



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

BRENDA DA SILVA CUTRIM

**AVALIAÇÃO CICATRIZANTE DE FILMES DE ALGINATO CONTENDO A
LECTINA SteLL EM FERIDAS CUTÂNEAS FRENTE A *Staphylococcus aureus***

Recife

2023

BRENDA DA SILVA CUTRIM

**AVALIAÇÃO CICATRIZANTE DE FILMES DE ALGINATO CONTENDO A
LECTINA SteLL EM FERIDAS CUTÂNEAS FRENTE A *Staphylococcus aureus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Bioquímica e Fisiologia. Área de concentração: Bioquímica e fisiologia

Orientador (a): Patrícia Maria Guedes Paiva

Co-orientador (a): Luís Cláudio Nascimento da Silva

Recife

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Cutrim, Brenda da Silva

Avaliação cicatrizante de filmes de alginato contendo a lectina SteLL em feridas cutâneas frente a *Staphylococcus aureus* / Brenda da Silva Cutrim – 2023.

59 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Patrícia Maria Guedes Paiva

Coorientador: Luís Cláudio Nascimento da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2023.

Inclui referências.

1. Proteína 2. Bactéria 3. Cicatrização I. Paiva, Patrícia Maria Guedes (orient.) II. Silva, Luís Cláudio Nascimento da (coorient.) III. Título

572.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -118

BRENDA DA SILVA CUTRIM

**AVALIAÇÃO CICATRIZANTE DE FILMES DE ALGINATO CONTENDO A
LECTINA SteLL EM FERIDAS CUTÂNEAS FRENTE A *Staphylococcus aureus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Bioquímica e fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e fisiologia. Área de concentração: Bioquímica e fisiologia

Aprovado em: 28/02/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Patrícia Maria Guedes Paiva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Francis Soares Gomes (Examinador Externo)
Universidade Federal de Alagoas- UFAL

Prof^a. Dr^a. Adrielle Zagmignan (Examinador Externo)
Universidade CEUMA- UniCEUMA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho acima de tudo à Deus, cujo fôlego de vida em mim foi meu sustento e à minha família, por me dar a vida e pelo exemplo de coragem em todos os seus propósitos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela realização deste sonho, por me conceder a vida, por me proporcionar saúde e fé e sempre me conduzir com lições de amor e compaixão até vencer mais essa etapa em minha vida. A Ele também por iluminar meus caminhos e tornar essa caminhada mais leve com boas oportunidades e pessoas especiais e aos obstáculos que me fizeram crescer e chegar até aqui.

Aos meus pais, Cláudia e Cutrim, meu eterno agradecimento por todo suporte e pelas infindáveis orações. O apoio de vocês me trouxe coragem, força e ânimo aos dias difíceis e suas palavras de encorajamento me fizeram acreditar que nada é impossível. Aos demais familiares e amigos pelo apoio especial que me prestaram. O auxílio de vocês foi imprescindível e me inspirou fortemente.

Ao meu esposo, Alexandre, cuja companhia ao longo dos anos se tornou minha fonte de incentivo. Sem seu apoio incansável, sua paciência, dedicação e até abdicação em trilhar caminhos distintos para estar ao meu lado, jamais chegaria até aqui. Sua presença foi essencial.

A Noah, meu filho, que não foi formalmente apresentado a mim mas é, inexplicavelmente a razão de tudo isso. Você está comigo nessa aventura há algumas semanas, que por sinal, foram as melhores e mais difíceis até aqui. Agradeço por ser minha maior fonte de alegria e força e que possa eu, ser sempre motivo do seu orgulho.

A minha orientadora, professora Dra. Patrícia, pela orientação e dedicação na realização deste trabalho.

Ao meu coorientador, professor Dr. Luís Cláudio, pela impagável orientação ao longo dos anos na vida científica, pela confiança e por ter acreditado nesse trabalho que além de fazer parte do meu projeto de vida, se tornou meu sonho.

Aos meus colegas da Pós-Graduação e de laboratório, pela convivência, disposição e apoio que tornaram essa caminhada mais prazerosa, especialmente aos colegas Vitor Lopes e Lucas Silva, por contribuir com a parte prática deste trabalho.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento e para o sucesso deste trabalho de pesquisa.

RESUMO

As feridas cutâneas são, atualmente, um dos principais desafios enfrentados pelos sistemas de saúde em todo o mundo. Esse efeito é provocado sobretudo, pelo comprometimento do processo normal de cicatrização, através da ocorrência de infecções, especialmente por *Staphylococcus aureus*. Desse modo, o desenvolvimento de formulações à base de polissacarídeos é considerado uma alternativa promissora como forma de potencializar a ação de compostos naturais com aplicabilidade médica. Sendo assim, este trabalho buscou avaliar a atividade antimicrobiana e cicatrizante de filmes polissacarídicos contendo a lectina isolada da folha de *Schinus terebinthifolius* (SteLL) em modelo de infecção de ferida induzida por uma cepa de *S. aureus* resistente. Camundongos c57bl/6 foram divididos em 3 grupos (n = 6 /grupo): (1) infectados e tratados com PBS, (2) infectados tratados com filmes de alginato e (3) infectados e tratados com filmes de alginato incorporados com SteLL 100 µg/mL. Uma lesão de 64 mm² foi induzida no dorso de cada animal e contaminada com *S. aureus* SA01 (~4,0× 10⁶ UFC). O tratamento com os filmes iniciou-se 24 horas pós-infecção e estendeu-se por 7 dias observando diariamente parâmetros clínicos e área das lesões, enquanto os níveis de citocinas, carga bacteriana e aspectos histológicos foram determinados ao fim do experimento. No que se refere a caracterização dos filmes, estes apresentam pH, rugosidade e comportamento hídrico ideais para sua utilização. Os filmes incorporados com SteLL apresentaram maior percentual de alongamento. Como esperado, ao fim do tratamento, o grupo controle e grupo somente com alginato apresentaram os maiores escores de severidade, além de maior carga bacteriana no leito das lesões e portanto, exibiu um atraso na contração das feridas e no processo de reepitelização da área lesada. No entanto, o tratamento com os filmes na presença de SteLL provocou diminuição da severidade da infecção nestes animais que está intrinsecamente ligada à diminuição da carga bacteriana nas feridas ocasionada pela ação da lectina, bem como seu potencial na modulação da resposta inflamatória. Estes resultados sustentam a hipótese de atividade cicatrizante e antimicrobiana em filmes de alginato contra *S. aureus* MRSA e o sugere como alternativa terapêutica para o tratamento de infecções de feridas cutâneas.

Palavras-chave: Bactéria; Cicatrização; Polissacarídeo; Proteína.

ABSTRACT

Skin wounds are currently one of the main challenges faced by health systems around the world. This effect is mainly caused by the impairment of the normal healing process, through the occurrence of infections, especially by *Staphylococcus aureus*. Thus, the development of formulations based on polysaccharides is considered a promising alternative as a way to enhance the action of natural compounds with medical applicability. Thus, this work sought to evaluate the antimicrobial and healing activity of polysaccharide films containing the lectin isolated from the leaf of *Schinus terebinthifolius* (SteLL) in a model of wound infection induced by a resistant strain of *S. aureus*. c57bl/6 mice were divided into 3 groups (n = 6 /group): (1) infected and treated with PBS, (2) infected and treated with alginate films, and (3) infected and treated with alginate films incorporated with SteLL 100 µg/mL. A 64 mm² lesion was induced on the back of each animal and contaminated with *S. aureus* SA01 (~4.0× 10⁶ CFU). Treatment with films began 24 hours after infection and lasted for 7 days, observing clinical parameters and area of lesions daily, while cytokine levels, bacterial load and histological aspects were determined at the end of the experiment. With regard to the characterization of the films, they present ideal pH, roughness and water behavior for their use. The SteLL-incorporated films presented the highest elongation percentual. As expected, at the end of treatment, the control group and the alginate-only group had the highest severity scores, in addition to a greater bacterial load in the wound bed and, therefore, exhibited a delay in wound contraction and in the process of re-epithelialization of the injured area. However, treatment with the films in the presence of SteLL caused a decrease in the severity of the infection in these animals, which is intrinsically linked to the decrease in the bacterial load in the wounds caused by the action of the lectin, as well as its potential in modulating the inflammatory response. These results support the hypothesis of healing and antimicrobial activity in alginate films against *S. aureus* MRSA and suggest it as a therapeutic alternative for the treatment of skin wound infections.

Keywords: Bacteria; Healing; Polysaccharide; Protein.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Microscopia eletrônica.....	37
Figura 2- Avaliação da rugosidade e do comportamento hídrico de absorção dos filmes.....	38
Figura 3- Efeito do tratamento tópico com filmes de na carga bacteriana das feridas.....	40
Figura 4- Análise macroscópica do efeito do tratamento com filmes em lesões cutâneas infectadas por <i>Staphylococcus aureus</i>	41
Figura 5- Efeito do tratamento tópico com filme na área da lesão cutânea contaminada por <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Figura 6- Efeito do tratamento tópico com filme na severidade da inflamação nos animais.....	43
Figura 7- Efeitos de SteLL e Alginato na liberação de citocinas em camundongos infectados com <i>S. aureus</i>	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição metodológica de estudos testando o potencial farmacológico da lectina SteLL.....	22
Tabela 2. Análise do pH e dos parâmetros de coloração dos filmes à base de alginato.....	35
Tabela 3. Análise das propriedades mecânicas dos filmes à base de alginato.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALG	Alginato
ANOVA	Técnica estatística para avaliar análises de variâncias
ASME	Sociedade dos Engenheiros Mecânicos dos Estados Unidos
AUC	Área Sob a Curva
bFGF	Fator De Crescimento Fibroblástico Básico
CHIPS	Inibidores de Quimiotaxia Proteína de <i>S. Aureus</i>
CIM	Concentração Inibitória Mínima
Cr	Croma Métrica
ConA	Concanavalina A
FLIPr	Proteína Inibidora de FPRL1
GulA	Ácido α -L-gulurônico
Hue	Tonalidade Métrica
IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
ISSO	Organização Internacional de Normalização
ManA	Ácido β -d-manurônico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MPC-1	Proteína Quimiotóxica de Monócitos
MRSA	Staphylococcus Aureus Resistente À Meticilina
MurNAc	N- Acetilmurâmico
NAG N-	Acetilglicosamina
NO	Óxido Nítrico

PBS	Tampão Salino Fosfato
pH	Potencial Hidrogeniônico
PSMs	Modulinas Solúveis Em Fenol
RPM	Rotação por Minuto
SAg	Alginato de Sódio
SCIN	Inibidores Estafilocócicos do Complemento
SNC	Sistema Nervoso Central
SSL	Proteínas Semelhantes A Superantígenos Estafilocócicos
TGF- β	Fator De Crescimento Transformante Beta
TNF- α	Fator De Necrose Tumoral Alfa
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFC/mL	Unidades Formadoras de Colônias por mL
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VEGF	Fator De Crescimento Endotelial Vascular
3D	Tridimensional

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
°C	grau celsius
mg	miligrama
cm ²	centímetro ao quadrado
mm	milímetro
g	grama
mL	mililitro
μL	microlitro
kDa	Quilodalton
Ca ²⁺	Cálcio
M	Molar
Cm	centímetro
mm/s	milímetro por segundo
μg	micrograma
μg/	mL micrograma por mL
mg/kg	miligrama por quilo
p/v	peso volume
ΔE	Diferença em relação ao padrão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1	POTENCIAL FARMACOLÓGICO DA LECTINA SteLL.....	18
2.2	CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS.....	23
2.3	PATOGENICIDADE E VIRULÊNCIA DE <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.4	FILMES POLISSACARÍDICOS.....	26
3	OBJETIVOS.....	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
4	METODOLOGIA.....	30
4.1	OBTENÇÃO DE MATERIAL VEGETAL.....	30
	PREPARAÇÃO DOS FILMES DE ALGINATO INCORPORADOS COM SteLL.....	30
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	30
4.2.1	Rugosidade.....	30
4.2.2	Coloração.....	31
4.2.3	pH dos filmes.....	31
4.2.4	Intumescimento.....	32
4.2.5	Propriedades Mecânicas.....	32
4.3	LINHAGENS BACTERIANAS.....	33
4.4	ANIMAIS E CONDIÇÕES ÉTICAS.....	33
4.5	ESTUDOS COM ANIMAIS.....	33
4.5.1	. Protocolo para ferida induzida.....	33
4.5.2	Avaliação clínica da lesão.....	34
4.5.3	Contagem de bactérias viáveis.....	34
4.5.4	Dosagem de mediadores inflamatórios e fatores de crescimento.....	34
4.5.5	Análises estatísticas.....	34
5	RESULTADOS.....	35
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	35
5.1.1	Coloração e pH.....	35
5.1.2	Morfologia.....	36
5.1.3	Rugosidade.....	37

5.1.4	Intumescimento.....	38
5.1.5	Propriedades mecânicas.....	38
5.2	CARGA BACTERIANA.....	39
5.3	ÁREA DAS FERIDAS.....	40
5.4.1	Parâmetros inflamatórios.....	42
5.4.2	Liberação de citocinas.....	43
5	DISCUSSÃO.....	45
6	CONCLUSÃO.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50

1. INTRODUÇÃO

As feridas cutâneas consistem em um distúrbio decorrente de danos ao epitélio e suas estruturas, cuja integridade é prejudicada e dificulta a proteção fornecida pelo corpo contra o ambiente externo (NEGUT, 2018). No que diz respeito a etiologia das feridas cutâneas, esta é variada e pode ser associada a acidentes, traumas, doenças e procedimentos médicos. No entanto, independente da causa dessas injúrias, as lesões cutâneas ainda são um problema que acomete, anualmente, milhões de pessoas em todo o mundo, causando altos índices de morbimortalidade em decorrência do desafio enfrentado para tratar tais lesões (MONAVARIAN et al., 2019).

