORHAN, 2011; ZHANG et al., 2017; ZUROVEC et al., 2013, 1998).

As fibroínas são proteínas insolúveis em água, produzidas na seção posterior das glândulas de seda, gerando fibroína de cadeia pesada (H-fibroína), fibroína de cadeia leve (L-fibroína) e proteína p25. As seções médias da glândula de seda armazenam as fibroínas e secretam várias sericinas, que são hidrofílicas, e vão envolver dois filamentos de fibroína em uma única fibra, funcionando como adesivo, permitindo assim a união das fibras e a formação do casulo (Figura 4) (KLUDKIEWICZ et al., 2019; ZUROVEC et al., 2013, 1998). Neste contexto, os genes relacionados à sericinas são expressos diferencialmente ao longo da vida de *G. mellonella*, sugerindo que distintas sericinas são secretadas para atender às necessidades específicas de cada estágio de desenvolvimento (ZUROVEC et al., 2013). As seções médias também produzem proteínas de baixo peso molecular, como seroínas e inibidores de proteases (KLUDKIEWICZ et al., 2019; ZUROVEC et al., 2013).

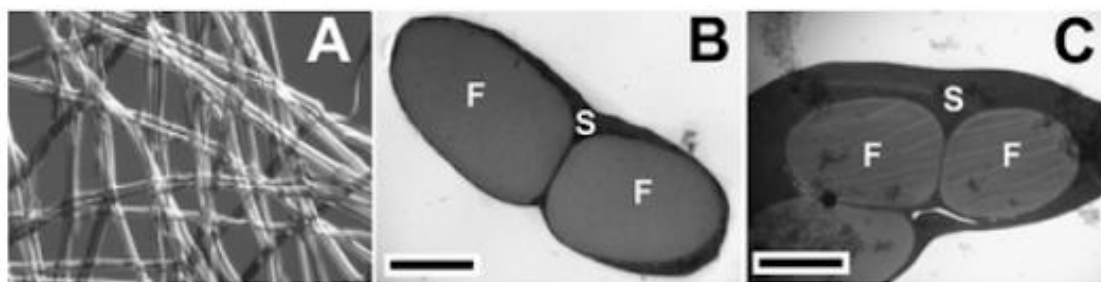


Figura 4. Estrutura do casulo: (A) Fotografia de uma pequena área do casulo de *G. mellonella*; onde é possível observar que um par de filamentos é selado em uma única fibra de seda ininterrupta (ampliação de 400×); (B) Seção transversal de uma fibra solta; (C) Seção transversal de uma interconexão de fibra vista no microscópio eletrônico de transmissão. (F = filamentos de proteínas de fibroína; S = proteínas de sericina; barra = 2 μm) (Imagem de Zurovec *et al.*, 2013).

Importantemente, o papel de proteínas da seda na imunidade do inseto e na proteção contra microrganismos têm sido relatadas (SHAIK *et al.*, 2020; SHAIK; SEHNAL, 2009). As seroínas do bicho-da-seda Eri (*Samia ricini*) demonstraram atividade antibacteriana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (SENAKOON *et al.*, 2009), sendo que em 2020 foi identificada atividade antibiofilme frente a *Streptococcus mutans* da sericina de *B. mori* (PORNANONG ARAMWIT *et al.*, 2020). A hemolina é uma proteína que atua como opsonina, auxiliando no combate de bactérias pelos hemócitos e também desempenha papel na morfogênese tecidual. A expressão do gene da hemolina nas glândulas da seda de *G. mellonella* foi induzida frente à inoculação de bactérias ou seus componentes da parede celular, indicando que as células da glândula da seda possuem receptores para o reconhecimento de antígenos bacterianos e vias de regulação da expressão do gene da hemolina (SHAIK; SEHNAL, 2009). Adicionalmente, a injeção de bactérias em larvas de *G. mellonella* provocou aumento, no cérebro do animal, da expressão do gene e do peptídeo sericotropina, um neuropeptídeo que estimula a produção de seda. A molécula apresentou efeito antibacteriano contra *Xenorhabdus* spp., desempenhando papel tanto de defesa quanto na imunidade do inseto (SHAIK *et al.*, 2020).

A Tabela 1 compila os relatos presentes na literatura sobre atividade antibacteriana e/ou antibiofilme de substâncias provenientes de distintos sítios corporais de *G. mellonella*.

Tabela 1: Componentes biológicos de *G. mellonella* e descrição de atividade antibacteriana e/ou antibiofilme de seus produtos.

Material biológico		Estudos sobre atividade antibacteriana e/ou antibiofilme	Molécula	Atividade antibacteriana e/ou antibiofilme	Cepas usada e faixa de atividade	Referência
Casulo de seda	Fibroína	Não	-	-	-	-
	Sericina	Não	-	-	-	-
	Seroínas	Não	-	-	-	-
Ovo	Serosa	Não	-	-	-	-
	Córion	Não	-	-	-	-
	Envelope vitelino	Não	-	-	-	-
	Periplasma	Não	-	-	-	-
	Gema	Não	-	-	-	-
	Ooplasma central	Não	-	-	-	-
Hemolinfa	Peptídeos antimicrobianos	Sim	Kazal Pr13a	Antibacteriana	<i>P. entomophila</i> (CIM: 15 µM) <i>Bacillus thuringiensis</i> (CIM: 7,5 µM)	(SULEK et al., 2024)
			Peptídeo 2 rico em prolina Gm	Antibacteriana	<i>P. entomophila</i>	(KORDACZUK et al., 2023)
				-	<i>Micrococcus luteus</i>	(CYTRYŃSKA et al., 2007)
			Peptídeo 1 rico em prolina Gm	Antibacteriana	<i>Micrococcus luteus</i> (CIM: 55 µM)	(CYTRYŃSKA et al., 2007)
			Peptídeo tipo defensina Gm	Antibacteriana	<i>Sarcina lutea</i> (CIM: 1,9 µM)	
			Gm peptídeo aniônico 1	Antibacteriana	<i>Listeria monocytogenes</i> (CIM: 90,9 µM) <i>Micrococcus luteus</i> (CIM: 22,7 µM)	
			Gm peptídeo aniônico 2	Antibacteriana	<i>Micrococcus luteus</i> (CIM: 86,6 µM)	
				-	<i>Sarcina lutea</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	

			Peptídeo Gm cecropina D-like	Antibacteriana	<i>E. coli</i> D31 (CIM: 8,6 µM)	(PALUSIŃSKA-SZYSZ et al., 2012)
				-	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Sarcina lutea</i>	
			Gm apolipoforina	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	
			<i>Galleria</i> defensina	Antibacteriana	<i>Legionella dumoffii</i> ATCC 33279 (40 µg/mL moderadamente sensível)	(ZDYBICKA-BARABAS et al., 2012)
			Peptídeo de defesa aniônico (GMAP2)	-	<i>Bacillus circulans</i> ATCC 61 <i>Corynebacterium avis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240 <i>Rhodococcus aqu</i> <i>Sarcina lutea</i> <i>S. aureus</i> ATCC 25922 <i>E. coli</i> D31 <i>E. coli</i> JM83 <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> H3 <i>Salmonella typhimurium</i> LT2 <i>Sinorhizobium meliloti</i>	
			Cecropina A	Antibacteriana	<i>Escherichia coli</i> MDR-EAEC (CIM 2,0 mg/L)	(VERGIS et al., 2021)
	Enzimas líticas	Sim	Lisozima	Antibacteriana	<i>Bacillus circulans</i> ATCC 61 (0,015 µM) <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240 (0,015 µM) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922 (0,015 µM)	(ZDYBICKA-BARABAS et al., 2012)
				-	<i>E. coli</i> D31 <i>E. coli</i> JM83 <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Salmonella typhimurium</i> LT2	
				Antibacteriana	<i>P. entomophila</i>	(KORDACZUK et al., 2023)
	Opsoninas	Não	Apolipoforina-I	-	-	-
			Apolipoforina-II	-	-	-

		Sim	Apolipoforina-III	Antibacteriana	<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152 (1,6 mg/mL)	(ZDYBICKA-BARABASA et al., 2014)
				Antibacteriana	<i>Legionella dumoffii</i> ATCC 33279 (0,8 mg/mL - atividade bactericida - 25% das bactérias sobreviveram)	(PALUSIŃSKA-SZYSZ et al., 2012)
		Não	Hemolina	-	-	-

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho visa investigar a atividade antibacteriana e antibiofilme de extratos dos ovos e casulos de seda de *G. mellonella*, provenientes de larvas expostas ou não a antígenos bacterianos, frente a cepas bacterianas multirresistentes, contribuindo no desenvolvimento de novos agentes anti-infectivos e no entendimento de como *G. mellonella* se protege de infecções.

