

**A patogenicidade bacteriana e sua compreensão no modelo *in vivo*  
*Galleria mellonella***  
**Bacterial pathogenicity and knowledge in the *in vivo* model *Galleria mellonella***

**Os parâmetros para um modelo experimental**  
**The parameters for an experimental model**

**Leonardo Soares de Assis<sup>1</sup>; Henrique Dantas de Menezes<sup>2</sup>; Lizandra Ferreira de Almeida e Borges<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia.

<sup>2</sup>Hospital de Clínicas, Universidade Federal de Uberlândia.

<sup>3</sup>Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia.

Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Uberlândia  
Av. Pará, 1720, Campus Umuarama, Uberlândia, MG, CEP: 38400-902.

<sup>1</sup>Leonardo Soares de Assis

E-mail: [assis.l.s@outlook.com](mailto:assis.l.s@outlook.com)

## INTRODUÇÃO

O estudo da patogênese bacteriana, por compreender os efeitos das interações com os hospedeiros animais, pode levar a um diagnóstico inovador, tratamento, prevenção e erradicação de doenças em animais e humanos.<sup>1</sup>

Pesquisadores em patogênese focam na identificação da virulência do patógeno e seu arranjo genético, atribuindo função a genes e proteínas, e tentando entender sua regulamentação.<sup>1</sup> A utilização de modelos mamíferos prevalece como o principal meio para a realização destas experimentações, sendo o mais comum os modelos de roedores. No entanto, há uma série de restrições envolvendo esse sistema, incluindo barreiras éticas, orçamentárias e logísticas. Mas a quantidade de indivíduos necessária para a obtenção de dados e o longo tempo de reprodução dos animais, são fatores que dificultam o uso desse tipo de modelo.<sup>2</sup>

O emprego de insetos como modelos de infecções é um caminho promissor, exibindo potencial em pesquisas que abrangem patógenos humanos. Os insetos possuem um sistema consideravelmente avançado em se tratando de defesas antimicrobianas. Equiparados aos mamíferos, possuem um sistema imune inato complexo e as células da hemolinfa (funcionando de maneira análoga ao sangue dos mamíferos), têm a capacidade de encapsular ou fagocitar patógenos microbianos, bem como respostas humorais que compreendem a produção induzida de lisozimas e diminutos peptídeos antimicrobianos.<sup>3</sup>

*Galleria mellonella* (traça do favo de mel) tem sido introduzida como um modelo alternativo para estudo de infecções microbianas. Esse inseto pertence à ordem Lepidoptera e família Pyralidae (traça do focinho). Em diferentes experimentos,

são as larvas de *G. mellonella* que são utilizadas como modelo, e não a traça adulta. Quando equiparado a modelos mamíferos, as larvas de *G. mellonella* são fáceis de se manter em laboratório, levando em conta a não necessidade de equipamentos especiais para seus cuidados, produzindo descendentes durante todo o ano.<sup>4</sup> Além disso, a utilização deste modelo não necessita de aprovação ética, por se tratar de um invertebrado e sua curta vida favorece estudos de alto rendimento.<sup>2</sup>

O ciclo completo do desenvolvimento de *G. mellonella*, do ovo até as larvas de último instar, tem um período estimado de 5 semanas em temperatura de 25°C. A partir do último instar atingem o estágio de pupa, sendo necessária mais uma ou duas semanas para se conseguir as mariposas adultas. Os machos da espécie medem 10 a 15 mm e apresentam coloração bege com marcas claras e escuras. As fêmeas medem aproximadamente 20 mm, com uma coloração mais escura que os machos.<sup>3</sup>

As larvas de *G. mellonella* possuem amplas vantagens em experimentações e um tamanho, no último instar, relativamente grande (250 mg de peso). A infecção bacteriana pode ser realizada nas larvas por via oral, intra-hemocele ou subcutânea.<sup>3</sup> Nesse modelo, os experimentos têm a possibilidade de serem conduzidos em temperaturas que variam de 25 a 37°C, condições que simulam a temperatura natural dos mamíferos, tornando a *G. mellonella* um modelo muito atrativo.<sup>5</sup>

As larvas de *G. mellonella* vêm sendo investigadas, desde 1938, incluindo sua variabilidade genética, até que anos mais tarde fosse introduzido como modelo

infeccioso.<sup>4</sup> Cujos interesses, é porque as larvas se mostram passíveis à grande diversidade de bactérias e fungos patogênicos.<sup>6</sup>

Este artigo de revisão se concentrou no uso de *G. mellonella* como modelo experimental em patogênese bacteriana, afim de discutir as semelhanças e diferenças nos parâmetros de uso deste modelo.

