



UNIVERSIDADE CEUMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA – REDE BIONORTE



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E CICATRIZANTE
DA LECTINA STELL ISOLADA DA FOLHA DE *Schinus terebinthifolius*
RADDI

MARCIO ANDERSON SOUSA NUNES

São Luís-MA
Dezembro/2022

MARCIO ANDERSON SOUSA NUNES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E CICATRIZANTE
DA LECTINA STELL ISOLADA DA FOLHA DE *Schinus terebinthifolius*
RADDI**

Tese de doutorado apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Ceuma, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Valério Monteiro Neto.

Co-orientador: Prof. Dr. Luís Cláudio Nascimento da Silva.

São Luís-MA

Dezembro/2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Nunes, Marcio Anderson Sousa.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E CICATRIZANTE
DA LECTINA STELL ISOLADA DA FOLHA DE Schinus
terebinthifolius RADDI / Marcio Anderson Sousa Nunes. -
2022.

49 f.

Coorientador(a): Luís Cláudio Nascimento da Silva.

Orientador(a): Valério Monteiro Neto Neto.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2022.

1. Atividade antimicrobiana. 2. Cicatrização. 3.
Infecção. 4. SteLL. I. Neto, Valério Monteiro Neto. II.
Silva, Luís Cláudio Nascimento da. III. Título.


MARCIO ANDERSON SOUSA NUNES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E CICATRIZANTE
DA LECTINA STELL ISOLADA DA FOLHA DE *Schinus terebinthifolius*
RADDI**


Tese de doutorado apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Ceuma, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovado em 16/12/2022


Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 VALERIO MONTEIRO NETO
Data: 30/01/2023 18:30:12-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>


Prof. Dr. Valério Monteiro Neto (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Documento assinado digitalmente
 AMANDA SILVA DOS SANTOS ALIANCA
Data: 31/01/2023 17:51:28-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>


Profa. Dra. Amanda Silva dos Santos Aliança
Examinador 01 – Externo

Documento assinado digitalmente
 RITA DE CASSIA MENDONÇA DE MIRANDA
Data: 31/01/2023 15:01:00-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Rita de Cássia Mendonça de Miranda
Examinador 02 – Interno

Documento assinado digitalmente
 MARIA TEREZA DOS SANTOS CORREIA
Data: 01/02/2023 11:48:39-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia
Examinador 03 – Externo

Documento assinado digitalmente
 CLAUDENER SOUZA TEIXEIRA
Data: 31/01/2023 09:05:50-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Claudener Souza Teixeira
Examinador 04 – Externo

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e pela proteção em todos os momentos.

À minha mãe Maria Mêrces pelas orações e por acreditar sempre.

À Wellyson Firmo pelo apoio e incentivo nessa jornada.

A todos os familiares e amigos que torceram e colaboraram para conclusão desta etapa.

Ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte e à Universidade Ceuma, pela oportunidade de execução deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pelo apoio financeiro à pesquisa.

Aos meus orientadores professores Dr. Valério Monteiro Neto e Dr. Luís Cláudio Nascimento da Silva, pela confiança nesse projeto, pela compreensão e gentileza de sempre, gratidão!

Aos professores que compõem a Rede Bionorte por todo conhecimento compartilhado.

Aos mestrandos David Santos, Lucas Santos e Brenda Cutrim por toda disponibilidade e auxílio na pesquisa.

Aos colegas de trabalho e a Pró-reitoria de Graduação e Reitoria da Universidade Ceuma, pelo apoio nesse projeto.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

NUNES, Márcio Anderson Sousa. **Avaliação da atividade antibacteriana e cicatrizante da lectina isolada da folha de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. 2022. 48f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Ceuma, São Luís, 2022.

RESUMO

Staphylococcus aureus é comumente encontrado em infecções de feridas onde este patógeno compromete o reparo da pele. A lectina isolada das folhas de *Schinus terebinthifolius* (denominada SteLL) possui ação antimicrobiana e antivirulência contra *S. aureus*. O estudo avaliou os efeitos da administração tópica de SteLL em feridas de camundongos infectados por *S. aureus*. No total de 72 camundongos C57/BL6 (6-8 semanas de idade) foram alocados em quatro grupos: (i) feridas não infectadas; (ii) feridas infectadas em não tratadas; (iii) feridas infectadas e tratadas com 32 µg/mL de solução de SteLL; (iv) feridas infectadas tratadas com solução SteLL 64 µg/mL. Uma lesão de aproximadamente 8 mm de diâmetro foi induzida na região dorsal de cada animal e infectadas por *S. aureus* 432170 ($4,0 \times 10^6$ UFC/ferida). O tratamento diário começou 1 dia pós-infecção (dpi). A aplicação tópica de ambas as concentrações de SteLL observou-se uma diminuição da severidade da infecção por *S. aureus*, resultados estes que se correlacionam com a diminuição da carga bacteriana no leito da ferida, reduzindo significativamente a cicatrização de feridas infectadas até o 7º dpi, quando comparada a lesões infectadas não tratadas (reduções de 1,95-4,55 vezes e 1,79-2,90 vezes para SteLL a 32 µg/mL e 64 µg/mL, respectivamente). O tratamento baseado em SteLL também alterou a gravidade da infecção da ferida e reduziu a carga bacteriana (12 vezes para 72 vezes para 32 µg/mL; e 14 vezes para 282 vezes para 64 µg/mL). As feridas tratadas com SteLL mostraram maior deposição de colágeno e restauração da estrutura da pele se comparada aos demais grupos. A carga bacteriana e os níveis de marcadores inflamatórios (IL-6, MCP-1, TNF- α e VEGF) também foram reduzidos por ambas as concentrações de SteLL. Esses resultados corroboram com as propriedades anti-infecciosas relatadas de SteLL, tornando esta lectina uma candidata líder para o desenvolvimento de agentes alternativos para o tratamento de lesões cutâneas infectadas por *S. aureus*.

Palavras-chave: SteLL; Infecção; Atividade antimicrobiana; Cicatrização.

NUNES, Márcio Anderson Sousa. **Evaluation of antibacterial and healing activity of lectin isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi leaf.** 2022. 48f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology) – Ceuma University, São Luís, 2022.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is commonly found in wound infections where this pathogen compromises skin repair. The lectin isolated from *Schinus terebinthifolius* leaves (called SteLL) has antimicrobial and antivirulence action against *S. aureus*. The study evaluated the effects of topical administration of SteLL on wounds of mice infected with *S. aureus*. A total of 72 C57/BL6 mice (6-8 weeks old) were allocated into four groups: (i) uninfected wounds; (ii) infected wounds treated with 32 µg/ml SteLL solution; (iv) infected wounds treated with 64 µg/mL SteLL solution. A lesion of approximately 8 mm in diameter was induced in the dorsal region of each animal and infected by *S. aureus* 432170 (4.0×10^6 CFU/wound). Daily treatment started 1 day post-infection (dpi). Topical application of both SteLL concentrations showed a decrease in the severity of *S. aureus* infection, results that correlate with the decrease in bacterial load in the wound bed, significantly reducing the healing of infected wounds up to 7thdpi, when compared to untreated infected lesions (1.95-4.55-fold and 1.79-2.90-fold reductions for SteLL at 32 µg/mL and 64 µg/mL, respectively). SteLL-based treatment also altered the severity of wound infection and reduced bacterial load (12-fold to 72-fold for 32 µg/mL; and 14-fold to 282-fold for 64 µg/mL). Wounds treated with SteLL showed greater collagen deposition and restoration of skin structure compared to the other groups. Bacterial load and levels of inflammatory markers (IL-6, MCP-1, TNF- α and VEGF) were also reduced by both SteLL concentrations. These results corroborate the reported anti-infective properties of SteLL, making this lectin a leading candidate for the development of alternative agents for the treatment of *S. aureus* infected skin lesions.

Keywords: SteLL; Infection; Antimicrobial activity; Healing.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Figura 01** - Aspectos visuais das características de *Schinus terebinthifolius*..... 15
- Figura 02** - Ocorrência de *Schinus terebinthifolius* no território brasileiro..... 16

FIGURAS DO ARTIGO

- Figure 1.** Macroscopic analysis of the effect of topical SteLL treatment (32 µg/mL and 64 µg/mL) on skin lesions infected by *Staphylococcus aureus*. 34
- Figure 2:** Effects of topical treatment with SteLL on the severity of wound infected by *Staphylococcus aureus* 35
- Figure 3.** Effect of topical treatment with SteLL in the contraction of *Staphylococcus aureus*-infected wounds. 36
- Figure 4.** Histopathological analysis of healing process induced by topical treatment with SteLL in *Staphylococcus aureus*-infected wounds using Hematoxylin and Eosin (HE) staining37
- Figure 5.** Histopathological analysis of healing process induced by topical treatment with SteLL in *Staphylococcus aureus*-infected wounds using Masson's trichrome staining 38
- Figure 6.** Effect of topical treatment with SteLL (32 µg/mL and 64 µg/mL) on bacterial load in wounds contaminated by *Staphylococcus aureus* 39
- Figure 7.** Effect of topical SteLL treatment on inflammatory markers levels in wound tissue infected by *Staphylococcus aureus*..... 40
- Figure 8.** Experimental timeline followed in this study. 42

LISTA DE TABELAS

TABELA DO ARTIGO

Table 1: Histopathological evaluation of healing process induced by topical treatment with SteLL in <i>Staphylococcus aureus</i> -infected wounds	36
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MEC	Componentes da Matriz Extracelular
bFGF	Fator Básico de Crescimento de Fibroblastos
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
vWbp	Proteína de Ligação ao Fator von Willebrand
RENAFITO	Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 FAMÍLIA ANACARDIACEAE E <i>Schinus terebinthifolius</i> RADDI.....	14
3.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA ESPÉCIE	15
3.3 USOS E APLICAÇÕES BIOLÓGICAS	17
3.4 LECTINAS	18
3.4.1 Atividades biológicas e aplicações biotecnológicas de lectinas.....	19
3.5 LESÕES CUTÂNEAS E INFECÇÕES POR <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3.5.1 Resistência e fatores de virulência	20
4 CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS	24
ARTIGO – <i>Schinus terebinthifolius</i> LEAF LECTIN (STELL) REDUCES THE BACTERIAL AND INFLAMMATORY BURDEN OF WOUNDS INFECTED BY <i>Staphylococcus aureus</i> PROMOTING SKIN REPAIR.....	33
ANEXO I – COMPROVANTE DE ACEITE	49

1 INTRODUÇÃO

Diversos fatores podem provocar uma ferida cutânea, algumas são de origens médicas, como os procedimentos cirúrgicos, outros são oriundos de acidentes ou doenças. Independente da causa, estas injúrias acometem milhões de pessoas em todo o mundo e desafiam o sistema de saúde (LINDHOLM; SEARLE, 2016). As feridas cutâneas são consideradas um grave problema de saúde pública, resultando em prejuízos sociais consequências psicológicas e econômicas (GUEST, 2017; MITCHELL, 2017).

A cicatrização de feridas é um processo fisiológico fundamental para a preservação da integridade epitelial e proteção do organismo. Em um processo normal, o reparo tecidual desenvolve-se em quatro etapas: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação tecidual (KAPLANI et al., 2018). A hemostasia inicia-se imediatamente após o trauma, na qual há a ativação da cascata de coagulação decorrente dos fatores de crescimento plaquetário e da secreção do complexo de trombina. Simultaneamente, ocorre a migração de neutrófilos, macrófagos e outras células imunes que são responsáveis pela eliminação de patógenos oportunistas (HAN; CEILLEY, 2017). Em seguida, neutrófilos interagem com Componentes da Matriz Extracelular (MEC), estimulando a formação de promotores da angiogênese, como o Fator Básico de Crescimento de Fibroblastos (bFGF) e o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) (DARBY et al., 2014).

A fase proliferativa inicia-se com as células epiteliais e fibroblastos que são recrutados e auxiliam no crescimento capilar, na produção de colágeno e formação de um novo tecido (GUO; DIPIETRO, 2010), conseqüentemente, um tecido de granulação é formado decorrente do crescimento de novos capilares e vasos linfáticos (angiogênese) (PEREIRA; BÁRTOLO, 2016). Por fim, na fase de remodelação, o novo tecido formado é constantemente remodelado até que suas características sejam próximas à de um tecido normal (ANLAS et al., 2019).

Um dos principais fatores que comprometem a cicatrização é a ocorrência de infecções tanto por microrganismos da microbiota da pele quanto pela aquisição de outros presentes no ambiente (WILLIAMS et al., 2018). *Staphylococcus aureus* é a espécie bacteriana mais encontrada em infecções superficiais, cuja prevalência está relacionada a sua alta resistência antibiótica e aos seus mecanismos de virulência (BESSA et al., 2017). São exemplos de fatores de virulência a coagulase clássica (Coa) e a proteína de ligação ao fator von Willibrand (vWbp) (CROSBY et al., 2016), a produção de toxinas como a alfa hemolisina e modulinas solúveis em fenol (PSMs) (TONG et al., 2015) e a síntese de biofilme (YONEZAWA et al., 2019).

Devido às dificuldades enfrentadas pelos sistemas de saúde, as buscas por novos compostos com aplicabilidades medicinais têm aumentando, tendo os produtos naturais como um dos principais objetos de estudo (CASANOVA; COSTA, 2017). Dentre os compostos bioativos de origem vegetal, destacam-se as lectinas, um grupo de proteínas amplamente distribuídas na natureza que se liga a carboidratos de forma reversível, apresentando diversas aplicações biotecnológicas (CAGLIARI et al., 2018).

As lectinas constituem um grupo heterogêneo de proteínas contendo sítios de ligação a carboidratos, os quais podem ser mono, oligo ou polissacarídeos. Sua capacidade de interagir de forma específica com carboidratos, reconhecendo glicoconjugados na superfície celular, é responsável por suas importantes e diversas atividades biológicas (COELHO et al., 2017).

Um exemplo é a lectina SteLL isolada de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), uma espécie amplamente utilizada na medicina popular brasileira (DA SILVA et al., 2018). SteLL é caracterizada como uma proteína ligadora de N-acetilglucosamina com peso molecular de 12,4 kDa, apresentando-se como um promissor composto antibacteriano devido a sua capacidade de inibir o crescimento de bactérias de interesse clínico, principalmente *S. aureus* (GOMES et al., 2013). Além disso, sua ação imunomoduladora tem sido descrita em diferentes trabalhos, assim como sua atividade anti-infecção em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* (DOS SANTOS et al., 2020; LIMA et al., 2019).

A alta prevalência de resistência de *S. aureus* aos antibióticos de escolha para o tratamento, sejam elas de ambiente hospitalar ou comunitário tem sido um grande desafio de saúde pública em todo o mundo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e cicatrizante da lectina SteLL isolada da folha de *Schinus terebinthifolius* em camundongos (*in vivo*).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antibacteriana e cicatrizante da proteína lectina SteLL isolada da folha de *Schinus terebinthifolius*, com testes *in vivo*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do tratamento tópico com SteLL na carga bacteriana das feridas contaminadas por *Staphylococcus aureus* após 3, 10 e 17 dias de tratamento;
- Realizar análise macroscópica do efeito do tratamento tópico da SteLL em lesões cutâneas infectadas por *Staphylococcus aureus*;
- Investigar o efeito do tratamento tópico com a SteLL na severidade da inflamação nos animais submetidos à lesão cutânea contaminada por uma amostra clínica de *Staphylococcus aureus*;
- Avaliar o efeito do tratamento tópico com Stell nos níveis VEGF presentes no tecido das feridas contaminadas;
- Estudar histologicamente o processo cicatricial cutâneo em camundongos (*Swiss webster*) com lesão induzida cirurgicamente, infectada com *Staphylococcus aureus* e submetidos a diferentes tratamentos por um período de 10 e 17 dias.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FAMÍLIA ANACARDIACEAE E *Schinus terebinthifolius* RADDI

A família Anacardiaceae, formada principalmente por árvores e arbustos, inclui aproximadamente 860 espécies em 83 gêneros, tendo membros cultivados em todo o mundo devido às suas frutas e sementes comestíveis, propriedades medicinais, madeira valiosa e como recurso paisagístico. Alguns frutos de espécies de Anacardiaceae, tais como manga (*Mangifera indica*), pistache (*Pistacia vera*) e caju (*Anacardium occidentale*), são apreciados em todo o mundo, enquanto outros frutos como umbu (*Spondias tuberosa*), a marula da África (*Sclerocarya birrea*) e os frutos do *Antrocaryon* são restritos ao cultivo e consumo localizados (PELL, 2009).