2.2 Objetivos específicos

- Investigar se a exposição de larvas a antígenos bacterianos causa alterações na ontogenia de *G. mellonella*;
- Avaliar se os ovos provenientes de larvas desafiadas com antígenos bacterianos apresentam modificações químicas e morfológicas em relação aos provenientes de larvas não desafiadas (controle);
- Avaliar a ação antibacteriana e antibiofilme de extratos obtidos a partir de ovos de *G. mellonella* contra as cepas padronizadas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* multirresistentes, bem como verificar se a exposição das larvas aos antígenos afeta a atividade anti-infectiva dos extratos de ovos.
- Avaliar a ação antibacteriana e antibiofilme de extratos obtidos a partir de casulos saudáveis de *G. mellonella* contra as cepas padronizadas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* multirresistentes;

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos durante o desenvolvimento desta dissertação estão divididos em dois capítulos, estruturados na forma de artigo científico para publicação em revistas de impacto internacional.

O capítulo 1 trata sobre o efeito da exposição de larvas do inseto *G. mellonella* à antígenos de bactérias multirresistentes quanto à (i) atividade antibacteriana e antibiofilme de extratos dos ovos do inseto frente a bactérias elencadas como prioritárias pela OMS; (ii) ontogenia do inseto, (iii) morfologia e composição química dos ovos. Além disso, determina o perfil químico de compostos voláteis presentes nos ovos deste inseto.

O capítulo 2 aborda sobre a avaliação da atividade antibacteriana e antibiofilme de extratos de casulos de seda frente a bactérias elencadas como prioritárias pela OMS. Além disso, investiga características morfológicas dos casulos e identifica os compostos voláteis presentes nos casulos deste inseto.

Para a realização das atividades biológicas deste trabalho, foi realizada previamente a avaliação de cinco meios de cultura visando a formação de biofilme e crescimento bacteriano *in vitro* de cinco cepas bacterianas padronizadas. Estes resultados encontram-se disponíveis no Anexo I.

Adicionalmente, contribui com a realização de experimentos de avaliação de toxicidade de compostos em larvas de *G. mellonella* em dois trabalhos de colaboração com a UFPel (Anexo II) e a UFRGS (Anexo III).

4. DISCUSSÃO GERAL

O foco especial em produtos naturais como moléculas protótipo para o planejamento de novos agentes anti-infectivos, deriva do fato de que (i) compostos naturais com propriedades anti-infectivas representam cerca de 48% das entidades farmacêuticas reconhecidas pelo órgão americano FDA e (ii) pela enorme diversidade estrutural de substâncias sintetizadas por organismos vivos, muitas produzidas como defesa química contra microrganismos do ambiente (NEWMAN; CRAGG, 2020). Dessa forma, os capítulos 1 e 2 deste trabalho evidenciam a importância de ovos e casulos do inseto *G. mellonella* como fontes de extratos e/ou compostos bioativos com ação antibacteriana e/ou antibiofilme frente a bactérias multirresistentes, uma das principais preocupações mundial na área da saúde.

No capítulo 1 é demonstrado o notável incremento na espessura da camada mucosa dos ovos de *G. mellonella* provenientes de larvas desafiadas com antígenos de bactérias multirresistentes, especialmente no grupo exposto aos antígenos de bactérias Gram-negativas. Essa alteração indica um provável aumento de proteção da prole contra microrganismos, o qual foi transmitido da mariposa fêmea para os ovos, visto que a camada mucosa é depositada pela fêmea no momento da oviposição (ABIDALLA, 2018; BARBIER; CHAUVIN, 1974). A atividade antibacteriana e antibiofilme foi testada *in vitro* com extratos provenientes de ovos na concentração de 1000 e de 350 µg/mL. Os extratos EE2 foram avaliados somente na menor concentração em razão do menor rendimento. Foram obtidos ótimos resultados de inibição de crescimento bacteriano e/ou de formação de biofilme frente a *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* multirresistentes. Na maior concentração testada, EE1, o extrato aquoso total dos ovos, apresentou maior atividade antibacteriana e antibiofilme quando comparado a EE3, o extrato aquoso dos ovos sem mucosa. Já na concentração de 350 µg/mL, EE1 e EE2, o extrato hexânico dos ovos - mucosa-, apresentaram maior atividade em comparação aos EE3, o que evidencia a importância da camada mucosa na atividade anti-infectiva.

Insetos, incluindo *G. mellonella*, apresentam resposta imune do tipo inata (HADJ SAADOUN et al., 2022; KAVANAGH; REEVES, 2004; KAZEK et al., 2019; RAMARAO; NIELSEN-LEROUX; LERECLUS, 2012), e apesar de não possuir um sistema de resposta imune humoral, tem sido relado um processo de memória imunológica denominado *priming* imunológico. Esse processo permite que *G. mellonella* tolere futuras exposições a patógenos que sem exposição prévia, seriam letais

(COOPER; ELEFThERIANOS, 2017; SHEEHAN; FARRELL; KAVANAGH, 2020; WU et al., 2014). Em insetos, tais características podem ser transmitidas para a próxima geração (COOPER; ELEFThERIANOS, 2017; FREITAK et al., 2014; MORET, 2006). Neste trabalho, nós podemos observar que os extratos de ovos obtidos de grupos de larvas desafiadas com antígenos bacterianos mostraram melhor desempenho como agentes antibacterianos e/ou antibiofilme tanto para *S. aureus*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, principalmente o grupo Gram-positivo, demonstrando que a proteção conferida não é espécie-dependente. Em um estudo, larvas de *G. mellonella* foram expostas a *S. aureus* ou *Candida albicans* mortas pelo calor, e as larvas expostas a bactérias apresentaram resistência a infecções subsequentes causadas por bactérias ou fungos (SHEEHAN et al., 2021).

Este estudo é pioneiro na identificação de compostos presentes em ovos de *G. mellonella*. Foram identificados 14 compostos provenientes do EE1, 16 compostos do EE2 e 9 do EE3. Desses, a literatura reportou que três possuem atividade antibacteriana, a saber: o ácido hexadecanóico, o éster etílico e o octadecanal, os quais estão presentes nos extratos EE1 e EE2, e o bis(2-etilhexil) ftalato, presente em EE1 (GARBA; SHOGE M; SALIHU L, 2016; GOHAR; EL-NAGGAR; BARAKAT, 2010), corroborando com os resultados obtidos nos testes de atividade biológica *in vitro*, que demonstraram melhor desempenho dos extratos EE1 e EE2 quando comparado ao EE3.

O capítulo 2 dedica-se às características morfológicas, químicas e atividade biológica dos casulos de seda de *G. mellonella*. Decidiu-se por estudar somente os casulos provenientes de larvas saudáveis uma vez que os desafios foram realizados em animais que estavam no último instar larval, ou seja, em um pequeno intervalo de tempo as larvas iniciavam a metamorfose, entrando no estágio de pupa, não sendo possível coletar casulos.

Foi realizada extração orgânica e aquosa dos casulos, e foi determinado, de forma pioneira, o perfil químico de compostos voláteis de casulos de *G. mellonella* por CG-MS. Foram identificados 43 compostos, dos quais a literatura aponta 17 compostos com atividade antibacteriana e/ou antibiofilme, a saber: nonanal, ácido n-hexadecanóico, octadecanal, 2,4-decadienal, (E,E)-, ácido dodecanóico, ácido n-decanóico, ácido octanóico, ftalato de bis (2-etilhexila), ácido undecanóico, 1-tetradeceno, tetradecano, hexadecano, vanilina, ácido octadecenóico, pentadecanal, ácido pentadecanóico e ácido tetradecanóico (BISIGNANO et al., 2001; CAREV et al., 2023; CASILLO et al., 2017; GALDIERO et al., 2021; GARBA; SHOGE M; SALIHU L, 2016; GOHAR; EL-

NAGGAR; BARAKAT, 2010; HUANG et al., 2011; JIN et al., 2021; KHADKE et al., 2021; KIM et al., 2022; LIN et al., 2023a, 2023b; NARAGANI et al., 2016; SAHIN et al., 2006; SELVARAJ et al., 2021; VENUTI et al., 2022; ZHANG et al., 2019). É importante ressaltar que a maioria dos compostos identificados por GC-MS são de baixo peso molecular, portanto, substância como proteínas não foram avaliadas neste trabalho. Nesse sentido, mais análises, como cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução, são necessárias para elucidar a estrutura química das moléculas bioativas apresentadas nos extratos de casulos.

O ácido hexadecanóico, 1-tetradeceno, tetradecano, hexadecano e ácido octadecenóico estão presentes nos três extratos obtidos, CE1 (extrato aquoso total de casulos), CE2 (extrato hexânico seriado de casulos) e CE3 (extrato seriado aquoso de casulos), enquanto os demais compostos com atividade biológica aparecem apenas no CE2. Os extratos com melhor atividade contra bactérias multirresistentes foram CE1 seguido de CE3 e por fim CE2, evidenciando que compostos provenientes da extração aquosa são mais ativos. Uma vez que foram utilizados apenas casulos provenientes de animais saudáveis, confirma-se a presença de substâncias que os protegem de microrganismos mesmo sem haver exposição experimental à patógenos.