## METODOLOGIA

O presente estudo foi uma revisão sistemática realizada entre os meses de março e abril de 2021. A busca por artigos científicos foi realizada exclusivamente na base de dados PubMed (National Library of Medicine National Institutes of Health), incluindo como filtro para a seleção dos estudos, os trabalhos publicados nos últimos seis anos.

A busca por meio dos termos “*Galleria mellonella* AND *inoculation*” apresentou 67 artigos, amplamente diversificados. Em seguida, um segundo filtro de pesquisa foi formulado, “*Galleria mellonella* AND *inoculation* AND *infection model* AND *bacterial pathogen*” (Figura 1).

Os critérios de inclusão foram definidos para a seleção e qualificação dos artigos. O critério fundamental estabelecido para a revisão inclui a apresentação de um estudo experimental envolvendo *G. mellonella*, modelo de infecção, seguido por inoculação de um patógeno bacteriano. Os estudos que não se ajustavam a esse modelo, não apresentando relevância ao tema ou utilizavam outro tipo de microrganismo foram excluídos.

## RESULTADOS

Dentre os artigos selecionados e após sua leitura integral, todos se apresentavam na língua inglesa e publicados em revistas internacionais. Foram

incluídos 15 estudos relevantes. As pesquisas foram realizadas em diferentes regiões, incluindo América do Norte, Europa e Ásia. Cinco estudos (45,5%) foram realizados nos Estados Unidos, três (27,3%) na Suíça, dois (18,2%) na Inglaterra e apenas um (9%) no Japão (Tabela 1).

Todos os trabalhos realizaram estudos de análise da patogenicidade bacteriana. E para confirmar os fatores de virulência e/ou a defesa do hospedeiro, cinco estudos (45,5%) incluíram a genotipagem em suas pesquisas, um (9%) realizou histopatologia para análise do tecido larval e os demais (45,5%) realizaram análises físicas e visuais para estabelecer a evolução da resposta a infecção. Ensaio de proteção foram realizados em dois estudos (18,2%), para investigar o sistema de defesa das larvas (Tabela 2).

Diferentes cepas bacterianas foram utilizadas. Quatro estudos (36,7) utilizaram cepas clínicas, outros seis (54,5%) utilizaram cepas padrão, ou seja de centros de estoque, e somente um (9%) incluiu ambas as cepas para diferenciação do caráter virulência. Em relação ao volume de suspensão bacteriana, nove estudos (81,8%) utilizaram 10 $\mu$ L em suas aplicações, apenas dois trabalhos (18,2%) utilizaram um volume inferior (5 $\mu$ L). As doses implementadas sofreram variações entre os estudos, 10<sup>2</sup> UFC/mL apareceu como a menor delas, ao passo que 10<sup>8</sup> UFC/mL foi o maior inóculo utilizado. Cinco trabalhos (45,4%) utilizaram doses de 10<sup>5</sup> UFC/larva, a mais presente em todas as pesquisas (Tabela 3).

A temperatura de incubação foi equivalente para todos os trabalhos, bem como a realização de análises físicas e observações para avaliação da morte das larvas. O local de administração do inóculo foi alternado entre os estudos, a escolha da pró-pata esquerda, sem um detalhamento sobre qual delas, foi

observada em seis estudos (54,5%), quatro deles (36,4%) realizaram inoculação na última pró-pata esquerda (Tabela 3).