Schinus terebinthifolius Raddi é uma espécie nativa do continente Sul-americano, sendo encontrada na Argentina, Paraguai, Uruguai e nos estados brasileiros de Sergipe, Paraíba, Alagoas, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Santa Catarina e São Paulo (EMBRAPA, 2016).

Trata-se de uma planta medicinal conhecida no Brasil como aroeira da praia e utilizada na medicina popular como antitérmica, analgésica, depurativa e no tratamento de doenças do sistema urogenital, infecções, úlceras de pele, além de distúrbios gastrintestinais (SILVA et al., 2018; ULIANA et al., 2016; CARVALHO et al., 2013).

Pesquisas sobre a importância medicinal desta planta também relataram o uso de decocto das folhas e suco de raízes maceradas para tratamento de tumores (MORS et al., 2000; MORTON et al., 1978). A árvore possui até 12 m de altura, com tronco de até 60 cm de diâmetro, casca externa de coloração acinzentada (com fissuras longitudinais estreitas) e casca interna de coloração rosada e textura fibrosa. Suas folhas apresentam estrutura imparipinada, com número ímpar de folíolos e apenas um folíolo na extremidade. São folhas compostas, alternas, com raque e pecíolo alado, possuindo de 7 a 11 folíolos. A ráquis, com ala estreita entre os pares de folíolos, é a principal característica para sua identificação. Os folíolos são sésseis, oblongo-elípticos a obovalados, com ápice agudo, base assimétrica, consistência membranácea, nervura central proeminente na face abaxial, margem inteira a serrada, medindo de 1 a 3 cm de largura por 2,5 a 6 cm de comprimento, sendo os brotos jovens avermelhados (FONSECA et al., 2017). Algumas dessas características podem ser observadas na Figura 1.

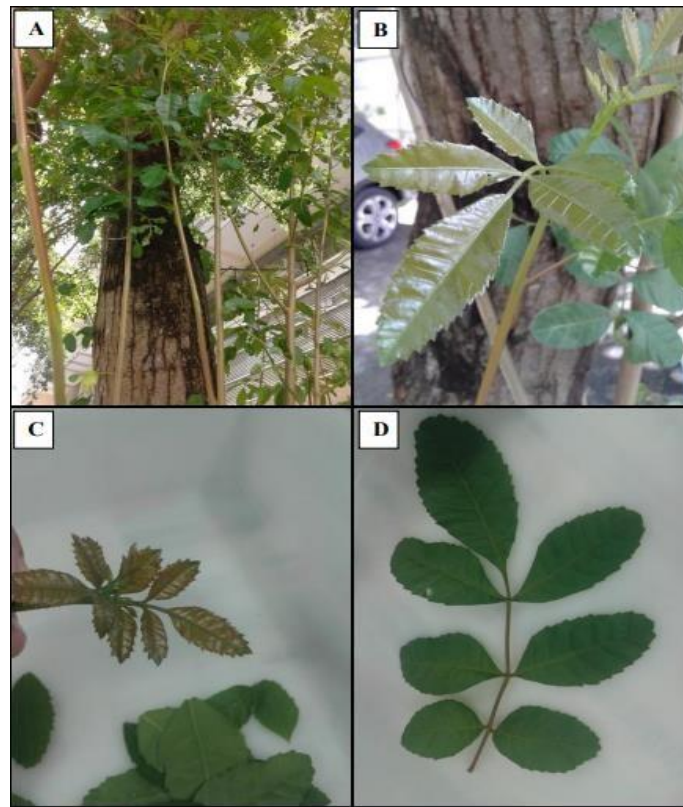


Figura 1 – Aspectos visuais das características de *Schinus terebinthifolius*.

(A) Árvore com características preservadas. (B) Folhas e caule da planta, mostrando as fissuras longitudinais. (C) Folhas jovens, de coloração avermelhada. (D) Folha imparipinada.

Fonte: Ramos (2019).

3.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA ESPÉCIE

Estando presente de forma natural em grande parte do litoral brasileiro, desde o Nordeste até a região Sul do país, área por onde se estende o bioma da Mata Atlântica, mas pode ser encontrada no Centro-oeste e Norte do país, assim como em outros biomas (CARVALHO et al., 2013; GILBERT; FAVORETO, 2011). Uma modelagem ambiental realizada por Garrastazu e Mattos (2013) permite observar a ampla distribuição de ocorrência potencial de *S. terebinthifolius* no território brasileiro, compatível com os diversos relatos de ocorrência natural acima descrito e ilustrado por Silva-Luz e Pirani (2015) presentes na Figura 2.

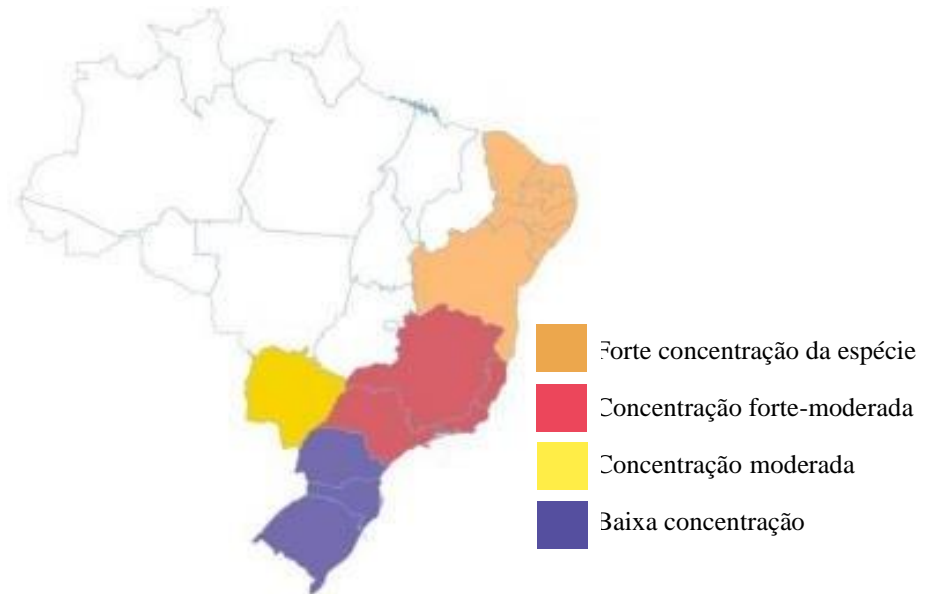


Figura 2 - Ocorrência de *Schinus terebinthifolius* Raddi no território brasileiro.

Fonte: Silvaluz, et al. (2015).

Sua distribuição se dá, principalmente, em ambientes tropicais e subtropicais costeiros, onde apresenta crescimento rápido, sobretudo em áreas que sofreram alterações antrópicas, e assim, fazendo com que ela receba o status de espécie pioneira. Cresce em diversos tipos de solos e em áreas que possuem até 2.000 m de altitude (ORWA et al., 2009).

Segundo Rosas et al. (2019), a aroeira é uma espécie que possui fácil adaptação as mudanças climáticas e apresenta grande plasticidade ecológica, sendo atualmente utilizada na restauração de áreas degradadas (SOUZA et al., 2001). Conforme Morais Junior et al. (2019) *S. terebinthifolius* é uma das espécies vegetais que possuem potencial para serem utilizadas em projetos que objetivam promover a compensação de carbono em áreas degradadas da Mata Atlântica.

Apesar de apresentar alguns aspectos negativos referentes à proliferação, pois em alguns países é considerada uma espécie invasora, a aroeira é uma planta bastante popular em outros países onde recebe os nomes de: “*brazilian peppertree*”, “*pink pepper*” e “*christmas berry*” (Estados Unidos); “*brasilianischer pfeffer*” (Alemanha); “*pimentero del Brasil*” e “*copal*” (Espanha); e “*poivre rose*” (França) (CARVALHO et al., 2013), onde é utilizada principalmente como condimento alimentar e na medicina tradicional em vários países.

3.3 USOS E APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

A aroeira é muito utilizada na produção de lenha e carvão, na ornamentação, na nutrição, na medicina tradicional e popular, tendo o último uso um maior destaque (AZEVEDO et al., 2015). Conforme Gomes et al. (2019) é uma planta comumente usada na medicina popular e possui vários potenciais biológicos. As aplicações biológicas desta planta são conhecidas há muitos anos e suas propriedades estão descritas desde a primeira edição da Farmacopeia Brasileira, publicada em 1926 (FALCÃO et al., 2015; CARVALHO et al., 2013).

Os frutos, as cascas do caule e as folhas da aroeira são os órgãos mais utilizados no uso medicinal, havendo grande relato, principalmente em estudos experimentais, do uso do óleo vegetal proveniente dos frutos e folhas (LIMA et al., 2017; GILBERT; FAVORETO, 2011; BENDAOU et al., 2010).

Na medicina tradicional e popular, esta planta é usada para tratar feridas e úlceras na pele, tumores, diarreia, artrite, bem como infecções urinárias e do trato respiratório (BRANCO NETO et al., 2006). Carvalho et al. (2013) afirmam que os compostos advindos do metabolismo da aroeira atuam no tratamento de gastrites e dispepsias, tem ação adstringente, tônico, estimulante e antinevrálgico. Onde podem ser observados relatos que indicam o uso de *S. terebinthifolius* no tratamento de muitas doenças, como bronquite e distúrbios urinários, também é usado como febrífugo, analgésico e antimicrobiano (SCHIMITBERGER et al., 2018; TLILI et al., 2018).

Como podemos verificar, diversos são os usos medicinais realizados por populações tradicionais atribuídos a aroeira, e que estes usos estão relacionados às suas propriedades anti-inflamatórias, antitumoral, antioxidante, cicatrizante, antipiréticas, analgésicas e como agente depurativo (CARVALHO et al., 2013; BENDAOU et al., 2010).

O conhecimento científico sobre as atividades biológicas das plantas medicinais pode estimular o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas (ROCHA et al., 2019). Dessa forma, os relatos de uso na farmacologia tradicional, os estudos experimentais e clínicos e a demanda por produtos obtidos a partir de determinada planta medicinal, podem instigar o desenvolvimento de novas cadeias produtivas ligadas à planta medicinal a ser explorada, bem como orientar estudos e pesquisas que possam contribuir na elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (RENAFITO), dando suporte ao desenvolvimento e a inovação na área de plantas medicinais e fitoterápicas (PICH, 2019).

Mesmo com o potencial farmacológico apresentado, a aroeira é uma espécie pouco cultivada no Brasil e seus frutos são, em maioria, coletados de áreas de ocorrência natural. No entanto, muitos dos processos relacionados ao extrativismo dessa espécie podem fazer com que

a aroeira corra risco de extinção devido ao manejo inadequado empregado durante a colheita dos frutos produzidos por ela (ÁLVARES-CARVALHO et al., 2016; NEVES et al., 2016).

3.4 LECTINAS

Dentre os metabólitos primários, as lectinas pertencem a uma classe de proteínas de origem não-imune amplamente distribuída na natureza, conferindo a elas uma larga utilização biotecnológica, principalmente as de fonte vegetal (TSANEVA; VAN DAMME, 2020; CAGLIARI et al., 2018).

As lectinas constituem um grupo de proteínas que tem sido muito investigado por apresentar diferentes atividades biológicas, podendo ser isoladas a partir de plantas (THAKUR et al., 2017), animais (CASTANHEIRA et al., 2017) e microrganismos (SINGH et al., 2017) (WANG et al., 2000). Começaram a ser estudadas no final do século XIX, quando se notou a presença de proteínas que aglutinavam eritrócitos, sendo referidas como hemaglutininas ou fitoaglutininas. A primeira lectina foi descrita por Stillmark em 1888, isolada a partir sementes da árvore de rícino (*Ricinus communis*) e sendo chamada de ricina (SHARON; LIS, 2004).

As lectinas possuem pelo menos um domínio não catalítico capaz de se ligar de forma reversível e específica a mono, oligo ou polissacarídeos. É devido a essa capacidade de ligação com as porções de carboidratos na superfície das células, que essas proteínas são reconhecidas por sua atividade aglutinante (LAM; NG, 2011). Assim, um dos testes realizados para detectar a presença de lectina em uma amostra é o ensaio de hemaglutinação, no qual essas proteínas interagem, por meio de seus sítios de ligação, com os carboidratos presentes na superfície dos eritrócitos, formando uma rede. Para tal, utiliza-se eritrócitos tratados enzimaticamente (tripsina, papaína) ou quimicamente (glutaraldeído ou formaldeído) e que podem ser provenientes de sangue humano (BOSE et al., 2016) ou de outras espécies, como por exemplo, de coelho (BROSSON et al., 2017).

Com base na capacidade de interagirem com carboidratos, as lectinas podem ser exploradas em diferentes áreas da biologia e medicina (SILVA et al., 2010), como por exemplo a investigação da estrutura de glicoproteínas e carboidratos em células (ITAKURA et al., 2017); empregadas na purificação e caracterização de polissacarídeos e glicoconjugados (NAPOLEÃO et al., 2013); estimulação da mitogênese de linfócitos (VALADEZ-VEJA et al., 2011); caracterização de grupos sanguíneos (MAHAJAN et al., 2017); combate a patógenos de animais e plantas (PROCÓPIO et al., 2017; SILVA et al., 2016); controle de insetos vetores de doenças e pragas agrícolas (LIMA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2016); como biomarcadores

de células anormais e no desenvolvimento de sistemas de administração de fármacos (COELHO et al., 2017; HASHIM et al., 2017; POIROUX et al., 2017).

Dentre as atividades biológicas descritas para as lectinas, destacam-se a antimicrobiana (MOURA et al., 2017; PROCÓPIO et al., 2017; PALHARINI, 2017; SILVA et al., 2016; RAMOS et al., 2014), anti-helmíntica (GAOFU et al., 2008), inseticida (COELHO et al., 2009), nematicida (MEDEIROS et al., 2017), imunomoduladora (BRITO et al., 2017; PATRIOTA et al., 2017), anti-inflamatória e analgésica (BEZERRA et al., 2014; ARAÚJO et al., 2011), antiviral (HOPPER et al., 2017; MU et al., 2017; FANG et al., 2010), vasorelaxante (BARROSO-NETO et al., 2016) e antitumoral (FIGUEIRÔA et al., 2017; GONDIM et al., 2017; PALHARINI et al., 2017).

3.4.1 Atividades biológicas e aplicações biotecnológicas de lectinas

Com base nas suas diversas propriedades biológicas, as lectinas apresentam uma vasta gama de aplicações biotecnológicas, com os mais diversos fins. Atualmente, as lectinas aparecem como ferramentas de destaque no campo da tecnologia de bioreconhecimento. Na área conhecida como lectinômica, técnicas de *microarrays* utilizando lectinas têm sido desenvolvidas como ferramentas eficientes para decifrar o glicocódigo que reflete o estado fisiológico da célula (GEMEINER et al., 2009). Com base na elevada capacidade de reconhecimento de carboidratos, as lectinas se tornaram importantes ferramentas no isolamento, em estudos estruturais e no mapeamento de oligossacarídeos e glicoconjugados (XIE et al., 2009; MONZO et al., 2007; HAYUNGA et al., 1986).