Este trabalho contribui para elucidação da composição química e constatou a atividade biológica de extratos provenientes de ovos e casulos de *G. mellonella* indicando que estes extratos são capazes de atuar contra microrganismos de importância clínica. Adicionalmente, forneceu informações para um melhor entendimento acerca da fisiologia e do processo de *priming* imunológico deste inseto. Ovos e casulos de *G. mellonella* podem ser considerados uma fonte alternativa de compostos bioativos para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos e antibiofilmes inovadores no setor farmacêutico e de novas terapias com impacto direto no sistema de saúde público, porém mais estudos são necessários para melhor entendimento da elucidação e aplicabilidade dessas descobertas na área microbiológica, bem como na saúde humana e animal. Importaneamente, uma vez que a terapia antivirulência visa atenuar a virulência bacteriana e não a viabilidade de patógenos, prevê-se uma pressão evolutiva mais suave para o surgimento de isolados resistentes e o aumento do repertório de alvos farmacológicos. Estas importantes características poderão refletir diretamente em menor morbimortalidade, menor troca de terapia, e redução nos custos financeiros dos sistemas de saúde.

5. CONCLUSÕES

- Os ovos provenientes de larvas desafiadas com antígenos bacterianos apresentam modificações químicas e morfológicas em relação aos provenientes de larvas não desafiadas (controle);
- Extratos obtidos a partir de ovos de *G. mellonella* apresentaram atividade antibacteriana e/ou antibiofilme contra as cepas padronizadas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* multirresistentes;
- EE1 e EE2 apresentaram os melhores desempenhos quando comparado ao EE3; indicando a importância dos compostos apolares na atividade anti-infectiva inata do animal;
- Extratos obtidos de larvas desafiadas com antígenos de bactérias Gram-positivas apresentaram melhor taxa de atividade antibacteriana e/ou antibiofilme quando comparada com os extratos obtidos de larvas controle e desafiadas com bactérias Gram-negativas frente a *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* multirresistentes, o que evidencia que a proteção antimicrobiana induzida não é espécie-específica;
- Extratos obtidos a partir de casulos saudáveis de *G. mellonella* apresentaram ação antibacteriana e/ou antibiofilme contra as cepas padronizadas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* multirresistentes, CE1 seguido de CE3 apresentaram as melhores atividades, indicando a importância dos compostos polares na atividade anti-infectiva inata do animal;
- Foi descrito pela primeira vez o perfil químico de compostos voláteis por CG-MS de casulos saudáveis e de ovos desafiados e saudáveis de *G. mellonella*;
- Tanto ovos quanto casulos de larvas de *G. mellonella* representam fonte de moléculas antibacterianas e antivirulência com ação sobre bactérias multirresistentes.

6. PERSPECTIVAS

As perspectivas para continuidade deste trabalho são:

- Fracionamento bioguiado dos extratos ativos para obtenção de molécula pura;
- Elucidação estrutural da(s) substância(s) ativa(s) pura(s);
- Ensaio de combinação para verificar o sinergismo entre a(s) substância(s) ativa(s) isolada(s) e antibacterianos clássicos;
- Publicação dos artigos originais (Capítulo I e II).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIDALLA, M. Morphogenesis of early embryonic development in the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Entomology**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2018.
- BARBIER, R.; CHAUVIN, G. Ultrastructure et rôle des aéropyles et des enveloppes de l'œuf de *Galleria mellonella*. **J. Insect Physiol**, v. 20, p. 809–820, 1974.
- BATTAMPARA, P. et al. Properties of chitin and chitosan extracted from silkworm pupae and egg shells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 1296–1304, 15 out. 2020.
- BISIGNANO, G. et al. In vitro antibacterial activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. **FEMS Microbiology Letters**, v. 198, n. 1, p. 9–13, abr. 2001.
- BROWN, S. E. et al. A peptidomics study reveals the impressive antimicrobial peptide arsenal of the wax moth *Galleria mellonella*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, n. 11, p. 792–800, nov. 2009.
- CAREV, I. et al. *Centaurea triumfettii* essential oil chemical composition, comparative analysis, and antimicrobial activity of selected compounds. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 7475, 8 maio 2023.
- CASILLO, A. et al. Anti-biofilm activity of a long-chain fatty aldehyde from antarctic *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC125 against *Staphylococcus epidermidis* Biofilm. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. FEB, 23 fev. 2017.
- CIOFU, O. et al. Tolerance and resistance of microbial biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 10, p. 621–635, 3 out. 2022.
- COOPER, D.; ELEFThERIANOS, I. Memory and specificity in the insect immune system: Current perspectives and future challenges. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. MAY, 9 maio 2017.
- CYTRYŃSKA, M. et al. Purification and characterization of eight peptides from *Galleria mellonella* immune hemolymph. **Peptides**, v. 28, n. 3, p. 533–546, mar. 2007.
- DESAI, A. V et al. Biology of greater wax moth, *Galleria mellonella* l. On artificial diet. **J. Exp. Zool. India**, v. 22, n. 2, p. 1267–1272, 2019.
- DONG, Z. et al. Comparative proteomics reveal diverse functions and dynamic changes of *Bombyx mori* silk proteins spun from different development stages. **Journal of Proteome Research**, v. 12, n. 11, p. 5213–5222, 1 nov. 2013.
- DONG, Z.; XIA, Q.; ZHAO, P. Antimicrobial components in the cocoon silk of silkworm, *Bombyx mori*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 224, p. 68–78, 1 jan. 2023.
- DUBUFFET, A. et al. Trans-generational immune priming protects the eggs only against gram-positive bacteria in the mealworm beetle. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 10, 2015.
- ELLIS, J. D.; GRAHAM, J. R.; MORTENSEN, A. Standard methods for wax moth research. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 1, p. 1–17, 2 jan. 2013.
- FLEMMING, H.-C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 623–633, 2 set. 2010.
- FREITAK, D. et al. The maternal transfer of bacteria can mediate trans-generational immune priming in insects. **Virulence**, v. 5, n. 4, p. 547–554, 15 maio 2014.
- GALDIERO, E. et al. Pentadecanoic acid against *Candida albicans*-*Klebsiella pneumoniae* biofilm: Towards the development of an anti-biofilm coating to prevent

polymicrobial infections. **Research in Microbiology**, v. 172, n. 7–8, p. 103880, 1 nov. 2021.

GARBA, S.; SHOGE M; SALIHU L. Antimicrobial activity of n-octadecanal isolated from the seeds and pods of *Acacia nilotica* Linn. **Bima Journal of Science and Technology**, v. 1, n. 1, 2016.

GOHAR, Y. M.; EL-NAGGAR, M.; BARAKAT, K. Characterization of marine *Burkholderia cepacia* antibacterial agents. **Article in Journal of Natural Products**, v. 3, 2010.

HADJ SAADOUN, J. et al. A critical review of intrinsic and extrinsic antimicrobial properties of insects. **Trends in Food Science and Technology**, v. 122, p. 40–48, 1 abr. 2022.

HALWANI, A. E.; DUNPHY, G. B. Apolipophorin-III in *Galleria mellonella* potentiates hemolymph lytic activity. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 23, p. 563–570, 1999.

HUANG, C. B. et al. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 7, p. 650–654, jul. 2011.

JACOBS, C. G. C.; SPAINK, H. P.; VAN DER ZEE, M. The extraembryonic serosa is a frontier epithelium providing the insect egg with a full-range innate immune response. **eLife**, v. 3, 2014.

JIN, X. et al. Undecanoic acid, lauric acid, and n-tridecanoic acid inhibit *Escherichia coli* persistence and biofilm formation. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 1, p. 130–136, 28 jan. 2021.

KAVANAGH, K.; REEVES, E. P. Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 28, n. 1, p. 101–112, fev. 2004.

KAZEK, M. et al. Diet influences the bacterial and free fatty acid profiles of the cuticle of *Galleria mellonella* larvae. **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0211697, 7 fev. 2019.

KHADKE, S. K. et al. Assessment of antibiofilm potencies of nervonic and oleic acid against *Acinetobacter baumannii* using in vitro and computational approaches. **Biomedicines**, v. 9, n. 9, p. 1133, 1 set. 2021.

KIM, Y. et al. Inhibition of polymicrobial biofilm formation by saw palmetto oil, lauric acid and myristic acid. **Microbial Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 590–602, 22 fev. 2022.

KLUDKIEWICZ, B. et al. The expansion of genes encoding soluble silk components in the greater wax moth, *Galleria mellonella*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 106, p. 28–38, 1 mar. 2019.