Grupos controle, diversificados, foram empregados em todos os trabalhos. Dois estudos (18,2%) utilizaram unicamente larvas não perturbadas e inoculadas com PBS, para controle do experimento, três (27,3%) implementaram cepas mutantes, dois (18,2%) incluíram cepas não patogênicas e outros quatro (36,3%) utilizaram cepas bacterianas padrão (“American Type Culture Collection”) como controle da patogenicidade. E os principais parâmetros de avaliação das larvas infectadas foram análises físicas, visuais e morte, utilizados por todos os estudos.

## DISCUSSÃO

As pesquisas voltadas para a patogenicidade enfatizam o reconhecimento da virulência dos microrganismos e sua estrutura genética, destinando função a proteínas e genes, objetivando sua compreensão e determinação.<sup>1</sup>

A análise da patogenicidade bacteriana presente nos estudos está vinculada ao conhecimento da capacidade desses microrganismos em causar infecções, bem como uma maior abrangência quanto a seu potencial patogênico. Os trabalhos de Wagley<sup>6</sup>, Guerrieri<sup>7</sup> e Norris<sup>8</sup> utilizaram a genotipagem para examinar a presença de genes de virulência, possibilitando a avaliação de seu papel na evolução das infecções bacterianas, bem como a análise dos mecanismos que garantem sua patogenicidade para as larvas. Considerando outra perspectiva, Bojanić<sup>9</sup> recorreu a histopatologia em suas pesquisas, avaliando as alterações do tecido larval após infecção, como a exibição de pigmentação dos hemócitos, formação de nódulos e variações da hemolinfa.

Adicionalmente, a avaliação das larvas também foi importante na investigação da patogênese em todos os artigos analisados. E consideravam as modificações apresentadas através da deposição de pigmento e a concentração de hemócitos. Ambos estão vinculados à resposta no combate à infecção, favorecendo as investigações de patogenicidade. A sobrevivência larval também foi observada para avaliar a influência da atividade bacteriana no organismo de *G. mellonella*. É válido ressaltar que Upadhyay<sup>10</sup> e Barros<sup>11</sup> também utilizaram a genotipagem em suas observações, porém, com um objetivo diferente, examinando os genes que protegem as larvas de *G. mellonella* das infecções subsequentes. O primeiro avaliou a eficácia de uma pré-inoculação de trans-cinamaldeído (TC), carvacrol (CR) e timol (TY) em atenuar a infecção provocada por *Listeria monocytogenes*, por meio do aumento da expressão dos genes de peptídeos antimicrobianos.

Da mesma forma, Barros<sup>11</sup> utilizou *B. subtilis* e *B. atrophaeus* com o intuito de avaliar seus impactos na imunidade contra *Candida albicans*, seguindo a base de pré-inoculação para o desenvolvimento de uma resposta imune eficaz. Um ensaio de proteção envolvendo *Lactobacillus rhamnosus* e *Clostridium* foi apresentado no estudo de Scalfaro<sup>15</sup>, com o objetivo de proteção contra patógenos gastrointestinais.

Partindo de um princípio semelhante Mil-Homens<sup>12</sup> investigou o uso de cloridrato de oligoetilenoimina linear (L-OEI-h) como um possível agente antimicrobiano e sua atividade biocida no combate a *Klebsiella pneumoniae* KPC e OXA-48 positiva, no modelo *G. mellonella*.

Considerando a abrangência dos estudos, diferentes cepas bacterianas foram utilizadas. Os estudos de Wagley<sup>6</sup>, Mil-Homens<sup>12</sup>, Rakic Martinez<sup>13</sup> e Rakic Martinez<sup>14</sup> utilizaram cepas clínicas em suas análises. Levando em consideração as escolhas dos estudos Upadhyay<sup>10</sup>, Barros<sup>11</sup> e Scalfaro<sup>15</sup> introduziram cepas padrão ATCC, talvez pelo fato de se tratarem de estudos de proteção, com níveis de virulência pouco acentuados. Outro trabalho comparou a virulência apresentada por cepas padrão e clínicas utilizando *Escherichia coli* Enteroagregativa típicas e atípicas em suas análises.<sup>7</sup>

O volume utilizado para as inoculações foi muito consistente entre os estudos, se mantendo em 10µL na maioria dos ensaios. O estudo de Upadhyay<sup>10</sup> realizou análises com um volume inferior (5µL) de suspensão bacteriana. Isso pode ser explicado pelo tipo de ensaio apresentado, que consistia na pré-inoculação de compostos antimicrobianos (5µL) para proteção das larvas, que totalizavam 10µL.

