



UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA - UFDPAr
CAMPUS MINISTRO REIS VELOSO
BACHARELADO EM BIOMEDICINA

BIANCA MARIA DE SOUSA DOURADO

**EFEITOS DO USO TÓPICO DO SOBRENDANTE LIVRE DE CÉLULAS E
DERIVADOS DE *Lactobacillus spp.* NA CICATRIZAÇÃO E FATORES DE
VIRULÊNCIA ASSOCIADOS À QUEIMADURAS DE SEGUNDO-GRAU
INDUZIDAS EM RATOS WISTAR INFECTADAS POR *Pseudomonas aeruginosa*:
Uma revisão sistemática de estudos *in vitro* e *in vivo***

PARNAÍBA - PI
2025

Bianca Maria de Sousa Dourado

**EFEITOS DO USO TÓPICO DO SOBRENDANTE LIVRE DE CÉLULAS E
DERIVADOS DE *Lactobacillus spp.* NA CICATRIZAÇÃO E FATORES DE
VIRULÊNCIA ASSOCIADOS À QUEIMADURAS DE SEGUNDO-GRAU
INDUZIDAS EM RATOS WISTAR INFECTADAS POR *Pseudomonas aeruginosa*:
Uma revisão sistemática de estudos *in vitro* e *in vivo***

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado
ao Curso de Bacharelado em Biomedicina da
Universidade Federal do Delta do Parnaíba,
como requisito parcial para a obtenção do título
de Bacharel em Biomedicina.

Orientador(a): Prof.^a Dr^a Anna Carolina Toledo
da Cunha Pereira.

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba

D739e Dourado, Bianca Maria de Sousa

Efeitos do uso tópico do sobrenadante livre de células e derivados de *Lactobacillus* spp. na cicatrização e fatores de virulência associados à queimaduras de segundo-grau induzidas em ratos wistar infectadas por *Pseudomonas aeruginosa*: uma revisão sistemática de estudos in vitro e in vivo [recurso eletrônico] / Bianca Maria de Sousa Dourada. – 2025.

66 p.

TCC (Bacharelado em Biomedicina) – Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2025.

Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Anna Carolina Toledo da Cunha Pereira.

1. Sobrenadante livre de células. 2. Lesão térmica. 3. Cicatrização. 4. Fatores de virulência. I. Pereira, Anna Carolina Toledo da Cunha. II. Título.

CDD: 612

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder saúde, força e sabedoria ao longo desta caminhada. Sem a sua presença em minha vida, nada disso seria possível.

Ao meu pai, Júnior, que, ao ouvir minha voz cheia de esperança dizendo “Pai, passei para Biomedicina em Parnaíba, eu vou?”, não hesitou sequer por um segundo. Ele transformou minha dúvida em certeza e meu sonho em prioridade. Fez o impossível para que eu trilhasse esse caminho da forma mais digna e confortável, mesmo que isso significasse carregar o peso de todas as renúncias e desconfortos.

À minha mãe, Kátia, minha melhor amiga e conselheira, que com seu amor incondicional, palavras certas, abraços que curam e comidinhas gostosas, me mostrou uma força dentro de mim que eu nem sabia que existia. Foi nos seus gestos, no seu cuidado diário e no incentivo constante que encontrei coragem para seguir em frente, mesmo nos dias mais difíceis.

Ao meu irmão André, meu primeiro espelho acadêmico, que com seu empenho, dedicação e paixão pelo conhecimento, me inspirou desde o início.

À minha orientadora, professora Anna Carolina, uma mulher cativante, encantadora e apaixonada pelo que faz. Logo na primeira aula, com seu jeito leve e acolhedor, me fez enxergar a microbiologia com outros olhos — olhos apaixonados, assim como os seus. Em você, encontrei mais do que uma professora: vi um exemplo vivo de que tudo feito com amor transborda beleza, aquece o coração e inspira profundamente. Sou imensamente grata por todo o apoio nas duas iniciações científicas, pelas palavras de carinho e pelos conselhos que ultrapassaram os muros da academia e chegaram até a vida.

À Déborah e Maria Eduarda, vocês foram essenciais para a realização dessa revisão sistemática, eu não poderia ter escolhido melhores coautoras.

Aos meus filhos de quatro patas — felpudos, de orelhas pontudas e bigodes engraçados — Francesca, Nonô, Nhãinha e Belinha. Mesmo sem dizer uma única palavra, vocês foram presença, aconchego e companhia. A distância nunca apagou a alegria que vocês me proporcionam — pelo contrário, tornaram-se um dos motivos da minha saudade mais doce e da vontade constante de voltar para casa. Vocês são, sem dúvida, uma das formas mais puras do amor de Deus que já experimentei nesta vida.

Ao meu primeiro e único namorado, João Pedro. Você chegou com sua calma e presença firme, trazendo segurança e compreensão nos dias em que eu mais precisava. Obrigada por todos os lanches e por ouvir, com tanto entusiasmo, todas as minhas ideias mirabolantes no último ano de graduação — mesmo sem entender quase nada, você sempre esteve lá, com os ouvidos atentos e o coração aberto, só porque sabia o quanto tudo isso era importante para mim. E o melhor: se livrou da missão de ajudar com as tarefas de biologia, física, química e matemática dos nossos futuros filhos — essa parte ficou comigo!

Esta caminhada foi feita com muitos passos meus, mas jamais sozinha. Cada gesto, palavra, apoio e presença fizeram diferença. Meu coração se enche de gratidão por ter tido tanta gente boa ao meu lado. Muito obrigada!

Bianca Maria de Sousa Dourado

**EFEITOS DO USO TÓPICO DO SOBRENDANTE LIVRE DE CÉLULAS E
DERIVADOS DE *Lactobacillus spp.* NA CICATRIZAÇÃO E FATORES DE
VIRULÊNCIA ASSOCIADOS À QUEIMADURAS DE SEGUNDO-GRAU
INDUZIDAS EM RATOS WISTAR INFECTADAS POR *Pseudomonas aeruginosa*:
Uma revisão sistemática de estudos *in vitro* e *in vivo***

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado
ao Curso de Bacharelado em Biomedicina da
Universidade Federal do Delta do Parnaíba,
como requisito parcial para a obtenção do título
de Bacharel em Biomedicina.

Orientador(a): Prof.^a Dr^a Anna Carolina Toledo
da Cunha Pereira.

Data de aprovação: 23/06/2025

Orientadora

Prof.^a Dr^a Anna Carolina Toledo da Cunha Pereira - UFDPAr

Examinadora

Prof.^a Dr^a Bruna da Silva Souza - UFDPAr

Examinador

Prof. Me. Raí Emanuel da Silva - UFPI

**PARNAÍBA– PI
2025**

Dedico este trabalho à Bianca do futuro,
que habita nos sonhos que hoje semeio,
que florescerá entre esperanças e batalhas,
e que encontrará no caminho a força e a luz
para transformar cada desafio em conquista.