O reconhecimento entre lectinas e carboidratos permite a utilização das lectinas na histologia e patologia como ferramentas em ensaios citoquímicos para localização de glicoconjugados e resíduos glicosilados e como ferramentas histoquímicas para análises de estruturas de tecidos humanos normais e alterados (LIMA et al., 2010; PEDINI et al., 2001; FRANCESCHINI et al., 2000).

3.5 LESÕES CUTÂNEAS INFECTADAS POR *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus ocorre naturalmente na microbiota da pele e outros tecidos do corpo, facilitando a infecção oportunista de feridas. Na verdade, *S. aureus* é um dos patógenos comumente isolados de lesões cutâneas (VALE DE MACEDO et al., 2021). É de conhecimento que *S. aureus* é um dos patógenos comumente isolados de lesões de pele (HOBBS et al., 2018), com um alto número de cepas exibindo combinações complexas de genes de virulência e resistência. Sendo também um importante agente causador de infecção oportunistas,

apresentando altas taxas de morbidade e mortalidade, além de infecções recorrentes (JAUNEIKAITE et al., 2020; MCNEIL; FRIT, 2019).

As feridas prejudicam a continuidade anatômica da pele, aumentam substancialmente o risco de contaminação microbiana, pois as lesões constituem uma porta de entrada para os microrganismos (JACQUET et al., 2019; BUCH et al., 2019; GEISINGER et al., 2017). Elas costumam induzir internações prolongadas e intervenções cirúrgicas têm forte associação com infecções relacionadas à assistência à saúde (HSU et al., 2019; ZIWA et al., 2019).

Embora tradicionalmente ligadas ao ambiente hospitalar, algumas cepas de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *S. aureus* multirresistente (MDRSA) surgiram na comunidade e causaram casos graves de infecções de pele (SHETTIGAR et al., 2016) Esse fenômeno aumentou a frequência e a gravidade da infecção por esse microrganismo. A alta prevalência de MRSA em hospitais e ambientes comunitários tem sido um grande desafio de saúde pública em todo o mundo (RICHARDSON, 2019).

3.5.1 Resistência e fatores de virulência

A presença de microrganismos patogênicos prolonga o período inflamatório, caracterizado pela liberação exacerbada de mediadores inflamatórios em resposta à persistência bacteriana, intimamente associada à formação de biofilme (VESTBY et al., 2020; RAHIM et al. 2017; COOPER et al. 2014). O prolongamento da fase inflamatória resulta em comprometimento do processo de cicatrização (RAHIM et al., 2017). Nesse sentido, as infecções microbianas são destacadas como as causas mais importantes de feridas crônicas e geralmente estão associadas à formação de biofilme, que são notoriamente recalcitrantes aos antibióticos convencionais (KADAM et al., 2019; MORGAN et al., 2019).

A classe de microrganismos conhecida como ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* sp.) estão entre as bactérias mais prevalentes em infecções cutâneas (HEITKAMP et al., 2018). Apesar do desenvolvimento de diversas formulações antimicrobianas (contendo derivados de prata, mupirocina, ácido fusídico, mafenida, gentamicina, bacitracina, neomicina e polimixina B), o tratamento de infecções de pele relacionadas a ESKAPE é um grande desafio (PUNJATAEWAKUPT et al., 2019).

Um número crescente de cepas de *S. aureus* tem se mostrado resistente a agentes antimicrobianos. Essa variabilidade genética é mediada por um conjunto diversificado de genes móveis elementos (MGEs) que incluem plasmídeos, transposons, integrons, ilhas genômicas,

S. aureus ilhas de patogenicidade (SaPIs), elementos conjugativos integrativos, cassetes cromossômicos estafilocócicos (SCC) e fagos (COPIN, 2018).

Se têm conhecimento que o primeiro episódio de resistência por *S. aureus* foi relatado na década de 1940 para a penicilina (PRSA), um período próximo de sua própria descoberta e uso. Este tipo de resistência foi atribuído ao gene *blaZ*, que codifica um tipo específico de β -lactamase, capaz de clivar a penicilina através da hidrólise de seu anel β -lactâmico (MCGUINNESS, 2017). A partir daí, a taxa de emergência de cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) e *S. aureus* multirresistente a medicamentos (MDRSA) tem sido elevada em IPPM em indivíduos hospitalizados (HUNTER, 2016). Embora tradicionalmente ligado a ambiente hospitalar, algumas cepas de MRSA e MDRSA surgiram na comunidade e causaram casos graves de infecções cutâneas. Esse fenômeno aumentou a frequência e a gravidade da infecção por este microrganismo (RICHARDSON, 2019).

A descoberta de *mecA* só foi possível vinte anos após o aparecimento do primeiro caso de MRSA. Este gene é transportado por elementos móveis chamados *Staphylococcus* Cassete de cromossomos *mec* (SCC*mec*). Pelo menos onze tipos de SCC*mec* foram descritos e correlações entre cepas mais virulentas dos tipos MRSA e SCC*mec* III e IV foram observados. O SCC*mec* pode ser transportado por fagos (VALE DE MACEDO, 2021). Além disso, um estudo francês que investigou a prevalência de fluoroquinolonas resistentes *estafilococos* (FQR) em pacientes hospitalizados e saudáveis mostraram que esse tipo de resistência também está associado a cepas de MRSA (MUNIER, 2015).

São alto os níveis de resistência já são detectados em isolados de *S. aureus* para drogas considerados como a última escolha para o tratamento, como a vancomicina (OLUFUNMISO, 2017). Procedente de um plasmídeo conjugativo, a resistência à vancomicina é conferida pelo VRE operon *vanA* (mencionado anteriormente), onde todo o plasmídeo enterocócico original é conjugado ou apenas o transposon Tn1546 é atribuído a um plasmídeo residente de *S. aureus* (MCGUINNESS, 2017).

Como alternativa aos altos índices de resistência e surgimento de cepas MDR, diversos novas drogas têm sido usadas para tratar infecções causadas por *S. aureus*. Recentemente, vários agentes foram aprovados para tratar lesões de pele infectadas por MRSA, incluindo os lipoglicopeptídeos dalbavancina, oritavancina e telavancina, ceftarolina e tedizolida. Outros exemplos de novos medicamentos incluem ácido tânico, ivermectina e quinupristina/dalfopristina, que demonstram sucesso no combate a cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina, eritromicina, ciprofloxacina, rifampicina e gentamicina. Vários produtos naturais também são relatados como promissores *in vivo* atividade antimicrobiana contra *S. aureus*,

inclusive em modelos de infecções de feridas (SWEENEY, 2017; VALE DE MACEDO, 2021; FARAHPOUR, 2020).

É de conhecimento que o *S. aureus* pode expressar uma variedade de fatores de virulência que facilitar a adesão celular, mediar a evasão do sistema imunológico e induzir danos às células hospedeiras (SHAHINI, 2017). A adesão às células hospedeiras é assegurada por proteínas que se ligam à fibronectina (FnbA e FnbB), colágeno (Cna), fibrinogênio (Fib), laminina (Eno) e elastina (EbpS). Essas proteínas podem ser referidas como componentes da superfície microbiana que reconhecem a matriz adesiva (MSCRAMMs) que desempenham papéis importantes na evasão das defesas imunológicas e formação de biofilme (GHASEMIAN, 2015).

Grandes capacidades tanto para a formação de biofilmes quanto para a sobrevivência intracelular são descritas para *S. aureus*. Essas propriedades estão relacionadas com o comportamento firme e recalcitrante. Matrizes polissacarídicas que aumentam sua virulência e resistência a antibióticos e podem ainda contribuir para a sobrevivência bacteriana em fagócitos (neutrófilos e macrófagos). Ocupado juntos, esses fatores contribuem para a disseminação do *S. aureus* e predisõem um indivíduo a uma infecção crônica e persistente (JAUNEIKAITĖ, 2020; HORN, 2018).

Extremamente relevantes para infecções cutâneas, outros fatores de virulência são as toxinas secretadas por *S. aureus* que provocam dano tecidual e formação de abscesso. Entre eles está a α -toxina, uma proteína citolítica formadora de poros de 33 kDa que afeta uma ampla gama de tipos de células humanas, incluindo células epiteliais, células endoteliais, células T, monócitos e macrófagos. Nesse sentido, além do dano tecidual, essa toxina é capaz de neutralizar a ação protetora da resposta imune (OLANIYI, 2018; HILLIARD, 2015).

As Toxinas esfoliativas (ETs) e leucocidinas - incluindo leucocidina ED (LukED) e Leucocidina Pantón-Valentine (PVL), desempenham papéis importantes na patogênese da *S. aureus* à medida que destroem as membranas celulares criando poros tipo barril β que levam à célula lise. Além disso, eles prejudicam a ativação de células imunes residentes (ALONZO, 2012).

4 CONCLUSÃO

A administração tópica de SteLL reduziu a carga bacteriana no local da ferida, diminuindo a gravidade inflamatória devido à menor liberação de marcadores inflamatórios (IL-6, MCP-1, TNF- α e VEGF). Esses efeitos levaram a uma contração mais rápida da ferida e melhoraram o reparo da pele. Os dados forneceram mais informações sobre os efeitos antimicrobianos e imunomoduladores *in vivo* do SteLL. Até onde sabemos, é a primeira avaliação da atividade antimicrobiana *in vivo* de uma lectina de ligação a N-acetilglicosamina.

Tomados em conjunto, os resultados deste estudo indicam que SteLL tem grande potencial para uso no desenvolvimento de agentes para cicatrização de feridas. Estudos futuros são necessários para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos nos efeitos cicatrizantes do SteLL. Além disso, outros projetos estão em andamento para a concepção de novos curativos incorporados ao SteLL para serem avaliados em modelos *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- ALONZO, F. et al. Shopsin, B.; Torres, V.J. *Staphylococcus aureus* leucocidin ED contributes to systemic infection by targeting neutrophils and promoting bacterial growth in vivo. **Mol. Microbiol.** 2012, 83, 423–435.
- ÁLVARES-CARVALHO, S. V. et al. Structure and genetic diversity of natural Brazilian pepper populations (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Genetic and Molecular Research.** v. 15, n. 2. 2016.
- ANLAS, Ceren; et al. Ayse. In vitro evaluation of the therapeutic potential of Anatolian kermes oak (*Quercus coccifera* L.) as an alternative wound healing agent. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 24-32, 2019.
- ARAÚJO, R.M.S., et al. Lectin from *Crataeva tapia* bark exerts antitumor, anti-inflammatory and analgesic activities. *Nat. Prod.* **Bioprospect.** 1, 97–100.
- AZEVEDO, C. F.; QUIRINO, Z. G. M.; BRUNO, R. L. A. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). **Revista brasileira de plantas medicinais.** v. 17, n. 1, p. 26-35, 2015.
- BARROSO-NETO, I. L. et al. Structural analysis of a *Dioclea sclerocarpa* lectin: Study on the vasorelaxant properties of *Dioclea* lectins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 464–470, 2016.
- BENDAOU, H. et al. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus Terebinthifolius* Raddi berries essential oils. **Journal of food science.** v. 75, 2010.
- BESSA, Lucinda; FAZII, Paolo; GIULIO, Mara; CELLINI, Luigina. Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: some remarks about wound infection. **International wound journal**, v. 12, n. 1, p. 47-52, 2015.
- BEZERRA, G. A. et al. Structural studies of an anti-inflammatory lectin from *Canavalia boliviana* seeds in complex with dimannosides. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014.
- BOSE, P. P. et al. A glucose/mannose binding lectin from litchi (*Litchi chinensis*) seeds: Biochemical and biophysical characterizations. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 6, p. 242–252, 2016.
- BRANCO NETO, M. L. C. et al. Avaliação do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira.** v. 21. 2006.
- BRITO, J.S. et al. Lectin from inflorescences of ornamental crop *Alpinia purpurata* acts on immune cells to promote Th1 and Th17 responses, nitric oxide release, and lymphocyte activation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 865–872, 2017.
- BROSSON, S. et al. Identification and preliminary characterization of a putative C-type lectin receptor-like protein in the *T. cruzi* tomato lectin endocytic-enriched proteome. **Microbiological Research**, v. 205, p. 73–79, 2017.

BUCH P.J., CHAI Y., GOLUCH E.D. Tratando Infecções Polimicrobianas em Feridas Diabéticas Crônicas. **Clin. Microbiol. Rev.** 2019.

CAGLIARI, R.; KREMER, F. S.; PINTO, L. S. Bauhinia lectins: biochemical properties and biotechnological applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 811-820, 2018.

CAGLIARI, Rafael; KREMER, Frederico S; DA SILVA PINTO, Luciano. Bauhinia lectins: biochemical properties and biotechnological applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 811-820, 2018.

CARVALHO, M.G. et al. Schinus terebinthifolius Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 158-169. 2013.

CASANOVA, Livia M; COSTA, Sônia S. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 575-595, 2017.

CASTANHEIRA, L. E. et al. Angiogenic effects of BpLec, a C-type lectin isolated from Bothrops pauloensis snake venom. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 153–161, 2017.

COELHO, J. S. et al. Effect of Moringa oleifera lectin on development and mortality of Aedes aegypti larvae. **Chemosphere**, v. 77, n. 7, p. 934–938, 2009.

COELHO, L.C.B.B. et al. Lectins, interconnecting proteins with biotechnological / pharmacological and therapeutic applications. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1–2, 2017.

COOPER R.A. et al. Biofilmes em feridas: Uma revisão do conhecimento atual. **J. Cuidados com Feridas**. 2014; 23 :570-582.

COPIN, R.; SHOPSIN, B.; TORRES, V.J. After the deluge: Mining *Staphylococcus aureus* genomic data for clinical associations and host-pathogen interactions. **Curr. Opin. Microbiol.** 2018, 41, 43–50.

CROSBY, Heidi A; KWIECINSKI, Jakub; HORSWILL, Alexander R. *Staphylococcus aureus* aggregation and coagulation mechanisms, and their function in host–pathogen interactions. In: Advances in applied microbiology. **Academic Press**, p. 1-41. 2016.

DA SILVA, E. B., et al. Efeitos Terapêuticos da Utilização da Aroeira da Praia (*Schinus Terebinthifolius Raddi*): uma Revisão da Literatura. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. S 01, p. Trab361, 2018.

DARBY, Ian; LAVERDET, Betty; BONTÉ, Frédéric; DESMOULIÈRE, Alexis. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology**,

DOS SANTOS, Ardilles Juan Carlos Alves et al. Schinus terebinthifolia leaf lectin (SteLL) is an immunomodulatory agent by altering cytokine release by mice splenocytes. **3 Biotech**, v. 10, n. 4, p. 1-9, 2020.

EMBRAPA. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimenta-rosa. [recurso eletrônico] / Edinelson José Maciel Neves ... [et al.]. – **Colombo: Embrapa Florestas**, 2016. 24 p.: il. color. - (Documentos / Embrapa Florestas, ISSN 1980-3958; 294).

FALCÃO, M. et al. *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) e suas propriedades na medicina popular. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**. v. 10, n. 5, p. 23 - 27, 2015.

FANG, E. F. et al. A lectin with anti-HIV-1 reverse transcriptase, antitumor, and nitric oxide inducing activities from seeds of *Phaseolus vulgaris* cv. Extralong Autumn Purple Bean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 2221–2229, 2010.

FARAHPOUR, M.R. et al. Accelerated healing by topical administration of *Salvia officinalis* essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infected wound model. **Biomed. Pharmacother./Biomed. Pharmacother.** 2020, 128, 110120.

FIGUEIRÔA, E.O. et al. pCramoll and rCramoll lectins induce cell death in human prostate adenocarcinoma (PC-3) cells by impairment of mitochondrial homeostasis. **Toxicology in vitro**, v. 43, n. **January**, p. 40–46, 2017.

FONSECA, C., S.; QUEIROZ, E. D.; VENTUROLI, F. **Identificação de espécies florestais na Escola de Agronomia da UFG**. Goiânia, Fábio Venturoli, 2017. 70p.