A cicatrização e reparo tecidual são processos dinâmicos, altamente complexos e coordenados, que dependem de uma resposta mediada por interações celulares e mediadores (WILKINSON and HARDMAN, 2020). Didaticamente, o processo de cicatrização é dividido em três fases: inflamação, proliferação e maturação, e as reações envolvidas desde o momento do trauma até a remodelação do tecido final (WANG, 2018). Entretanto, diversos fatores podem comprometer o processo de cicatrização de feridas, incluindo infecções, que podem ser provocadas tanto por microrganismos da microbiota da pele quanto pela aquisição de outros presentes no ambiente (WILLIAMS et al., 2018).

Em se tratando de feridas de cutâneas, *Staphylococcus aureus* é o patógeno Gram-positivo mais comumente associado às infecções superficiais e tal fato deve-se sobretudo por suas características inerentes como os determinantes de virulência (IWAKAMOTO et al., 2019). Estes cocos Gram-positivos, são residentes da microbiota de pele e das vias respiratórias, exibindo uma notável capacidade de infectar qualquer tecido no hospedeiro humano, sendo a pele um dos locais mais comuns de infecção por esse microorganismo (PARLET, 2019).

As infecções por *S. aureus* são particularmente problemáticas devido ao elevado potencial de expressão de fatores de virulência, bem como ocorrência frequente de resistência aos antimicrobianos disponíveis (WU, 2019). Isso leva à seleção de mutantes na população bacteriana tratada pelo antibiótico e causa diminuição exponencial dos medicamentos usados para tratamento das infecções, demonstrando a necessidade do desenvolvimento de novas abordagens

(VESTERGAARD, 2019). Nesse sentido, tem crescido a busca por novos compostos que demonstre potencial terapêutico na cicatrização de feridas infectadas e os produtos naturais são cada vez mais utilizados (LEE, 2018).

Neste sentido, o desenvolvimento de formulações (hidrogéis, filmes, etc) à base de polissacarídeos, como o alginato de sódio, que têm como vantagens possuir baixo custo associado, atuarem como sistemas de liberação transdérmica de fármacos e apresentarem elevada eficácia (RAUS; NAWAWI; NASARUDDIN., 2021; ABBASI et al., 2020). Para isso, filmes de alginato têm sido utilizados para incorporar moléculas bioativas, como lectinas e metabólitos secundários (DE MACEDO, 2022; NAEEM et al., 2022).

As lectinas são proteínas de origem não imune que se ligam específica e reversivelmente à carboidratos e possuem inúmeras atividades e aplicações biotecnológicas (DE CONINCK, 2021). Um exemplo é a proteína SteLL, presente nas folhas da planta *Schinus terebinthifolius* e popularmente conhecida como Aroeira Vermelha (GOMES et al, 2013). SteLL tem demonstrado potencial antimicrobiano (GOMES et al, 2013), inseticida (CAMAROTI et al, 2018), antitumoral (RAMOS et al, 2019), atividade ansiolítica (LIMA et al., 2022), ação antinociceptiva (MARINHO et al., 2023), antiangiogênico (SANTOS et al., 2022), cicatrizante (NUNES et al., 2022) e papel na modulação da depressão (LIMA et al., 2023).

Recentemente, foi descrito que SteLL, em sua forma livre, promove o reparo tecidual de feridas infectadas por *S. aureus*, atuando principalmente na diminuição da carga bacteriana e consequente diminuição da liberação dos mediadores inflamatórios (NUNES et al., 2022). Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver filmes de alginato contendo a lectina SteLL e avaliar os potenciais cicatrizantes e antimicrobianos em lesões cutâneas infectadas por *S. aureus*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. POTENCIAL FARMACOLÓGICO DA LECTINA SteLL

Lectinas são proteínas que se ligam de forma específica e reversível a carboidratos ou glicoproteínas (WU; LIU, 2019). São amplamente distribuídas na natureza e possuem inúmeras atividades e aplicações biotecnológicas, destacando-se principalmente pelas propriedades antimicrobianas (FERNÁNDEZ ROMERO et al, 2021; SANTOS et al., 2021).

SteLL, uma lectina obtida das folhas planta *Schinus terebinthifolia Raddi* (*Anacardiaceae*), planta popularmente conhecida como Aroeira Vermelha e muito utilizada na medicina popular brasileira. Seu uso é tradicionalmente atribuído para cicatrização e reparo tecidual (GOMES et al., 2013), além de ser usada no tratamento de infecções respiratórias, trato urinário, Reumatismo e de Candidíase oral. SteLL é uma glicoproteína de 14kDa, ligadora de N- acetilglucosamina (NAG) e demonstra, através de estudos anteriores, potencial cicatrizante, bem como atividade antimicrobiana, antitumoral e antifúngica (NUNES et al., 2022; GOMES et al., 2013; LIMA et al., 2019; RAMOS et al., 2019).

SteLL foi ativa contra bactérias clinicamente importantes como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus* (GOMES et al., 2013). É sugerido que tal potencial deve-se, sobretudo, por sua ligação de forma específica e interação com os resíduos de N- acetilglucosamina (NAG), N-acetilmurâmico (MurNAc) e tetrapeptídeos ligados a MurNAc que constituem o peptidoglicano, cuja camada é o principal componente da parede celular das bactérias Gram positivas ou a lipopolissacarídeos presentes na parede celular de bactérias Gram-negativas (DZIARSKI et al., 2000).

O potencial de SteLL como agente antitumoral também tem sido estudado, usando como princípio a capacidade que algumas lectinas possuem de reconhecer de forma específica, células malignas (MORTON, 1978; RAMOS et al., 2019). Tal reconhecimento decorre sobretudo da transformação das células cancerígenas pelos padrões glicosilados que se diferem daqueles encontrados nas células normais (MOFFETT et al., 2021; MEHTA et al., 2020). No que se refere a essa atividade

quimioterápica, SteLL exibiu efeito antitumoral contra o sarcoma 180, também conhecido como tumor de Crocker (RAMOS et al., 2019).

O tratamento com a lectina mostrou redução do tamanho do tumor, redução significativa da quantidade de vasos secundários e portanto, diminuição no processo de angiogênese, que está intrinsecamente ligado ao desenvolvimento do câncer (RAMOS et al., 2021). Os mecanismos de ação que podem esclarecer a atividade antitumoral de SteLL não foram completamente elucidados. No entanto, estudos anteriores mostram que a capacidade imunomoduladora, que pode alterar a produção de óxido nítrico, citocinas, quimiocinas e ativação de linfócitos (PATRIOTA et al., 2017; PROCÓPIO et al., 2018).

Fungos resistentes a medicamentos também representam uma grande ameaça a saúde humana, devido às altas taxas de mortalidade, sobretudo em pacientes imunocomprometidos (CHANG et al., 2019). Por essa razão, cresce a busca por compostos naturais com aplicabilidade antifúngica, sendo a lectina SteLL, uma candidata promissora por demonstrar atividade contra *Candida albicans*, um fungo clinicamente importante (GOMES et al., 2013). Quanto aos mecanismos de ação envolvidos na atividade antifúngica das lectinas, acontecem principalmente, por meio de sua interação com a parede celular do fungo, que é composta por quitina, glucanos e outros polímeros (NAR et al., 2017). De modo geral, a ligação à quitina prejudica sua síntese na parede celular, impedindo o desenvolvimento de hifas e a germinação de esporos (BENEVIDES, 2008; LIZ AND SHARON, 1981; DEL RIO et al., 2020).

Ademais, SteLL também foi relatada como uma proteína com potencial inseticida (CAMAROTI et al., 2018). A alternativa de uso de plantas para substituir os inseticidas sintéticos, decorrem da problemática de que estes, causam toxicidade para organismos não-alvos, além de contaminação residual dos produtos (CAMAROTI et al., 2017). Nesse sentido, SteLL, pode atuar como alternativa potencial para o controle de insetos pois apresenta atividade contra insetos *Sitophilus zeamais* Motschulsky, conhecido como gorgulho do milho (CAMAROTI et al., 2018). Estes, são uma das principais pragas de grãos armazenados, capazes de prejudicar a produção e causar enorme perda econômica (LANGSI et al., 2020). Embora SteLL não tenha causado a mortalidade dos insetos, SteLL interfere no metabolismo da praga, afetando a

conversão alimentar em biomassa e inibiu a atividade da protease, além de estimular a atividade da amilase (CAMAROTI et al., 2018).

Os mecanismos envolvidos nas propriedades inseticidas desta proteína, advêm do fato de que ligantes de quitina, como SteLL, podem interagir com os componentes da matriz peritrófica, causando anormalidades em sua estrutura e função e interferindo na absorção de nutrientes; além disso, as lectinas podem interagir com enzimas digestivas, modulando sua atividade e promovendo desequilíbrio metabólico (CAMAROTI et al., 2017).

O potencial de algumas lectinas, incluindo SteLL, no tratamento de distúrbios neurológicos como a ansiedade e depressão, tem sido relatado. Lima et al. (2022) avaliaram o efeito ansiolítico *in vivo* de SteLL em camundongos, usando os testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado. Os resultados desse estudo demonstraram a atuação de SteLL no sistema nervoso central (SNC) e consequente efeito ansiolítico. Ademais, os dados obtidos sugeriram que tal ação não parece ser dependente do domínio de ligação a carboidratos da lectina e que seu efeito ansiolítico é dependente da cascata de sinalização monoaminérgica.

Ainda no sistema nervoso central, SteLL é descrita por atuar na modulação da depressão, sobretudo por meio da sinalização monoaminérgica e do óxido nítrico. Para isso, a avaliação do potencial antidepressivo da lectina foi feita através de um protocolo agudo para sintomas de depressão, a fim de avaliar o desespero em modelo *in vivo*. Os dados obtidos por Lima et al. (2023) sugerem que a administração de SteLL diminuiu significativamente o tempo de imobilidade dos animais no teste realizado e tal efeito persistiu após sete dias de tratamento, apontando um papel de SteLL frente a depressão.

Além das atividades já relatadas, SteLL é apontada também como agente antinociceptivo. Marinho et al. (2023) avaliaram seu potencial analgésico utilizando modelos de nocicepção periférica e central em camundongos. Os testes apontaram que SteLL tem ação analgésica periférica e central envolvendo modulação de receptores delta opioides e tem ação, sobretudo contra a dor inflamatória, sem afetar a coordenação motora em animais.

O processo de desenvolvimento de novos vasos sanguíneos (angiogênese) é responsável por, dentre outras funções, fornecer nutrientes e assim, provocar o

crescimento de tumores. Sabendo que a lectina SteLL é descrita pelo seu potencial antitumoral (RAMOS et al., 2019), Santos et al. (2022) sugeriram a hipótese de que essa lectina é também responsável por interferir na formação de uma rede vascular a partir de vasos preexistentes. Sendo assim, o efeito de SteLL no processo de angiogênese foi avaliado usando um modelo *in vivo* da membrana do saco vitelino de embriões de *Coturnix japonica*. O tratamento mostrou que a lectina diminuiu significativamente a angiogênese no interior da membrana, resultando na diminuição do suprimento sanguíneo para os embriões, e portanto, possui ação antiangiogênica.

SteLL também demonstrou através de estudos anteriores, atividade cicatrizante em sua forma livre. Nos ensaios realizados, em modelos de infecção cutânea provocadas por *S. aureus* foi analisado o efeito desta lectina no processo de cicatrização. De modo geral, houve diminuição da carga bacteriana das lesões e consequentemente, a redução mais acelerada da área das feridas, evidenciando que a atividade cicatrizante da lectina pode estar relacionada pela sua atividade antibacteriana (NUNES et al., 2022).

Além disso, outro importante fator capaz de explicar o potencial cicatrizante de SteLL, é sua ação imunomoduladora. A capacidade de regular o sistema imune celular, de modo a induzir a liberação das citocinas (IL-6, IL-10, IL-17A e TNF- α), além de óxido nítrico e ânion superóxido por macrófagos, torna SteLL, uma candidata promissora para o tratamento de infecções microbianas (LIMA et al., 2019).