RESUMO

A pele integra é uma importante barreira física de proteção primária contra a invasão de patógenos (Byrd; Belkaid ;Segre, 2018). Em vista disso, o dano ou destruição completa desse órgão ocasionado por queimaduras severas, representa um grave estado de enfraquecimento imunológico e vulnerabilidade à infecções pelo bacilo gram-negativo não fermentador oportunista *Pseudomonas aeruginosa*, dotado de um arsenal de fatores de virulência e multirresistência à antimicrobianos (Sauvage; Hardouin, 2020). Em virtude dos consideráveis efeitos positivos ocasionados pelos probióticos à saúde, microorganismos benéficos dos gêneros *Lactobacillus*, *Saccharomyces* e *Bifidobacterium* tornaram-se objeto de estudo como tratamento tópico alternativo para condições dermatológicas e infecções em lesões teciduais. Dessa forma, o objetivo dessa revisão foi analisar sistematicamente os efeitos *in vivo*, no modelo murino, da aplicação tópica do sobrenadante livre de células (SLC) e suas variações, cultura total e a unidade formadora de colônia (UFC) derivados de *Lactobacillus spp.* na cicatrização de queimaduras de segundo grau infectadas pela *Pseudomonas aeruginosa*. Ademais, a interação *in vitro* desses derivados sobre o crescimento do agente bacteriano e determinantes de virulência associados a essa bactéria também foram avaliadas. Os sobrenadantes em sua forma natural ácida promoveram a eliminação mais rápida da *P. aeruginosa* multirresistente presente nas queimaduras e seu uso resultou em mudanças no perfil de cicatrização, destacadas pelo decréscimo no tempo de restauração tecidual nessas lesões. Além do SLC, a cultura total também inibiu significativamente os biofilmes, acil-homoserina lactonas e elastase produzidos pelas cepas de *P. aeruginosa* padrão e isolados clínicos *in vitro*, enquanto a bioatividade do sobrenadante neutralizado e UFC lavada demonstrou-se menos expressiva. O presente estudo fornece informações que justificam a possível existência da interação entre a bactéria *P. aeruginosa*, o hospedeiro e compostos biológicos, como componentes estruturais imunogênicos e bacteriocinas providas pela UFC de *Lactobacillus spp.*, consequentemente concentrados nos seus sobrenadantes. No entanto, a distribuição geográfica restrita e a carência de dados metodológicos importantes foram fatores contribuintes para a associação de um alto risco de viés à apresentação e interpretação dos resultados reportados na síntese sistemática. Apesar dos impasses, as evidências apresentadas demonstraram-se promissoras em relação à aplicação biotecnológica dos probióticos e pós bióticos, justificando a realização de novos estudos dotados de dados robustos e de maior qualidade, a fim de possibilitar o asseguramento das proposições decorrentes dessa análise sistemática, acerca do uso tópico dos derivados de *Lactobacillus spp.* no tratamento de condições dermatológicas e infecções teciduais.

Palavras-chave: Sobrenadante livre de células. Lesão térmica. Cicatrização. Fatores de virulência.

ABSTRACT

Intact skin is an important primary physical barrier against pathogen invasion (Byrd; Belkaid; Segre, 2018). In this regard, the damage or complete destruction of this organ caused by severe burns represents a serious state of immunological weakening and vulnerability to infections by *Pseudomonas aeruginosa*, a non-fermenting, gram-negative opportunistic bacillus endowed with an arsenal of virulence factors and multidrug resistance (Sauvage; Hardouin, 2020). Due to the considerable positive effects of probiotics on health, beneficial microorganisms from the genera *Lactobacillus*, *Saccharomyces*, and *Bifidobacterium* have become the subject of study as an alternative topical treatment for dermatological conditions and infections in tissue lesions. Therefore, the objective of this review was to systematically analyze the *in vivo* effects, in a murine model, of the topical application of the cell-free supernatant (CFS) and its variations—whole culture and colony-forming units (CFU)—derived from *Lactobacillus spp.* on the healing of second-degree burns infected by *Pseudomonas aeruginosa*. Furthermore, the *in vitro* interaction of these derivatives with the growth of the bacterial agent and virulence determinants associated with this pathogen was also evaluated. The supernatants in their natural acidic form promoted faster elimination of multidrug-resistant *P. aeruginosa* present in the burns, and their use resulted in changes in the healing profile, highlighted by a decrease in the time required for tissue restoration. In addition to the CFS, the whole culture also significantly inhibited biofilms, acyl-homoserine lactones, and elastase produced by standard and clinical strains of *P. aeruginosa in vitro*, while the neutralized supernatant and washed CFU demonstrated less expressive bioactivity. The present study provides information supporting the possible interaction between *P. aeruginosa*, the host, and biological compounds—such as immunogenic structural molecules and bacteriocins—supplied by the CFU of *Lactobacillus spp.* and consequently concentrated in their supernatants. However, the restricted geographic distribution and the lack of important methodological data were contributing factors to the association with a high risk of bias in the presentation and interpretation of the results reported in the systematic synthesis. Despite these limitations, the evidence presented proved promising regarding the biotechnological application of probiotics and postbiotics, justifying the development of new studies with robust and higher-quality data, in order to support the propositions derived from this systematic analysis regarding the topical use of *Lactobacillus spp.* derivatives in the treatment of dermatological conditions and infections in tissue lesions.