FRANCESCHINI, V., LAZZARI, M.; CIANI, F. Lectin cytochemical localization of glycoconjugates in the olfactory system of the lizards *Lacerta viridis* and *Podarcis sicula*. **Anatomy and Embryology**, v. 202, p. 49-54, 2000.

GAOFU, Q. et al. In vitro assessment of plant lectins with anti-pinewood nematode activity. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, n. 1, p. 40–45, 2008.

GEISINGER, E., ISBERG R.R. Interação entre resistência a antibióticos e virulência durante a doença promovida por bactérias multirresistentes. **J. Infectar. Des.** 2017; 215 :S9–S17.

GEMEINER, P. et al. Lectinomics: II. A highway to biomedical/clinical diagnostics. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 1-15, 2009.

GHASEMIAN, A. et al. The Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules (MSCRAMMs) Genes among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* from Hospitalized Children. **Iran. J. Pathol.** 2015, 10, 258–264.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Fitos**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 43-56, 2011.

GOMES, F.S; PROCÓPIO, T. F; NAPOLEÃO, T.H; COELHO, L. C; PAIVA, P. M. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of applied microbiology**, v. 114, n. 3, p. 672-679, 2013.

GOMES, R.B. et al. Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) processing industry: chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 143, 2019.

GONDIM, A. C. S. **Atividade antitumoral e antiviral de lectinas de leguminosas (tribo Phaseoleae, subtribo Diocleinae): ConBr, ConM, DLasiL e DSclerL**. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Tese (Doutorado em Bioquímica). Fortaleza, Universidade Federal do Ceará, 2014.

GUEST, J.F. et al. Health economic burden that different wound types impose on the UK's. **National Health Service. Int. Wound J.** 2017, 14, 322–330.

GUO, S. al; DIPIETRO, Luisa A. Factors affecting wound healing. **Journal of dental research**, v. 89, n. 3, p. 219-229, 2010.

HAN, George; CEILLEY, Roger. Chronic wound healing: a review of current management and treatments. **Advances in therapy**, v. 34, n. 3, p. 599-610, 2017.

HASHIM, O. H.; JAYAPALAN, J. J.; LEE, C.-S. Lectins: an effective tool for screening of potential cancer biomarkers. **PeerJ**, v. 5, p. e3784, 2017.

HAYUNGA, E.G.; SUMMER, M.P. Characterization of surface glycoprotein on *Schistosoma mansoni* adult worms by lectin affinity chromatography. **Journal of Parasitology**, v. 72, p. 283-291, 1986.

HEITKAMP R.A. et al. Association of *Enterococcus* spp. com Lesão Grave de Extremidade em Combate, Terapia Intensiva e Infecção Polimicrobiana de Feridas. **Surg Infect.** 2018.

HILLIARD, J.J. et al. Anti-alpha-toxin monoclonal antibody and antibiotic combination therapy improves disease outcome and accelerates healing in a *Staphylococcus aureus* dermonecrosis model. **Antimicrob. Agents Chemother.** 2015, 59, 299–309.

HOBBS M. R. et al. *Staphylococcus aureus* colonization e sua relação com a infecção da pele e dos tecidos moles em crianças da Nova Zelândia. **EUR. J. Clin. Microbiol. Infectar. Des.** 2018.

HOPPER, J. T. S. et al. The tetrameric plant lectin banlec neutralizes HIV through bidentate binding to specific viral glycans. **Structure**, v. 25, n. 5, p. 773–782.e5, 2017.

HORN, J.; Inside job: *Staphylococcus aureus* host-pathogen interactions. **Int. J. Med. Microbiol.** 2018, 308, 607–624.

HSU J.T. et al. Avaliação de feridas crônicas e método de detecção de infecções. **BMC Med. Informar. Decis. Mak.** 2019.

HUNTER, C. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections: A Comprehensive Review and a Plastic Surgeon's Approach to the Occult Sites. **Plast. Reconstr. Surg.** 2016, 138, 515–523.

JACQUET, R. et al. Análise de expressão gênica dupla identifica fatores associados à virulência de *Staphylococcus aureus* em camundongos diabéticos. **Infectar. Imun.** 2019; 87 :e00163-19.

JAUNEIKAITE E. et al. Colonização por *Staphylococcus aureus* e aquisição de infecção de pele e tecidos moles entre recrutas da Marinha Real: Um estudo de coorte prospectivo. **Clin. Microbiol. Infectar.** 2020; 26 :381.e1–381.e6.

JAUNEIKAITE, E. et al. *Staphylococcus aureus* colonization and acquisition of skin and soft tissue infection among Royal Marines recruits: A prospective cohort study. **Clin. Microbiol. Infect.** 2020, 26, 381.e1–381.e6.

KADAM S. et al. Avanços Recentes em Abordagens Antimicrobianas Não Convencionais para Biofilmes de Feridas Crônicas: Encontramos a 'French in the Armor'? **Biomedicina.** 2019.

KAPLANI, Konstantina; KOUTSI, Stamatina; ARMENIS, Vasileios; SKONDRA, Foteini; KARANTZELIS, Nickolas; TSANIRAS, Spyridon; TARAVIRAS, Stavros. Wound healing related agents: Ongoing research and perspectives. **Advanced drug delivery reviews**, v. 129, p. 242-253, 2018.

LAM, S. K.; NG, T. B. Lectins: Production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2011.

LIMA, A. T. A. et al. Atividade antimicrobiana da espécie *Schinus Terebinthifolius* Raddi (aroeira-vermelha): breve revisão da literatura. **Anais do Seminário Científico do UNIFACIG.** p. 1 – 8. 2017. Disponível em: . Acesso em: 22.06.2022.

LIMA, A.L.R. et al. Histochemical Evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, article ID 179817, 2010.

LIMA, Isana Maria de Souza Feitosa et al. *Schinus terebinthifolia* leaf lectin (SteLL) has anti infective action and modulates the response of *Staphylococcus aureus*-infected macrophages. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2019.

LIMA, T.A., et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International Journal of Biological Macromolecules**, 419-429. 2017.

LINDHOLM, Christina; SEARLE, Richard. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. **International wound journal**, v. 13, p. 5-15, 2016.

MAHAJAN, S. et al. Microbial F-type lectin domains with affinity for blood group antigens. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 491, n. 3, p. 708–713, 2017.

MCGUINNESS, W.A. et al. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Yale J. Biol. Med.** 2017, 90, 269–281.

MCNEIL J.C., FRITZ S.A. Estratégias de prevenção para infecções recorrentes de pele e tecidos moles por *Staphylococcus aureus* associadas à comunidade. **Atual Infectar. Des. Rep.** 2019; 21:12.

MEDEIROS, M. L.S. et al. Nematicidal activity of a water soluble lectin from seeds of *Moringa oleifera*, **International Journal of Biological Macromolecules.** P.26. 2017.

MITCHELL, R.J. Health outcomes and costs for injured young people hospitalised with and without chronic health conditions. **Injury** 2017, 48, 1776–1783.

MONZO, A.; BONN, G.K; GUTTMAN, A. Lectin-immobilization strategies for affinity purification and separation of glycoconjugates. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 423-432, 2007.

MORAIS JUNIOR, V. T. M. et al. Early assessment of tree species with potential for carbon offset plantations in degraded area from the southeastern Brazil. **Ecological Indicators**, v. 98, p. 854–860. 2019.

MORGAN S.J. et al. A aptidão bacteriana em feridas crônicas parece ser mediada pela capacidade de crescimento de alta densidade, não pela virulência ou pelas funções do biofilme. **PLoS Pathog.** 2019.

MORS, W.B., Rizzini, C.T., Pereira, N.A., 2000. **Medicinal plants of Brazil, Michigan**, Reference Publications.

MORTON, J.F., 1978. Brazilian pepper - Its impact on people, animals and the environment. **Econ. Bot.** 32, 353–359.

MOURA, M.C., et. al.. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International Journal of Biological Macromolecules** 98, 419-429. 2017.

MU, J. et al. A novel high-mannose specific lectin from the green alga *Halimeda renschii* exhibits a potent anti-influenza virus activity through high-affinity binding to the viral hemagglutinin. **Marine Drugs**, v. 15, n. 8, 2017.

MUNIER, A.L. et al. Comparative dynamics of the emergence of fluoro quinolone resistance in *staphylococci* from the nasal microbiota of patients treated with fluoroquinolones according to their environment. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2015, 46, 653–659.

NAPOLEÃO, T.H., et al.. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology** 114, 672-679. 2013.

NEVES, E. J. M. et al. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimenta-rosa. **Colombo: Embrapa Florestas**, 2016. 24 p.

OLANIYI, R.O. et al., Deciphering the Pathological Role of Staphylococcal alpha-Toxin and Panton-Valentine Leukocidin Using a Novel Ex Vivo Human Skin Model. **Front. Immunol.** 2018, 9, 951.

OLIVEIRA, A. P. S. et al. Biotechnological value of *Moringa oleifera* seed cake as source of insecticidal lectin against *Aedes aegypti*. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 10, p. 1683–1690, 2016.

OLUFUNMISO, O.; TOLULOPE, I.; ROGER, C. Multidrug and vancomycin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from different teaching hospitals in Nigeria. **Afr. Health Sci.** 2017.

PALHARINI, J. G. et al. Eutirucallin: A Lectin with antitumor and antimicrobial properties. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, 2017.

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.

PEDINI, V. et al. Carbohydrate histochemistry of lamb duodenum. **Acta Histochemica**, v. 103, p. 315-323, 2001.

PELL, S. K. Anacardiaceae. Cashew family. 2009. Version 03 January 2009 (under construction). <http://tolweb.org/Anacardiaceae/21262/2009.01.03> in The Tree of Life **Web Project**, <http://tolweb.org>

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

PICH, R. C. **Obtenção e caracterização do produto seco da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* R.) por cast tape drying**. Dissertação de mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, 2019. 115p.

POIROUX, G. et al. Plant lectins targeting O-glycans at the cell surface as tools for cancer diagnosis, prognosis and therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, 2017.

PROCÓPIO, T.F., et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International Journal of Biological Macromolecules** 98, 419-429, 2017.

PUNJATAEWAKUPT A., NAPAVIDHAYANUN S., ARAMWIT P. A. Desvantagem de agentes antimicrobianos para cicatrização de feridas. **EUR. J. Clin. Microbiol. Infectar**. Des. 2019.

RAHIM K. et al. Franco OL Contribuição bacteriana na cronicidade das feridas. **Microb. Eco** 2017; 73 :710-721.

RAMOS, D. B. M. et al. Antimicrobial activity of *Cladonia verticillaris* lichen preparations on bacteria and fungi of medical importance. **Chinese Journal of Biology**, v. 2014, p. 1-7, 2014.

RICHARDSON J.R. et al. Peptídeos de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina associada à comunidade prejudicam a resposta imune adaptativa via modulação de subconjuntos de células dendríticas in vivo. **Frente. Immunol.** 2019; 10:995.

RICHARDSON, J.R. et al. Peptides From Community Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Impair the Adaptive Immune Response via Modulation of Dendritic Cell Subsets in vivo. **Front. Immunol** 2019.

ROCHA, P. S. et al. Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**. p. 39 – 46. 2019.

ROSAS, E. C.; CORREA, L. B.; HENRIQUES, M. G. Antiinflammatory Properties of *Schinus terebinthifolius* and its use in arthritic conditions. In.: WATSON, R. R.; PREED, V. R. (Ed.). **Bioactive food as dietary interventions for arthritis and related inflammatory diseases**. p. 489–505. 2019.

SCHIMITBERGER, V. M. B. et al. Volatile compounds profile changes from unripe to ripe fruits of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolia* Raddi). **Industrial Crops and Products**. v. 119, p. 125–131. 2018.

- SHAHINI, S. A. et al. Epidemiology of Pantone-Valentine Leukocidin harbouring *Staphylococcus aureus* in cutaneous infections from Iran: A systematic review and meta-analysis. **Infez Med.** 2017, 25, 217–223.
- SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: From hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, 2004.
- SHETTIGAR K. et al. Virulence determinants in Clinical *Staphylococcus aureus* de infecções monomicrobianas e polimicrobianas de úlceras do pé diabético. **J. Med. Microbiol.** 2016; 65 :1392-1404.
- SILVA, D.P.B, et al. Chemical characterization and pharmacological assessment of polysaccharide free, standardized cashew gum extract (*Anacardium occidentale* L.). **J. Ethnopharmacol.** 213: 395–402, 2016.
- SILVA, E.B. et al. Efeitos terapêuticos da utilização da aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi): uma Revisão da Literatura. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. S 01, p. Trab361, 2018.
- SILVA, M. C. et al . Extração da lectina da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e o efeito de cátions divalentes na atividade hemaglutinante. **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, v. 30, supl. 1, p. 103-107, May 2010.
- SILVA-LUZ, C.L.; PIRANI, J. R. Anacardiaceae in lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. S 01, 2015.
- SINGH, R. S. et al. Cyanobacterial lectins characteristics and their role as antiviral agents. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 474-496, 2017.
- SOUZA, P. et al. Estabelecimento de espécies arbóreas em recuperação de área degradada pela extração de areia. **Cerne**, v.7, n.2, p. 43 - 52, 2001.
- SWEENEY, D. et al. Comparative in vitro activity of oritavancin and other agents against methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** 2017, 87, 121–128.
- THAKUR, K. et al. *Sauromatum guttatum* lectin: Spectral studies, lectin-carbohydrate interaction, molecular cloning and in silico analysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1267–1279, 2017.
- TLILI, N. et al. *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: a comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. **Industrial Crops and Products**. v. 122, p. 559–565. 2018.
- TONG, S. Y. C., et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 3, p. 603-661, 2015.
- TSANEVA, M.; VAN DAMME, E. J. M. 130 years of Plant Lectin Research. **Glycoconjugate Journal**, p. 1-19, 2020.

- ULIANA, M.P. et al. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops & Products**, v. 83, p. 235–240, 2016. v. 7, p. 301, 2014.
- VALADEZ-VEGA, C. et al. Purification, biochemical characterization, and bioactive properties of a lectin purified from the seeds of white tepary bean (*Phaseolus acutifolius* variety *latifolius*). **Molecules**, v. 16, n. 3, p. 2561–2582, 2011.
- VALE DE MACEDO, G. H. R. et al. Interplay between ESKAPE Pathogens and Immunity in Skin Infections: An Overview of the Major Determinants of Virulence and Antibiotic Resistance. **Pathogens** 2021, 10, 148. 2021.
- VESTBY L.K., GRONSETH T., SIMM R., Nesse LL Bacterial Biofilm e seu papel na patogênese da doença. **Antibióticos**. 2020.
- WANG, H.; GAO, J.; NG, T. B. A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 275, n. 3, p. 810–6, 2000.
- WILLIAMS, Helen, et al. Donald et al. 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.
- XIE, M. et al. Lectin-modified trifunctional nanobiosensors for mapping cell surface glycoconjugates. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, p. 1311-1317, 2009.
- YONEZAWA, Hideo, et al. Effect of *Helicobacter pylori* biofilm formation on susceptibility to amoxicillin, metronidazole and clarithromycin. **Microbial pathogenesis**, v. 132, p. 100-108, 2019.
- ZIWA M. et al. Práticas comuns de hidroterapia e a prevalência de colonização bacteriana de queimaduras no Hospital Universitário de Lusaka, Zâmbia . **Queimaduras**. 2019.

Article

Schinus terebinthifolius leaf lectin (SteLL) reduces the bacterial and inflammatory burden of wounds infected by *Staphylococcus aureus* promoting skin repair.