Por fim, são evidentes as várias aplicações biotecnológicas e o vasto potencial farmacológico da lectina SteLL que a tornam frequentemente alvo de pesquisas em diversos campos. Sendo assim, as propriedades biomédicas desta lectina, descritas anteriormente na literatura nos últimos anos, foram identificadas e relatadas no presente trabalho e apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1- Descrição metodológica de estudos testando o potencial farmacológico da lectina SteLL

Atividade	Metodologia	Referências
Antimicrobiana	<i>In vitro</i> (<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>)	GOMES et al., 2013
Antifúngica	<i>In vitro</i> (<i>Candida albicans</i>)	GOMES et al., 2013
Inseticida	Modelo <i>in vitro</i> (<i>Sitophilus zeamais</i>)	CAMAROTI et al., 2018
Antitumoral	Modelo <i>in vivo</i> (Sarcoma-180)	RAMOS et al., 2019
Anti-infecciosas	Modelo <i>in vitro</i> (macrófagos e <i>G. mellonella</i>)	LIMA et al., 2019
Imunomoduladora	Modelo <i>in vitro</i> (Esplenócitos de camundongos)	DOS SANTOS et al., 2020
Imunomoduladora	Macrófagos peritoneais	LIMA et al., 2019
Antiangiogênico	modelo <i>in vivo</i> da membrana do saco vitelino de embriões de <i>Coturnix japonica</i>	SANTOS et al., 2022
Cicatrizante	Modelo <i>in vivo</i> de infecção cutânea (camundongos swiss)	NUNES et al, 2022
Ansiolítica	Modelo <i>in vivo</i> (camundongos swiss)	DE LIMA et al., 2022
Antinociceptiva	Modelo <i>in vivo</i> (camundongos swiss)	MARINHO et al., 2023
Antidepressivo	Modelo <i>in vivo</i> (camundongos swiss)	DE LIMA et al., 2023

2.2. CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS

O processo de reparo tecidual é um evento altamente coordenado e complexo que depende diretamente das reações e interações entre as células do sistema imune e outros mediadores. Ademais, a cicatrização de feridas é uma cascata de eventos que acontecem de maneira sobreposta, que inclui quimiotaxia, divisão celular, neovascularização e remodelação do tecido após a deposição da nova matriz extracelular (KAPLANI et al., 2018). As células e sinais químicos atuam de forma coordenada e eficiente de modo a reparar e garantir a rápida cicatrização da área lesada e este processo fisiológico é necessário para manutenção da integridade da pele pós traumas (WILLIAMS et al., 2018). O processo normal de cicatrização de feridas envolve três fases: inflamação, formação de novo tecido e remodelação da matriz extracelular e vão desde o momento da lesão até a remodelação do tecido para que se torne o mais parecido possível com o tecido original (PECHERSKY et al., 2016).

A fase inflamatória inicia-se imediatamente após ao trauma, nela há a secreção de citocinas, macrófagos e células Natural Killer, que são atraídas para o local. Simultaneamente, o fator de crescimento plaquetário comanda a ativação do complexo trombina, impedindo assim, o sangramento (PEREIRA, BARTOLO, 2016). Nesta fase, há a interação também de neutrófilos com componentes [Fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF) juntamente com Fator de crescimento endotelial (VEGF)] que promovem a diante, angiogênese, para garantir transporte de nutrientes e de mais células para o local da lesão (KAPLANI et al., 2018; SHPICHKA et al., 2019).

Posteriormente, acontece a fase de formação de novo tecido também conhecida como fase de proliferação, onde as células da pele recém-diferenciadas migram para cobrir a ferida (RODRIGUES et al., 2019). Esta etapa é constituída por quatro eventos principais: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Para isso, inicialmente, estas células epiteliais proliferam-se na tentativa de reestabelecer a barreira protetora (WANG et al., 2018). O término do evento de proliferação celular, dá lugar a etapa de angiogênese, que é estimulada pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e é caracterizada pela migração

de células endoteliais e formação de capilares (SORG et al., 2017; WANG et al., 2018).

Logo em seguida, há a formação de tecido de granulação que é coordenado pelos fibroblastos, consideradas as principais células da fase proliferativa. Por fim, há a etapa de interação entre fibroblastos e miofibroblastos, que leva ao último estágio da cicatrização de feridas, caracterizado pela vasta deposição de moléculas de colágeno (tipos I-IV), que resultam na formação do tecido (CHILDS, MURTHY, 2017).

Por fim, o término do processo de cicatrização é marcado com a fase de remodelação do tecido. Tal fase é caracterizada pela deposição de colágeno de maneira organizada na matriz extracelular e por isso, considerada clinicamente importante (BONIAKOWSKI et al., 2017). Com o objetivo de reorganizar esta matriz, fibroblastos e células imunes secretam collagenases que promovem a lise da matriz antiga, havendo sucesso no processo de reparo tecidual quando a deposição do colágeno é maior (EL AYADI et al., 2020). Essa proteína é a mais abundante no tecido conectivo e suas diferenças estruturais determinam suas funções biológicas, sendo o colágeno tipo I mais predominante em ossos e tendões, O tipo III é mais comumente encontrado em tecidos moles, por exemplo (KALLIS, FRIEDMAN, 2018).

No entanto, o processo de cicatrização é influenciado e até mesmo comprometido por diversos fatores. As doenças como Diabetes Melitus (OKONKWO, DIPIETRO, 2017) além de deficiências vitamínicas (GHALY et al., 2021), tabagismo, doenças hereditárias, desnutrição, idade e infecções podem interferir de maneira negativa nesse processo e torná-lo vulnerável à interrupção, devido à sua complexidade. Sendo assim, é comprovado que diagnósticos preexistentes podem alterar, atrasar ou inibir significativamente a cicatrização normal de feridas, comumente observado em doenças crônicas e insuficiência renal, mas também ocorre secundariamente ao envelhecimento e ao abuso de substâncias (BEYENE et al., 2020, BONIFANT, HOLLOWAY, 2019).

2.3. PATOGENICIDADE E VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é um patógeno oportunista e clinicamente importante, que reside normalmente nas vias respiratórias e microbiota da pele (CHEUNG et al.,

2021). Estes cocos Gram positivos continuam sendo uma das bactérias mais associadas a doenças humanas, causando uma ampla gama de infecções, incluindo pneumonia, infecções teciduais graves e sepse (KWIECINSKI; HORSWILL, 2020). Sendo assim, é causa comum de infecções hospitalares e comunitárias, onde grande parte dos casos evoluem para óbito (MANSOUR, 2021; CHEUNG, 2021).

Os altos índices de mortalidade e morbidade decorrente das doenças infecciosas microbianas, sobretudo por este patógeno são resultado de seu tratamento complexo. Isso acontece, pois as infecções por *S. aureus* são particularmente problemáticas e tal fato deve-se sobretudo pela ocorrência frequente de resistência antibiótica e pela impressionante variedade de fatores de virulência que esse microorganismo é capaz de expressar (SOE et al., 2021). Dessa maneira, um número cada vez maior de linhagens de *S. aureus* tem demonstrado resistência aos agentes antimicrobianos (WU et al., 2019).

S. aureus resistente à metilicina (MRSA) são os mais importantes clinicamente, pois geralmente são acompanhadas de aumento da mortalidade, morbidade e permanência hospitalar em comparação às infecções causadas por cepas sensíveis a esse antibiótico (VESTERGAARD et al., 2019). Ademais, a mortalidade causada por MRSA é mais alta quando comparada a outros patógenos resistentes a antibióticos (GUO et al., 2020). No entanto, a resistência a outros antibióticos também é comum em *S. aureus*, por exemplo, a resistência aos antibióticos beta-lactâmicos tradicionais (penicilina e derivados) que são sensíveis à beta-lactamase é frequente nesse patógeno. Além disso, *S. aureus* pode apresentar-se, em muitos casos, na forma combinada, onde apresenta resistência a quase todos os antibióticos disponíveis. (CHEUNG and BAE, 2021)

Quanto aos fatores de virulência, que incluem citocinas, proteínas, coagulases e carotenóides, são responsáveis por dificultar a eficácia da terapia e facilitar a infecção, desenvolvendo múltiplas estratégias que evitem as defesas do hospedeiro (AHMAD-MANSOUR, 2021). Por isso, ao contrário de muitos outros patógenos bacterianos, que normalmente dependem de apenas uma ou algumas toxinas para promover doenças, o *S. aureus* produz uma impressionante variedade de fatores de virulência, para promover estas tais desordens (CHEUNG et al, 2021).

Dentre eles, a enzima α -hemolisina e modulinas solúveis em fenol (PSMs), a produção de estafiloxantina, a secreção de SSL5, SSL10, CHIPS, FLIPr, da enzima estafilocócica inibidora do complemento (SCIN) (SHETTIGAR and MURALI, 2020), além da toxina-1 da síndrome do choque tóxico e da leucocidina de Panton-Valentine (PVL), que causa a lise dos leucócitos (PAPASTERGIOU; TSIOULI, 2018).

2.4. FILMES POLISSACARÍDICOS

Os filmes e hidrogéis representam uma classe de materiais com aplicabilidades biotecnológicas únicas e promissoras, que têm sido cada vez mais, foco das pesquisas nas indústrias biomédica e farmacêutica (XU et al., 2021). Ademais, consistem em redes tridimensionais (3D) que apresentam ligações reticuladas física ou quimicamente de polímeros hidrofílicos (TAVAKOLI, KLAR, 2020). Essa classe de polímeros tem características marcantes que permitem e possibilitam alterar sua estrutura e volume em resposta a estímulos externos, fornecendo grandes potenciais de pesquisa e uma ampla variedade de aplicações (JIANG et al., 2020).

No que diz respeito ao uso dos biopolímeros, sobretudo com aplicação na cicatrização de feridas, é necessário que os filmes apresentem vantagens para uso. Neste caso, a versatilidade química e física desses biopolímeros permite que sejam amplamente explorados (SINGH et al., 2017). Sendo assim, as principais vantagens relacionadas ao seu uso são: a bioatividade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, resistência mecânica, aplicabilidade clínica, não toxicidade, a possibilidade de atuar como um sistema de liberação de drogas, diversidade estrutural, além de abundância e baixo custo associado (TAVAKOLI, KLAR, 2020; MUIR, BURDICK, 2021).

Dessa forma, um biopolímero potencial para a fabricação de membranas e portanto uma alternativa promissora no campo da cicatrização de feridas, é o Alginato de Sódio (SAg) (ZHANG et al., 2021). Um polissacarídeo natural extraído de algas marrons e algas marinhas, amplamente utilizado como modificador da superfície da membrana para reduzir incrustações (KHAN et al., 2021). A estrutura do Sag é composta por ácido α -L-gulurônico (GulA) e resíduo de ácido β -D-manurônico (ManA) ligados em 1,4 e devido ao grande número de grupos funcionais de radicais livres que também pertencem a sua estrutura, é capaz de formar uma poderosa membrana de hidratação em água (RASTOGI, KANDASUBRAMANIAN, 2019).

Em se tratando de cicatrização de feridas, as ligações hidrofílicas presentes e comum a estes materiais, demonstram um notável potencial para absorver exsudatos da ferida e permitir a difusão de oxigênio para acelerar o reparo tecidual. Com suas características inerentes, como excelente solubilidade em água (KHAN et al., 2021), capacidade quelante (SUN et al., 2020) e não toxicidade espera-se que o (SAG) seja compatível com poliuretanos devido aos diversos grupos funcionais polares presentes em sua estrutura (SHEN et al., 2019).

O alginato consiste em um copolímero linear feito de resíduos de ácido manurônico (ManA) e gulurônico (GulA) ligados entre si por ligações glicosídicas. Sua estrutura é definida através da relação e pela proporção entre os resíduos, além de sua distribuição (YOUSSOUF et al., 2017). O percentual dessas unidades varia entre as espécies de algas e sua modificação química pode influenciar de maneira significativa, as propriedades físico-químicas do alginato (RHEIN-KNUDSEN, ALE, AJALLOUEIAN, & MEYER, 2017). Sendo assim, enquanto o alginato com maior quantidade de resíduos GulA apresenta uma estrutura molecular rígida, aquele com maior proporção de unidades ManA apresenta uma estrutura mais flexível (YAMAMOTO et al., 2018).

A gelificação desse biopolímero por meio do cálcio, é uma das propriedades funcionais mais importantes do alginato, permitindo que seja amplamente utilizado na indústria (CAO et al., 2020). O processo de formação da rede de polímeros reticulados acontece quando são formadas zonas de junção que se formam entre as cadeias de alginato e cátions bivalentes, como Ca^{2+} . Resumidamente, quando o Ca^{2+} combina-se com uma parte de alginato, forma pontes entre moléculas de alginato próximas, levando a uma estrutura de "caixa de ovo" altamente organizada (DODERO et al., 2021; LI et al., 2021).

É demonstrado que o potencial biotecnológico dos filmes polissacarídicos é vasto e ainda pode ser amplamente explorado. Resultados anteriores demonstram que estes biopolímeros são potenciais alvos de pesquisas em diversas áreas e suas características possibilitam que sejam utilizados, a exemplo, com objetivo de degradação programada e a consequente liberação de drogas, além de servir como um depósito biocompatível para entrega local de carga terapêutica responsiva a estímulos. No entanto, apesar de possuir diversas aplicabilidades, tais materiais

possuem defeitos típicos e inerentes às membranas de CaAlg que incluem: a fraca estabilidade mecânica, a dificuldade para a preparação em larga escala e a fixação da membrana em equipamentos de filtração (HABANJAR et al., 2021).