Keywords: Cell-free supernatant. Thermal injury. Wound healing. Virulence factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação das fases do mecanismo de reparação tecidual em mamíferos.	16
Figura 2 – Representação das diferentes categorizações das queimaduras com base na profundidade da pele acometida.	17
Figura 3 - Padrão de isolamento bacteriano relacionado ao tempo de internação em pacientes queimados.	18
Figura 4 – Sistemas secretores identificados na <i>P. aeruginosa</i>	21
Figura 5 - Fluxograma com o detalhamento da seleção dos estudos incluídos na revisão sistemática.	28
Figura 6 - Distribuição geográfica dos estudos incluídos na revisão sistemática.	29
Figura 7 - Avaliação dos estudos em animais usando a ferramenta Rob do SYRCLE para estudos em animais. (a) Resultados específicos de cada estudo; (b) Resultados gerais por aspecto.	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais características dos estudos <i>in vitro</i>	31
Tabela 2 - Características gerais dos estudos <i>in vivo</i>	32
Tabela 3 - Perfil de resistência dos isolados clínicos utilizados nos estudos incluídos na revisão sistemática.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Filtrado ácido
AFCs	Filtrado ácido vinte vezes concentrado.
AHLs	Acil-homoserina lactonas
ATCC	Coleção de Culturas-Tipo Americana
BHI	Infusão cérebro-coração
BPPL	Lista de Patógenos Bacterianos Prioritários
3O-C12-HSL	N-3-oxododecanoil-L-homoserina lactona
C4-HSL	N-butil-L-homoserina lactona
CLSM	Microscopia Confocal de Varredura a Laser
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
HDFs	Culturas de fibroblastos dérmicos humanos
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
LasB	Elastase ou “pseudolisina” de <i>P. aeruginosa</i>
LB	Lúria-Bertani
Lp	Unidade formadora lavada com salina tamponada com fosfato
MRS	Man, Rogosa e Sharpe
NF	Filtrado Neutralizado
PA100	Isolado clínico padronizado de <i>P. aeruginosa</i>
PAO1	Cepa prototrófica originalmente isolada de uma ferida infectada
PRISMA	Principais Itens para Relatar Revisões Sistemáticas e Meta-análises
PROSPERO	Registro prospectivo internacional de revisões sistemáticas
PTCC	Coleção de Culturas-Tipo Persa
QS	Quorum Sensing
SLC	Sobrenadante Livre de Células
SYRCLE	Centro de Revisão Sistemática para Experimentação em Animais de Laboratório
T	Cultura Total
T1SS	Sistema de Secreção do Tipo I
T2SS	Sistema de Secreção do Tipo II
T6SS	Sistema de Secreção do Tipo VI
UFC	Unidade Formadora de Colônia
IRAS	Infeccções Relacionadas à Assistência à Saúde

PAV	Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica
TSSs	Sistemas Secretores
BAL	Bactérias Ácido Láticas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 Pele.....	15
2.1.1 Reparação tecidual.....	15
2.2 Queimaduras	16
2.2.1 Isolamento bacteriano em queimaduras	17
2.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>: Características gerais e relevância clínica em pacientes queimados	18
2.4 Fatores de virulência associados à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.....	20
2.4.1 Sistemas secretores	20
2.4.2 Biofilme	21
2.5 Uso tópico de probióticos e pós bióticos	22
3 OBJETIVOS.....	24
3.1 Geral	24
3.2 Específicos	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 Estratégia de busca.....	25
4.2 Critérios de elegibilidade e seleção.....	25
4.3 Extração, síntese de dados e análise descritiva dos estudos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	26
4.4 Avaliação do risco de viés dos estudos <i>in vivo</i>	27
5 RESULTADOS.....	28
5.1. Seleção dos estudos.....	28
5.2 Resultado da avaliação dos riscos de viés dos estudos <i>in vivo</i>	29
5.3 Características das intervenções	30
5.4 Características dos estudos <i>in vitro</i>.....	32
5.4.1 Origem e características das cepas de <i>P. aeruginosa</i>	32
5.4.2 Testes realizados	34
5.5 Características dos estudos <i>in vivo</i>	35
5.5.1 Modelo animal	35
5.5.2 Lesão e infecção.....	35
5.5.3 Tratamento	36
5.6 Principais resultados	36
5.6.1 Estudos <i>in vitro</i> : Inibição do crescimento e fatores de virulência	36
5.6.2 Estudos <i>in vivo</i> : aspectos microscópicos e macroscópicos da lesão infectada	38
6 DISCUSSÃO	40
7 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

APÊNDICE A – STRING DE BUSCA E RESULTADOS OBTIDOS DA BASE DE DADOS PUBMED.....	50
APÊNDICE B – STRING DE BUSCA E RESULTADOS OBTIDOS DA BASE DE DADOS EMBASE	51
APÊNDICE C – CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS <i>IN VIVO</i> E MODELO ANIMAL	52
APÊNDICE D – CARACTERÍSTICAS DA LESÃO E INFECÇÃO DOS ESTUDOS <i>IN VIVO</i>	53
APÊNDICE E – CARACTERÍSTICAS DO TRATAMENTO DOS ESTUDOS <i>IN VIVO</i>	54
APÊNDICE F – RESULTADOS ESPECÍFICOS DO ESTUDO <i>IN VIVO</i> DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2020.	55
APÊNDICE G – RESULTADOS ESPECÍFICOS DO ESTUDO <i>IN VIVO</i> DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2021.	56
APÊNDICE H – RESULTADOS ESPECÍFICOS DO ESTUDO <i>IN VIVO</i> DE MOGHADAM ET AL., 2020.	57
APÊNDICE I – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE VALDÉZ ET AL., 2005.	58
APÊNDICE J – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE RAMOS; PERAL; VALDÉZ, 2010.....	59
APÊNDICE K – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE LENZMEIER ET AL, 2019.....	60
APÊNDICE L – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2020 E ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2021. ...	61
APÊNDICE M – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE VALDÉZ ET AL., 2005.	62
APÊNDICE N – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE RAMOS; PERAL; VALDÉZ, 2010.....	63
APÊNDICE O – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE LENZMEIER ET AL, 2019.	64
APÊNDICE P – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2020 E ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2021	65

1 INTRODUÇÃO

Queimaduras são lesões provenientes do contato da pele ou outros tecidos orgânicos com fontes térmicas ou não térmicas (Strokes; Johnson, 2017; Escandón-Vargas *et al.*, 2020). Em 2017, cerca de 209 milhões de casos prevalentes foram atribuídos às queimaduras em todo o globo e, apesar do decréscimo geral no tempo de internação e taxa de mortalidade demonstrados na última década, esse tipo de lesão ainda é considerada uma relevante fonte de morbidade e mortalidade, principalmente para populações de baixa renda residentes de países em desenvolvimento, os quais são desproporcionalmente mais afetados (Smolle *et al.*, 2016; GBD, 2017; Opriessnig *et al.*, 2022).

A pele integra é uma importante barreira física de proteção primária contra a invasão de patógenos (Byrd; Belkaid ;Segre, 2018). Em vista disso, o dano ou destruição completa desse órgão ocasionado por queimaduras severas, representa um grave estado de enfraquecimento imunológico e vulnerabilidade a infecções localizadas e sistêmicas (Lachiewicz *et al.*, 2017).

Dentre os patógenos bacterianos causadores de infecções em pacientes queimados tem-se o bacilo Gram-negativo *Pseudomonas aeruginosa*, dotado de um arsenal de fatores de virulência, dos quais destacam-se a formação de biofilme, o mecanismo de Quorum Sensing (QS) e a liberação de proteínas e toxinas por sistemas secretores (Sauvage; Hardouin, 2020).

Além desses fatores, o uso excessivo de antimicrobianos favorece do desenvolvimento de cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes, restringindo assim o número de antibioticoterapias eficientes conhecidas (Sauvage; Hardouin, 2020). A vista disso, os probióticos e pós bióticos tornaram-se objeto de estudo como tratamento tópico para condições dermatológicas e infecções em lesões teciduais, em virtude dos consideráveis efeitos positivos ocasionados por esses microrganismos ao trato gastrointestinal e sistema imunológico de humanos e animais (Yan; Polk, 2011).