Seguindo o cenário das inoculações, um ponto interessante a ser comentado são as variações de doses que ocorreram entre os estudos. Foram apresentados pelos trabalhos doses que variaram de 10<sup>2</sup> UFC/mL a 10<sup>8</sup> UFC/mL. Essa oscilação está fortemente relacionada ao tipo de microrganismo aplicado e da melhor resposta apresentada pelo modelo *G. mellonella*, que garante resultados satisfatórios durante os experimentos.

Dentre todos os fatores observados para os trabalhos, a temperatura de incubação das larvas foi o único que se manteve equivalente para todos eles, sendo mantida a 37 °C. Essa conservação da temperatura assegura uma das



principais vantagens da utilização de *G. mellonella* como modelo experimental e sua semelhança com a temperatura do corpo humano.

Pontuando o local escolhido para administração do inóculo, uma parte considerável dos estudos recorreu à inoculação na pró-pata esquerda.<sup>10,11,12,13,14,15</sup> Outros estudos trabalharam com inoculações na última pró-pata esquerda.<sup>11,13,14,15</sup> Mesmo sem uma padronização exata, todos escolheram a inoculação via subcutânea.

A utilização de grupos controle foi verificada em todos os estudos. No entanto, Bojanić<sup>9</sup> e Fleming<sup>16</sup> utilizaram larvas não perturbadas e inoculadas com PBS como controle negativo. Outras vezes cepas mutantes foram implementadas expressando fatores de virulência, para uma avaliação dos genes causadores de infecção.<sup>6,13</sup> Da mesma forma, Norris<sup>8</sup> inclui uma cepa mutante no estudo, porém, significativamente mais patogênica.

Guerrieri<sup>7</sup> e Rakic Martinez<sup>14</sup> utilizaram cepas clínicas e padrão para suas comparações. Os estudos que buscavam a proteção das larvas e atenuação da infecção por meio de inoculação de microrganismos e compostos antimicrobianos, analisaram grupos controle com cepas bacterianas presentes no estudo, averiguando a eficácia dos ensaios de proteção na defesa das larvas.<sup>10,11,12,15</sup>

Observa-se que não houve heterogeneidade relevante entre as estimativas dos estudos, que foram vantajosos para a investigação das infecções por bactérias empregado em todos os trabalhos. Tais critérios são apropriados para avaliar a patogenicidade bacteriana, pois levam em conta a mortalidade larval, sua melanização, que está diretamente ligado ao seu sistema imune, motilidade e

concentração de hemócitos, ambos gerando resposta para a virulência e a capacidade de *G. mellonella* em combater a infecção. E embora não se tenha encontrado referência ao estudo do sequenciamento genético de *G. mellonella*, ou mesmo de um centro para estoque das criações, este modelo é capaz de diferenciar níveis de virulência, e seu curto tempo de desenvolvimento, mostra-se válido também para os testes com antimicrobianos. Além disso, as pesquisas envolvendo sua hemolinfa e genoma podem garantir sua aplicação como um conveniente modelo alternativo.

## CONCLUSÃO

*Galleria mellonella* é um modelo muito viável para estudar a infecção de patógenos microbianos, a traça do favo de mel apresenta inúmeras vantagens, reduzindo os custos de pesquisa e apresentando um sistema imunológico que garante uma abrangência em diversos estudos.