Marcio Anderson Sousa Nunes ^{1,2}, Lucas dos Santos Silva ², Deivid Martins Santos ³, Brenda da Silva Cutrim ⁴, Silvamara Leite Vieira ², Izadora Souza Soeiro Silva¹, Simeone Júlio dos Santos Castelo Branco ⁴, Mayara de Santana do Nascimento ², André Alvares Marques Vale⁵, Ana Paula Silva dos Santos-Azevedo⁵, Adrielle Zagnignan², Joicy Cortez de Sá Sousa², Thiago Henrique Napoleão ⁴, Patrícia Maria Guedes Paiva⁴, Valério Monteiro-Neto ^{1,5*}, and Luís Cláudio Nascimento da Silva ^{1,2*}

- ¹ Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, BIONORTE, São Luís 65055-310, MA, Brazil.; marcionunes@ceuma.com (M.A.S.N.); valerio.monteiro@ufma.br (V.M-N.); luiscn.silva@ceuma.br (L.C.N.S.).
- ² Laboratório de Patogenicidade Microbiana, Universidade Ceuma, 65075-120, São Luís, MA, Brazil. ls.lucas@gmail.com (L.S.S.); bsilvadc@gmail.com (B.S.C.); silvamara.vieira@outlook.com (S.L.V.); izadorasoeiro@outlook.com (I.S.S.S.); adriellyzagnignan@hotmail.com (A.Z.); joicyvet@hotmail.com (J.C.S.S.); luiscn.silva@ceuma.br (L.C.N.S.).
- ³ Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo 05508-000, MA, Bazil. deivid.martinss98@gmail.com(D.M.S.).
- ⁴ Laboratório de Bioquímica de Proteínas, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50740-570, PE, Brazil. bsilvadc@gmail.com (B.S.C.); simeonecastelo@gmail.com (S.J.S.C.B.); thiago86@yahoo.com.br (T.H.N.); ppaiva63@yahoo.com.br (P.M.G.P.)
- ⁵ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís 65080-805, MA, Brazil. andre_amvale@hotmail.com (A.A.M.V.); ana.azevedo@ufma.br (A.P.S.S-V.); valerio.monteiro@ufma.br (V.M-N.).

Citation: To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: XXXXXX

Received: date

Accepted: date

Published: date

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

*Correspondence: luiscn.silva@ceuma.br; valerio.monteiro@ufma.br

Abstract: *Staphylococcus aureus* is commonly found in wound infections where this pathogen impairs the skin repair. The lectin isolated from leaves of *Schinus terebinthifolius* (named as SteLL) has antimicrobial and antivirulence action against *S. aureus*. This study evaluated the effects of topical administration of SteLL on mice wounds infected by *S. aureus*. Seventy-two C57/BL6 mice (6-8 weeks old) were allocated in four groups: (i) uninfected wounds; (ii) infected wounds, infected wounds treated with 32 µg/mL SteLL solution; (iv) infected wounds treated with 64 µg/mL SteLL solution. The excisional wounds (64 mm²) were induced on the dorsum and infected by *S. aureus* 432170 (4.0 × 10⁶ CFU/wound). The daily treatment started 1-day post-infection (dpi). The topical application of both SteLL concentrations significantly fasted the healing of *S. aureus*-infected wounds until the 7th dpi, when compared to untreated infected lesions (reductions of 1.95-4.55-folds and 1.79-2.90-folds for SteLL at 32 µg/mL and 64 µg/mL, respectively). The SteLL-based treatment also amended the severity of wound infection and reduced the bacterial load (12-folds to 72-folds for 32 µg/mL; and 14-folds to 282-folds for 64 µg/mL). SteLL-treated wounds showed higher collagen deposition and restoration of skin structure than other groups. The bacterial load and the levels inflammatory markers (IL-6, MCP-1, TNF-α and VEGF) were also reduced by both SteLL concentrations. These results corroborate with the reported anti-infective properties of SteLL, making this lectin a lead candidate for the development of alternative agents for the treatment of *S. aureus*-infected skin lesions.

Keywords: Anti-infective properties; Bacterial infection; Brazilian pepper tree; Growth factors; Plant lectins; Wound contraction.

1. Introduction

Several factors can cause a skin wound, some are from medical origins (such as surgical procedures) and others are the result of accidents or illnesses. Regardless of the cause, these injuries affect millions of people around the world and challenge the health system [1–3]. Wound healing is a fundamental physiological process for the preservation of epithelial integrity and protection of the body. In normal conditions, tissue repair develops in four steps: hemostasis, inflammation, proliferation and tissue remodeling [4–6].

Hemostasis begins immediately after the trauma, in which there is activation of the coagulation cascade resulting from platelet growth factors and thrombin complex. Simultaneously, during the inflammation phase occurs the migration of neutrophils, macrophages and other immune cells that are responsible for eliminating opportunistic pathogens [7]. Then, neutrophils interact with components of the extracellular matrix (ECM), stimulating the formation of angiogenesis promoters, such as the basic fibroblast growth factor (bFGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) [8,9].

The proliferative phase begins with epithelial cells and fibroblasts that are recruited and assist in hair growth, collagen production and formation of a new tissue [5]. Consequently, a granulation tissue is formed as the result of the formation of new capillaries and lymphatic vessels (angiogenesis). Finally, in the remodeling phase, the newly formed tissue is constantly remodeled until its characteristics approximate that of a normal tissue [10].

One of the main factors that compromise healing is the occurrence of infections both by microorganisms of the skin microbiota and by the acquisition of others present in the environment [11–13]. *Staphylococcus aureus* is among the bacterial species most found in superficial infections, whose prevalence is related to its presence in skin microbiota, the vast arsenal of virulence determinants and high antibiotic resistance [14,15]. The virulence factors produced by *S. aureus* include coagulase (Coa), factor-binding protein von Willibrand (vWbp), alpha hemolysin and phenol-soluble modulins (PSMs) and biofilm synthesis [16,17].

Due to the difficulties faced by health systems for the treatment of skin infections, the search for new bioactive compounds with antimicrobial and/or healing properties are increasing [18]. Lectins, a group of proteins widely distributed in nature that binds to carbohydrates in a reversible way, presenting several biotechnological applications including anti-infective, immunomodulatory, and healing actions [19–21]

An example is SteLL, a lectin isolated from leaves of *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), a plant widely used in Brazilian folk medicine [22,23]. SteLL is characterized as an N-acetylglucosamine binding protein with weight molecular weight of 12.4 kDa, presenting itself as a promising antibacterial compound due to its ability to inhibit the growth of bacteria of clinical interest, including *S. aureus* [24,25].

Furthermore, its immunomodulatory action has been described in different works, as well as its anti-infection activity in experimental models using mice macrophages and *Galleria mellonella* larvae [25]. SteLL also has antitumor, analgesic and anxiolytic activities in mice bearing sarcoma 180 [26–29].

Given the anti-infective and immunomodulatory properties of SteLL, this study aimed to evaluate the effects of its topical administration in an infection model of wound infection caused by *S. aureus*. The null hypotheses were that SteLL-based treatment (1) would not present antimicrobial effects in the *in vivo* model of *S. aureus*-infected wounds; (2) would not reduce the severity of wound inflammation; (3) would not promote wound healing and skin repair; and (4) would not present *in vivo* immunomodulatory effects.

2. Results

2.1 Topical treatment with SteLL reduced the severity of *S. aureus*-infected skin wounds

During the 17 days of experiment the macroscopy aspects (wound area, amount and type of exudate, edema intensity, color of surrounding skin tissue, type of debridement tissue) of each wound were daily evaluated for determination of an index of severity. In uninfected control, due to the absence of an infectious agent, the inflammatory parameters were limited to serous-type exudate which decreased from moderate to mild as the lesion closed, and granulation tissue was observed after 5 days post-infection (dpi). The higher degrees of severity were observed during the first 5 dpi in the infected group (Figures 1 and 2). These wounds showed high amount of purulent exudate and edema, main indicators of intense inflammatory response. Furthermore, the formation of granulation tissue was observed only on the tenth day (Figure 1).

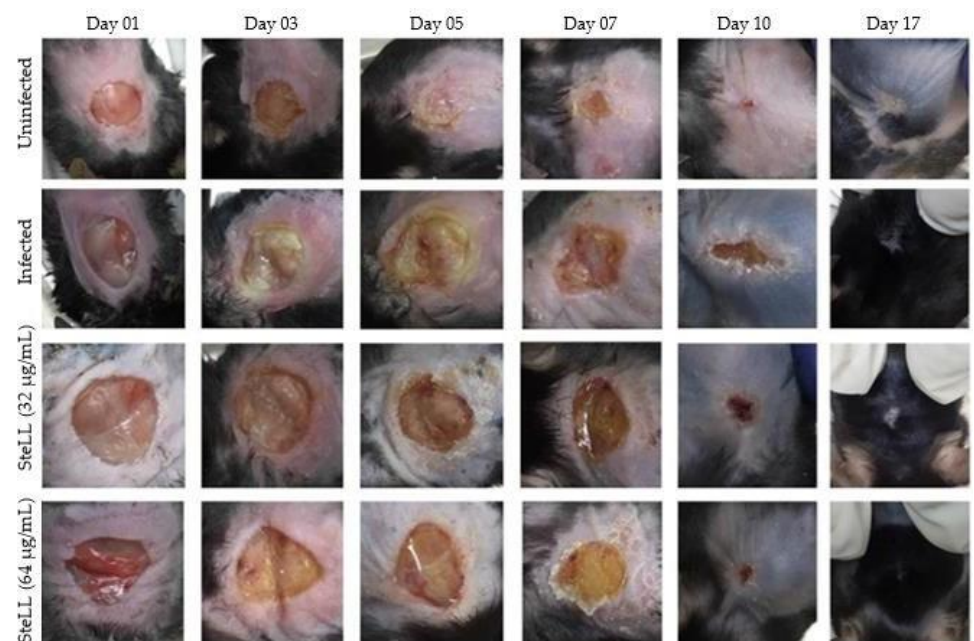


Figure 1. Macroscopic analysis of the effect of topical SteLL treatment (32 µg/mL and 64 µg/mL) on skin lesions infected by *Staphylococcus aureus*.

In the groups of animals treated with both SteLL concentrations, moderate edema and moderate serous exudate were observed. Compared to the infected group, the groups treated with SteLL had a lower degree of severity, evidencing that the presence of the lectin decreased the need for an inflammatory response more intense, besides having presented granulation tissue from the 7th dpi.

The index of severity is represented in the Figure 2. It is possible to observe that the infected group had the highest scores of infection severity (Figure 2a). On the other hand, treatment with SteLL (in both tested concentrations) reduced the severity of infection from the seventh and eighth day of treatment at the concentration of 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively, presenting only mild serous exudate and granulation tissue.

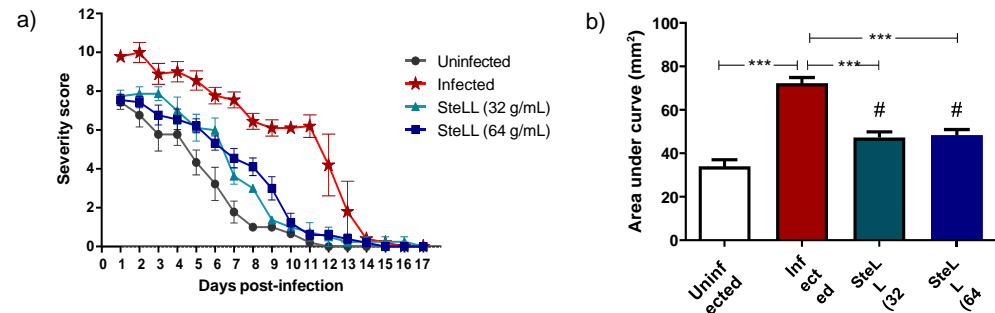


Figure 2: Effects of topical treatment with SteLL on the severity of wound infected by *Staphylococcus aureus*. (a) Analysis of the clinical parameters. (b) Area under curve (AUC) of the clinical parameters of the animals studied. ***Statistical differences among the indicated experimental groups ($p < 0.0001$); #Statistical differences in relation to Uninfected group ($p < 0.0001$).

These data are more evident using the area under curve (AUC) analysis (Figure 2b), where the infected group had the highest mean AUC ($72.28 \pm 9.21 \text{ mm}^2$) and the uninfected the lowest mean AUC ($34.0 \pm 9.21 \text{ mm}^2$). Indeed, the AUC values for SteLL-treated groups lower than infected animals (AUC of $47.25 \pm 7.54 \text{ mm}^2$ and $48.39 \pm 7.62 \text{ mm}^2$ for 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively; $p < 0.0001$).

2.2 Topical treatment with SteLL fasted the contraction of *S. aureus*-infected skin wounds

Regarding the wound area (Figure 3), the values were expressed in percentage (%), where the area at 1st dpi represents 100%. In relation to the uninfected groups, the infected wounds without treatment showed higher area until the 7th dpi. Similarly, the animals treated with SteLL showed lower wound area until the 7th dpi in relation to infected group ($p < 0.05$). Animals treated with SteLL at 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ showed reductions ranging from 1.95-4.55 folds in relation to untreated infected wounds, while for SteLL at 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ the reduction ranged from 1.79-2.90-folds. The groups treated with SteLL at concentrations of 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ showed no statistical differences significant ($p > 0.05$) among themselves and in relation to uninfected animals.

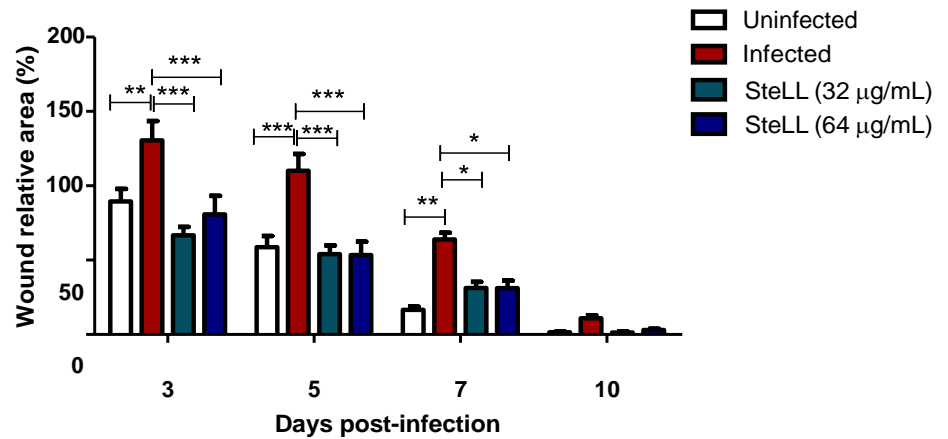


Figure 3. Effect of topical treatment with SteLL in the contraction of *Staphylococcus aureus*-infected wounds. Area expressed in percentage (%), where the lesion area on day 01 represents 100%. ***Statistical differences among the indicated experimental groups ($p < 0.001$); **Statistical differences among the indicated experimental groups ($p < 0.01$).

To better characterize the efficiency of topical treatment with SteLL, histological analyzes were performed using Hematoxylin and Eosin (HE) and Masson's trichrome staining (Figures 4 and 5; Table 1). At 3rd dpi, all infected wounds showed high amounts of cell debris and intense inflammatory infiltrate (with a predominance of polymorphonuclear cells), although slightly lower scores were recorded for those treated with SteLL at 64 µg/mL ($p < 0.05$). After 10 days of treatment, cell debris and moderate inflammatory infiltrate were present in untreated infected wounds and in those treated with SteLL at 64 µg/mL. The group treated with SteLL at 32 µg/mL showed improved re-epithelization and mild inflammatory infiltrate ($p < 0.05$).

Following, at 17th dpi, inflammatory infiltrate and cell debris were not detected in the uninfected wounds and SteLL-treated groups. The epidermis presented patterns of normality similar to the control group, that is, it is characterized by the strata (basal, spinous, granular and corneal). The dermis of these animals showed high cellularity (fibroblasts), uniform distribution of collagen fiber bundles and a reduction in the inflammatory infiltrate, especially after 17 days of treatment. The dermis showed a more uniform and denser distribution of collagen fiber bundles in SteLL-treated groups. On the other hand, the presence of cell debris and inflammatory infiltrate was still verified in the untreated infected group.

Table 1: Histopathological evaluation of healing process induced by topical treatment with SteLL in *Staphylococcus aureus*-infected wounds.