Assim, a aplicação tópica de probióticos, como as espécies bacterianas do gênero *Lactobacillus* e o uso de seus derivados representa um método alternativo para a possível prevenção e tratamento de infecções teciduais, regulação da

inflamação e melhoria na cicatrização (Knackstedt; Knackstedt; Gatherwright, 2020; Thomas; Thomas *et al.*, 2021).

Visto que os impactos do uso tópico dos probióticos e produtos do seu metabolismo não são totalmente compreendidos, a presente revisão objetiva avaliar sistematicamente estudos dos efeitos *in vivo* do uso do sobrenadante livre de células (SLC) e outros derivados de *Lactobacillus spp.* na cicatrização de queimaduras de segundo grau induzidas no modelo murino e infectadas por *Pseudomonas aeruginosa*, bem como a interação *in vitro* entre esses probióticos, pós bióticos e os fatores de virulência associados ao agente patogênico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Pele

A pele é um extenso órgão subdividido em duas camadas denominadas de epiderme e derme, que recobrem a superfície externa corporal e comportam os folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas, considerados anexos cutâneos. (Żwieretło *et al.*, 2023). A ação conjunta dessas estruturas está relacionada a termoregulação, função sensorial e proteção do organismo contra fatores ambientais como toxinas, traumas e a invasão de microrganismos (Żwieretło *et al.*, 2023).

A epiderme conta com um microbioma, inicialmente composto por microrganismos estritamente originados do sítio de nascimento (vagina no parto vaginal ou pele no parto cesárea), tornando-se dinâmico durante o desenvolvimento do indivíduo e consideravelmente estável durante a vida adulta, prevalecendo nessa fase o *Staphylococcus epidermidis*, *Cutibacterium acnes* e espécies de *Corynebacterium* (Byrd; Belkaid; Segre, 2018; Alves *et al.*, 2024). Um microbioma tegumentar equilibrado contribui com a manutenção da saúde e função protetora da barreira cutânea, através da interação da comunidade de microrganismos com o sistema imunológico do hospedeiro, liberação de agentes inibidores e crescimento competitivo em reação à invasores (Knackstedt; Knackstedt; Gatherwright, 2020).

2.1.1 Reparação tecidual

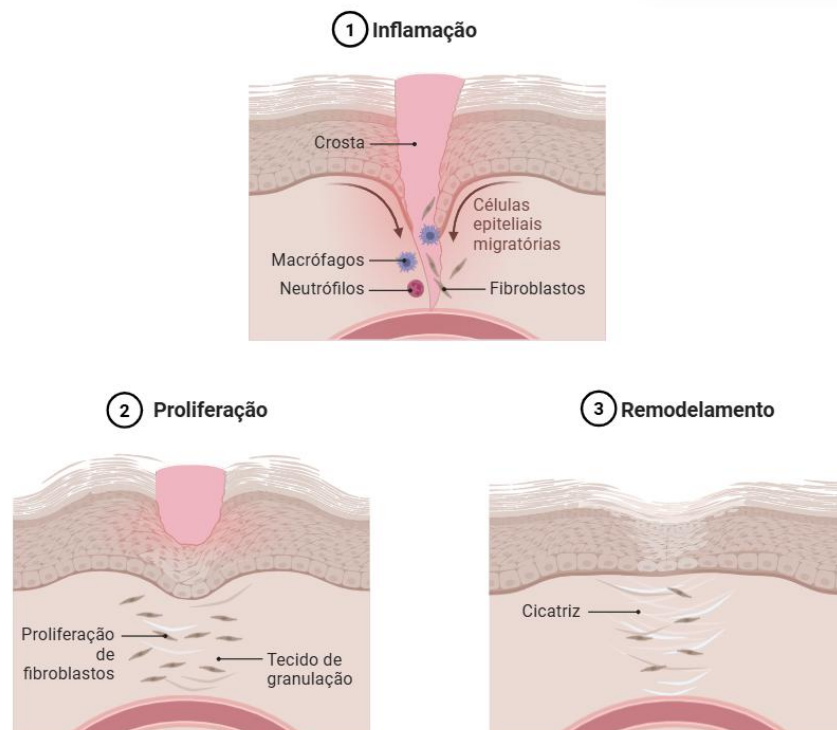
O reparo tecidual em mamíferos é um mecanismo complexo constituído por etapas sobrepostas, responsivas à lesões, representadas na Figura 1 (Penã; Martin, 2024). Imediatamente após o dano, a etapa de inflamação é iniciada pelo acionamento de vias de sinalização inflamatórias, componentes da cascata de coagulação e recrutamento de leucócitos em direção ao sítio da lesão, a fim de evitar o estabelecimento de uma infecção e o agravamento da perda de fluidos (Gurtner *et al.*, 2008; Lin; Lai., 2024).

De 2 à 10 dias após a lesão, o tecido de granulação formado no local, composto por diversos componentes dentre eles macrófagos e fibroblastos, atua como substrato para a proliferação e maturação de queratinócitos localizados na derme lesionada, restaurando assim a função de barreira do epitélio (Lin; Lai., 2024).

Posteriormente, a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos e a interação dessas células com macrófagos resultam na aproximação das bordas da lesão e produção de matriz extracelular, predominantemente sob a forma de colágeno. Esse processo caracteriza a fase de proliferação (Gurtner *et al.*, 2008).

O ultimo estágio é o remodelamento, momento em que os mecanismos ativados após a lesão cessam e as células entram em morte programada após 3 semanas de reparação, resultando no remodelamento da matriz acelular majoritariamente formada por cadeias de colágeno do tipo III para o tipo I, propiciado por metaloproteinases, macrófagos e células endoteliais (Lin; Lai., 2024). Mesmo após uma reparação tecidual efetiva, o tecido regenerado nunca terá as mesmas propriedades de uma pele nunca lesionada (Gurtner *et al.*, 2008).

Figura 1 - Representação das fases do mecanismo de reparação tecidual em mamíferos.



Fonte: Elaborado pelo autor com base no template disponibilizado no software BioRender, 2025.