## REFERÊNCIAS

- 1 Gyles CL. Relevance in pathogenesis research. *Vet Microbiol.* 2011 Nov; 153(1-2):2-12. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.04.020.
- 2 Tsai CJ, Loh JM, Proft T. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence.* 2016 Apr 2;7(3):214-29. doi: 10.1080/21505594.2015.1135289.
- 3 Ramarao N, Nielsen-Leroux C, Lereclus D. The insect *Galleria mellonella* as a powerful infection model to investigate bacterial pathogenesis. *J Vis Exp.* 2012 Dec;(70):e4392. doi: 10.3791/4392.
- 4 Smith TL. Genetical Studies on the Wax Moth *Galleria Mellonella* Linn. *Genetics.* 1938 Jan;23(1):115-37.
- 5 Vilela SF, Barbosa JO, Rossoni RD, Santos JD, Prata MC, Anbinder AL, et al. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 inhibits biofilm formation by *C. albicans* and attenuates the experimental candidiasis in *Galleria mellonella*. *Virulence.* 2015;6(1):29-39. doi: 10.4161/21505594.2014.981486.

- 6 Wagley S, Borne R, Harrison J, Baker-Austin C, Ottaviani D, Leoni F, et al. *Galleria mellonella* as an infection model to investigate virulence of *Vibrio parahaemolyticus*. *Virulence*. 2018 Jan;9(1):197-207. doi:10.1080/21505594.2017.1384895.
- 7 Guerrieri CG, Pereira MF, Galdino ACM, Dos Santos ALS, Elias WP, Schuenck RP, et al. Typical and Atypical Enteroaggregative *Escherichia coli* Are Both Virulent in the *Galleria mellonella* Model. *Front Microbiol*. 2019 Aug;10:1791. doi:10.3389/fmicb.2019.01791.
- 8 Norris MH, Kirpich A, Bluhm AP, Zincke D, Hadfield T, Ponciano JM, et al. Convergent evolution of diverse *Bacillus anthracis* outbreak strains toward altered surface oligosaccharides that modulate anthrax pathogenesis. *PLoS Biol*. 2020 Dec;18(12):e3001052. doi: 10.1371/journal.pbio.3001052.
- 9 Bojanić K, Acke E, Roe WD, Marshall JC, Cornelius AJ, Biggs PJ, et al. Comparison of the Pathogenic Potential of *Campylobacter jejuni*, *C. upsaliensis* and *C. helveticus* and Limitations of Using Larvae of *Galleria mellonella* as an Infection Model. *Pathogens*. 2020 Aug;9(9):713. doi:10.3390/pathogens9090713.
- 10 Upadhyay A, Venkitanarayanan K. *In vivo* efficacy of trans-cinnamaldehyde, carvacrol, and thymol in attenuating *Listeria monocytogenes* infection in a *Galleria mellonella* model. *J Nat Med*. 2016 Jul;70(3):667-72. doi:10.1007/s11418-016-0990-4.
- 11 Barros PP, Rossoni RD, Ribeiro FC, Silva MP, Souza CM, Jorge AOC, et al. Two sporulated *Bacillus* enhance immunity in *Galleria mellonella* protecting against *Candida albicans*. *Microb Pathog*. 2019 Jul;132:335-342. doi: 10.1016/j.micpath.2019.05.023.
- 12 Mil-Homens D, Martins M, Barbosa J, Serafim G, Sarmiento MJ, Pires RF, et al. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates: *In vivo* virulence assessment in *Galleria mellonella* and potential therapeutics by polycationic oligoethyleneimine. *Antibiotics (Basel)*. 2021 Jan;10(1):56. doi:10.3390/antibiotics10010056.
- 13 Rakic Martinez M, Wiedmann M, Ferguson M, Datta AR. Assessment of *Listeria monocytogenes* virulence in the *Galleria mellonella* insect larvae model. *PLoS One*. 2017 Sep;12(9):e0184557. doi: 10.1371/journal.pone.0184557.
- 14 Rakic Martinez M, Ferguson M, Datta AR. Virulence assessment of *Listeria monocytogenes* grown in different foods using a *Galleria mellonella* model. *PLoS One*. 2020 May;15(5):e0232485. doi: 10.1371/journal.pone.0232485.
- 15 Scalfaro C, Iacobino A, Nardis C, Franciosa G. *Galleria mellonella* as an in

vivo model for assessing the protective activity of probiotics against gastrointestinal bacterial pathogens. FEMS Microbiol Lett. 2017 Apr;364(7). doi:10.1093/femsle/fnx064.