Por fim, a incorporação de moléculas com atividade comprovada em filmes polissacarídicos de alginato, constitui uma alternativa promissora para potencializar a ação de tais compostos. Como exemplo, De Macedo (2022) desenvolveu e caracterizou membranas de hidrogel à base de alginato contendo a lectina ConA (purificada de sementes de *Canavalia ensiformis*), para aumentar os efeitos antibacterianos da gentamicina contra cepas resistentes em curativos. Ademais, outro modelo de curativo de hidrogel biodegradável e bioativo à base de alginato para tratamento de feridas infectadas, também foi proposto por Naeem (2022). Nele, a incorporação de ácido gálico demonstrou excelentes propriedades antioxidante e mostraram-se uma opção eficaz no tratamento das feridas.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes de alginato contendo a lectina SteLL e avaliar os potenciais cicatrizantes e antimicrobianos em lesões cutâneas infectadas por *S. aureus* resistente.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver filmes de alginato contendo SteLL;
- Analisar a incorporação das lectinas nos filmes de alginato;
- Comparar as ações cicatrizantes e antissépticas dos filmes com a SteLL no modelo de feridas contaminadas por *S. aureus* em camundongos;
- Avaliar o envolvimento das citocinas inflamatórias e fatores de crescimento na ação cicatrizante.

4. METODOLOGIA

4.1. OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A SteLL foi purificada a partir de folhas secas de *S. teribinthifolius* (coletada em Recife, Brasil) usando a metodologia anteriormente descrita por Gomes et al. (2013).. Em suma, o pó obtido das folhas secas (20 g) foi diluído em solução salina (NaCl 0,15 M) e submetido a agitação 4°C. Após 16 h, o extrato filtrado foi centrifugado (3000 rpm por 15 min) e depois submetido a cromatografia em coluna de quitina (Sigma- Aldrich, MO, EUA). A eluição foi realizada usando Ácido acético (1 M) e a SteLL obtida após diálise (10 kDa cut-off membrane; Sigma Aldrich) com água destilada (4 h, 4° C) e logo após com 0.15 M NaCl (4 h, 4° C). A concentração de proteínas foi determinada de acordo com Lowry et al. (1951).

4.2. PREPARAÇÃO DOS FILMES DE ALGINATO INCORPORADOS COM SteLL

As amostras de lectina foram adicionadas às soluções filmogênicas (Alginato de Sódio + Glicerol) de modo a alcançar valores específicos (100 µg/mL). As soluções filmogênicas contendo SteLL permaneceram sob agitação por 30 min a 25°C. Volumes de 15 mL das soluções filmogênicas foram depositados em placas de Petri com 9 cm de diâmetro (em condições assépticas), as quais foram levadas à estufa a 30 °C para obtenção dos filmes.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

4.3.1. Rugosidade

A análise de rugosidade foi realizada através de rugosímetro digital (Mitutoyo SJ-201, Japão). Para isso, os filmes foram recortados e padronizados no tamanho de 1 cm² e então foram executadas nove leituras em cada grupo (Alg; Alg + SteLL), em pontos específicos do material. O comprimento de amostragem (*cutoff*) utilizado foi de 4mm, considerando intervalos de 0,8 mm para medição a uma velocidade de 0,5 mm/s para obter os valores de rugosidade média (RA) sendo tais valores escolhidos de acordo com a recomendação das normas ISO 4288 (1996) e ASME B46.1 (2002).

4.3.2. Coloração

Os aspectos de coloração foram observados e determinados de acordo com a metodologia proposta por Gennadios et al. (1996). Dessa forma, os testes foram realizados a fim de se verificar quantitativamente a influência da incorporação da lectina à solução filmogênica sobre o aspecto visual dos filmes, característica relevante do ponto de vista de atratividade para potenciais usuários. A análise foi realizada em triplicata com auxílio de espectrofotômetro portátil (VITA Easy Shade IV®, EUA) que adota o padrão CIELAB. Neste sistema, a luminosidade e a cor são determinadas pelos parâmetros L, a e b. O parâmetro “L” corresponde a luminosidade e varia de 0 (preto) a 100 (branco) e os parâmetro a e b correspondem a índices de cor, onde o parâmetro “a” varia de -60 (verde) a +60 (vermelho) e o parâmetro “b” varia de -60 (azul) a +60 (amarelo).

A obtenção destes parâmetros permite calcular a tonalidade métrica (Hue), que indica a cor do material; o croma métrica (Cr), relacionado à intensidade de cor, em uma escala de 0 a 16; e a diferença de cor em relação a um padrão (ΔE), que foi definido como sendo o filme apenas com alginato e glicerol. Os cálculos foram realizados de acordo com as seguintes equações:

$$\text{Hue} = \arctan(b/a)$$

$$\text{Cr} = \sqrt{a^2+b^2}$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

4.3.3. pH dos filmes

Para avaliar o pH da superfície filmogênica, os filmes foram recortados do modo que obtivessem a área de 1cm², onde foram deixados intumescer por 2 horas em placa de ágar a 2%(p/v). O pH dos filmes foi medido colocando a ponta do eletrodo de vidro próxima a superfície do filme, aguardando que se equilibrasse por 1 minuto (PATEL; SHAH; TIWARI, 2015).

4.3.4. Intumescimento

A análise de grau de intumescimento foi realizada conforme Mohamed, Haider e Mohamed Ali (2011), com algumas modificações. As amostras de filme (2 cm de diâmetro) foram previamente colocadas em dessecadores contendo sílica gel por 10 dias. Após este período as amostras de filme foram imersas em 30 mL de solução tampão fosfato salino (pH 6,8) à 37 °C em suporte apropriado para pesagem. As amostras então foram retiradas em intervalos de 30 segundos e então pesadas. O grau de intumescimento (%) foi determinado de acordo com a equação:

$$I = \frac{m_i - m_f}{m_f} \times 100$$

Onde: I = intumescimento (%), m_i = massa inicial da amostra (g), m_f = massa úmida nos diferentes tempos da amostra (g) (MOHAMED; HAIDER; ALI, 2011).

4.3.5. Propriedades mecânicas

As propriedades de tração dos filmes foram determinadas usando o aparelho Universal Testing Machine M500 testométrica (100 kN). Os filmes foram cortados nas dimensões de 1,5 × 3 cm e a deformação de 100 N/mm² foi aplicada para a análise de alongamento percentual, resistência à tração, pico de carga e módulo de Young. A resistência de união foi medida aplicando uma taxa de carregamento de 4 mm/min. Para isso, a amostra foi devidamente fixada ao extensômetro e à célula de carga para que o alongamento e a carga de teste possam ser registrados com precisão.

O Percentual de alongamento foi calculado pela equação:

$$\text{Percentual de alongamento}(\%) = \frac{L}{L_0} \times 100$$

Onde: “L” era o comprimento máximo antes da quebra, enquanto “Lo” era o comprimento original da amostra.

O módulo de Young foi calculado como [6].

$$\text{Módulo de Young} = \frac{\text{Estresse}}{\text{Esforço}}$$

4.4. LINHAGEM BACTERIANA

Para a avaliação da atividade antibacteriana e cicatrizante dos filmes de alginato contendo SteLL sobre feridas cutâneas infectadas, foi utilizada uma amostra clínica de *S. aureus* SA01, uma cepa resistente obtida de caso de infecção sanguínea (MONTEIRO et al., 2019).

4.5. ANIMAIS E CONDIÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi conduzido de acordo com as normas preconizadas e o protocolo experimental que já tem sido realizado no biotério da Universidade CEUMA. O projeto obteve aprovação do Comitê de Ética de Utilização Animal da Universidade CEUMA (Protocolo 0024/21). Foram utilizados camundongos Swiss (fêmeas) com 6 a 8 semanas de vida, procedentes do biotério da Universidade CEUMA, onde foram mantidos e acompanhados durante o experimento em ambiente com temperatura, umidade e luminosidade controlados.

4.6. ESTUDOS COM ANIMAIS

4.6.1. Protocolo para ferida induzida

Os camundongos foram previamente anestesiados com cloridrato de xilazina 1 mg/kg e cloreto de cetamina 50 mg/kg por via intramuscular. Após a anestesia, foi realizada a tricotomia e a antisepsia da região dorsal torácica com álcool etílico a 70% e solução salina estéril NaCl 150 mM. A pele foi demarcada e a ferida cutânea asséptica foi produzida por excisão da pele. Em seguida, uma suspensão bacteriana recente de *S. aureus* SA01 (30 µL, $1,5 \times 10^8$ UFC/mL) foi adicionado à lesão (FIGUEIREDO et al., 2023). O tratamento tópico com os filmes ou com a salina iniciou-se um dia após a infecção das feridas e foi realizado diariamente durante 7 dias. Os camundongos (n=6/grupo) foram divididos em três grupos conforme apresentados a seguir:

- ✓ **G1:** animais com feridas infectadas tratados com salina (50 µL);
- ✓ **G2:** animais com feridas infectadas tratados com o filme de alginato;
- ✓ **G3:** animais com feridas infectadas tratados com o filme de alginato contendo SteLL.

4.6.2. Avaliação clínica da lesão

As feridas foram avaliadas diariamente, observando-se na ferida e na área circunscrita os parâmetros inflamatórios e característica das crostas, presença necrose, coloração e aspecto do tecido de granulação e cicatricial (FERRO et al., 2019). Todas as feridas foram fotografadas e medidas seus diâmetros para a mensuração da área da lesão.

4.6.3. Contagem de bactérias viáveis

O lado dorsal da ferida foi removido e usado para contagem de bactérias. Um mililitro de PBS foi adicionado ao tubo e foi homogeneizado por 90 segundos a 5000 rpm. Os resultados da solução foram diluídos (1:10), plaqueados em Agar Manitol Salgado e incubados a 37°C por 24 h.

4.6.4. Dosagem de mediadores inflamatórios e fatores de crescimento

Os níveis de citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-12p70, MCP-1, TNF- α) foram quantificados em amostras de lesão através do kit Mouse Inflammation Kit BDTM Cytometric Bead Array (CBA; BD Biosciences, São Paulo, Brazil). A análise foi realizada no citometro de fluxo BD Accuri C6 seguindo as instruções dos fabricantes. Os resultados foram analisados usando o software CBA FCAP Array (BD Biosciences, São Paulo, Brazil) e expressos em pg/g por grama de tecido.

4.6.5. Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em quadruplicata e expressos como média $\pm$ desvio padrão. As porcentagens de inibição foram calculadas como a média dos valores obtidos para cada experimento. Os gráficos e avaliação estatística dos resultados foram realizados no Graphpad Prism 5.0. Os dados foram analisados por One-Way Analysis of Variance (ANOVA), seguido do teste de Bonferroni (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). Experimentos com $p < 0,05$ foram considerados significativos e estão descritos na seção de resultados.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

5.1.1. Coloração e pH

Quanto a luminosidade (L), houve diferenças relevantes ($p < 0.0001$) entre os grupos analisados. Tais filmes apresentaram valores de $84,79 \pm 4,44$ (ALG) e $97,71 \pm 3,09$ (ALG + SteLL) quanto a equivalência de luz. Este parâmetro demonstra que os filmes com a lectina se apresentam mais luminosos e mais claros que o grupo controle como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2- Análise do pH e dos parâmetros de coloração dos filmes à base de alginato

Filmes	pH	L	A	b	Hue	Croma	ΔE
ALG	4,57	84,79 $\pm 4,44^a$	-2,09 $\pm 0,99^a$	12,54 $\pm 2,46^a$	-0,18 $\pm 0,12^a$	12,79 $\pm 2,25^a$	-
ALG + SteLL	4,64	97,71 $\pm 3,09^b$	-1,29 $\pm 0,84^a$	11,18 $\pm 2,35^a$	0,70 $\pm 0,26^a$	1,92 $\pm 2,36^b$	19,20 $\pm 2,80$

L: Luminosidade; a e b: índices de cor; Hue: tonalidade métrica; ΔE : diferença de cor em relação a um padrão (Alginato); ALG: Filme à base de alginato, ALG + SteLL: Filme à base de alginato incorporado com SteLL. Em cada coluna, letras sobrescritas diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor

Embora não tenham sido detectados diferenças estatísticas ($p > 0,05$), os menores valores de *a* e *b* (que correspondem a índices de cor) nos filmes com SteLL revelam uma tendência para amostras menos esverdeadas e mais amareladas. Consequentemente tais índices desencadearam um maior valor de tonalidade métrica (Hue), indicando que os filmes tratados com SteLL apresentam nuances de cor maior, em comparação com os filmes somente com alginato. Em adição, a Croma métrica (Cr), parâmetro relacionado a intensidade de cor, indicou maior valor ao grupo controle quando comparado com àquele incorporado com a lectina SteLL ($p < 0,0001$) (Tabela 2). A partir do ΔE , foi possível detectar a diferença de cor entre os grupos, onde grupo controle foi atribuído como padrão de referência (Tabela 2).

Com relação ao pH dos filmes, este é um parâmetro utilizado para avaliar a acidez da amostra e desta forma, possível sugerir melhores locais de aplicabilidade dos filmes. Após a medição do pH dos filmes, foi obtido valores de 4,57 para os filmes

do grupo controle e 4,64 para as amostras contendo a lectina (Tabela 2). Este resultado afirma que a lectina SteLL, na concentração testada teve a capacidade de alterar o pH dos filmes, tornando-os levemente mais alcalinos.

5.1.2. Morfologia dos filmes

As micrografias das superfícies dos filmes de alginato de sódio na presença ou não da lectina SteLL, são apresentados na figura 1. As figuras 1a e 1b apresentam, respectivamente, as imagens de MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) para o filme de alginato com resolução de 100, 250 e 500 vezes e as micrografias dos filmes de alginato com a incorporação da lectina, nas mesmas resoluções. Nelas, é possível observar diferentes aspectos nas superfícies dos filmes através da microscopia, influenciados ou não, pela presença de SteLL.