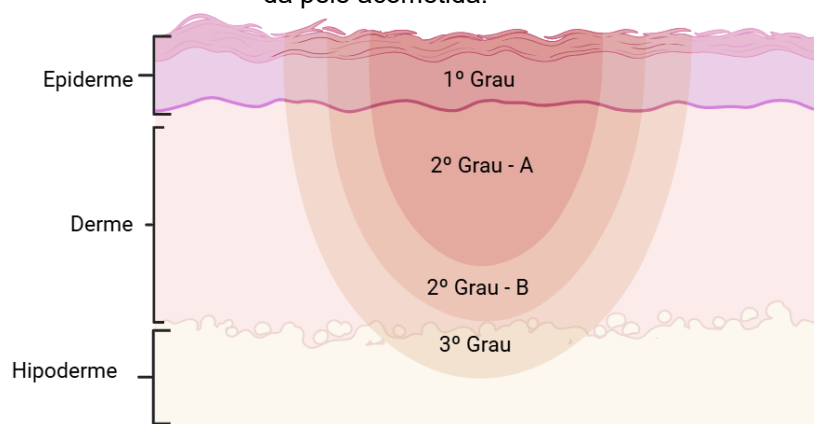
2.2 Queimaduras

Apesar da resistência da barreira tegumentar, sua integridade pode ser prejudicada por eventos traumáticos como as queimaduras, caracterizadas como lesões provenientes do contato de tecidos orgânicos com o calor de chamas,

sólidos, líquidos ou fontes não térmicas (Strokes; Johnson, 2017; Escandón-Vargas *et al.*, 2020). Parâmetros como aparência, dor, branqueamento em relação a pressão e sensibilidade do local afetado são avaliados para a categorização das queimaduras em diferentes profundidades, representadas na Figura 2 (Warby; Maani, 2025).

As queimaduras superficiais (Grau I) são aquelas que permanecem restritas à epiderme (Żwieretło *et al.*, 2023). Além da camada mais superficial, queimaduras parcialmente superficiais (Grau II) também atingem a derme, de modo que lesões consideradas do tipo IIA estão limitadas à região superficial da derme e as do tipo IIB se estendem à região reticular dessa camada (Markiewicz-Gospodarek *et al.*, 2022). As queimaduras profundas (Grau III), por sua vez, chegam ao tecido subcutâneo e quando há a misturas de lesões de diferentes profundidades, ou até mesmo o comprometimento de músculos e ossos, são categorizadas como de Grau IV (Markiewicz-Gospodarek *et al.*, 2022; Warby; Maani, 2025).

Figura 2 – Representação das diferentes categorizações das queimaduras com base na profundidade da pele acometida.



Fonte: Elaborado pelo autor com base no template disponibilizado no software Biorender, 2025.

2.2.1 Isolamento bacteriano em queimaduras

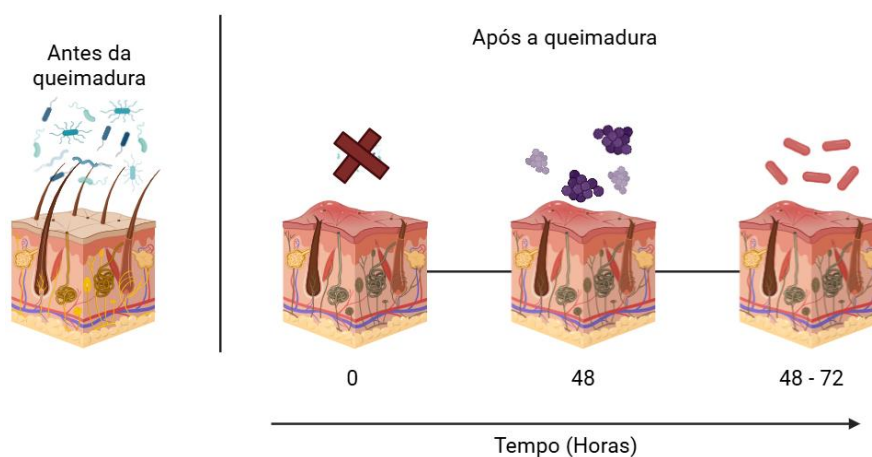
Apesar de não ser considerado uma regra pela comunidade científica, é possível observar um padrão de isolamento bacteriano relacionado ao tempo de internação em pacientes queimados, no qual bactérias Gram-positivas são predominantemente encontradas nos primeiros dias da estadia hospitalar, paralelo à maior incidência de resultados positivos para Gram-negativas ao passar das

semanas, como esquematizado na Figura 3 (Norman *et al.*, 2017; Escandón-Vargas *et al.*, 2020).

Uma das justificativas para essa linha do tempo é o rompimento da esterilidade inicial da queimadura, propiciada pela morte dos microorganismos da região devido ao contato com altas temperaturas, em até 48 horas por bactérias Gram-positivas colonizadoras da pele, que em sua maioria são *Staphylococcus* coagulase-negativos e *Staphylococcus aureus* residentes dos folículos capilares e glândulas sebáceas (Diederer *et al.*, 2015; van Duin *et al.*, 2016; Lachiewicz *et al.*, 2017; Norman *et al.*, 2017).

Entre 48 e 72 horas, a colonização da queimadura converte-se tipicamente a bactérias Gram-negativas endógenas, originadas dos tratos respiratório e gastrointestinal do próprio paciente, como as espécies *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* ou translocadas do ambiente, como o bacilo não fermentador oportunista *Pseudomonas aeruginosa* (Diederer *et al.*, 2015; Norman *et al.*, 2017; Lachiewicz *et al.*, 2017; Tsolakidis *et al.*, 2022).

Figura 3 - Padrão de isolamento bacteriano relacionado ao tempo de internação em pacientes queimados.



Fonte: Elaborado pelo autor com base no template disponibilizado no software Biorender, 2025.

2.3 *Pseudomonas aeruginosa*: Características gerais e relevância clínica em pacientes queimados

Membro da família *Pseudomonadaceae*, o bacilo móvel Gram-negativo, aeróbico e não fermentador *Pseudomonas aeruginosa* é caracterizado como um

agente oportunista prevalente em infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), dotado de motilidade e capacidade de contaminar superfícies e colonizar a pele saudável (Santamarina-fernandéz et al. 2025).

Os longos períodos de hospitalização, necessidade de procedimentos médicos como intubação, acesso venoso central, catéter urinário e a fragilidade do sistema imunológico característicos de indivíduos queimados, são alguns dos fatores que favorecem a transmissão ou translocação da bactéria *P. aeruginosa* provenientes de profissionais da saúde, superfícies inertes e equipamentos médicos para a população queimada imunossuprimida (Tsolakidis et al., 2022; Santamarina-fernandéz et al. 2025).

Além de infecções do trato urinário e pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), as queimaduras, descritas como um ambiente rico em nutrientes, úmido, aquecido e avascularizado, tornam-se o cenário ideal para a multiplicação exacerbada da *P. aeruginosa* (Li et al., 2025). Quando não tratadas corretamente, queimaduras infectadas frequentemente tornam-se o foco primário de infecções de cunho sistêmico. (Lachiewicz et al., 2017; Tsolakidis et al., 2022)

Ademais, tratamentos efetivos contra infecções localizadas e sistêmicas pela *P. aeruginosa* tornaram-se restringidos, de tal forma, que ela permanece na lista de patógenos bacterianos resistentes prioritários ao desenvolvimento de pesquisas e intervenções (BPPL), criada pela Organização Mundial de Saúde em 2017 (Qin et al., 2022; WHO, 2024). Isso ocorre em razão da associação de clones da *P. aeruginosa* a fenótipos multirresistentes à antibióticos, uma circunstância permeada pela confluência de fatores antropogênicos, ambientais, genéticos e comportamentais (Pei; Hamar; Pei., 2025).