Parameter	Uninfected	Infected	SteLL	
			32 µg/mL	64 µg/mL
Cell debris	2 ± 0 ^a	3 ± 0 ^b	3 ± 0 ^b	2.25 ± 0.5 ^a
Re-epithelization	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
Inflammatory infiltrate	1.25 ± 0.5 ^a	3 ± 0 ^b	3 ± 0 ^b	2.5 ± 0.58 ^c
Fibroblast proliferation	-	-	-	-

10 days	Cell debris	0 ± 0^a	1 ± 0^b	0 ± 0^a	1 ± 0.58^b
	Re-epithelization	3 ± 0^a	2.5 ± 0.5^b	3 ± 0^a	2.0 ± 0.5^c
	Inflammatory infiltrate	0 ± 0^a	2 ± 0^b	1 ± 0^c	2 ± 0^b
	Fibroblast proliferation	1.25 ± 0.5^a	3 ± 0^b	3 ± 0^b	2.5 ± 0.58^c
	Cell debris	0 ± 0^a	0.5 ± 0^b	0 ± 0^a	0 ± 0^a
17 days	Re-epithelization	3 ± 0^a	3 ± 0^a	3 ± 0^a	3 ± 0^a
	Inflammatory infiltrate	0 ± 0^a	1 ± 0^b	0 ± 0^a	0 ± 0^a
	Fibroblast proliferation	2.25 ± 0.5^a	2 ± 0^a	3 ± 0^c	3 ± 0^c

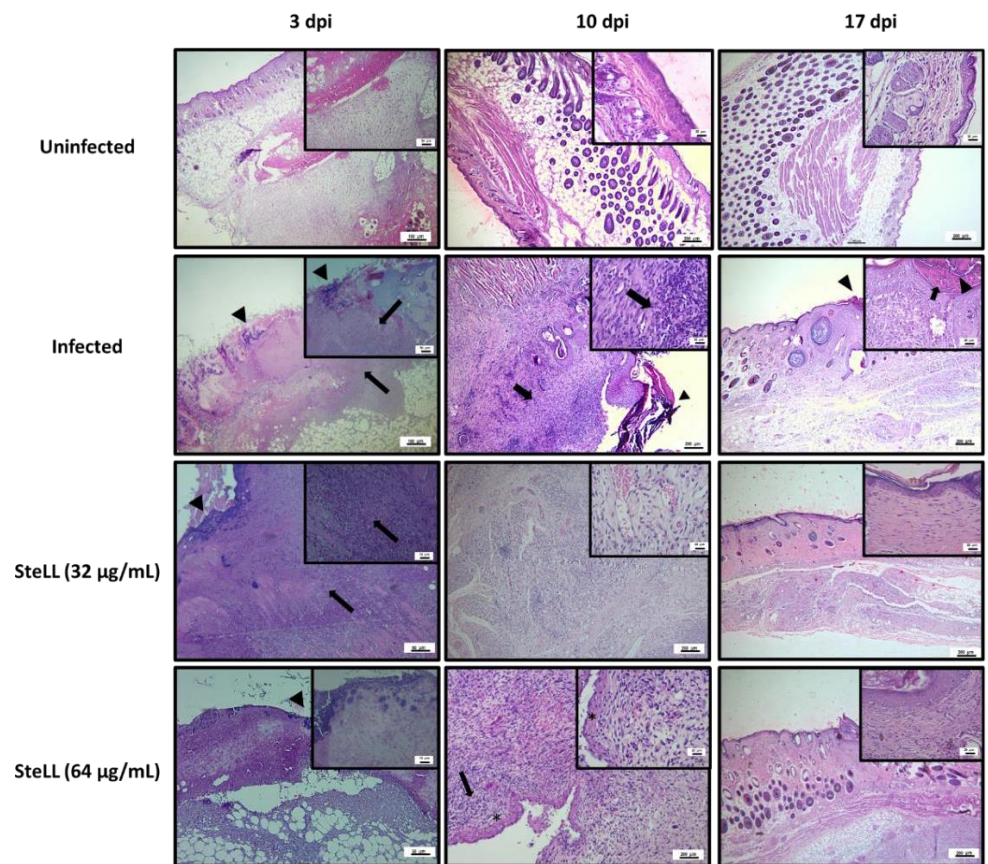


Figure 4. Histopathological analysis of healing process induced by topical treatment with SteLL in *Staphylococcus aureus*-infected wounds using Hematoxylin and Eosin (HE) staining. Polymorphonuclear inflammatory infiltrate (arrow); Cell debris (arrowhead); Re-epithelialization (asterisk). The pictures are at magnifications of 40X (200 μ m) and 400X (20 μ m).

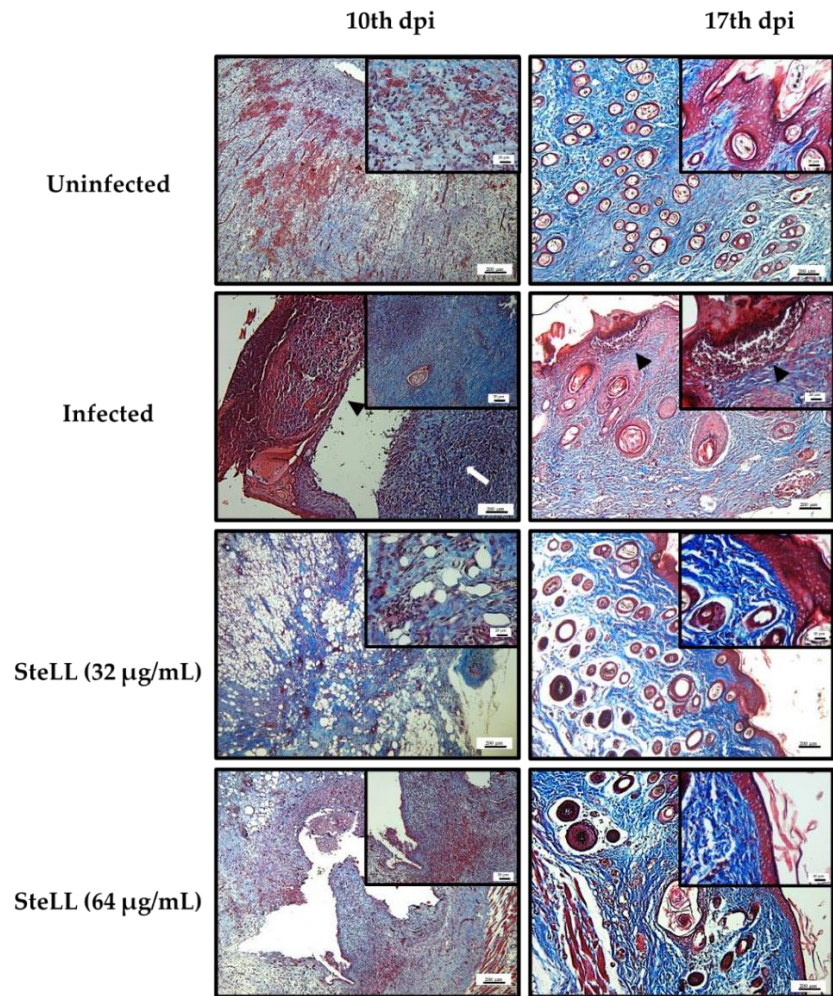


Figure 5. Histopathological analysis of healing process induced by topical treatment with SteLL in *Staphylococcus aureus*-infected wounds using Masson's trichrome staining. Polymorphonuclear inflammatory infiltrate (arrow); Cell debris (arrowhead); Re-epithelialization (asterisk). The pictures are at magnifications of 40X (200 µm) and 400X (20 µm).

2.3 Topical treatment with SteLL reduced the bacterial load of skin lesions infected by *S. aureus*.

The *in vivo* antimicrobial effects of the topical administration of SteLL were evaluated at 3 dpi, 10 dpi and 17 dpi (Figure 6). When compared to uninfected animals, the wounds infected by *S. aureus* presented CFU values increased by approximately 1683 folds, 117 folds, and 68 folds after 3 dpi (Fig. 6a), 10 dpi (Fig. 6b), and 17 dpi (Fig. 6c) ($p < 0.0001$). On the other hand, the topical treatment with both SteLL concentrations resulted in statistical differences in bacterial load in relation to untreated infected wounds ($p < 0.0001$). Specifically, the administration of the lectin at 32 µg/mL resulted in reductions in bacterial load of the order of 12-folds (3 days of treatment), 72-folds (10 days of treatment) and 12-folds (17 days of treatment). Similarly, mice treated with SteLL at 64 µg/mL showed values of *S. aureus* load decreased by 14-folds, 282-folds and 14 folds in the tested periods.

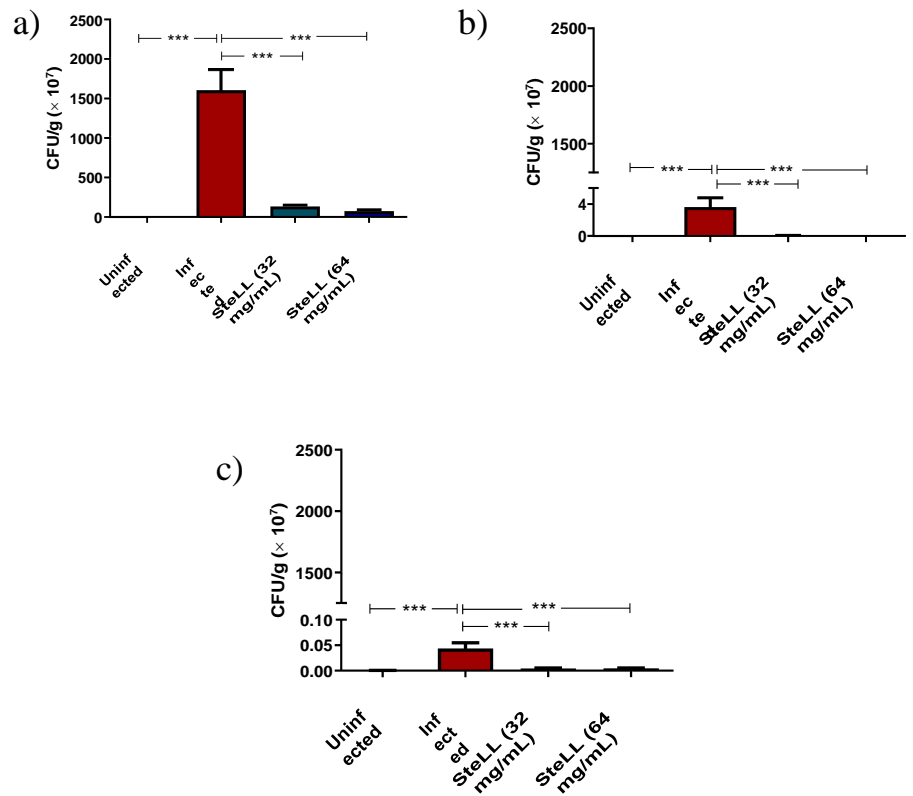


Figure 6. Effect of topical treatment with SteLL (32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on bacterial load in wounds contaminated by *Staphylococcus aureus*. (a) Bacterial load after 3 days of infection; (b) Bacterial load after 10 days of infection; (c) Bacterial load after 17 days of infection. *** Statistically differences ($p < 0.0001$).

2.4 Topical treatment with SteLL modulated the levels of inflammatory markers at skin lesions infected by *S. aureus*.

The levels of inflammatory markers (IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-12p70, MCP-1, TNF- α and VEGF) were measured in the lesion tissue on the 3rd dpi, and its production was reported in picograms per mg of protein (pg/mg) (Fig. 7). The infection induced by *S. aureus* significantly increased the production of IL-6, MCP-1, TNF- α and VEGF in relation to the lesions without infection ($p < 0.001$); for other markers, no conclusive results were obtained. On the other hand, the topical application of SteLL in *S. aureus*-infected wounds reduced the amounts of these markers to values similar to those detected in animals without infection ($p > 0.05$). The average reductions for both SteLL concentrations were 97.41% for IL-6 ($p < 0.0001$), 97.87% for MCP-1 ($p < 0.0001$), 87.09% for TNF- α ($p < 0.0001$) and 41.40% for VEGF ($p < 0.01$).

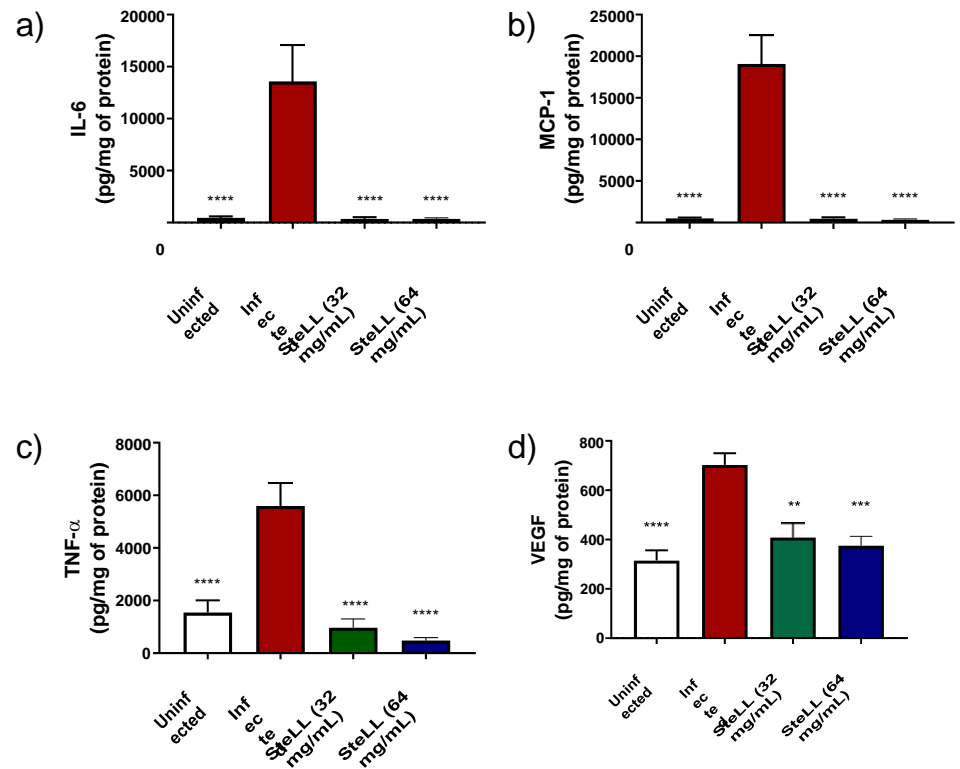


Figure 7. Effect of topical SteLL treatment on inflammatory markers levels in wound tissue infected by *Staphylococcus aureus*. *** Statistically differences ($p < 0.0001$).

3. Discussion

S. aureus is commonly found in wound infections where this pathogen increases the time for healing and skin repair [17,30]. In this context, there is an urgent need for compounds able to treat wound infection by direct inhibition of bacterial growth or by improving the host response (immune system and healing process) [31–34]. Some lectins have been highlighted as promising healing agents for skin wound, especially those with affinity to mannose [32,35] and galactose [36,37]. Despite the immunomodulatory, healing and anti-infective potential of these proteins, their application on models of skin infection has not been properly addressed [32]. Herein, the effects of the topical administration of SteLL, a N-acetylglucosamine-binding protein, were evaluated in murine model of skin wounds infected by *S. aureus*.

In addition to these previous results, the topical treatment with both SteLL concentrations (32 $\mu\text{g/mL}$ and 64 $\mu\text{g/mL}$) significantly decreased the bacterial load in the tissue, reducing the inflammation severity and promoting faster wound healing. Indeed, SteLL is reported as a protein with the ability to inhibit the growth of Gram-negative and Gram-positive bacteria of clinical interest, having a stronger inhibition of *S. aureus* [14], which is associated to the fact that this lectin specifically binds to N-acetylglucosamine [15,16], a carbohydrate present in the cell wall of Gram-positive bacteria [17]. The *in vivo* antimicrobial action of SteLL was previously demonstrated using *G. mellonella*. The larvae infected by *S. aureus* and treated with SteLL had a longer survival compared to untreated larvae, with a decrease in bacterial load in hemolymph [25].