16 Fleming ID, Krezalek MA, Belogortseva N, Zaborin A, Defazio J, Chandrasekar L, et al. Modeling *Acinetobacter baumannii* wound infections: The critical role of iron. J Trauma Acute Care Surg. 2017 Mar;82(3):557-565. doi: 10.1097/TA.0000000000001338.

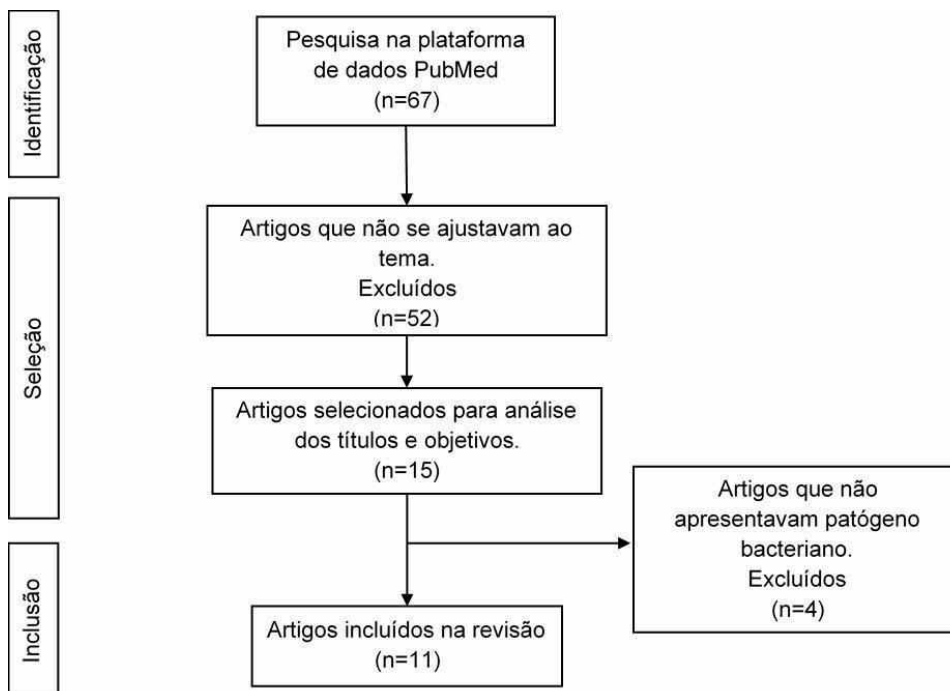


Figura 1 - Fluxograma de seleção e inclusão de artigos.

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos, envolvendo *Galleria mellonella* como modelo experimental para patogenicidade bacteriana.

Trabalho (autor, ano)	País	Objetivo
Bojanić K, et al, 2020	Suíça	Utilizar larvas de <i>G. mellonella</i> como modelo de infecção para comparação do potencial patogênico entre espécies de <i>Campylobacter</i> ( <i>C. upsaliensis</i> e <i>C. helveticus</i> e <i>C. jejuni</i> ).
Guerrieri CG, et al, 2019	Suíça	Avaliar, no modelo <i>G. mellonella</i> , as diferenças da virulência de cepas padrão e clínicas de EAEC típicas (fator de agregação) e atípicas (sem fator).