O alto potencial de geração e transmissão da resistência a antimicrobianos por essa espécie bacteriana se dá pela ação sinérgica de mecanismos inatos e adquiridos através de mutações ou transferência horizontal (Piña-Sánchez; Rua; Pozo, 2023). Alguns exemplos são a produção de β -lactamases de espectro estendido e carbapenemases, superexpressão de bombas de efluxo, perda de porinas e produção de biofilme (Piña-Sánchez; Rua; Pozo, 2023). Dentre outras funções, esses mecanismos são responsáveis pela inativação, redução da penetração ou excreção de variadas classes de antibióticos, incluindo β -lactâmicos, aminoglicosídeos e fluoroquinolonas (Pei; Hamar; Pei., 2025).

2.4 Fatores de virulência associados à *Pseudomonas aeruginosa*

A patogênese da *Pseudomonas aeruginosa* é intrepuesta por um arsenal de fatores de virulência, descritos como produtos gênicos secretados ou mediados por células, vque dão suporte a sobrevivência de microorganismos e aumentam sua capacidade de causar infecções ao induzir danos ao hospedeiro e propiciar a evasão da resposta imunológica (Sauvage; Hardouin, 2020; Piña-Sánchez; Rua; Pozo, 2023).

Para o sucesso da expressão gênica bacteriana ligada grande parte desses efetores e coordenação de atividades em comunidade, a *P. aeruginosa* performa o mecanismo de Quorum sensing (QS), um sistema de comunicação densidade-dependente que funciona a partir da interação entre moléculas químicas, como as Acil-homoserina lactonas (AHLs) (N-3-oxododecanoil-L-homoserina lactona (3O-C12-HSL) e N-butilil-L-homoserina lactona (C4-HSL), e seus receptores. (Moura-Alves *et al.*, 2019; Jurado-Martín; Sainz-Mejías; Mcclean, 2021; Qin *et al.*, 2022).

Dentre os fatores de virulência secretados pela *P. aeruginosa*, destacam-se exotoxinas e proteases liberadas por sistemas secretores e o biofilme (Piña-Sánchez; Rua; Pozo, 2023).

2.4.1 Sistemas secretores

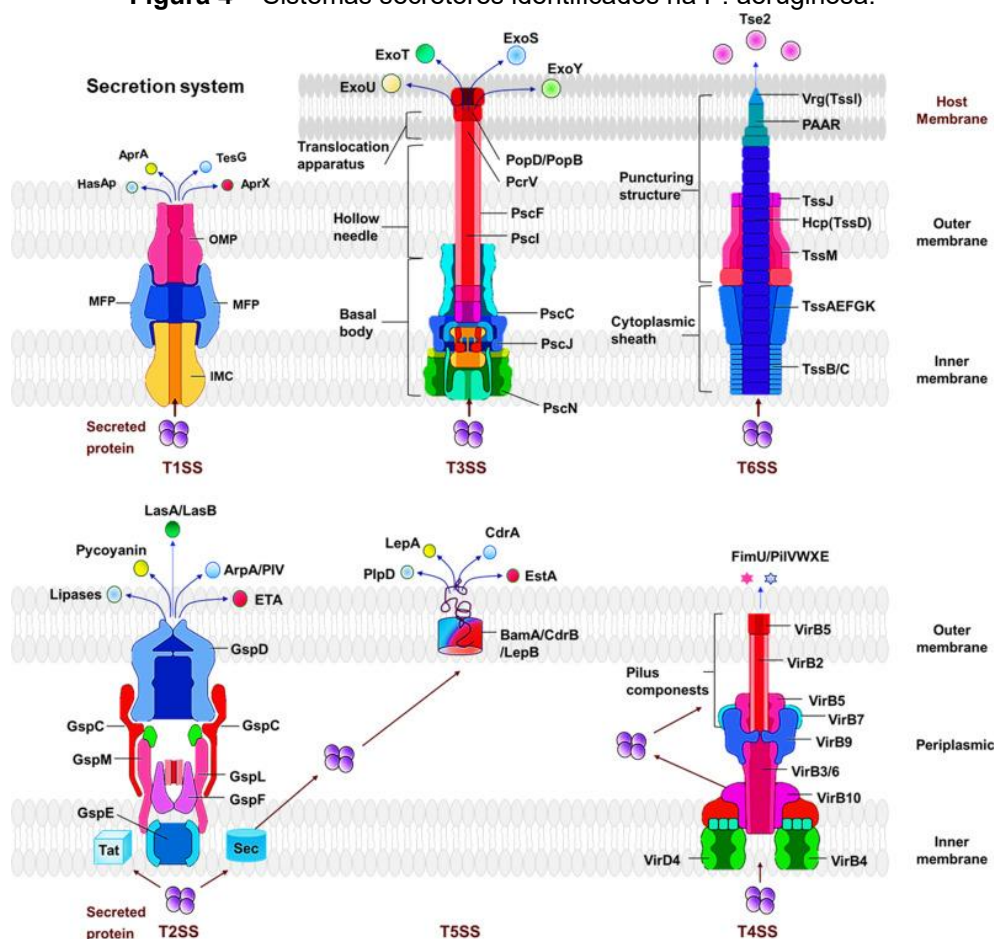
De maneira geral, os sistemas secretores (TSSs) são responsáveis pela liberação de proteases, exotoxinas e outros efetores tóxicos (Qin *et al.*, 2022). Até o momento, foram identificados seis sistemas portados pela *P. aeruginosa*, representados na Figura 4, dos quais destacam-se os sistemas secretores dos tipos 2 (T2SS), 3 (T3SS) e 6 (T6SS) (Santamarina-fernandéz *et al.* 2025). A depender do tipo de sistema e produto, a liberação pode ocorrer de maneira intracelular através da injeção direta no citoplasma de células alvo, sejam elas eucariontes ou competidores procariontes, ou de maneira extracelular (Sauvage; Hardouin, 2020; Qin *et al.*, 2022).

Através do T2SS, a *P. aeruginosa* pode secretar múltiplos fatores danosos à tecidos e sistemas, como a exotoxina A, LasA e LasB no meio extracelular (Sauvage; Hardouin, 2020; Qin *et al.*, 2022). Também conhecida como “pseudolisina”, a LasB é uma enzima proteolítica extracelular, considerada um dos

principais fatores de virulência da *P. aeruginosa* (Santamarina-fernandéz et al. 2025). Além de causar a degradação tecidual, principalmente no epitélio pulmonar, a LasB possui a capacidade de clivar outras proteínas importantes no processo de eliminação bacteriana pelo sistema imunológico, como citocinas e imunoglobulinas (Jurado-Martín; Sainz-Mejías; Mcclean, 2021).