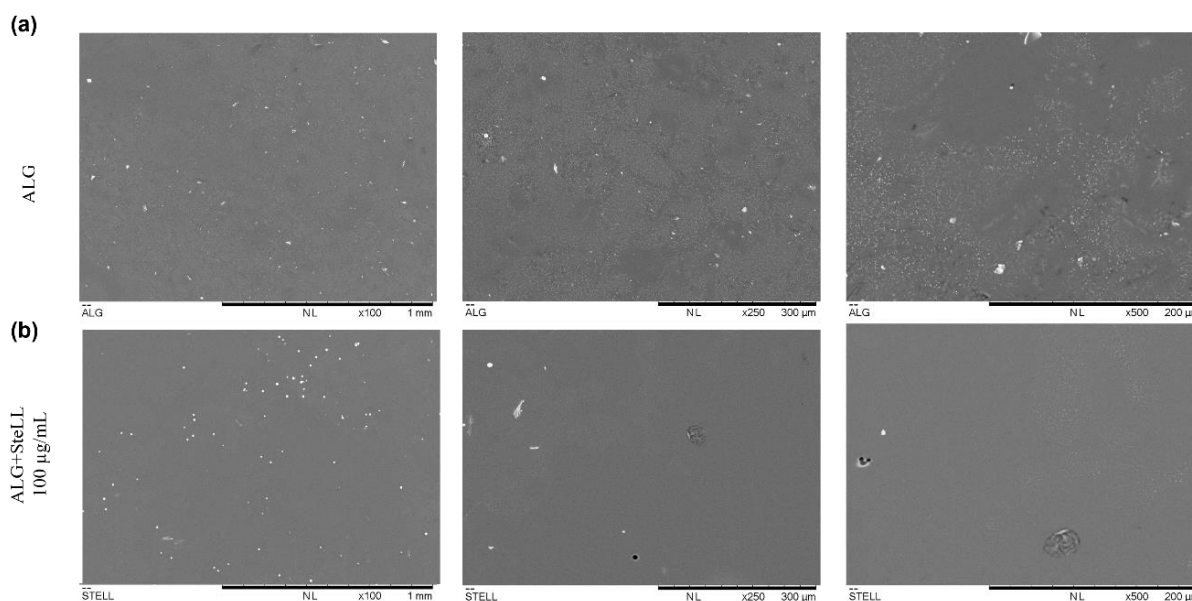
Em a, a micrografia de superfície para os filmes somente com alginato de sódio, mostra a presença de domínios de agregados do polímero dispersos no filme, cuja presença de particulado que conferem aspecto texturizado. Em b, onde as imagens apresentam o aspecto da superfície dos filmes de alginato com a lectina SteLL incorporada à sua formulação, a análise mostra uma estrutura mais homogênea, lisa e densa, porém ainda apresenta domínios de agregados do polímero dispersos em sua estrutura.

Em suma, nos filmes com a lectina, a micrografia de superfície do filme de alginato mostrou uma maior homogeneidade, além do desaparecimento dos agregados, sugerindo a participação de SteLL nesse processo. Tal comportamento pode ser explicado quando consideramos que os polímeros do grupo alginato, sintetizados neste trabalho, possuem o aspecto de material com baixa mistura por conter maiores proporções de alginato e agente plastificante (Glicerol) em sua formulação.

Essa análise das características morfológicas dos filmes poliméricos é uma etapa essencial no seu desenvolvimento destes polímeros, sobretudo para se avaliar a existência de bolhas de ar e/ou rachaduras, de modo a garantir a integridade do material. Sendo assim, foi observado que apesar dos grupos testados demonstrarem aspectos de suas superfícies aparentemente distintas, tais diferenças visuais não

foram significativas, já que ambos os filmes apresentaram uma superfície rugosa, sem rachaduras e homogênea.

Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para os filmes de alginato de sódio (a) e filmes de alginato contendo SteLL (b) com magnificação de 100, 250 e 500x.

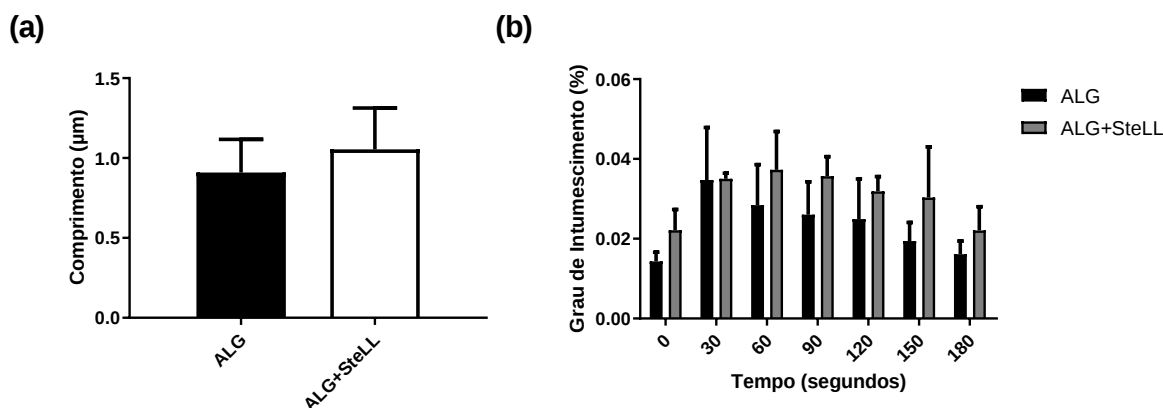


Fonte: Elaborado pelo autor

5.1.3. Rugosidade

No que se refere a rugosidade dos filmes, este parâmetro está diretamente ligado ao ângulo de contato e adesão desse material, de modo que os filmes mais rugosos podem favorecer uma maior fixação de células. Dessa forma, a figura 2a demonstra que foram avaliados os índices de rugosidade (RA) das amostras, constatando-se que os filmes do grupo controle (ALG) apresentaram valor médio de $0,90 \pm 0,1848 \mu\text{m}$. No entanto, os filmes com a lectina SteLL incorporada apresentaram rugosidade de $1,05 \pm 0,3087 \mu\text{m}$, valor que demonstra diferenças consideradas não significativas quando comparado ao grupo controle ($p > 0,05$).

Figura 2. Avaliação da rugosidade média dos filmes de alginato (a) e do comportamento hídrico de absorção em água destilada (b).



Fonte: Elaborado pelo autor

5.1.4. Intumescimento

A capacidade de intumescimento dos filmes em água destilada se deu por um tempo de 180 segundos totais e pesagem da massa do material a cada 30 segundos. O ensaio teve como propósito, mostrar o comportamento hídrico dos filmes de alginato e daqueles cuja lectina foi incorporada. Como resultado, o processo de intumescimento manteve valores semelhantes de absorção para os diferentes grupos testados, mostrando que a lectina não interfere ou altera a capacidade de absorção dos filmes.

Além disso, conforme apresentado na figura 2b, o ensaio de comportamento hídrico permitiu evidenciar que os filmes apresentaram maior grau de absorção durante os primeiros 60 segundos do teste. Nos intervalos de tempo consecutivos, foi possível observar a rápida solubilização do material e a consequente perda do conteúdo aquoso e degeneração da matriz estrutural do filme de modo que, a cada intervalo de pesagem havia a perda de massa, inclusive em relação à massa inicial do filme seco, tornando os filmes totalmente solubilizados em água destilada ao final do teste após 180 segundos.

5.1.5. Propriedades mecânicas

Ademais, determinadas propriedades mecânicas como a tração força, a taxa de alongamento percentual, o pico de carga e Módulo de Young dos filmes foram

avaliadas de modo a determinar sua resistência e elasticidade (Tabela 3). Dentre as quais, no entanto, somente a taxa de alongamento percentual exibiu diferenças significativas quando comparadas, demonstrando que incorporação de SteLL aos filmes, os tornaram mais resistentes do que aqueles apenas com alginato em sua formulação.

Tabela 3- Análise das propriedades mecânicas dos filmes à base de alginato.

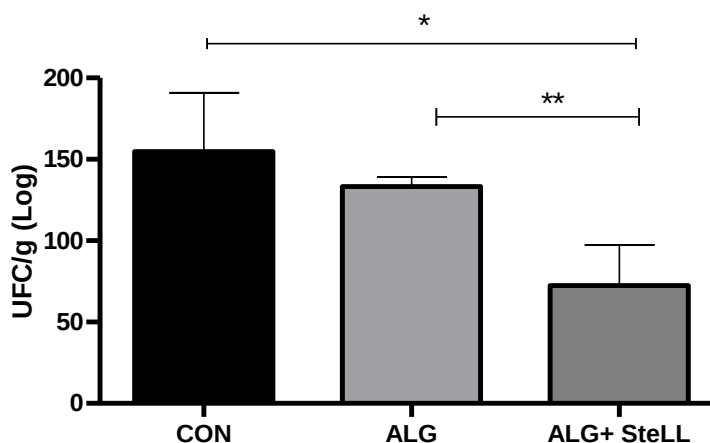
Filme	Percentual de alongamento	Pico de carga (N)	Tração força (Mpa)	Módulo de Young (Mpa)
ALG	127,32 ± 6,24 ^a	1,08 ± 0,33 ^a	0,36 ± 0,11 ^a	0,26 ± 0,09 ^a
ALG + SteLL	117,20 ± 2,58 ^b	0,54 ± 0,21 ^a	0,18 ± 0,07 ^a	0,18 ± 0,08 ^a

Fonte: Elaborado pelo autor

5.2. CARGA BACTERIANA

A figura 3 mostra os efeitos do tratamento tópico dos filmes de alginato, contendo ou não a lectina SteLL (100 µg/mL), na carga bacteriana das feridas infectadas por *S. aureus* resistente após 7 dias de tratamento. Como já esperado, o grupo controle infectado e não tratado apresentou ao final da terapia, um valor de carga bacteriana significativamente maior que aqueles expressos no grupo tratado com os filmes contendo a lectina SteLL ($p < 0,01$). No entanto, o mesmo resultado não foi observado no grupo tratado com os filmes somente com alginato que apresentou valores de UFC estatisticamente similares ao grupo infectado sem tratamento ($p < 0,05$).

Figura 3. Efeito do tratamento tópico com filmes de alginato contendo SteLL (100 µg/mL) e de alginato na carga bacteriana das feridas contaminadas por *Staphylococcus aureus* resistente após 7 dias de tratamento. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.



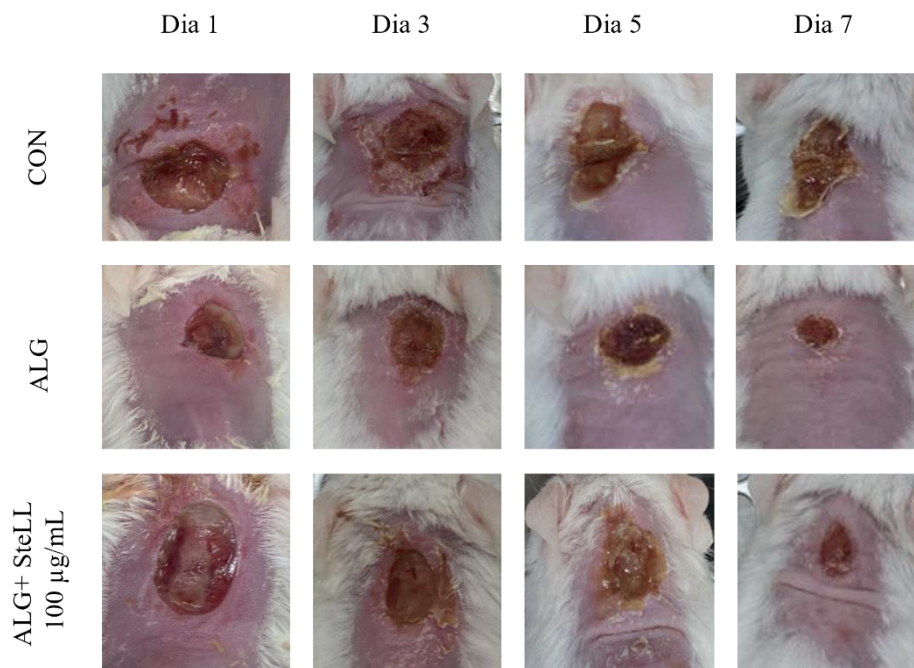
Fonte: Elaborado pelo autor

5.3. ÁREA DAS FERIDAS

Em seguida, foi avaliado a eficácia do tratamento tópico usando SteLL na redução da área das feridas excisionais contaminadas por *S. aureus* (Fig. 4). A análise macroscópica das lesões mostrou, como esperado, que a presença de *S. aureus* com resistência, retardou o processo de cicatrização dos animais no grupo infectado, sobretudo quando comparado aos demais grupos. Ademais, observou-se que a infecção causada por *S. aureus* SA01 promoveu, ao longo dos dias de tratamento, um quadro de dermatite na área circunscrita à lesão, acompanhada do aumento simultâneo de parâmetros inflamatórios e área da ferida que ocasionou posteriormente, a piora do quadro clínico das feridas.