During the experiment, the wound contraction and the clinical characteristics (as markers of inflammation severity) were evaluated. The SteLL-treated animals showed faster wound contraction and reduced severity score when compared to untreated animals. These results are

confirmed by the lower detection of cytokines and VEGF in mice treated with SteLL in comparison to other groups. The healing action of SteLL seems to be related to its antimicrobial and immunomodulatory effects, since no significant healing effects were observed in uninfected wounds treated with the tested SteLL concentrations (data not shown).

The immunomodulatory effects of SteLL have been reported in mice macrophages (infected or not by *S. aureus*) and mice splenocytes [25,38]. In uninfected macrophages the lectin stimulated the production of mitochondrial superoxide, nitric oxide and cytokines (IL-6, IL-10, IL-17A, and TNF- α). SteLL-treated macrophages showed improved bactericidal action towards *S. aureus* and reduced the expression of IL-17A and IFN- γ in infected macrophages [25]. The immunomodulatory effects of SteLL were also evaluated in mice splenocytes. These cells when treated with SteLL showed increased release of pro-inflammatory cytokines (IL-2, IL-17A, IFN- γ and TNF- α) and anti-inflammatory cytokines (IL-4) [38].

The creation of a new vasculature via is essential phase of healing pathway to promote the delivery of nutrients, oxygen, immune cells, inflammatory mediators and growth factors [39]. In general, the angiogenesis is correlated with inflammatory response, due the production of proangiogenic mediators by inflammatory cells [13,40]. In this sense, the excessive inflammation could lead to an increased creation of a dense but poorly perfused capillary bed which could result in lower healing outcomes [40,41].

In this context, as seen in our results, the severe inflammation response triggered by *S. aureus* resulted in increased levels of VEGF, one of the major growth factors associated with angiogenesis [42,43]. Importantly, the SteLL treatment significantly reduced the VEGF levels of *S. aureus*-infected wounds. The values were similar to those detected in uninfected wounds. The antiangiogenic properties of SteLL were previously observed in sarcoma 180-bearing mice and associated with its antitumor action [26].

As described above, the healing actions of some lectins have been previous demonstrated such for those isolated from *Cratylia mollis* (Cramoll) [32], *Parkia Pendula* [35], *Artocarpus incisa* (frutalin) [36], *Bauhinia variegata* (BVL) [37]. However, only Cramoll, a mannose-binding lectin has been reported as an immunomodulatory agent in *S. aureus*-infected skin wound [32]. In addition, for the best of our knowledge, it is the first report about the *in vivo* antimicrobial activity of an N-acetylglucosamine-binding lectin. However, a limitation of this present study is that the role of the sugar binding domain in the action of SteLL was not determined, as well as the molecular mechanisms involved.

4. Materials and Methods

4.1 SteLL purification

Leaves of *S. teribinthifolius* were collected in Recife (Brazil) at the campus of the *Universidade Federal de Pernambuco*. The lectin purification was performed using the methodology previously described [24]. Inshort, the powder obtained from the dried leaves (20 g) was diluted in saline solution (0.15 M NaCl) and subjected to agitation (4^o C). After 16 hours, the filtered extract was centrifuged (3000 rpm/15 minutes) and passed through activated carbon (10%) and then subjected to chitin column (Sigma-Aldrich, MO, USA). After elution, SteLL was obtained after dialysis (10 kDa cut-off membrane; Sigma Aldrich, MO, USA) with distilled water (6 h, 4^o C). Protein concentration was determined using a standard curve of bovine serum albumin (BSA, Sigma-Aldrich, MO, USA)

[44]. The hemagglutinating activity (HA) assay was performed to ensure the lectin functionality [45]. SteLL homogeneity was confirmed by polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) under denaturing conditions.

4.2 Animals and ethical conditions

The study was carried out in the vivarium of the CEUMA University in São Luís (MA), after approval by the Ethics Committee for the Use of Animals of the institution (CEUA-UNICEUMA), under Protocol No. 00013/18. Seventy-two healthy *C57/BL6* mice (6 to 8 weeks) were used in this study presenting body weight between 19 to 30 g. The animals were distributed in four groups (as described below) and housed in cages of polypropylene placed in a ventilated rack with independent insufflation and exhaust systems to reduce the risk of contamination. The experimental procedures were conducted in an airy room with an average temperature of 21°C and 12 hours light-dark cycle. During all period, water and food were served *ad libitum*.

4.3 Induction of experimental skin injuries and treatment

The animals were anesthetized by intramuscular administration of xylazine hydrochloride (1 mg/kg) and ketamine chloride (50 mg/kg). After, in sterile environment, the dorsal thoracic region was trichotomized and cleaned with 70% ethyl alcohol and sterile saline solution (150 mM NaCl). The wound area was demarcated (64 mm²) and the skin was removed with blunt-tipped scissors and dissection forceps. The wound infection was performed by *S. aureus* 432170 (4.0 × 10⁶ CFU/wound), an isolate obtained from foot ulcer of a patient with type 2 diabetes mellitus [46].

The animals were separated groups: (1) mice with uninfected wounds and daily treated with 50 µL of PBS (uninfected control group); (2) mice with wounds infected by *S. aureus* and daily treated with 50 µL of PBS (infected control group); (3) mice with wounds infected by *S. aureus* and daily treated with 50 µL of SteLL at 32 µg/mL; (4) mice with wounds infected by *S. aureus* and daily treated with 50 µL of SteLL at 64 µg/mL. The treatment started 24 hours after the infection. Six animals of each group were euthanized by anesthetic overdose at 3rd dpi, 10th dpi and 17th dpi and the skin fragments (covering the lesion area and intact skin) were collected for histological analysis and quantification of bacterial load and inflammatory mediators (Figure 8).

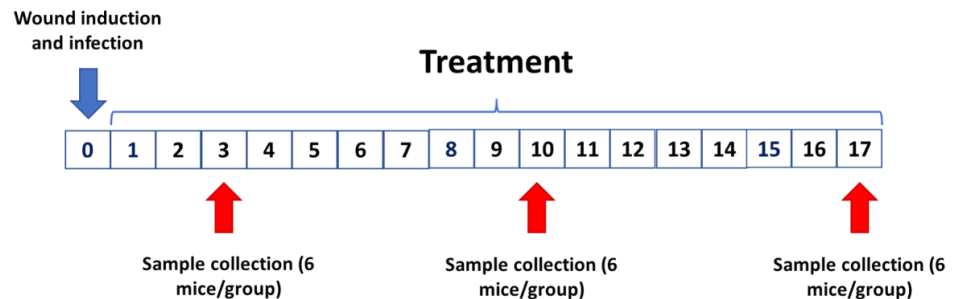


Figure 8. Experimental timeline followed in this study.

4.3 Analysis of macroscopic aspects

The wounds were daily photographed, and their area was calculated using the ImageJ program (National Institutes of Health) [47]. The macroscopic analysis of the wounds was performed within a laminar flow, to calculate a severity score based on the following clinical parameters: wound area (0-7), amount of exudate (0-3), type of exudate (0-4), edema intensity (0-3), color of surrounding skin tissue (0-4), type of debridement tissue (0-3). The score of each animal was recorded daily until the end of the experiment [48].

4.4 Histological evaluation

The skin fragments fixed in 10% buffered formaldehyde (pH 7.2) and proceed to obtain tissue sections (3 - 5 μm) that were stained with Hematoxylin and Eosin and Masson's trichrome staining. The material was analyzed by light microscopy (at least 10 fields) at magnifications of 40 to 400 X. The criteria evaluated included cellular debris, inflammatory infiltrate, reepithelization, vascularization, fibroblast proliferation and distribution pattern of collagen fibers. The following scores were established for the intensity of histological findings: absent (when the parameter was not observed in any field), discrete (when observed in 1 to 3 fields), moderate (when observed in 4 to 6 fields), and intense (when observed in over 7 fields).

4.5 Bacterial quantification

The quantification of viable bacteria from the skin lesions was performed on the at 4th dpi, 11th dpi and 17th dpi. The collected tissues were macerated with sterile PBS using vortex (five cycles of 30 s) followed by centrifugation (5 min at 2500 RPM). The resulting solution was 10-folds diluted and plated on Mannitol Salt Agar. Each plate was incubated for 24 hours at 37°C and the bacterial load was expressed as CFU/g of tissue.

4.6 Quantification of inflammatory markers

Cytokines (IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-12p70, MCP-1, TNF- α) in wound tissues were measured using Mouse Inflammation Kit BD™ Cytometric Bead Array (CBA; BD Biosciences, Sao Paulo, Brazil). The analysis was performed in BD Accuri C6 flow cytometer, according to the manufacturer instructions. The results were obtained using CBA FCAP Array software (BD Biosciences, Sao Paulo, Brazil) and expressed as pg/g of tissue.

The levels of VEGF were determined by the Mouse VEGF ELISA Kit (Sigma-Aldrich; São Paulo, SP, Brazil), following the manufacture instruction. The protein concentration in each sample was quantified by Bradford reagent (Sigma-Aldrich; São Paulo, SP, Brazil) using a standard curve of BSA. The absorbance values were obtained using a spectrophotometer (Plate reader MB-580; Heales, Shenzhen, China). The results were expressed as VEGF per mg of total protein.

4.7 Statistical Analysis

Results were expressed as mean \pm standard error. The inhibition percentages were calculated as the average of the values obtained for each individual experiment. The graphs and statistical evaluation of the results were performed in the Graphpad Prism 5.0. The data were analyzed by One-Way Analysis of Variance (ANOVA), followed by the Boferroni test (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). A significance level lower than 0.05 was adopted.

5. Conclusions

The topical administration of SteLL reduced the bacterial load at wound site, decreasing the inflammatory severity due the lower release of inflammatory markers (IL-6, MCP-1, TNF- α and VEGF). These effects led to faster wound contraction and improved skin repair. The data provided more insight into the *in vivo* antimicrobial and immunomodulatory effects of SteLL. For the best of our knowledge, it is the first evaluation of the *in vivo* antimicrobial activity of an N- acetylglucosamine-binding lectin.

Taken together, the findings of this study indicate that SteLL has great potential for use in the development of agents for wound healing. Future studies are needed to elucidate the molecular mechanisms involved in SteLL healing effects. In addition, other projects are in progress to design new dressing incorporated with SteLL to be evaluated in *in vivo* models.

Author Contributions: Conceptualization, V.M.-N, T.H.N., P.M.G.P. and L.C.N.S.; investigation, M.A.S.N., L.S.S., D.M.S., B.S.C., S.L.V., I.S.S.S., A.Z., S.J.S.C.B., M.S.N., A.A.M.V., A.P.S.S.-V. and J.C.S.S. writing—original draft preparation, D.M.S., M.A.S.N., L.S.S. and J.C.S.S. writing—review and editing, M.A.S.N., L.C.N.S.; funding acquisition, V.M.-N, T.H.N. P.M.G.P. and L.C.N.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was funded by Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (Processes numbers: UNIVERSAL-01008/18, BEPP-02241/18 to L.C.N.S) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Process numbers: 426950/2018-6 and 312349/2020-3 to L.C.N.S; and 315072/2020-2 to V.M.-N.).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Ethics Committee on the Use of Animals - CEUA (Protocol number 00013/18).

Data Availability Statement: Data available upon request.

Acknowledgments: We would like to thank Prof. Dr. Cristina de Andrade Monteiro from Instituto Federal do Maranhão (São Luís, Brazil) for kindly share the *S. aureus* strain used in this study.

Conflicts of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

References


1. Lindholm, C.; Searle, R. Wound Management for the 21st Century: Combining Effectiveness and Efficiency. *Int Wound J* **2016**, *13*, 5–15, doi:10.1111/IWJ.12623.
2. Beyene, R.T.; Derryberry, S.L.; Barbul, A. The Effect of Comorbidities on Wound Healing. *Surg Clin North Am* **2020**, *100*, 695–705, doi:10.1016/J.SUC.2020.05.002.
3. Chopra, H.; Kumar, S.; Singh, I. Strategies and Therapies for Wound Healing: A Review. *Curr Drug Targets* **2022**, *23*, 87–98, doi:10.2174/1389450122666210415101218.
4. Kaplani, K.; Koutsi, S.; Armenis, V.; Skondra, F.G.; Karantzelis, N.; Champeris Tsaniras, S.; Taraviras, S. Wound Healing Related Agents: Ongoing Research and Perspectives. *Adv Drug Deliv Rev* **2018**, *129*, 242–253, doi:10.1016/J.ADDR.2018.02.007.
5. Lux, C.N. Wound Healing in Animals: A Review of Physiology and Clinical Evaluation. *Vet Dermatol* **2022**, *33*, 91-e27, doi:10.1111/VDE.13032.
6. Rodrigues, M.; Kosaric, N.; Bonham, C.A.; Gurtner, G.C. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev* **2019**, *99*, 665–706, doi:10.1152/physrev.00067.2017.
7. Han, G.; Ceilley, R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Adv Ther* **2017**, *34*, 599–610, doi:10.1007/S12325-017-0478-Y.