A interação entre o T3SS, T6SS, o hospedeiro e agentes bacterianos é intermediado por reguladores de mecanismos complexos como a injeção de efetores tóxicos (ExoS, ExoT, ExoU e ExoY) e toxinas antibacterianas (Tse1 – Tse7), representando assim, um circuito influente sobre aspectos comportamentais de competição e interação bacteriana, bem como sobre a resposta do hospedeiro à inflamação e apoptose (Sauvage; Hardouin, 2020; Santamarina-fernandéz et al. 2025).

Figura 4 – Sistemas secretores identificados na *P. aeruginosa*.



Fonte: Qin et al., 2022.

2.4.2 Biofilme

Considerado a forma dominante de crescimento bacteriano e atribuído à aproximadamente 60% das mortes por queimaduras, o biofilme é descrito como uma comunidade de células bacterianas envolvida e estruturada por uma matriz polimérica aderente, produzidas por elas próprias através de um processo complexo e coordenado de cinco etapas: aderência reversível, aderência irreversível, maturação 1, maturação 2 e dispersão (forma planctônica) (Sauer *et al.*, 2002; Thomas; Thomas, 2021).

Essa matriz extracelular hidratada confere a *P. aeruginosa* e outras bactérias que também podem coabitar nesse sistema, extraordinária resistência contra a ação do sistema imunológico, agentes antimicrobianos e desinfetantes. (Goodwine *et al.*, 2019). Na *P. aeruginosa*, a formação do biofilme é afetada por um circuito de sinalizações mediado pelo sistema ligado ao gene *LasL*, que por sua vez, é regulado pelo mecanismo de quorum sensing (Thomas; Thomas, 2021).

Além da limpeza e debridamento do tecido necrótico das queimaduras, múltiplas coberturas são estudadas como ferramentas para evitar infecções por biofilmes nessas lesões (Thomas; Thomas, 2021). Durante décadas, um dos principais componentes das coberturas foi a sulfadiazina de prata, no entanto, avanços no desenvolvimento de pesquisas no campo de tratamentos tópicos para queimaduras propiciaram a expansão do conjunto de materiais avaliados e aplicados, variando entre outros metais, hidrogéis, glicanos, espécies de lactobacilos e a fagoterapia (Thomas; Thomas, 2021).

2.5 Uso tópico de probióticos e pós bióticos

De acordo com a Organização das nações unidas para alimentação e agricultura (FAO), os pós bióticos são substâncias bioativas produzidas por microrganismos, como as bactérias, através do processo de fermentação ou lise. (Kim *et al.*, 2019). Esses compostos podem ser produzidos pelos probióticos, também definidos pela FAO como microrganismos vivos promotores da saúde de humanos e animais quando administrados em quantidades adequadas (Wegh *et al.*, 2019).

A partir da divulgação de evidências benéficas da ingestão de bactérias e leveduras, como as espécies de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Sacharomyces*, para o equilíbrio do microbioma gastrointestinal, imunidade e funções cerebrais, o

microbioma da pele também tornou-se alvo de pesquisas (Alves *et al.*, 2024). Assim, foi destacado o estudo dos probióticos e pós bióticos como inovações terapêuticas promissoras no âmbito dermatológico, uma vez que alterações na microbioma desse órgão podem interferir na dinâmica da reparação tecidual e outros mecanismos de homeostasia corporal (Machado *et al.*, 2025).

Compreendido no grupo das Bactérias Ácido Láticas (BAL), o gênero *Lactobacillus* é composto por bactérias Gram-positivas não esporulantes, frequentemente utilizadas pela indústria alimentícia em razão de sua capacidade de produção de ácido lático, a partir da metabolização de carboidratos, das quais algumas espécies podem apresentar um perfil heterofermentativo (Shah *et al.*, 2024). Dentre as espécies desse gênero, os *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus bulgaricus* são reconhecidos pelas suas propriedades probióticas (Shah *et al.*, 2024).

Além do uso da cultura total de *Lactobacillus* spp., composta pelos probióticos (células bacterianas) e pós-bióticos secretados no sobrenadante (caldo de crescimento), ela pode ser fragmentada para a disposição de diferentes derivados (Crowley, 2020). Um dos modos de isolamento desses produtos consiste na sedimentação das unidades celulares através da centrifugação da cultura total, garantindo a sua separação do sobrenadante (Crowley, 2020). Dessa forma, a separação e filtração da fase líquida, utilizando-se membranas com poros de no máximo 0,2µm de diâmetro, garante o isolamento do sobrenadante livre de células (SLC), utilizado na sua forma natural ácida, neutralizado a partir do uso de hidróxido de sódio (NaOH) ou concentrado após passagem em colunas de concentração específicas (Valdéz *et al.*, 2005; Ramos; Peral; Valdéz, 2010; Lenzemeier *et al.*, 2019).

Outrossim, a segunda fase da solução, correspondente ao pellet celular formado ao fundo do recipiente centrifugado, é definida como a Unidade Formadora de Colonia (UFC), a qual conta com resquícios do sobrenadante. Uma vez ressuspensa em salina tamponada, os resíduos do sobrenadante não eliminados, obtendo-se a UFC lavada (Valdéz *et al.*, 2005; Moghadam *et al.*, 2020).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar de modo sistemático estudos *in vitro* e *in vivo* que investigam a interação entre a cultura completa, Unidade Formadora de Colônia (UFC), Sobrenadante Livre de Células (SLC) nas suas formas ácida, concentrada e neutralizada derivadas de *Lactobacillus spp.* e a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, com ênfase no modelo de queimaduras térmicas.

3.2 Específicos

- Sintetizar e descrever as principais características dos estudos *in vitro* e *in vivo* que investigam a interação entre o SLC e outros derivados de *Lactobacillus spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*;
- Analisar os efeitos *in vitro* do SLC e outros derivados de *Lactobacillus spp.* sobre o crescimento bacteriano, formação de biofilme, produção de acil-homoserina lactonas e atividade da elastase por cepas padrão ou isolados clínicos de *P. aeruginosa*;
- Avaliar os impactos do uso tópico do SLC e outros derivados puros ou carreados por algum veículo, preparados a partir de espécies de *Lactobacillus spp.* sobre os aspectos macroscópicos e microscópicos de queimaduras térmicas de segundo grau induzidas em murinos e infectadas por cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes.

4 METODOLOGIA

Essa revisão sistemática foi conduzida de acordo com os critérios descritos no protocolo submetido ao Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas (PROSPERO) no dia 07 de fevereiro do ano de 2024, com o número de registro CRD42024492224, e relatada conforme as recomendações estabelecidas pela declaração dos Principais Itens para Relatar Revisões Sistemáticas e Meta-análises (PRISMA) (Page *et al.*, 2021).