O tratamento com SteLL promoveu uma cicatrização mais rápida com formação antecipada de tecido de granulação em comparação com os outros dois grupos testados. Também foi possível observar uma melhor epitelização nos animais tratados com SteLL, além do tratamento tópico com SteLL resultar em maiores níveis de contração da ferida quando comparado com o grupo infectado não tratado (Fig. 4).

Figura 4. Análise macroscópica do efeito do tratamento com filmes de alginato contendo SteLL (100 µg/mL) em lesões cutâneas infectadas por *Staphylococcus aureus*.

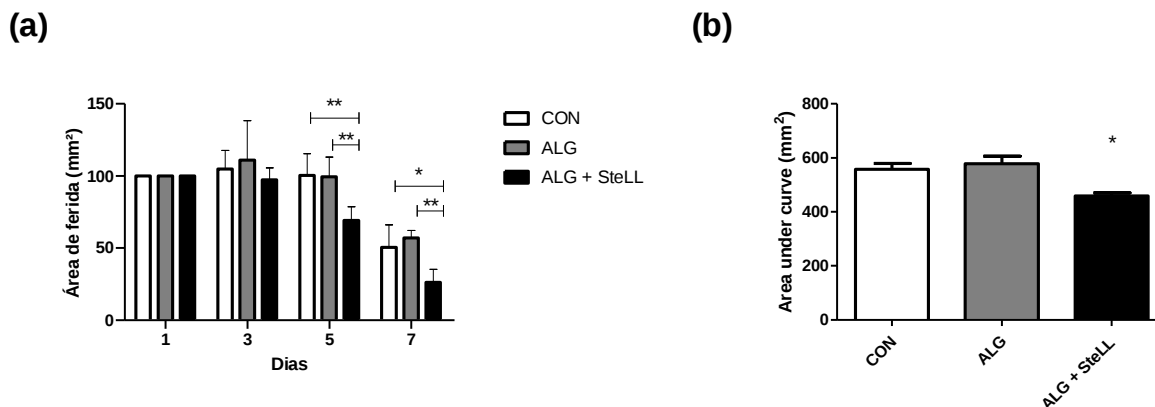


Fonte: Elaborado pelo autor

Os efeitos do tratamento com os filmes na área da ferida dos grupos controle, alginato e filmes com SteLL são mostrados na figura 5. Na figura 5a, os valores das áreas foram expressos em porcentagem (%), onde a área no primeiro dia de tratamento representa 100%. Em relação ao grupo controle, os dados mostram que ao final dos 7 dias de observação a média de contração foi de $49,43 \pm 15,48\%$. Diferenças não significativas entre o tamanho da ferida dos animais tratados com o grupo não tratado e os tratados com os filmes de alginato foram observadas. Para os animais tratados com os filmes de alginato, a média de contração foi de $43,03 \pm 5,22\%$.

Por outro lado, o grupo tratado com os filmes contendo SteLL apresentaram os melhores valores de cicatrização, com diferenças significativas em relação os outros grupos nos dias 5 e 7 ($p < 0,05$). A média de contração ao fim do tratamento para este grupo foi de $73,80 \pm 9,03\%$. Tal efeito é destacado pela análise da área sob a curva (AUC) dos dados da área da ferida (Fig. 5b). Os valores de AUC para os grupos controle e alginato foram de $557,36 \pm 49,64$ e $578,07 \pm 68,06$, respectivamente; enquanto os animais tratados com SteLL tiveram valores de AUC de $458,95 \pm 23,06$ ($p > 0,05$).

Figura 5. Efeito do tratamento tópico com filme de alginato contendo SteLL (100 µg/mL) e de alginato na área da lesão cutânea contaminada por *Staphylococcus aureus* resistente. (a) Área expressa em porcentagem (%). (b) Área sob a curva (AUC) da área da ferida. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.



Fonte: Elaborado pelo autor

5.4.1. Parâmetros inflamatórios

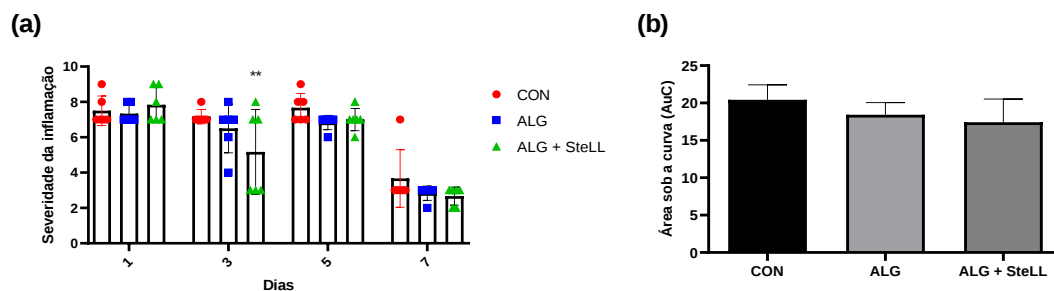
Com relação aos parâmetros inflamatórios, a severidade da inflamação é representada na figura 6 (a e b). Para isso, a gravidade da infecção da ferida, foi avaliada através de um sistema de pontuação baseada em vários parâmetros como o tipo de exsudato presente, tipo de tecido, presença de edema, coloração da pele ao redor da lesão e tamanho da ferida.

É possível que observar que grupo de animais correspondente ao controle infectado exibiu, como já esperado, pontuações ligeiramente altas e, portanto, apresentou uma ligeira diferença quando comparado demais grupos (Fig. 6a). Enquanto isso, o tratamento tópico com os filmes de alginato, tanto sozinho quanto com os filmes contendo a lectina, resultou na redução do escore de gravidade sobretudo entre os dias 1 e 3 do tratamento em relação ao grupo infectado não tratado, mostrando que o tratamento com SteLL resulta na diminuição desses parâmetros inflamatórios.

A confirmação desses resultados pode ser feita através da análise de área sob a curva (Fig. 6b), onde o grupo controle infectado apresentou a maior média AUC ($\pm 2,01 \ 20,42 \text{ mm}^2$) enquanto os camundongos tratados com filmes de alginato ($\pm 1,63 \ 18,42 \text{ mm}^2$) e os animais tratados com SteLL ($\pm 3,12 \ 17,42 \text{ mm}^2$). Sendo assim, a

análise do escore através dos parâmetros clínicos exibiu dados que sustentam a hipótese de que a presença do *S. aureus* SA01 com resistência, promoveu um quadro inflamatório mais grave no grupo não tratado pelos filmes pois a lectina diminui a ocorrência de tal processo de maneira exacerbada.

Figura 6. Efeito do tratamento tópico com filme de alginato contendo SteLL (100 µg/mL) e de alginato na severidade da inflamação nos animais submetidos à lesão cutânea contaminada por uma amostra clínica de *Staphylococcus aureus*. (a) Análise dos parâmetros clínicos dos grupos experimentais durante o período de avaliação clínica. (b) Área sob a curva (AUC) dos parâmetros clínicos dos animais estudados.



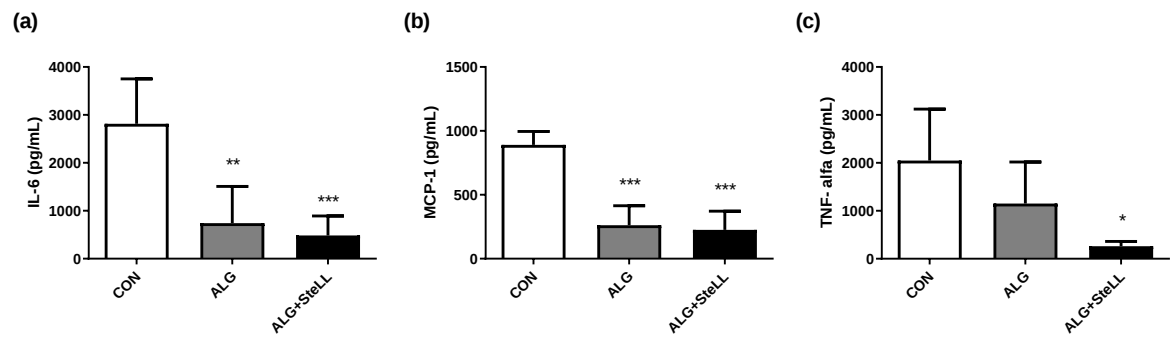
**Diferença estatística em relação ao grupo controle (p<0.01)

Fonte: Elaborado pelo autor

5.4.2. Liberação de citocinas

Foram avaliadas a expressão de citocinas pró (IL-6, IL-12p70, TNF- α e MCP-1) e anti-inflamatórias (IL-10) para determinar a presença ou não de influência em sua liberação. Ao fim do tratamento, conforme apresentado na figura 7, as lesões cutâneas expressaram menores níveis de IL-6, TNF- α e MCP-1 em relação aos grupos infectado e tratado apenas com filmes de alginato. Desse modo, é possível demonstrar que a terapia com filmes com SteLL influencia diretamente no padrão de liberação de citocinas pró inflamatórias e portanto, diminuem essa resposta de maneira exacerbada e que outrora, prejudicaria o processo de cicatrização. No entanto, essa diminuição não é reproduzida também com relação a citocinas anti-inflamatórias.

Figura 7. Efeitos dos filmes de alginato na liberação de citocinas em camundongos infectados com *S. aureus* resistente. (a) IL-6; (b) MCP-1 e (c) TNF-alfa.



*Diferenças estatísticas em relação ao grupo controle ($p < 0.05$); **Diferenças estatísticas em relação ao grupo controle ($p < 0.01$); ***Diferenças estatísticas em relação ao grupo controle ($p < 0.001$)

Fonte: Elaborado pelo autor

6. DISCUSSÃO

Quanto aos filmes, estes foram desenvolvidos de modo a incorporar a lectina SteLL. Tal formulação, visou o tratamento de feridas cutâneas infectadas por *S. aureus* resistente, sobretudo, pelas propriedades anti- infectivas e aplicações biotecnológicas desta glicoproteína no polímero formado por alginato. Estes filmes, são amplamente explorados por serem considerados candidatos promissores ao tratamento de feridas cutâneas pela capacidade de atuar como um sistema de liberação para medicamentos. Além disso, essa rede polimérica fornece propriedades mecânicas, térmicas e estabilidade, resistência química e capacidade de intumescimento que garantem biodegradabilidade, boa estabilidade, não citotoxicidade, biocompatibilidade, não imunogenicidade e eficiência econômica a esse material (MOROZKINA et al., 2022; SHAIKH et al., 2021).

Os filmes formulados foram submetidos a testes para caracterização físico-química e de suas propriedades mecânicas. Em relação a coloração, a adição da lectina SteLL aos filmes de alginato provocou mudança nos parâmetros de tonalidade dos filmes, demonstrando assim, que houve a incorporação desse composto à sua estrutura, alterando os padrões de cor normal destes polímeros quando comparados ao grupo controle. Quanto ao pH, os filmes apresentaram-se dentro da faixa adequada para utilização no tratamento de feridas cutâneas, tendo em vista que produtos de limpeza e cuidados com a pele devem atingir um nível de pH de 4,0–5,0 para a manutenção do pH, fisiologia da epiderme e microflora cutânea (BLAAK, STAIB, 2018; BOISMAL et al., 2020).

A rugosidade dos filmes é um parâmetro fundamental a ser avaliado no desenvolvimento de novas formulações, tendo em vista que está intrinsecamente ligado ao ângulo de contato e a adesão desse material à superfícies (BOYADZHIEVA et al., 2018; MAKAREMI et al., 2019). Filmes com superfícies mais rugosas podem favorecer a fixação de células (Kouser et al., 2021), logo os filmes de alginato incorporados com a lectina SteLL seriam mais adequados em aplicações biológicas, visto que apresentaram valor médio de rugosidade maior.

Ademais, demonstramos que os filmes à base de alginato contendo SteLL, possuem como característica principal, sua rápida desintegração, de modo que a dissolução destas formulações aconteceu de forma completa em aproximadamente 1 minuto. A rápida dispersão de compostos ativos é uma característica comum aos filmes orodispersíveis, que são definidos como formas farmacêuticas sólidas cuja

principal função é a veiculação e liberação de biomoléculas de forma rápida quando colocados sobre a língua ou na cavidade oral. (RATHI et al., 2011; HE et al., 2021; GUPTA et al., 2021).

Dados anteriores mostraram que a rápida desintegração dos filmes se deu sobretudo, pela ausência do processo de reticulação no desenvolvimento dos filmes, levando a ausência de ligações cruzadas e menor compactação da matriz polimérica (PAVLATH, A. E.; GROSSETT, C.; CAMIRAND, 1999). De modo geral, a reticulação com cátions polivalentes como o cálcio, são capazes de aprimorar as propriedades de resistência à umidade e resistência mecânica, diminuindo sua solubilidade em água (GIZ et al., 2020). Em filmes reticulados, as moléculas permanecem fortemente ligadas à estrutura tridimensional do polímero dificultando, assim, sua liberação para a solução (REZVANIAN et al., 2017).

Neste trabalho foram realizados, além formulação dos filmes polissacarídicos de alginato incorporados com a lectina SteLL e a avaliação da atividade cicatrizante desta lectina, visando o tratamento de feridas cutâneas infectadas, a análise desta atividade em modelo animal. Sendo assim, a segunda etapa do trabalho consistiu na análise *in vivo* do potencial de SteLL na cicatrização de feridas e o consequente efeito na redução da carga da bacteriana das lesões em um modelo de infecção induzida em camundongos por *Staphylococcus aureus*, um patógeno oportunista mais comumente encontrado em feridas cutâneas (SERRA et al., 2015; PASTAR et al., 2021; IWAKAMOTO et al., 2019).