KOO, H.; YAMADA, K. M. Dynamic cell–matrix interactions modulate microbial biofilm and tissue 3D microenvironments. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 42, p. 102–112, 1 out. 2016.

KORDACZUK, J. et al. Defence response of *Galleria mellonella* larvae to oral and intrahemocelic infection with *Pseudomonas entomophila*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 147, p. 104749, 1 out. 2023.

KRISTENSEN, N. P. **Handbuch der zoologie handbook of zoology band/volume IV Arthropoda: Insecta lepidoptera, moths and butterflies** de Gruyter. v. 2

KWADHA, C. A. et al. The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. **Insects**, v. 8, n. 2, p. 61, 9 jun. 2017.

LIN, W. et al. Inhibitory effect of vanillin on *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* of kiwifruit surface and its effect on the quality of fruits. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 7, 1 set. 2023a.

LIN, W.-C. et al. Octanoic acid promotes clearance of antibiotic-tolerant cells and eradicates biofilms of *Staphylococcus aureus* isolated from recurrent bovine mastitis. **Biofilm**, v. 6, p. 100149, 15 dez. 2023b.

LIU, X. et al. Biofilm formation and control of foodborne pathogenic bacteria. **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2432, 7 mar. 2023.

MOHAMED, N. GC-MS analysis and antimicrobial effect of ootheca of the egyptian pygmy mantis, *Miomantis paykullii* (Order: Mantodea). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology**, v. 13, n. 1, p. 123–132, 19 abr. 2021.

MORELO, N.; SILVA TRENTIN, D. *Galleria mellonella*: um hospedeiro experimental alternativo para estudos de infecções por bactérias gram-positivas. **Revista Liberato**, v. 17, n. 28, p. 217–250, 2016.

MORET, Y. ‘Trans-generational immune priming’: specific enhancement of the antimicrobial immune response in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 273, n. 1592, p. 1399–1405, 7 jun. 2006.

NARAGANI, K. et al. Antimicrobial potential of *Streptomyces cheonanensis* VUK-A from mangrove origin. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 3, 2016.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 27 mar. 2020.

O’NEILL, J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. 2014.

ÖZÇELİK, B.; KARTAL, M.; ORHAN, I. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, n. 4, p. 396–402, 11 abr. 2011.

PALUSIŃSKA-SZYSZ, M. et al. Anti-*Legionella dumoffii* activity of *Galleria mellonella* defensin and apolipophorin III. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 12, p. 17048–17064, 2012.

PINTO, H. B. et al. The antivirulence compound myricetin possesses remarkable synergistic effect with antibacterials upon multidrug resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, 1 dez. 2020.

PORNANONG ARAMWIT et al. Antibiofilm activity and cytotoxicity of silk sericin against *Streptococcus mutans* bacteria in biofilm: an in vitro study. **JOURNAL OF WOUND CARE**, v. 29, p. S25–S35, 4 abr. 2020.

POUDEL, A. N. et al. The economic burden of antibiotic resistance: A systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE**, v. 18, n. 5, p. e0285170, 8 maio 2023.

RAMARAO, N.; NIELSEN-LEROUX, C.; LERECLUS, D. The insect *Galleria mellonella* as a powerful infection model to investigate bacterial pathogenesis. **Journal of Visualized Experiments**, n. 70, 11 dez. 2012.

RASKO, D. A.; SPERANDIO, V. Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 2, p. 117–128, fev. 2010.

SAHIN, N. et al. Investigation of antimicrobial activities of nonanoic acid derivatives. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 15, 2006.

SEHNAL, F. Insect silk glands: Their types, development and function, and effects of environmental factors and morphogenetic hormones on them. **Int. J. Insect Morphol. & Embryol**, v. 19, n. 2, p. 79–132, 1990.

SELVARAJ, A. et al. *Sapindus mukorossi* Gaertn. and its bioactive metabolite oleic acid impedes methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation by down regulating adhesion genes expression. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126601, 1 jan. 2021.

SENAKOON, W. et al. Antibacterial action of Eri (*Samia ricini*) sericin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, p. 222–228, 2009.

SHAIK, H. A. et al. Responses of sericotropin to toxic and pathogenic challenges: Possible role in defense of the wax moth *Galleria mellonella*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 227, 1 jan. 2020.

SHAIK, H. A.; SEHNAL, F. Hemolin expression in the silk glands of *Galleria mellonella* in response to bacterial challenge and prior to cell disintegration. **Journal of Insect Physiology**, v. 55, n. 9, p. 781–787, set. 2009.

SHEEHAN, G. et al. Proteomic profiling of bacterial and fungal induced immune priming in *Galleria mellonella* larvae. **Journal of Insect Physiology**, v. 131, p. 104213, 1 maio 2021.

SHEEHAN, G.; FARRELL, G.; KAVANAGH, K. Immune priming: The secret weapon of the insect world. **Virulence**, v. 11, n. 1, p. 238–246, 31 dez. 2020.

SILVA, L. N. et al. Plant natural products targeting bacterial virulence factors. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 16, p. 9162–9236, 24 ago. 2016.

SILVA, L. N. et al. Myricetin protects *Galleria mellonella* against *Staphylococcus aureus* infection and inhibits multiple virulence factors. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–16, 2017.

SINGH, N. K. et al. Vitellogenin from the silkworm, *Bombyx mori*: An effective anti-bacterial agent. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, 13 set. 2013.

SINGKUM, P. et al. A powerful in vivo alternative model in scientific research: *Galleria mellonella*. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, v. 66, n. 1, p. 31–55, 28 fev. 2019.

STĄCZEK, S. et al. Studies on localization and protein ligands of *Galleria mellonella* apolipoprotein III during immune response against different pathogens. **Journal of Insect Physiology**, v. 105, p. 18–27, 1 fev. 2018.

SUŁEK, M. et al. Immune priming modulates *Galleria mellonella* and *Pseudomonas entomophila* interaction. Antimicrobial properties of Kazal peptide Pr13a. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 26 fev. 2024.

SY, C. L. et al. Recommendations and guidelines for the treatment of infections due to multidrug resistant organisms. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 55, n. 3, p. 359–386, 1 jun. 2022.

TACCONELLI, E. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318–327, 1 mar. 2018.

TELFER EMERITUS, W. H. Egg formation in Lepidoptera. **Telfer Journal of Insect Science** | www.insectscience.org, v. 9, 2009.

TRENTIN, D. D. S. et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 327–335, 1 set. 2011.

TRENTIN, D. S. et al. Tannins possessing bacteriostatic effect impair *Pseudomonas aeruginosa* adhesion and biofilm formation. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, 11 jun. 2013.

TRENTIN, D. S. et al. Natural green coating inhibits adhesion of clinically important bacteria. **Scientific Reports**, v. 5, 6 fev. 2015.

TREVIJANO-CONTADOR, N.; ZARAGOZA, O. Immune response of *Galleria mellonella* against human fungal pathogens. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 1, 1 mar. 2019.

VENUTI, I. et al. Antimicrobial activity evaluation of pure compounds obtained from *Pseudoalteromonas haloplanktis* against *Listeria monocytogenes*: Preliminary results. **Italian Journal of Food Safety**, v. 11, n. 2, 27 jun. 2022.

VERGIS, J. et al. Exploring *Galleria mellonella* larval model to evaluate antibacterial efficacy of Cecropin A (1-7)-Melittin against multi-drug resistant enteroaggregative *Escherichia coli*. **Pathogens and Disease**, v. 79, n. 3, 20 mar. 2021.

VIGNON, P. et al. New agents in development for sepsis: Any reason for hope? **Drugs**, v. 80, n. 17, p. 1751–1761, 1 nov. 2020.

VILCINSKAS, A. Mechanisms of transgenerational immune priming in insects. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 124, 1 nov. 2021.

WANG, Y.; BIAN, Z.; WANG, Y. Biofilm formation and inhibition mediated by bacterial quorum sensing. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 19–20, p. 6365–6381, 12 out. 2022.

WILLIAMS, J. L. Insects: Lepidoptera (moths). Em: MORSE, R. A.; FLOTTUM, K. (Eds.). **Honey bee pests, predators, and diseases**. 3. ed. Ohio, USA: A.I. Root Company, 1997. p. 110–112.

WOJDA, I. et al. The greater wax moth *Galleria mellonella*: Biology and use in immune studies. **Pathogens and Disease**, v. 78, n. 9, 23 nov. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **2019 Antibacterial agents in clinical development: An analysis of the antibacterial clinical development pipeline**. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **2021 Antibacterial agents in clinical and preclinical development: An overview and analysis**. 2022.

WU, G. et al. Priming *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae with heat-killed bacterial cells induced an enhanced immune protection against *Photobacterium luminescens* TT01 and the role of innate immunity in the process. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 2, p. 559–569, 1 abr. 2014.

WU, G. et al. Prior infection of *Galleria mellonella* with sublethal dose of Bt elicits immune priming responses but incurs metabolic changes. **Journal of Insect Physiology**, v. 139, p. 104401, 1 maio 2022.