8. Darby, I.A.; Laverdet, B.; Bonté, F.; Desmoulière, A. Fibroblasts and Myofibroblasts in Wound Healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol* **2014**, *7*, 301–311, doi:10.2147/CCID.S50046.
9. Kovtun, A.; Messerer, D.A.C.; Scharffetter-Kochanek, K.; Huber-Lang, M.; Ignatius, A. Neutrophils in Tissue Trauma of the Skin, Bone, and Lung: Two Sides of the Same Coin. *J Immunol Res* **2018**, *2018*, 8173983, doi:10.1155/2018/8173983.
10. Adib, Y.; Bensussan, A.; Michel, L. Cutaneous Wound Healing: A Review about Innate Immune Response and Current Therapeutic Applications. *Mediators Inflamm* **2022**, *2022*, doi:10.1155/2022/5344085.
11. Williams, H.; Campbell, L.; Crompton, R.A.; Singh, G.; McHugh, B.J.; Davidson, D.J.; McBain, A.J.; Cruickshank, S.M.; Hardman, M.J. Microbial Host Interactions and Impaired Wound Healing in Mice and Humans: Defining a Role for BD14 and NOD2. *Journal of Investigative Dermatology* **2018**, *138*, 2264–2274, doi:10.1016/J.JID.2018.04.014/ATTACHMENT/5C1D76B6-B99D-4A8B-86FB-1E95F0A32ACE/MMC1.PDF.
12. Sen, C.K.; Roy, S.; Mathew-Steiner, S.S.; Gordillo, G.M. Biofilm Management in Wound Care. *Plast Reconstr Surg* **2021**, *275E*-288E, doi:10.1097/PRS.00000000000008142.
13. Holzer-Geissler, J.C.J.; Schwingenschuh, S.; Zacharias, M.; Einsiedler, J.; Kainz, S.; Reisenegger, P.; Holecek, C.; Hofmann, E.; Wolff-Winiski, B.; Fahrngruber, H.; et al. The Impact of Prolonged Inflammation on Wound Healing. *Biomedicines* **2022**, *10*, doi:10.3390/BIOMEDICINES10040856.
14. Bessa, L.J.; Fazii, P.; di Giulio, M.; Cellini, L. Bacterial Isolates from Infected Wounds and Their Antibiotic Susceptibility Pattern: Some Remarks about Wound Infection. *Int Wound J* **2015**, *12*, 47–52, doi:10.1111/IWJ.12049.
15. Pastar, I.; Sawaya, A.P.; Marjanovic, J.; Burgess, J.L.; Strbo, N.; Rivas, K.E.; Wikramanayake, T.C.; Head, C.R.; Stone, R.C.; Jozic, I.; et al. Intracellular Staphylococcus Aureus Triggers Pyroptosis and Contributes to Inhibition of Healing Due to Perforin-2 Suppression. *J Clin Invest* **2021**, *131*, doi:10.1172/JCI133727.
16. Roy, S.; Santra, S.; Das, A.; Dixith, S.; Sinha, M.; Ghatak, S.; Ghosh, N.; Banerjee, P.; Khanna, S.; Mathew-Steiner, S.; et al. Staphylococcus Aureus Biofilm Infection Compromises Wound Healing by Causing Deficiencies in Granulation Tissue Collagen. *Ann Surg* **2020**, *271*, 1174–1185, doi:10.1097/SLA.00000000000003053.
17. Macedo, G.H.R.V.; Costa, G.D.E.; Oliveira, E.R.; Damasceno, G.V.; Mendonça, J.S.P.; Silva, L.D.S.; Chagas, V.L.; Bazán, J.M.N.; Aliança, A.S.D.S.; de Miranda, R. de C.M.; et al. Interplay between Escape Pathogens and Immunity in Skin Infections: An Overview of the Major Determinants of Virulence and Antibiotic Resistance. *Pathogens* **2021**, *10*, 1–34, doi:10.3390/pathogens10020148.
18. Ramalingam, S.; Chandrasekar, M.J.N.; Nanjan, M.J. Plant-Based Natural Products for Wound Healing: A Critical Review. *Curr Drug Res Rev* **2022**, *14*, 37–60, doi:10.2174/2589977513666211005095613.
19. Coelho, L.C.B.B.; Silva, P.M. dos S.; Oliveira, W.F. de; Moura, M.C. de; Pontual, E.V.; Gomes, F.S.; Paiva, P.M.G.; Napoleão, T.H.; Correia, M.T. dos S. Lectins as Antimicrobial Agents. *J Appl Microbiol* **2018**, *125*, 1238–1252, doi:10.1111/JAM.14055.
20. Jandú, J.J.B.; Moraes Neto, R.N.; Zagnignan, A.; de Sousa, E.M.; Brelaz-de-Castro, M.C.A.; dos Santos Correia, M.T.; da Silva, L.C.N. Targeting the Immune System with Plant Lectins to Combat Microbial Infections. *Front Pharmacol* **2017**, *8*, doi:10.3389/FPHAR.2017.00671.
21. Dias, R. de O.; Machado, L. dos S.; Migliolo, L.; Franco, O.L. Insights into Animal and Plant Lectins with Antimicrobial Activities. *Molecules* **2015**, *Vol. 20*, Pages 519-541 **2015**, *20*, 519–541, doi:10.3390/MOLECULES20010519.
22. Feriani, A.; Tir, M.; Arafah, M.; Gómez-Caravaca, A.M.; Contreras, M. del M.; Nahdi, S.; Taamalli, A.; Allagui, M.S.; Alwasel, S.; Segura-Carretero, A.; et al. Schinus Terebinthifolius Fruits Intake Ameliorates Metabolic Disorders, Inflammation, Oxidative Stress, and Related Vascular Dysfunction, in Atherogenic Diet-Induced Obese Rats. Insight of Their Chemical Characterization Using HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. *J Ethnopharmacol* **2021**, *269*, doi:10.1016/J.JEP.2020.113701.
23. Oliveira, V.S. de; Augusta, I.M.; Braz, M.V. da C.; Riger, C.J.; Prudêncio, E.R.; Sawaya, A.C.H.F.; Sampaio, G.R.; Torres, E.A.F. da S.; Saldanha, T. Aroeira Fruit (Schinus Terebinthifolius Raddi) as a Natural Antioxidant: Chemical Constituents, Bioactive Compounds and in Vitro and in Vivo Antioxidant Capacity. *Food Chem* **2020**, *315*, doi:10.1016/J.FOODCHEM.2020.126274.

24. Gomes, F.S.; Procópio, T.F.; Napoleão, T.H.; Coelho, L.C.B.B.; Paiva, P.M.G. Antimicrobial Lectin from *Schinus Terebinthifolius* Leaf. *J Appl Microbiol* **2013**, *114*, 672–679, doi:10.1111/JAM.12086.
25. Lima, I.M. de S.F.; Zagnignan, A.; Santos, D.M.; Maia, H.S.; dos Santos Silva, L.; da Silva Cutrim, B.; Vieira, S.L.; Bezerra Filho, C.M.; de Sousa, E.M.; Napoleão, T.H.; et al. *Schinus Terebinthifolia* Leaf Lectin (SteLL) Has Anti-Infective Action and Modulates the Response of *Staphylococcus Aureus*-Infected Macrophages. *Sci Rep* **2019**, *9*, 1–14, doi:10.1038/s41598-019-54616-x.
26. Brito Marques Ramos, D.; de Moura Fontes Araújo, M.T.; de Lima Araújo, T.C.; dos Santos Neto, O.G.; e Silva, M.G.; Silva, Y.A.; Lira Torres, D.J.; de Siqueira Patriota, L.L.; de Melo, C.M.L.; de Lorena, V.M.B.; et al. Evaluation of Antitumor Activity and Toxicity of *Schinus Terebinthifolia* Leaf Extract and Lectin (SteLL) in Sarcoma 180-Bearing Mice. *J Ethnopharmacol* **2019**, *233*, 148–157, doi:10.1016/J.JEP.2019.01.011.
27. Ramos, D.B.M.; Araújo, M.T.M.F.; Araújo, T.C.L.; Silva, Y.A.; Santos, A.C.L.A.; Silva, M.G.; Paiva, P.M.G.; Mendes, R.L.; Napoleão, T.H. Antinociceptive Activity of *Schinus Terebinthifolia* Leaf Lectin (SteLL) in Sarcoma 180-Bearing Mice. *J Ethnopharmacol* **2020**, *259*, 112952, doi:10.1016/J.JEP.2020.112952.
28. Lima, B.R.F.; Patriota, L.L. de S.; Marinho, A. de O.; Costa, J.A.; Napoleão, T.H.; Rosa, M.M.; Paiva, P.M.G. The Anxiolytic Activity of *Schinus Terebinthifolia* Leaf Lectin (SteLL) Is Dependent on Monoaminergic Signaling Although Independent of the Carbohydrate-Binding Domain of the Lectin. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 1364, doi:10.3390/PH15111364.
29. Marinho, A.O.; Brito, J.S.; Costa, J.A.; Silva, A.R.; Silva, S.P.; Amorim, L.C.; Correia, M.T. dos S.; Paiva, P.M.G.; Oliveira, A.M.; Patriota, L.L. de S.; et al. *Schinus Terebinthifolia* Leaf Lectin Has Central and Peripheral Antinociceptive Action Mediated by Its Carbohydrate-Recognition Domain and Delta-Opioid Receptors. *J Ethnopharmacol* **2023**, *301*, 115817, doi:10.1016/J.JEP.2022.115817.
30. Diniz, R.M.; Fernandes, T.G.F.; Mendonça, J.S.P.; Silva, L. dos S.; Saminez, W.F. de S.; Oliveira, P.V.; Amorim, E.A.F.; Figueiredo, C.S.S.S.; Bezerra Filho, C.M.; Correia, M.T.S.; et al. Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects of *Eugenia Brejoensis* Essential Oil in Mice Wounds Infected by *Staphylococcus Aureus*. *Front Pharmacol* **2022**, *14*, 4349, doi:10.3389/FPHAR.2022.999131.
31. Ribeiro, D.M.L.; Júnior, A.R.C.; Macedo, G.H.R.V.; Chagas, V.L.; Silva, L.S.; Cutrim, B.S.; Santos, D.M.; Soares, B.L.L.; Zagnignan, A.; Miranda, R.C.M.; et al. Polysaccharide-Based Formulations for Healing of Skin-Related Wound Infections: Lessons from Animal Models and Clinical Trials. *Biomolecules* **2020**, *10*, 63, doi:10.3390/BIOM10010063.
32. Carneiro, M.A.M.S.; Silva, L.S.; Diniz, R.M.; Saminez, W.F. da S.; Oliveira, P.V.; Pereira Mendonça, J.S.; Colasso, A.H.M.; Soeiro Silva, I.S.; Jandú, J.J.B.; Sá, J.C.; et al. Immunomodulatory and Anti-Infective Effects of *Cratylia Mollis* Lectin (Cramoll) in a Model of Wound Infection Induced by *Staphylococcus Aureus*. *Int Immunopharmacol* **2021**, *100*, 108094, doi:10.1016/J.INTIMP.2021.108094.
33. Silva, V.; Peirone, C.; Amaral, J.S.; Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Marques-Magallanes, J.A.; Martins, Â.; Carvalho, Á.; Maltez, L.; Pereira, J.E.; et al. High Efficacy of Ozonated Oils on the Removal of Biofilms Produced by Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) from Infected Diabetic Foot Ulcers. *Molecules* **2020**, *Vol. 25*, Page 3601 **2020**, *25*, 3601, doi:10.3390/MOLECULES25163601.
34. Kakkar, H.; Chaudhary, N.; Mehta, D.; Saini, V.; Maheshwari, S.; Singh, J.; Walia, P.; Bajaj, A. N-Methyl Benzimidazole Tethered Cholic Acid Amphiphiles Can Eradicate *S. Aureus*-Mediated Biofilms and Wound Infections. *Molecules* **2022**, *Vol. 27*, Page 3501 **2022**, *27*, 3501, doi:10.3390/MOLECULES27113501.
35. Coriolano, M.C.; de Melo, C.M.L.; Silva, F.D.O.; Schirato, G.V.; Porto, C.S.; dos Santos, P.J.P.; Correia, M.T.D.S.; Porto, A.L.F.; Carneiro-Leão, A.M.D.A.; Coelho, L.C.B.B. *Parkia Pendula* Seed Lectin: Potential Use to Treat Cutaneous Wounds in Healthy and Immunocompromised Mice. *Appl Biochem Biotechnol* **2014**, *172*, 2682–2693, doi:10.1007/S12010-013-0692-2/FIGURES/4.
36. Sousa, F.D.; Vasconcelos, P.D.; Silva, A.F.B.; Mota, E.F.; Rocha Tomé, A.; Mendes, F.R. da S.; Gomes, A.M.M.; Abraham, D.J.; Shiwen, X.; Owen, J.S.; et al. Hydrogel and Membrane Scaffold Formulations of Frutalin (Breadfruit Lectin) within a Polysaccharide Galactomannan Matrix Have Potential for Wound Healing. *Int J Biol Macromol* **2019**, *121*, 429–442, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2018.10.050.
37. Nascimento Neto, L.G.; Silva Pinto, L.; Bastos, R.M.; Evaristo, F.F.V.; Vasconcelos, M.A.; Carneiro, V.A.; Arruda, F.V.S.; Porto, A.L.F.; Leal, R.B.; Silva, V.A.; et al. Effect of the Lectin of *Bauhinia Variegata* and Its Recombinant Isoform on Surgically Induced Skin Wounds in a Murine Model. *Molecules* **2011**, *16*, 9298–9315, doi:10.3390/MOLECULES16119298.




38. Santos, A.J.C.A.; Silva Barros, B.R.; Souza Aguiar, L.M.; Siqueira Patriota, L.L.; Albuquerque Lima, T.; Zingali, R.B.; Paiva, P.M.G.; Napoleão, T.H.; Melo, C.M.L.; Pontual, E.V. Schinus Terebinthifolia Leaf Lectin (SteLL) Is an Immunomodulatory Agent by Altering Cytokine Release by Mice Splenocytes. *3 Biotech* **2020**, *10*, 1–9, doi:10.1007/S13205-020-2137-2/FIGURES/4.
39. Okonkwo, U.A.; Dipietro, L.A. Diabetes and Wound Angiogenesis. *Int J Mol Sci* **2017**, *18*, doi:10.3390/IJMS18071419.
40. DiPietro, L.A. Angiogenesis and Wound Repair: When Enough Is Enough. *J Leukoc Biol* **2016**, *100*, 979–984, doi:10.1189/JLB.4MR0316-102R.
41. Han, C.; Barakat, M.; DiPietro, L.A. Angiogenesis in Wound Repair: Too Much of a Good Thing? *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2022**, a041225, doi:10.1101/CSHPERSPECT.A041225.
42. Farahpour, M.R.; Pirkhezer, E.; Ashrafi, A.; Sonboli, A. Accelerated Healing by Topical Administration of Salvia Officinalis Essential Oil on Pseudomonas Aeruginosa and Staphylococcus Aureus Infected Wound Model. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **2020**, *128*, doi:10.1016/j.biopha.2020.110120.
43. Farahpour, M.R.; Sheikh, S.; Kafshdooz, E.; Sonboli, A. Accelerative Effect of Topical Zataria Multiflora Essential Oil against Infected Wound Model by Modulating Inflammation, Angiogenesis, and Collagen Biosynthesis. *Pharm Biol* **2021**, *59*, 1–10, doi:10.1080/13880209.2020.1861029.
44. LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem* **1951**, 193.
45. Procópio, T.F.; de Siqueira Patriota, L.L.; de Moura, M.C.; da Silva, P.M.; de Oliveira, A.P.S.; do Nascimento Carvalho, L.V.; de Albuquerque Lima, T.; Soares, T.; da Silva, T.D.; Breitenbach Barroso Coelho, L.C.; et al. CasuL: A New Lectin Isolated from Calliandra Surinamensis Leaf Pinnulae with Cytotoxicity to Cancer Cells, Antimicrobial Activity and Antibiofilm Effect. *Int J Biol Macromol* **2017**, *98*, 419–429, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2017.02.019.
46. Carvalho, A.R.; Martins, A.L.D.B.; Cutrim, B.D.S.; Santos, D.M.; Maia, H.S.; da Silva, M.S.M.; Zagnignan, A.; Silva, M.R.C.; Monteiro, C.D.A.; Guilhaon, G.M.S.P.; et al. Betulinic Acid Prevents the Acquisition of Ciprofloxacin-Mediated Mutagenesis in Staphylococcus Aureus. *Molecules* **2019**, *24*, doi:10.3390/molecules24091757.
47. Schneider, C.A.; Rasband, W.S.; Eliceiri, K.W. NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis. *Nature Methods* **2012**, *9*, 671–675, doi:10.1038/nmeth.2089.
48. Ferro, T.A.F.; Souza, E.B.; Suarez, M.A.M.; Rodrigues, J.F.S.; Pereira, D.M.S.; Mendes, S.J.F.; Gonzaga, L.F.; Machado, M.C.A.M.; Bomfim, M.R.Q.; Calixto, J.B.; et al. Topical Application of Cinnamaldehyde Promotes Faster Healing of Skin Wounds Infected with Pseudomonas Aeruginosa. *Molecules* **2019**, *24*, 1627, doi:10.3390/MOLECULES24081627.

ANEXO I - COMPROVANTE DE ACEITE



Pharmaceuticals


 an Open Access Journal by MDPI

CERTIFICATE OF ACCEPTANCE

Certificate of acceptance for the manuscript (pharmaceuticals-2010689) titled:
 The lectin isolated from leaves of *Schinus terebinthifolius* (Stell.) reduces the bacterial and inflammatory burden of wounds infected by *Staphylococcus aureus* and promotes the skin repair.

Authored by:
 Marcio Anderson Sousa Nunes; Lucas dos Santos Silva; Deivid Martins Santos; Brenda da Silva Cutrim;
 Silvamara Leite Vieira; Izadora Souza Soeiro Silva;
 Simeone Júlio dos Santos Castelo Branco; Mayara de Santana do Nascimento; André A. M. Vale; Ana Paula Silva
 dos Santos-Azevedo; Adrielle Zagmignan; Joicy Cortez de Sá Sousa;
 Thiago Henrique Napoleão; Patrícia Maria Guedes Paiva; Valério Monteiro-Neto; Luís Cláudio Nascimento da
 Silva


 Academic Open Access publishing since 1996

This article has been accepted in *Pharmaceuticals* (ISSN 1424-8247) on 12 November 2022
 Basel, November 2022