Os resultados apresentados demonstram que o tratamento tópico com a lectina SteLL foi capaz de reduzir fortemente a carga bacteriana presente nas feridas infectadas por *S. aureus*. Desse modo, a redução significativa na contagem de bactérias no leito das lesões, são dados considerados fundamentalmente importantes sobretudo, por se tratar de uma infecção desencadeada por uma linhagem de *S. aureus* resistente. Sendo assim, tais resultados reforçam e colaboram com os resultados anteriormente descritos por Gomes et al (2013) que demonstraram que SteLL exibiu a capacidade de inibir o crescimento de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas de interesse clínico, sobretudo de *S. aureus*. A maior capacidade da SteLL de inibir *S. aureus* estaria relacionada ao fato desta lectina se ligar especificamente a N - acetilglucosamina (LIMA et al., 2019), um carboidrato presente

na parede celular de bactérias Gram-positivas (DZIARSKI et al. 2000; WUTTIKUL et al., 2021).

Através de modelos alternativos de infecção (*in vitro* e *in vivo*), Lima et al. (2019) descreveram que larvas de *Galleria mellonella* infectadas por *S. aureus* e tratadas com SteLL tiveram uma sobrevivência maior em comparação as larvas não tratadas, sendo observado uma diminuição da carga bacteriana na hemolinfa. No mesmo trabalho, foram realizados estudos de infecção *in vitro* utilizando macrófagos infectados por *S. aureus*. A atividade antibacteriana da lectina desenvolveu-se por meio do estímulo da produção de espécies reativas e a capacidade de SteLL de estimular a produção de óxido nítrico (NO), superóxido mitocondrial e diminuir a síntese de estafiloxantina na superfície desta bactéria fez com que *S. aureus* se tornasse mais sensível a fagocitose e ação de espécies reativas. Além disso, SteLL impediu a divisão celular e induziu a expressão do gene *recA*, que é essencial para o reparo do DNA (LIMA et al., 2019; ABBAS; ELSHERBIN; SHALDAM, 2019).

S. aureus é um patógeno conhecidamente associado a casos graves de infecções cutâneas (CHEUNG et al., 2021). Tendo isso em vista, no presente trabalho foram analisadas as características clínicas das lesões, a fim de relacionar a comprovada ação antimicrobiana da lectina SteLL à diminuição da severidade de inflamação dos animais tratados com os filmes contendo a lectina e diminuição mais acelerada da área da ferida em comparação ao grupo infectado. Desse modo, nossos resultados mostraram que houve, ao fim do tratamento, efeitos cicatrizantes significativos nas feridas infectadas com a linhagem de *S. aureus* MRSA testada.

Além de sua atividade antimicrobiana, outro potencial frequentemente relacionado a lectina SteLL em estudos anteriores, diz respeito a ação imunomoduladora deste composto. Tal característica refere-se à modulação da produção de citocinas e óxido nítrico e conseqüentemente está diretamente envolvida e com a melhora do quadro clínico das lesões. Dos Santos et al. (2020) mostraram que SteLL além de não causar efeitos citotóxicos em células humanas saudáveis, é capaz de estimular a liberação de citocinas específicas por esplenócitos de camundongos sem causar estresse celular induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-2, TNF- α , IFN- γ e IL-17) reguladas por IL-4 (citocina anti-inflamatória), de modo a garantir que não ocorra uma resposta inflamatória exacerbada.

O efeito de SteLL na resposta imunológica também é demonstrado por Lima et al. (2019). Neste trabalho, avaliou-se a influência da lectina no padrão de liberação de citocinas de macrófagos não infectados e infectados com *S. aureus* e o tratamento resultou em um aumento significativo de IL-6, IL-10, IL-17A e TNF- α em comparação com células não tratadas. Tais citocinas pró inflamatórias são essenciais no combate a determinados microorganismos e consequentemente no reparo tecidual (LIMA et al., 2019). De modo semelhante, no presente trabalho também foi demonstrado o efeito de SteLL na modulação de citocinas em camundongos infectados com linhagem de *S. aureus* resistente. Sendo assim, foi possível constatar que a terapia com a lectina influencia no padrão de liberação das citocinas pró inflamatórias: MPC-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ e consequentemente auxilia diretamente no processo de cicatrização, através da diminuição de uma resposta inflamatória exacerbada que em tais condições, interrompe o reparo tecidual (BONIAKOWSKI et al., 2017; OISHI, MANABE, 2018).

Além de SteLL, outras lectinas de plantas são descritas na literatura por sua ação imunomoduladora. A exemplo, Cramol (pCramoll ou Cramoll 1,4), uma lectina ligadora de glicose/manose e isolada a partir das sementes de *Cratylia*. Dados anteriores obtidos através de estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram que Cramoll modula a liberação de mediadores pró-inflamatórios e mitogênicos (como IL-1 β , IL2, IL-6, IL-17, IL-22, IL-23, IFN- γ e TNF- α), além de induzir a geração de memória imunológica (DE OLIVEIRA et al., 2013; SUAREZ CARNEIRO et al., 2021; DA SILVA et al., 2015). AHL, por sua vez, é uma lectina purificada através das folhas de *Artocarpus hypargyreus* e que possui comprovada ação imunomoduladora. Tal atividade foi avaliada usando linfócitos periféricos humanos e macrófagos peritoneais de rato e resultou na ativação de linfócitos T humanos, induziu a liberação de IFN- γ , TNF- α e IL6, estimulou a produção de óxido nítrico (NO) e citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α e IL-12, em macrófagos peritoneais de ratos (ZENG et al., 2019).

5. CONCLUSÃO

Associadamente, os dados encontrados no presente trabalho, sugerem que os filmes de alginato incorporados com SteLL são potenciais alvos na prospecção de compostos que atuam na cicatrização de feridas infectadas por *S. aureus* resistente. No que diz respeito a linhagem utilizada, o tratamento com os filmes provoca a diminuição da severidade das feridas, além da redução da carga bacteriana no leito das lesões e consequente agilidade no processo de contração e reepitelização da área lesada. Além disso, foi demonstrado que o tratamento com os filmes contendo a lectina age na modulação da resposta inflamatória através da liberação de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, MCP-1 e TNF-alfa. Ademais, no que se refere a caracterização dos filmes, estes apresentam pH, rugosidade e comportamento hídrico ideal para sua utilização, mostrando que podem ser utilizados como alternativa terapêutica para o tratamento de infecções de feridas cutâneas.

REFERÊNCIAS

ABBAS, H. A.; ELSHERBINI, A. M.; SHALDAM, M. A. Glyceryl trinitrate blocks staphyloxanthin and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. **African health sciences**, v. 19, n. 1, p. 1376-1384, 2019.

ABBASI, A. R. S, et al, Bioinspired sodium alginate based thermosensitive hydrogel membranes for accelerated wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, V. 155, p. 751-765, 2020.

AHMAD-MANSOUR, N. et al. “*Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments.” **Toxins**, v. 13, n. 10, p. 677, 2021.

BENEVIDES, R. G. Avaliação do potencial fungicida e Termiticida de uma fração proteica lectínica de sementes do *Platypodium elegans* Vogel e obtenção da lectina purificada. 2008. Universidade Federal do Ceará, 2008.

BEYENE R. T, DERRYBERRY S. L. J. R, BARBUI. A. The Effect of Comorbidities on Wound Healing. **Surg Clin North Am**, v. 100, n. 4, p. 695-705, 2020.

BLAAK J, STAIB P. The Relation of pH and Skin Cleansing. **Curr Probl Dermatol**. v. 54, p. 132-142, 2018.

BOISMAI F, et al. Vieillissement cutané - Physiopathologie et thérapies innovantes Skin aging: Pathophysiology and innovative therapies. **Med Sci (Paris)**, v. 36, n. 12, p. 1163-1172, 2020.

BONIAKOWSKI A. E; KIMBALL A. S; JACOBS, B. N; KUNKEL S. L; GALLAGHER K. A. Macrophage Mediated Inflammation in Normal and Diabetic Wound Healing. **J Immunol**, v. 1, n. 199, p. 17-24, 2017.

BONIFANT, H.; HOLLOWAY S. A review of the effects of ageing on skin integrity and wound healing. **Br J Community Nurs**, v. 1, n. 24, p. 28-33, 2019.

BOYADZHIEVA, S. et al. Thin Film Composite Silicon Elastomers for Cell Culture and Skin Applications: Manufacturing and Characterization. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, v. 2018, n. 137, p. 57573, 2018.

CAMAROTI, J. R. S. L, et al. *Sitophilus zeamais* adults have survival and nutrition affected by *Schinus terebinthifolius* leaf extract and its lectin (SteLL). **Industrial crops and products**. v. 116, p. 81–89, 2018.

CAMAROTI, J.R.S.L., et al., Phytoinsecticides for controlling pests and mosquito vectors of diseases. Green, V. (Ed.), Biocontrol Agents: Types, Applications and Research Insights. **Nova Science Publishers**, p. 147–188, 2017.

CAMAROTI, J. R. S. L. et al. *Sitophilus zeamais* adults have 86 survival and nutrition affected by *Schinus terebinthifolius* leaf extract and its lectin (SteLL). **Industrial Crops and Products**, v. 116. p. 81–89. 2018.

CAO, L., WEI L.; MATA, A.; NISHINARI K.; FANG, Y., Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review, **Carbohydrate Polymers**, v. 242, n. 1, p. 16, 2020.

CHANG, Z.; YADAV, V., LEE, S. C.; HEITMAN, J. Epigenetic mechanisms of drug resistance in fungi. **Fungal Genet Biol**. v. 132, p. 103253, 2019.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**. v. 12, n. 1, p. 547-569, 2021.

CHILDS D. R.; MURTHY A. S. Overview of Wound Healing and Management. **Surg Clin North Am**, v. 97, n. 1, p. 189-207, 2017.

DE CONINCK, T., Van Damme EJM. Review: The multiple roles of plant lectins. **Plant Sci.**, v. 313, p. 1096, 2021.

DEL RIO, M; DE LA CANAL, ;, REGENTE, M. Plant Antifungal Lectins: Mechanism of Action and Targets on Human Pathogenic Fungi. **Curr Protein Pept Sci**. v. 21, n. 3, p. 284-294, 2020.

DE MACEDO, G. H. R. V., et al., Development and characterization of alginate-derived crosslinked hydrogel membranes incorporated with ConA and gentamicin for wound dressing applications. **Biochemical Engineering Journal**, v. 187, 2022.

DE OLIVEIRA, P.S. M.J. et al., *Cratylia mollis* 1, 4 lectin: a new biotechnological tool in IL-6, IL-17A, IL-22, and IL-23 induction and generation of immunological memory, **Biomed. Res. Int**. 2013, 263968.

DODERO, A.; et al. Effect of sodium alginate molecular structure on electrospun membrane cell adhesion, **Materials Science and Engineering**, v. 124, n. 112067, 2021.

DOS SANTOS, A. J. C. A. et al. *Schinus terebinthifolia* leaf lectin (SteLL) is an immunomodulatory agent by altering cytokine release by mice splenocytes. **Biotech**, v. 10, n. 4, p. 1-9, 2020.

DZIARSKI R; MARK, M.; GUPTA, D., Bacterial peptidoglycan binds to tubulin, **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)** - General Subjects, v. 1524, n.1, p. 17-26, 2000.

EL AYADI, A.; JAY, J. W.; PRASAI, A. Current Approaches Targeting the Wound Healing Phases to Attenuate Fibrosis and Scarring. **Int J Mol Sci.**, v. 7, n. 21, p. 1105, 2020.

FERNÁNDEZ ROMERO J. A, et al. Algal and Cyanobacterial Lectins and Their Antimicrobial Properties. **Mar Drugs**, v. 19, n. 12, p. 687, 2021.

FERRO, T. A. F. et al. Topical application of cinnamaldehyde promotes faster healing of skin wounds infected with *Pseudomonas aeruginosa*. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1627, 2019.

FIGUEIREDO, C.S.S.e.S. et al. Immunomodulatory Effects of Cinnamaldehyde in *Staphylococcus aureus* -Infected Wounds. **Molecules**, v. 28, p. 1204, 2023.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A.; FRONING, G. W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, p. 585-589, 1996.

GHALY, P.; ILIOPOULOS, J.; AHMAD, M. The role of nutrition in wound healing: an overview. **Br J Nurs**, v. 30, n. 5, p. 38-42, 2021.

GIZ, A. S. et al. A detailed investigation of the effect of calcium crosslinking and glycerol plasticizing on the physical properties of alginate films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 49–55, 1 abr. 2020.

GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of applied microbiology**, v. 114, n. 3, p. 672-679, 2013.

GUO, Y. et al. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, p. 107, 2020.

GUPTA, M. S, et al. Printing Methods in the Production of Orodispersible Films. **AAPS Pharm Sci Tech**, v. 22, n. 3, p. 129, 2021.

HABANJAR, O.; DIAB-ASSAF, M.; CALDEFIE-CHEZET, F.; DELORT, L. 3D Cell Culture Systems: Tumor Application, Advantages, and Disadvantages. **Int J Mol Sci.**, v. 22, n. 22, p. 12200, 2021.