YIN, W. et al. Biofilms: The microbial “protective clothing” in extreme environments. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 14, p. 3423, 12 jul. 2019.

ZDYBICKA-BARABAS, A. et al. Synergistic action of *Galleria mellonella* anionic peptide 2 and lysozyme against Gram-negative bacteria. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1818, n. 11, p. 2623–2635, nov. 2012.

ZDYBICKA-BARABASA, A. et al. *Galleria mellonella* apolipophorin III - an apolipoprotein with anti-*Legionella pneumophila* activity. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1838, n. 10, p. 2689–2697, 2014.

ZHANG, H. et al. Antimicrobial action of octanoic acid against *Escherichia coli* O157:H7 during washing of baby spinach and grape tomatoes. **Food Research International**, v. 125, p. 108523, 1 nov. 2019.

ZHANG, S. et al. Vitellogenin, a multivalent sensor and an antimicrobial effector. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 43, n. 3, p. 303–305, 2011.

ZHANG, Y. et al. Wild silkworm cocoon contains more metabolites than domestic silkworm cocoon to improve its protection. **Journal of Insect Science**, v. 17, n. 5, 1 set. 2017.

ZUROVEC, M. et al. Functional conservation and structural diversification of silk sericins in two moth species. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 6, p. 1859–1866, 10 jun. 2013.

ZUROVEC, M. Z. et al. Identification of a novel type of silk protein and regulation of its expression. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 25, p. 15423–15428, 19 jun. 1998.

ANEXO I

Avaliação de meios de cultura visando a formação de biofilme e crescimento bacteriano *in vitro* de cepas bacterianas padronizadas.

A fim de selecionar um meio de cultura que proporcionasse crescimento bacteriano e formação de biofilme para cada cepa bacteriana utilizada neste trabalho, foi realizada uma avaliação de distintos meios. Foi testado para *S. aureus* ATCC 700699 e *S. aureus* ATCC 43300 os meios de cultura: MH, BHI, TSB, BHI adicionado 2% de glicose e TSB acrescido 2% de glicose. Para *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 1705 e *K. pneumoniae* ATCC 700603 foram utilizados os meios MH, BHI e TSB.

A atividade antibacteriana foi avaliada pela técnica de microdiluição em caldo, utilizando placas de 96 poços estéreis (Costar Corning 3599, Estados Unidos). Foi utilizado em cada poço para (i) controle de esterilidade: 200 µL de meio de cultura; (ii) controle de crescimento: 4 µL de DMSO, 76 µL de água ultrapura estéril, 40 µL de meio de cultura e 80 µL de suspensão bacteriana e (iii) controle positivo: 80 µL da suspensão bacteriana, 80 µL de antibiótico e 40 µL de meio de cultura. As placas foram incubadas por 24h a 37°C. O crescimento bacteriano foi determinado com base na diferença entre a densidade óptica a 620 nm no final (24 h) e no início (0 h) do tempo de incubação. Como controle de crescimento e viabilidade bacteriana, as amostras foram substituídas pelo veículo (controle negativo), e antibacterianos (controle positivo - vancomicina para *S. aureus*, gentamicina para *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*) (TRENTIN et al., 2011, 2013).

A verificação da atividade anti formação de biofilme foi realizado pela técnica de cristal violeta e placas de 96 poços estéreis, as quais foram montadas conforme mencionado no item acima. Após o período de incubação (37°C, 24 h), o conteúdo dos poços foi removido e os poços foram lavados 3 vezes com 200 µL de solução salina 0,9% estéril para remover as células planctônicas. O biofilme foi fixado a 60°C por 60 min e corado com cristal violeta (200 µL) durante 15 min em temperatura ambiente. Após, os poços foram lavados com água e receberam 200 µL de etanol 99,5% para solubilizar o corante aderente durante 30 min. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro usando DO a 570 nm. O controle negativo foi considerado como 100% para formação de biofilme.

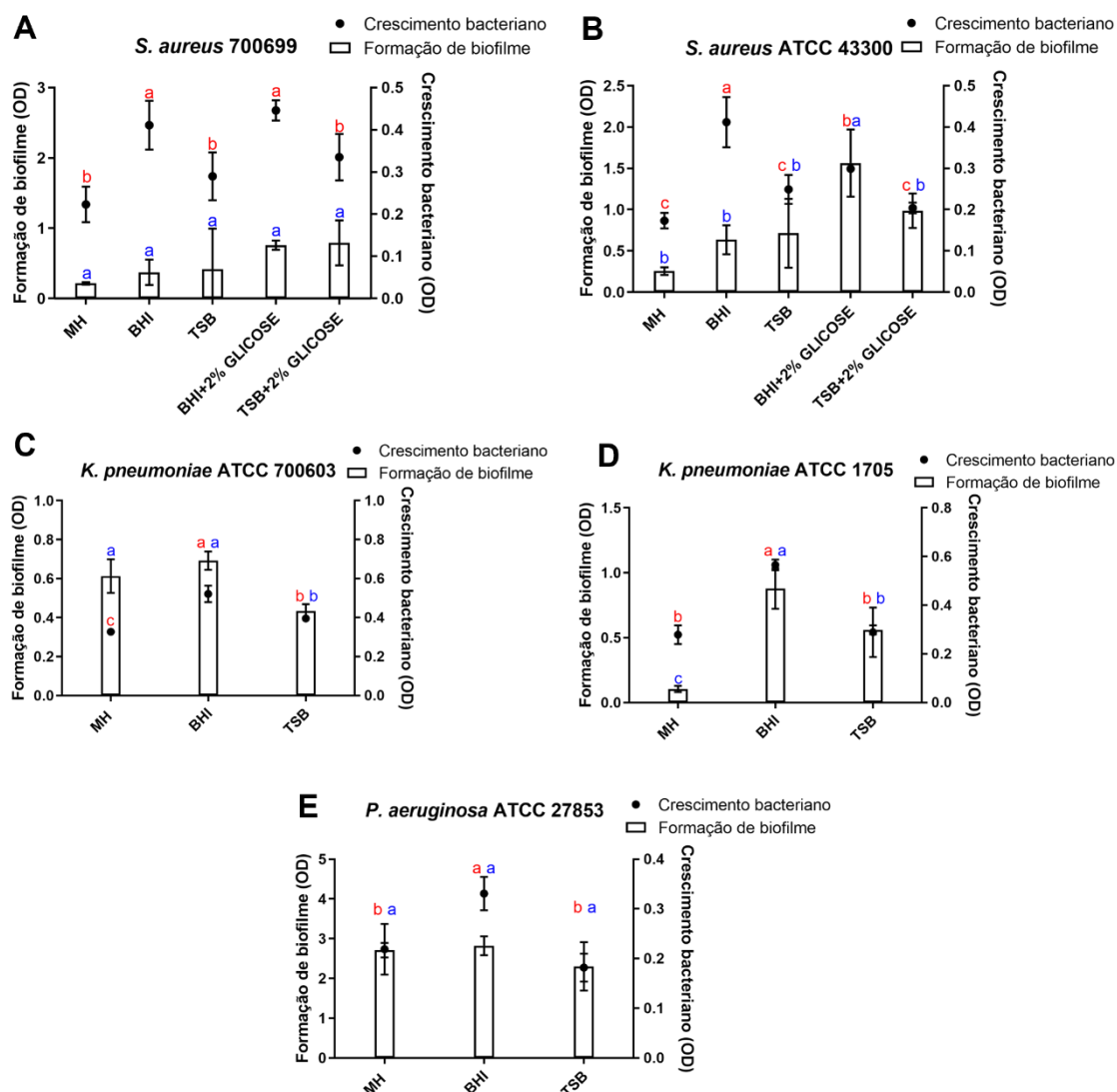


Figura 1. Avaliação de meios de cultura visando a formação de biofilme e crescimento bacteriano *in vitro* de cepas bacterianas padronizadas. Avaliação de meios de cultura para formação de biofilme e crescimento bacteriano de *S. aureus* ATCC 700699 (A); Avaliação para *S. aureus* ATCC 43300 (B); Avaliação para *K. pneumoniae* ATCC 700603 (C); Avaliação para *K. pneumoniae* ATCC 1705 (D); Avaliação para *P. aeruginosa* ATCC 27853 (E). Barras indicam formação de biofilme (OD); os círculos indicam crescimento bacteriano (OD); ANOVA Two-way: grupos representados com a mesma letra não há diferença estatística pelo Pós-Teste de Tukey (p -valor $<0,05$), onde a letra em vermelho e azul correspondem ao crescimento bacteriano e formação de biofilme, respectivamente.