Wagley S, et al, 2018	Estados Unidos	Utilizar <i>G. mellonella</i> para analisar mecanismos de virulência de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , para isto utilizou cepas virulentas e não virulentas.
Upadhyay A; Venkitanarayanan K, 2016	Japão	Investigar a eficácia <i>in vivo</i> de TC, CR e TY na redução da virulência de <i>L. monocytogenes</i> no modelo de infecção de <i>G. mellonella</i> .
Mil-Homens D, et al, 2021	Suíça	Estudar o uso de cloridrato de oligoetilenoimina linear (L-OEI-h) como agente antimicrobiano para o tratamento de <i>K. pneumonia</i> KPC (+) e OXA-48 (+). Avaliar <i>G. mellonella</i> como um modelo <i>in vivo</i> para analisar uma proteção conferida por microrganismos probióticos contra patógenos gastrointestinais.
Scalfaro C, et al. 2017	Inglaterra	Avaliar os efeitos de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bacillus atrophaeus</i> , nas formas vegetativa e esporulante, sobre a imunidade de <i>G. mellonella</i> contra <i>Candida albicans</i>
Barros PP, et al, 2019	Inglaterra	Avaliar o risco de isolados clínicos de <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>L. monocytogenes</i> associados aos principais surtos de origem alimentar usando o modelo de <i>G. mellonella</i> .
Rakic Martinez M, et al, 2017	Estados Unidos	Analisar a virulência de 15 cepas de <i>L. monocytogenes</i> pertencentes aos três principais sorotipos causadores de doenças (1/2A, 1 / 2b e 4b), após crescimento em fatias de maçã e melão (relacionadas à surtos anteriores) e isolados ambientais, usando o modelo de infecção <i>G. mellonella</i> .
Rakic Martinez M, et al, 2020	Estados Unidos	Estabelecer um modelo murino reproduzível de infecção de ferida por <i>A. baumannii</i> .
Fleming ID, et al, 2017	Estados Unidos	Analisar a diferença entre <i>Bacillus anthracis</i> que produziam antrose e uma cepa mutante deficiente em antrose.
Norris MH, et al, 2020	Estados Unidos	

Tabela 2 - Caracterização dos mecanismos de comparação dos fatores de virulência dos microrganismos estudados.

Trabalho (autor, ano)	Patogenicidade	Genotipagem	Comparação com outro modelo experimental	Ensaio de proteção
Bojanić K, et al, 2020	X			
Guerrieri CG, et al, 2019	X	X		
Wagley S, et al, 2018	X	X		
Upadhyay A; Venkitanarayanan K, 2016	X	X		
Mil-Homens D, et al, 2021	X			
Scalfaro C, et al, 2017	X			X
Barros PP, et al, 2019	X	X		X
Rakic Martinez M, et al, 2017	X			
Rakic Martinez M, et al, 2020	X			
Fleming ID, et al, 2017	X		X	
Norris MH, et al, 2020	X	X	X	

Tabela 3 - Parâmetros estabelecidos nos ensaios utilizando a *Galleria mellonella* como modelo experimental de patogenicidade bacteriana.

Trabalho (autor, ano)	Aplicação (volume)	Dose	Temperatura de incubação	Análise física	Morte	Local do inóculo	Controle
Bojanić K, et al, 2020	10µl	10 <sup>8</sup> UFC/mL	37 °C	X	X	Última pró-pata	X
Guerrieri CG, et al, 2019	10µl	10 <sup>5</sup> UFC/mL	37 °C	X	X	Hemocele	X
Wagley S, et al, 2018	10µl	10 <sup>2</sup> UFC/mL	37 °C	X	X	Pró-pata mais à direita	X
Upadhyay A; Venkitanarayanan K, 2016	5µl*	10 <sup>5</sup> UFC/larvas	37 °C	X	X	Pró-pata esquerda	X
Mil-Homens D, et al, 2021	5µl*	10 <sup>5</sup> UFC/mL	37 °C	X	X	Pró-pata mais à esquerda	X
Scalfaro C, et al. 2017	10µl	Variável	37 °C	X	X	Última pró-pata esquerda	X
Barros PP, et al, 2019	10µL	10 <sup>4</sup> células/larva	37 °C	X	X	Última pró-pata esquerda/ direita	X

Rakic Martinez M, et al, 2017	10µl	10 <sup>6</sup> UFC/larva	37 °C	X	X	Última pró-pata esquerda	X
Rakic Martinez M, et al, 2020	10µL	Variável (10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> UFC/larva)	37 °C	X	X	Última pró-pata esquerda	X
Fleming ID, et al, 2017	10µL	NA	37 °C	X	X	Hemocele	X
Norris MH, et al, 2020	10µl	10 <sup>7</sup> endósporo/mL	37 °C	X	X	Seção abdominal	X

\*:Considerando apenas o inóculo bacteriano; NA: Não informado.