HE, M. et al. Recent advances of oral film as platform for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 604, p. 120759, 2021.

IWAMOTO K.; MORIWAKI M.; MIYAKE R; HIDE, M. *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: Strain-specific cell wall proteins and skin immunity. **Allergol Int.**, v. 68, n. 3, p. 309-315, 2019.

JIANG Y.; WANG, Y.; LI, Q.; YU, C.; CHU, W. Natural Polymer-based Stimuli-responsive Hydrogels. **Curr Med Chem.**, v. 27, n. 16, p. 2631-2657, 2020.

KALLIS, P. J.; FRIEDMAN, A. J. Collagen Powder in Wound Healing. **J Drugs Dermatol.**, v. 17, n. 4, p. 403-408, 2018.

KAPLANI K, et al. Wound healing related agents: Ongoing research and perspectives. **Adv Drug Deliv Rev.**, v. 129, p. 242-253, 2018.

KHAN, S. U, et al. Sodium alginate blended membrane with polyurethane: Desalination performance and antimicrobial activity evaluation. **Int J Biol Macromol.**, v. 182, p. 72-81, 2021.

KWIECINSKI, J. M, HORSWILL, A. R. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. **Curr Opin Microbiol.** v. 53, p. 51-60, 2020.

LANGSI, J. D. et al., Evaluation of the Insecticidal Activities of α -Pinene and 3-Carene on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Insects**. v. 17, n. 118, p. 540, 2020.

LEE, A. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nat Rev Dis Primers**. V. 31, n. 4, p. 18033, 2018.

LI Z. J.; SREBNIK. S.; ROJAS, O. J. Revisiting Cation Complexation and Hydrogen Bonding of Single-Chain Polyguluronate Alginate. **Biomacromolecules**, v. 22, n. 9, p. 4027-4036.

LIMA, S. F. I. M, et al., *Schinus terebinthifolia* leaf lectin (SteLL) has anti-infective action and modulates the response of *Staphylococcus aureus*-infected macrophages. **Sci Rep**. v. 9, n. 1, p. 18159, 2019.

LIMA, B. R. F. A Atividade Ansiolítica da Lectina da Folha de *Schinus terebinthifolia* (SteLL) é Dependente da Sinalização Monoaminérgica, embora Independente do Domínio de Ligação a Carboidratos da Lectina. **Pharmaceuticals**, v. 15, p.1364, 2022.

LIMA, R. F., et al. The Lectin *Schinus terebinthifolia* leaf (SteLL) reduces immobility of mice on the tail suspension test dependent on the monoaminergic and nitric oxide signaling. **Neurosci Lett**, p.137092 ,2023.

LIS, H. Lectinas em Plantas superiores. **A Bioquímica das Plantas. Academic Press**, p. 371-447, 1981.

LOWRY, O. H. ; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein Measurement With the Folin Phenol Reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-75, 1951.

MAKAREMI, M. et al. Safely Dissolvable and Healable Active Packaging Films Based on Alginate and Pectin. **Polymers**, v. 11, n. 10, 2019.

MARINHO, A. D. O., et al., *Schinus terebinthifolia* leaf lectin has central and peripheral antinociceptive action mediated by its carbohydrate-recognition domain and delta-opioid receptors, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 301, p. 115817, 2023.

MEHTA, A.Y, et al., Emerging patterns of tyrosine sulfation and O-glycosylation crosstalk and co-localization. **Curr Opin Struct Biol.**, v. 62, p. 102-111, 2021.

MOFFETT S, et al. Aberrant glycosylation patterns on cancer cells: Therapeutic opportunities for glycodendrimers/metallo-dendrimers oncology. **Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.**, v. 13, n. 1, p. 1659, 2021.

MOHAMED, M. I.; HAIDER, M.; ALI, M. A. M. Buccal Mucoadhesive Films Containing Antihypertensive Drug: In vitro/in vivo Evaluation. **J. Chem. Pharm. Res**, v. 3, n. 6, p. 665–686, 2011.

MONAVARIAN, M.; KADER, S; MOEINZADEH, S; JABBARI, E. Regenerative Scar-Free Skin Wound Healing. **Tissue Eng Part B Rev.** v. 25, n. 4, p. 294-311, 2019.

MONTEIRO, A. D. S. et al. Phylogenetic and Molecular Profile of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bloodstream Infections in Northeast Brazil. **Microorganisms**, v. 7, p. 210, 2019.

MOROZKINA, S. et al The manufacture of alginate-carboxymethylcellulose-based compounds and drug release profiles. **Polymers**, v. 14, p. 3604, 2022.

MORTON, J. F. Pimenta brasileira – Seu impacto nas pessoas, nos animais e no meio ambiente. **Econ Bot.**, v. 32, p. 353-359, 1978.

MUIR, V.G; BURDICK, J. A. Chemically Modified Biopolymers for the Formation of Biomedical Hydrogels. **Chem Rev.**, v. 121, n. 18, p. 10908-10949, 2021.

NAEEM, A.; et al. Gallic Acid Loaded Sodium Alginate-Based (Polyvinyl Alcohol-Co-Acrylic Acid) Hydrogel Membranes for Cutaneous Wound Healing: Synthesis and Characterization. **Molecules**, v. 27, p. 8397, 2022.

NAR, G. et al., The Fungal Cell Wall: Structure, Biosynthesis, and Function. **Microbiol Spectr.** v. 5, n. 3, 2017.

NUNES, M. A. S; et al. Lectina da Folha de *Schinus terebinthifolius* (SteLL) Reduz a Carga Bacteriana e Inflamatória de Feridas Infectadas por *Staphylococcus aureus* Promovendo a Reparação da Pele. **Pharmaceuticals**, v. 15, p. 1441, 2022.

OISHI, Y., MANABE, I. Macrófagos em inflamação, reparo e regeneração, **Imunologia Internacional**, v. 30, n. 11, p. 511–528, 2018.

OKONKWO, U. A; DIPIETRO, L. A. Diabetes and Wound Angiogenesis. **Int J Mol Sci.**, v. 18, n. 7, p. 1419, 2017.

PAPASTERGIOU, P.; TSIOLLI, E. Healthcare-associated transmission of Panton-Valentine leucocidin positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the value of screening asymptomatic healthcare workers. **BMC Infect Dis**, v.18, n.1, p.484, , 2018.

PARLET, C. P; BROWN, M. M.; HORSWILL A. R. Commensal Staphylococci Influence *Staphylococcus aureus* Skin Colonization and Disease. **Trends Microbiol.** v. 6, p. 497-507, 2019.

PASTAR, I. et al. Intracellular *Staphylococcus aureus* triggers pyroptosis and contributes to inhibition of healing due to perforin-2 suppression. **J Clin Invest.** V. 131, n. 24, p. 133727, 2021.

PATRIOTA, L. L. S. et al., *Microgramma vacciniifolia* (Polypodiaceae) fronds contain a multifunctional lectin with immunomodulatory properties on human cells, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 36-46, 2017.

PAVLATH, A. E.; GROSSETT, C.; CAMIRAND, W. & ROBERTSON, G. H. - **J. Food Sci.**, 64, p.61 (1999).

PECHERSKY, A. V. et al. **J Stem Cells.** v. 11, n. 2, p. 89-97, 2016.

PEREIRA, R. F.; BARTOLO, P. J. Traditional therapies for skin wound healing. **Advances in wound care**, v. 5, n. 5, p. 208-229, 2016.

PROCÓPIO, T. F. et al., *Extrato de folha de Schinus terebinthifolius* causa danos no intestino médio, interferindo na sobrevivência e desenvolvimento de larvas de *Aedes aegypti*. **PLoS One**. v. 10, p. 0126612, 2015

RAMOS, D. B. M, et al., Evaluation of antitumor activity and toxicity of *Schinus terebinthifolia* leaf extract and lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing mice, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, p.148-157, 2019.

RASTOGI, P., KANDASUBRAMANIAN B. Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering. **Biofabrication.**, v. 11, n. 4, p. 042001, 2019.

RATHI, V, SENTHIL, V. et al. A Brief Review on Oral Film Technology. **IJRAP**, v. 2, n. 4, p. 1138-1147, 2011.

RAUS, R. A. Alginate and alginate composites for biomedical applications, **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 3, p. 280-306, 2021.

REZVANIAN M, et al. Optimization, characterization, and in vitro assessment of alginate-pectin ionic cross-linked hydrogel film for wound dressing applications. **Int J Biol Macromol.**, v. 97: p.131-140, 2017.

RODRIGUES M, et al. Wound Healing: A Cellular Perspective. **Physiol Rev.**, v. 99, n. 1, p. 665-706, 2019.

SANTOS, L. M. M, et al. Anti-Candida activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). **J Mycol Med.** v. 31, n. 2, p. 101074, 2021.

SANTOS, A. J. C. A. et al. *Schinus terebinthifolia* Raddi leaf lectin is an antiangiogenic agent for *Coturnix japonica* embryos. **An Acad Bras Cienc.**, v. 94, n. 3, p. 297, 2022.

SANTURIO, M. J.; et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* de origem avícola. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.37, n.3, p.803-808, 2007.

SERRA, R. et al. Chronic wound infections: the role of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Expert Rev Anti Infect Ther.**, v. 5, p. 605-13, 2015.

SHAIKH, M. A. J. et al. Current update on psyllium and alginate incorporate for interpenetrating polymer network (IPN) and their biomedical applications. **Int J Biol Macromol.**, v. 191, p. 432-444, 2021.

SHPICHKA, A. et al. Skin tissue regeneration for burn injury. **Stem Cell Res Ther.**, v. 10, n. 1, p. 94, 2019.

SHETTIGAR, K.; MURALI, T. S. Virulence factors and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.**, v. 39, n. 12, p. 2235-2246. 2020.

SHEN, L. et al Eco-friendly construction of dye-fouled loose CS/PAN nanofibrous composite membranes for permeability-selectivity anti-trade-off property Colloids And Surfaces a. **Physicochemical And Engineering Aspects**, v. 569 p. 145-155, 2019.

SINGH, R.; SHITIZ, K.; SINGH, A. Chitin and chitosan: biopolymers for wound management. **Int Wound J.**, v. 14, n. 6, p. 1276-1289, 2017.

SOE, Y. M.; BEDOUI, S.; STINEAR, T. P.; HACHANI, A. Intracellular *Staphylococcus aureus* and host cell death pathways. **Cell Microbiol.**, v. 23, n. 5, p. 13317, 2021.

SORG, H.; TILKORN, D.J.; HAGER, S.; HAUSER, J.; MIRASTSCHIJSKI, U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. **Eur Surg Res.**, v. 58, p. 81-94, 2017.

SUAREZ CARNEIRO, M. A. M, et al. Immunomodulatory and anti-infective effects of *Cratylia mollis* lectin (Cramoll) in a model of wound infection induced by *Staphylococcus aureus*. **Int Immunopharmacol.** v. 100, p. 108094, 2021.

SUN, H., et al. Fabrication of thin-film composite polyamide nanofiltration membrane based on polyphenol intermediate layer with enhanced desalination performance **Desalination**, v. 488, p. 114525, 2020.

TAVAKOLI, S.; KLAR, A. S. Advanced Hydrogels as Wound Dressings. **Biomolecules.** v. 10, n. 8, p. 1169, 2020.

VESTERGAARD, M; FREES, D.; INGMER, H. Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. **Microbiol Spectr.**, v. 7, n. 2, 2019.

WANG, P. H. et al. Wound healing. **J Chin Med Assoc.**, v. 81, n. 2, p. 94-101, 2018.

WILKINSON, H. N.; HARDMAN, M. J. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. **Open Biol.**, v. 92, p. 00223, 2020.

WILLIAMS, H.; CAMPBELL, L.; CROMPTON, R.; SINGH, G.; MCHUGH, B.; DAVIDSON, D. Microbial host interactions and impaired wound healing in mice and humans: defining a role for BD14 and NOD2. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 138, n. 10, p. 2264-2274, 2018.

WU, A.M.; LIU, J.H. Lectins and ELLSA as powerful tools for glycoconjugate recognition analyses. **Glycoconj J.**, v. 36, p. 175–183, 2019

WU, S. C, LIU, F.; ZHU K.; SHEN J. Z. Natural Products That Target Virulence Factors in Antibiotic-Resistant *Staphylococcus aureus*. **J Agric Food Chem.**, v. 48, p. 13195-13211, 2019.

WUTTIKUL, K.; BOONME, P.; THAMMARAT, C.; KHONGKOW, P. N-acetylglucosamine microemulsions: Assessment of skin penetration, cytotoxicity, and anti-melanogenesis. **J Cosmet Dermatol.**, v. 1, p.304-309, 2021.

XU, W.; DONG.; HAN, Y.; LI, S.; LIU, Y. Hydrogels as Antibacterial Biomaterials. **Curr Pharm Des.** v. 24, n. 8, p. 843-854, 2018.

ZENG Q. et al. Purification and characterization of a novel immunomodulatory lectin from *Artocarpus hypargyreus* Hance. **Int Immunopharmacol.** 2019.

ZHANG, Y. et al. Polypropylene non-woven supported calcium alginate hydrogel filtration membrane for efficient separation of dye/salt at low salt concentration, **Desalination**, v. 500, p. 114845, 2021.