Foram selecionados e utilizados no desenvolvimento deste trabalho (capítulo I e II) os seguintes meios de cultura:

- Para as duas cepas de *S. aureus* o meio escolhido foi BHI acrescido de 2% de glicose, fornecendo OD de 0,446 e 0,299 de crescimento bacteriano e OD de 0,758 e 1,563 de formação de biofilme para ATCC 700699 e ATCC 43300, respectivamente;

- Para *P. aeruginosa* foi utilizado TSB, propiciando OD de 0,182 de crescimento bacteriano e OD de 2,302 de formação de biofilme;

- Para as duas cepas de *K. pneumoniae* foi utilizado BHI, fornecendo OD de 0,521 e 0,566 de crescimento bacteriano e OD de 0,692 e 0,878 de formação de biofilme, respectivamente para *K. pneumoniae* ATCC 700603 e *K. pneumoniae* ATCC 1705.

ANEXO II

Colaboração em manuscrito a ser submetido para revista científica

Trabalho de colaboração com a Prof. Dr. Daiane Hartwig, referente à Tese de Doutorado da aluna Suzane Olachea Allend pela Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

1. Ensaio de toxicidade em *Galleria mellonella*

Metodologia

Os animais foram divididos em grupos de 10 larvas em estágio *instar* final com peso corporal entre 220 e 240 mg (peso média de 220 mg). A inoculação foi realizada na última *proleg*, por meio de seringa Hamilton de 10 µL (Sigma-Aldrich). O ensaio de toxicidade contou com grupo controle negativo onde as larvas receberam injeção de solução salina estéril 0,9%, grupo controle positivo, que receberam DMSO 99,5% e cinco grupos de substâncias teste: (i) Bio-AgNP (Nanopartícula de prata biogênica), (ii) meropenem, (iii) polimixina B, (iv) Bio-AgNP e meropenem e (v) Bio-AgNP e Polimixina B. Cada grupo foi colocado em placas de Petri a 37°C e observadas quanto à sobrevivência durante 120 horas. As larvas que não apresentaram estímulo ao toque foram consideradas mortas (SILVA et al., 2017). O experimento foi realizado com a concentração dos compostos teste de 80 mg/kg e 200 mg/kg. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Resultados

Nas duas concentrações testadas não houve toxicidade em larvas de *G. mellonella*, tendo 100% de sobrevivência (Tabela 1).

Tabela 1: Sobrevivência das larvas de *G. mellonella*.

N=3 (10 larvas por grupo/n)							
Porcentagem de sobrevivência (%)							
Concentração de composto 80 mg/kg e 200 mg/kg							
Tempo (h)	DMSO 99,5%	NaCl 0,9%	Bio-AgNP	Polimixina B	Bio-AgNP + Polimixina B	Meropenem	Bio-AgNP + Meropenem
0	100	100	100	100	100	100	100
24	0	100	100	100	100	100	100
48	0	100	100	100	100	100	100
72	0	100	100	100	100	100	100
96	0	100	100	100	100	100	100
120	0	100	100	100	100	100	100

Referência

SILVA, L. N. et al. Myricetin protects *Galleria mellonella* against *Staphylococcus aureus* infection and inhibits multiple virulence factors. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–16, 2017.

ANEXO III

Colaboração em manuscrito a ser submetido para revista científica

Trabalho de colaboração com o Prof. Dr. Saulo Fernandes da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS) referente ao Edital FAPERGS 06/2021 - Programa de Redes Inovadoras de Tecnologias Estratégicas do Rio Grande Do Sul – RITEs-RS.

1. Ensaio de toxicidade em *Galleria mellonella*

Metodologia

Os animais foram divididos em grupos de 10 larvas em estágio *ínstar* final com peso corporal entre 220 e 240 mg (peso médio de 220 mg). A inoculação foi realizada na última *proleg*, por meio de seringa Hamilton de 10 µL (Sigma-Aldrich). O ensaio de toxicidade contou com os seguintes grupos: (i) controle negativo, onde as larvas receberam injeção de veículo DMSO 8%; (ii) controle positivo, que receberam DMSO 99,5%; (iii) molécula sintética PH 265 (2,2 µg/g); (iv) molécula sintética PH 265 (70,4 µg/g); (v) molécula sintética PH 276 (8,8 µg/g). Cada grupo foi colocado em placas de Petri a 37°C e observadas quanto à sobrevivência durante 120 horas. As larvas que não apresentaram estímulo ao toque foram consideradas mortas (SILVA et al., 2017). Os ensaios foram realizados em triplicata.

Resultados

Nas duas concentrações testadas não houve toxicidade em larvas de *G. mellonella*, tendo 100% de sobrevivência (Tabela 1).

Tabela 1: Sobrevivência das larvas de *G. mellonella*.

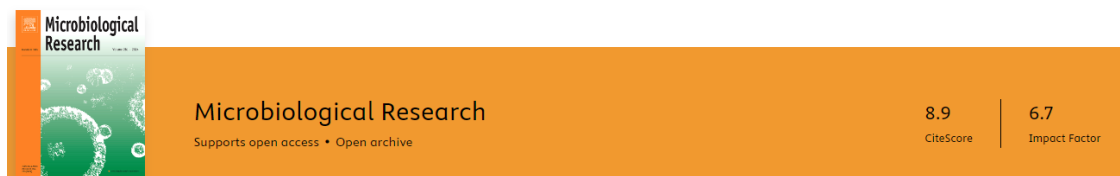
N=3 (10 larvas por grupo/n)					
Porcentagem de sobrevivência (%)					
Tempo (h)	DMSO 99,5%	Veículo DMSO 8%	PH 265 a 2,2 µg/g	PH 265 a 70,4 µg/g	PH 276 a 8,8 µg/g
0	100	100	100	100	100
24	0	100	100	100	100
48	0	100	100	100	100
72	0	100	100	100	100
96	0	100	100	100	100
120	0	100	100	100	100

Referência

SILVA, L. N. et al. Myricetin protects *Galleria mellonella* against *Staphylococcus aureus* infection and inhibits multiple virulence factors. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–16, 2017.

ANEXO IV

Guia dos autores – Periódico “Microbiological Research”



INTRODUCTION

Microbiological Research is devoted to publishing reports on prokaryotic and eukaryotic microorganisms such as yeasts, fungi, bacteria, archaea, and protozoa. Research on interactions between pathogenic microorganisms and their environment or hosts are also covered. The research should be original and include molecular aspects to generate a significant contribution of broad interest. Papers of very specialised or of preliminary and descriptive content will normally not be considered.

Studies in the following sections are included:

- Reviews/Minireviews on all aspects
- Microbiology and Genetics
- Molecular and Cell Biology
- Metabolism and Physiology
- Signal transduction and Development
- Biotechnology
- Phytopathology
- Environmental Microbiology and Ecology

Types of paper

Four types of peer-reviewed papers will be published:

- Research articles on reports on any aspects of microbiological research. Original articles should not exceed 8000 words in length. The word count is from the introduction through to the end of the conclusion/discussion and does not include abstract, tables, figures, acknowledgements or reference list.
- Reviews on topics of importance to readers in diverse geographic areas. These should be comprehensive and fully referenced. Article requirements: Word count for the main part of the manuscript from introduction to conclusion/ discussion: 4000 to max of 8000 words.
- Correspondence relating to papers recently published in the Journal, or containing brief reports of unusual or preliminary findings. Maximum length 1000 words, two tables or figures and a maximum of 20 references.
- Letters to the Editor: Please be informed that we reserve Letters to the Editor to comments on papers previously published by MICRES. If you are reporting original data, please ensure that Article type is set to Research paper.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Line numbering and page numbering is included
- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Genome and raw sequences should be deposited to a public database, and the accession numbers should be properly mentioned in the manuscript.

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

Before you begin

Ethics in publishing

Please see our information on Ethics in publishing.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

Declaration of generative AI in scientific writing

The below guidance only refers to the writing process, and not to the use of AI tools to analyse and draw insights from data as part of the research process. Where authors use generative artificial intelligence (AI) and AI-assisted technologies in the writing process, authors should only use these technologies to improve readability and language. Applying the technology should be done with human oversight and control, and authors should carefully review and edit the result, as AI can generate authoritative-sounding output that can be incorrect, incomplete or biased. AI and AI-assisted technologies should not be listed as an author or co-author, or be cited as an author. Authorship implies responsibilities and tasks that can only be attributed to and performed by humans, as outlined in Elsevier's AI policy for authors.

Authors should disclose in their manuscript the use of AI and AI-assisted technologies in the writing process by following the instructions below. A statement will appear in the published work. Please note that authors are ultimately responsible and accountable for the contents of the work.

Disclosure instructions

Authors must disclose the use of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process by adding a statement at the end of their manuscript in the core manuscript file, before the References list. The statement should be placed in a new section entitled 'Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process'.

Statement: During the preparation of this work the author(s) used [NAME TOOL / SERVICE] in order to [REASON]. After using this tool/service, the author(s) reviewed and edited the content as needed and take(s) full responsibility for the content of the publication.

This declaration does not apply to the use of basic tools for checking grammar, spelling, references etc. If there is nothing to disclose, there is no need to add a statement.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify compliance, your article may be checked by Crossref Similarity Check and other originality or duplicate checking software.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

Preprint posting on SSRN

In support of Open Science, this journal offers its authors a free preprint posting service. Preprints provide early registration and dissemination of your research, which facilitates early citations and collaboration.

During submission to Editorial Manager, you can choose to release your manuscript publicly as a preprint on the preprint server SSRN once it enters peer-review with the journal. Your choice will have no effect on the editorial process or outcome with the journal. Please note that the corresponding author is expected to seek approval from all co-authors before agreeing to release the manuscript publicly on SSRN.

You will be notified via email when your preprint is posted online and a Digital Object Identifier (DOI) is assigned. Your preprint will remain globally available free to read whether the journal accepts or rejects your manuscript.

For more information about posting to SSRN, please consult the SSRN Terms of Use and FAQs.

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Reporting sex- and gender-based analyses

Reporting guidance

For research involving or pertaining to humans, animals or eukaryotic cells, investigators should integrate sex and gender-based analyses (SGBA) into their research design according to funder/sponsor requirements and best practices within a field. Authors should address the sex and/or gender dimensions of their research in their article. In cases where they cannot, they should discuss this as a limitation to their research's generalizability. Importantly, authors should explicitly state what definitions of sex and/or gender they are applying to enhance the precision, rigor and reproducibility of their research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer (see Definitions section below). Authors can refer to the Sex and Gender Equity in Research (SAGER) guidelines and the SAGER guidelines checklist. These offer systematic approaches to the use and editorial review of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation - however, please note there is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender.

Definitions

Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features (e.g., chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy). A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth"), most often based solely on the visible external anatomy of a newborn. Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors, and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society. Sex and gender are often incorrectly portrayed as binary (female/male or woman/man) and unchanging whereas these constructs actually exist along a spectrum and include additional sex categorizations and gender identities such as people who are intersex/have differences of sex development (DSD) or identify as non-binary. Moreover, the terms "sex" and "gender" can be ambiguous—thus it is important for authors to define the manner in which they are used. In addition to this definition guidance and the SAGER guidelines, the resources on this page offer further insight around sex and gender in research studies.

Author contributions

For transparency, we require corresponding authors to provide co-author contributions to the manuscript using the relevant CRediT roles. The CRediT taxonomy includes 14 different roles describing

each contributor's specific contribution to the scholarly output. The roles are: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; and Writing - review & editing. Note that not all roles may apply to every manuscript, and authors may have contributed through multiple roles. More details and an example.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service to find the best home for your manuscript. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. If you agree, your manuscript will be transferred, though you will have the opportunity to make changes to the manuscript before the submission is complete. Please note that your manuscript will be independently reviewed by the new journal. More information.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

Open access

Please visit our Open Access page for more information about open access publishing in this journal.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the Language Editing service available from Elsevier's Language Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-

review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/micres/>.

Suggesting reviewers

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential reviewers.

You should not suggest reviewers who are colleagues, or who have co-authored or collaborated with you during the last three years. Editors do not invite reviewers who have potential competing interests with the authors. Further, in order to provide a broad and balanced assessment of the work, and ensure scientific rigor, please suggest diverse candidate reviewers who are located in different countries/regions from the author group. Also consider other diversity attributes e.g. gender, race and ethnicity, career stage, etc. Finally, you should not include existing members of the journal's editorial team, of whom the journal are already aware.

Note: the editor decides whether or not to invite your suggested reviewers.

Preparation

Queries

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our Support Center.

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. More information on types of peer review.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor. Number pages and lines consecutively throughout the manuscript.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Please see an example at the following

link: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501320305401>

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the example Highlights.

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References**Citation in text**

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, Crossref and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999).... Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to software:

Coon, E., Berndt, M., Jan, A., Svyatsky, D., Atchley, A., Kikinzon, E., Harp, D., Manzini, G., Shelef, E., Lipnikov, K., Garimella, R., Xu, C., Moulton, D., Karra, S., Painter, S., Jafarov, E., & Molins, S., 2020. Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88). Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will

personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal requires and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings, which may also include software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. When sharing data in one of these ways, you are expected to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Research Elements

This journal enables you to publish research objects related to your original research – such as data, methods, protocols, software and hardware – as an additional paper in a Research Elements journal.

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a manuscript to one of the Research Elements journals.

More information can be found on the Research Elements page.

Data statement

To foster transparency, we require you to state the availability of your data in your submission if your data is unavailable to access or unsuitable to post. This may also be a requirement of your funding body or institution. You will have the opportunity to provide a data statement during the submission process. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

After acceptance

Availability of accepted article

This journal makes articles available online as soon as possible after acceptance. This concerns the Journal Pre-proofs (both in HTML and PDF format), which have undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but are not yet the definitive versions of record. A Digital Object Identifier (DOI) is allocated, thereby making it fully citable and searchable by title, author name(s) and the full text. The article's PDF also carries a disclaimer stating that it is an unedited article. Subsequent production stages will simply replace this version.

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Author inquiries

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.

CURRÍCULO LATTES

**Letícia Feliciani da Luz**Endereço para acessar este CV: <https://lattes.cnpq.br/6513522445233511>

Última atualização do currículo em 11/04/2024

Resumo informado pelo autor

Médica Veterinária graduada pelo Centro Universitário Ritter dos Reis - UniRitter (2018). Residência Multiprofissional em Saúde Animal e Coletiva, na área Clínica Médica de Pequenos Animais pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS (2022). Mestranda em Biotecnologia pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Atualmente realiza estudo com *Galleria mellonella* como modelo experimental in vivo para o desenvolvimento de novos agentes contra bactérias multirresistentes.

(Texto informado pelo autor)

Nome civil

Nome Letícia Feliciani da Luz

Dados pessoais

Filiação José Fernando Bustamante da Luz e Ana Lúcia Feliciani da Luz

Nascimento 18/03/1993 - Uruguai/RS - Brasil

Carteira de Identidade 8081074919 SSP - RS - 08/10/2007

CPF 023.355.690-74

Endereço residencial Rua Barbedo, 735 ap 23
Menino Deus - Porto Alegre
90110260, RS - Brasil
Telefone: 51 996720220
Celular 51 996720220

Endereço eletrônico E-mail para contato : leticia.feliciani@hotmail.com

Formação acadêmica/titulação

- 2022** Mestrado em BIOCÊNCIAS.
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
Título: Explorando a biologia do inseto *Galleria mellonella* para o desenvolvimento de novos agentes contra bactérias multirresistentes
Orientador: Danielle da Silva Trentin
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 2020 - 2022** Especialização - Residência médica.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
Título: Clínica Médica de Pequenos Animais
Bolsista do(a): Ministério da Educação
- 2013 - 2018** Graduação em Medicina Veterinária.
Centro Universitário Ritter dos Reis, UniRITTER, Porto Alegre, Brasil
Graduação interrompido(a) em Medicina Veterinária.
Universidade Federal do Pampa, UNIPAMPA, Brasil
Ano de interrupção: 2013
- 2008 - 2010** Ensino Médio (2o grau).
Escola de Educação Básica Mãe Admirável, EMA, Brasil, Ano de obtenção: 2010

Formação complementar

- 2023 - 2023** Curso de curta duração em A MICROBIOLOGIA NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E BEBIDAS. (Carga horária: 4h).
Centro Universitário Ítalo Brasileiro, UniITALO, Sao Paulo, Brasil
- 2022 - 2022** Curso de curta duração em BIOSSEGURANÇA EM TEMPOS DA COVID-19. (Carga horária: 2h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em ATUALIZAÇÃO NO DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE. (Carga horária: 3h).
Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em CAPACITAÇÃO NOS PROTOCOLOS DE MANEJO CLÍNICO DO CORONAVÍRUS (COVID-19).
Ministério da Saúde, MS, Brasília, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA ANSIEDADE EM CÃES E GATOS. (Carga horária: 4h).
Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em DIREITO VET - ARMADILHAS QUE O VETERINÁRIO JURIDICAMENTE PODE EVITAR. (Carga horária: 4h).
Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em CARDIOLOGIA COM ABORDAGEM CLÍNICA DE CÃES E GATOS COM SOPRO. (Carga horária: 4h).
Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil

- 2020 - 2020** Curso de curta duração em TÓPICOS EM ONCLOGIA VETERINÁRIA. (Carga horária: 6h). Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em TERAPIA AVANÇADA EM DERMATITE ATÓPICA CANINA. (Carga horária: 9h). Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em Aperfeiçoamento em Dermatologia Veterinária em Cães e Gatos. (Carga horária: 98h). Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em Dermatopatias Alérgicas e Imunoterapia em Cães e Gatos. (Carga horária: 84h). Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em ABC do Trauma. (Carga horária: 2h). Faculdade Qualittas, QUALITTAS, Brasil
- 2017 - 2017** Curso de curta duração em Aperfeiçoamento em Dermatologia Geral Aplicada. (Carga horária: 120h). Dermatovet Cursos, DERMATOVET, Brasil
- 2014 - 2014** Curso de curta duração em Atualizações em Terapia Celular na Medicina Veterinária. (Carga horária: 3h). Cellvet Medicina Veterinária Regenerativa, CELLVET, Brasil
- 2013 - 2013** Curso de curta duração em Curso Básico de Ortopedia em Pequenos Animais. (Carga horária: 12h). Universidade Federal do Pampa, UNIPAMPA, Bage, Brasil

Atuação profissional

1. Smart Pet Shop - SMART PET

Vínculo institucional

2019 - 2019 Vínculo: Prestador de serviços , Enquadramento funcional: Médica Veterinária, Regime: Parcial

2. Mundo Animal Hospital Veterinário - MACV

Vínculo institucional

2019 - 2019 Vínculo: Prestador de serviços , Enquadramento funcional: Médica Veterinária, Regime: Parcial

3. Dermatovet Cursos - DERMATOVET

Vínculo institucional

2019 - 2019 Vínculo: Prestador de serviços , Enquadramento funcional: Coordenação de curso, Regime: Parcial
Outras informações: Coordenação do curso "Dermatopatias Alérgicas e Imunoterapia de Cães e Gatos".

2019 - 2019 Vínculo: Prestador de serviços , Enquadramento funcional: Coordenação de curso, Regime: Parcial
Outras informações: Coordenação do curso "Aperfeiçoamento em Dermatologia Veterinária em Cães e Gatos".

2017 - 2017 Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitoria, Regime: Parcial
Outras informações: Monitoria no curso "Aperfeiçoamento em Dermatopatias Alérgicas e Imunoterapia em Cães e Gatos"

2017 - 2017 Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitoria, Regime: Parcial
Outras informações: Monitoria no curso "Aperfeiçoamento em Dermatologia Veterinária Aplicada em Cães e Gatos".

4. Clínica Veterinária Escola da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - CVE PUCPR

Vínculo institucional

2018 - 2018 Vínculo: Estágio Curricular , Enquadramento funcional: Estágio Curricular, Regime: Parcial

5. Dermatovet - Dermatologia e Alergologia Veterinária - DERMATOVET

Vínculo institucional

2018 - 2018 Vínculo: Estágio Curricular , Enquadramento funcional: Estágio Curricular, Regime: Parcial

6. Prof. Dr. Rafael Ferreira Dermatologia Veterinária - RAFAEL FERREIRA

Vínculo institucional

2015 - 2018 Vínculo: Estágio extracurricular , Enquadramento funcional: Estágio, Regime: Parcial

7. Centro Universitário Ritter dos Reis - UniRITTER

Vínculo
institucional

2015 - 2015 Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitoria, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitoria na disciplina "Terapêutica Medicamentosa".

2015 - 2015 Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitoria, Regime: Parcial
Outras informações:
Monitoria na disciplina "Farmacologia Veterinária".

8. Clínica Veterinária Dr. Lucas - CVDL

Vínculo
institucional

2014 - 2017 Vínculo: Estágio extracurricular , Enquadramento funcional: Estágio, Regime: Parcial

9. Diretório Acadêmico de Medicina Veterinária da UniRitter - DA

Vínculo
institucional

2015 - 2015 Vínculo: Membro do DA , Enquadramento funcional: Secretária, Regime: Parcial

Áreas de atuação

1. Medicina Veterinária

Idiomas

Inglês Compreende Razoavelmente , Fala Pouco , Escreve Razoavelmente , Lê Bem

Espanhol Compreende Bem , Fala Razoavelmente , Escreve Bem , Lê Bem

Prêmios e títulos

- 2023** Menção honrosa pelo trabalho intitulado "Infecção bacteriana altera a ontogenia e modula de forma química-anatômica os ovos do inseto *Galleria mellonella*", Universidade do Vale do Taquari - Univates, por meio do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Produção

Produção bibliográfica

Artigos em revistas (Magazine)

1.  FERREIRA, R.R; LUZ, L. F. Formação, disfunção e recuperação da barreira cutânea em cães com dermatite atópica. Vet&Share. Brasil, p.14 - 25, 2019.

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Painel no(a) **3º Congresso UFCSPA: ciência para um mundo em movimento**, 2023. (Congresso)
Antígenos bacterianos alteram a ontogenia e modulam de forma química-anatômica os ovos do inseto *Galleria mellonella*.
2. **3º Congresso UFCSPA: ciência para um mundo em movimento**, 2023. (Congresso)
3. **III INOVABIOTEC: CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA**, 2023. (Congresso)
4. Apresentação de Poster / Painel no(a) **III INOVABIOTEC: CONGRESSO DE INOVAÇÃO E BIOTECNOLOGIA**, 2023. (Congresso)
Infecção bacteriana altera a ontogenia e modula de forma química-anatômica os ovos do inseto *Galleria mellonella*.
5. **Prurido em cães e gatos**, 2023. (Simpósio)
6. **UFCSPA Acolhe 2023**, 2023. (Outra)
Monitor UFCSPA Acolhe 2023.
7. **4ª Edição Virtual do Encontro Anual do Grupo Arthromint**, 2022. (Encontro)
8. **I Congresso Brasileiro em Biociências Aplicadas à Saúde**, 2022. (Congresso)
9. Apresentação Oral no(a) **Palestra na Disciplina Toxicologia Geral do curso de Toxicologia Analítica (UFCSPA)**, 2022. (Outra)
Modelos Alternativos.

10. Apresentação Oral no(a) **Palestra na Disciplina de Ensaios Pré-Clinicos do curso de Química Medicinal (UFCSPA)**, 2022. (Outra)
Modelos Alternativos.
11. Conferencista no(a) **1º Giro de Conhecimento**, 2020. (Outra)
Experiências de graduação e Residência Médica de uma egressa da Rede Laureate.
12. Hill's Webinar: Hot topics da terapêutica do paciente com otite: dicas práticas., 2020. (Outra)
.
13. **MÉTODOS BÁSICOS DE DIAGNÓSTICO DERMATOLÓGICO**, 2020. (Outra)
14. **PIODERMITE EM CÃES: O QUE PRECISO SABER?**, 2020. (Outra)
.
15. **VB Skin Internacional**, 2020. (Outra)

16. **Congresso Medvep Internacional de Especialidades Veterinárias 2019**, 2019. (Congresso)
.
17. **Simpósio de Gastroenterologia**, 2019. (Simpósio)
.
18. **Simpósio de Oftalmologia Veterinária**, 2019. (Simpósio)
.
19. **III COMDEV - Congresso Medvep Internacional de Dermatologia Veterinária**, 2018. (Congresso)
.
20. **Congresso Medvep de Especialidades Veterinárias 2017**, 2017. (Congresso)
.
21. **Controle da Leishmaniose Visceral Canina e a Responsabilidade do Clínico para Mudança de Paradigma**, 2017. (Outra)
.
22. **Noite do Paciente Obeso**, 2016. (Outra)
23. **1º Simpósio Sul-Brasileiro de Medicina Veterinária Pet**, 2015. (Simpósio)
.
24. **I SIMDERMAVET UFRGS - Simpósio de Dermatologia Veterinária**, 2015. (Simpósio)
.
25. **I Simpósio Nacional de Equinos**, 2015. (Simpósio)
.
26. **Palestra de Oncologia Veterinária**, 2015. (Outra)
.
27. **Simpósio de Emergências Pet Support**, 2015. (Simpósio)
.
28. **Treinamento de habilidades e práticas do exame clínico em pequenos ani animais**, 2015. (Outra)
.
29. **Exposição Especializada do Departamento do Fila Brasileiro do Rio Grande do Sul**, 2014. (Exposição)
.
30. **Palestra Alimentação Cães e Gatos**, 2014. (Outra)
.
31. **Palestra Bem estar Animal na Equoterapia**, 2014. (Outra)
.
32. **II CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOÉTICA E DIREITO DOS ANIMAIS E III CICLO DE PALESTRAS DE DIREITO DOS ANIMAIS**, 2013. (Congresso)
.
33. **Programa Atitude Pelo Planeta**, 2010. (Outra)
.
34. **Programa Miniempresa**, 2009. (Outra)
.

Organização de evento

1. **LUZ, L. F.**
II Semana Acadêmica UniRitter, 2015. (Outro, Organização de evento)

Bancas

Bancas

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Graduação

1. **LUZ, L. F.**
Participação em banca de **CAROLINA ZUCATTI OLIVEIRA. Relatório de Estágio Curricular Supervisionado**, 2022
(Medicina Veterinária) Centro Universitário Ritter dos Reis

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 11/04/2024 às 18:40:17.