4.1 Estratégia de busca

Os termos "*Lactobacillus*", "Burns", "*Pseudomonas aeruginosa*" e suas variações foram organizados na forma de string de busca, montado na ferramenta de busca avançada de cada uma das bases de dados eletrônicas utilizadas como fontes para a revisão: Pubmed/MEDLINE e EMBASE. Após a montagem, dois membros da equipe de pesquisadores efetuaram a busca nas bases de maneira independente, sem o uso de filtros cronológicos ou de linguagem. Os resultados da busca estão descritos nos apêndices A e B.

4.2 Critérios de elegibilidade e seleção

Em conjunto, os componentes do grupo de pesquisa delimitaram os critérios de elegibilidade dos estudos para a revisão sistemática. Foram considerados elegíveis artigos de caráter primário e metodologia *in vitro* e/ou *in vivo*, que objetivassem a interação entre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (padrão ou isolados clínicos) e, obrigatoriamente, o sobrenadante livre de células preparado a partir da cultura de *Lactobacillus spp.* Estudos *in vitro* em que havia a presença de outros tipos de intervenções, como a cultura completa, UFC, sobrenadantes neutralizados e concentrados preparados a partir desse mesmo gênero além do sobrenadante, também foram considerados elegíveis.

Para os estudos *in vivo*, delimitou-se o modelo animal murino com queimaduras térmicas de segundo grau induzidas de maneira controlada, posteriormente infectadas por *P. aeruginosa* e que, na existência de mais de um

grupo tratamento, um deles fosse obrigatoriamente tratado topicamente com o SLC puro, concentrado ou carregado por algum veículo. Dessa forma, estudos *in vivo* em que foram testados outros tipos de intervenções preparadas a partir dos lactobacilos, além do SLC, também foram consideradas elegíveis, desde que esses outros tratamentos também fossem aplicados de maneira tópica. Além disso, artigos que apresentavam as duas metodologias (*in vitro* e *in vivo*), das quais somente uma atendia aos critérios estabelecidos também foram incluídos, considerando-se apenas a parcela elegível para essa revisão.

Considerando os critérios supracitados, dois pesquisadores procederam com a triagem dos artigos de maneira independente. A princípio, foram excluídos os artigos duplicados, e os restantes foram avaliados quanto à elegibilidade em três etapas sucessivas: (I) leitura do título, (II) leitura do resumo e (III) leitura do conteúdo completo.

4.3 Extração, síntese de dados e análise descritiva dos estudos *in vivo* e *in vitro*

Para a obtenção de uma descrição detalhada de todos os artigos incluídos na revisão sistemática, os elementos foram extraídos e organizados em tabelas gerais. Cada tabela foi separada em três seções: (I) Dados de identificação e metodologia do estudo; (II) Características do estudo *in vivo* e (III) Características do estudo *in vitro*.

A primeira seção foi subdividida em: (I.a) Dados da publicação e (I.b) Tipo de estudo: *in vitro* e/ou *in vivo*. Em relação aos estudos *in vivo*, a seção foi fragmentada em: (II.a) Características do modelo murino; (II.b) Modo de indução da lesão; (II.c) Aspectos do tratamento administrado; (II.d) Aspectos do agente infectante; (II.e) Características da cicatrização. Por fim, a terceira seção foi separada em: (III.a) Metodologia do estudo *in vitro* e (III.b) Resultados dos ensaios *in vitro*.

Os dados categorizados de maneira mais específica, disponibilizados nos apêndices C - P, foram avaliados em conjunto, para que assim as principais informações apresentadas fossem sintetizadas e a análise descritiva realizada, considerando os efeitos na cicatrização (estudos *in vivo*) e a inibição dos fatores de virulência e cepas de *P. aeruginosa* (estudos *in vitro*).

4.4 Avaliação do risco de viés dos estudos *in vivo*

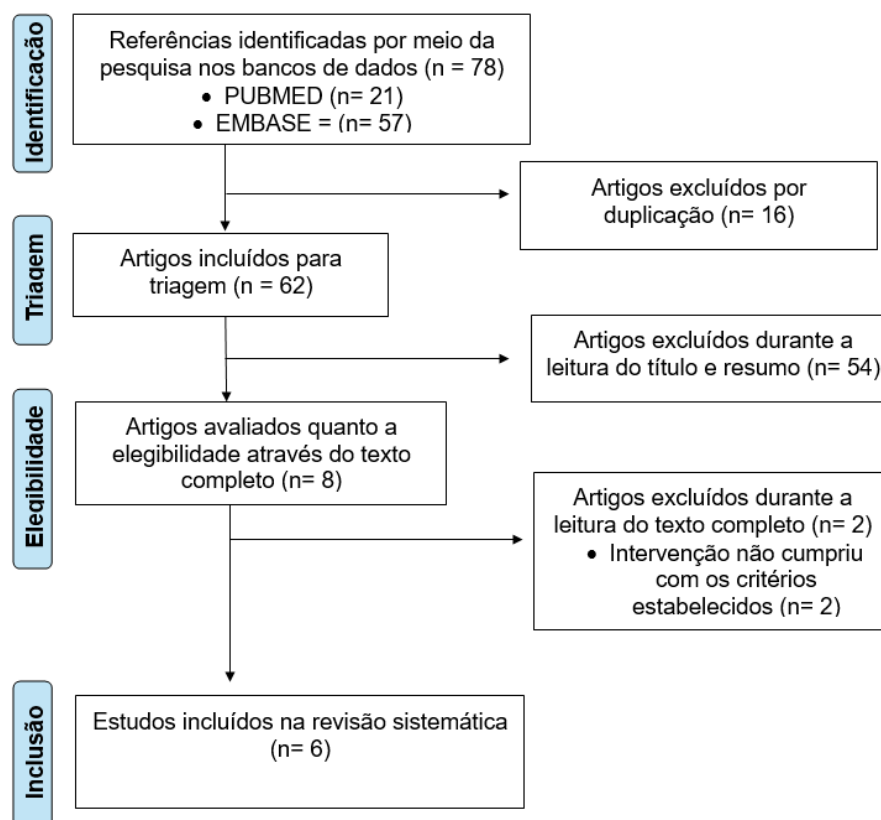
O risco de viés dos estudos com animais incluídos na pesquisa foi investigado com o uso da ferramenta RoB do Centro de Revisão Sistemática para Experimentação em Animais de Laboratório (SYRCLE) (Hooijmans *et al.*, 2014). Os autores da revisão analisaram o risco de viés de cada estudo *in vivo* de maneira isolada. Após a avaliação individual, os autores compararam suas análises, discutiram e entraram em consenso em relação ao julgamento.

5 RESULTADOS

5.1. Seleção dos estudos

A partir da aplicação da estratégia de busca nas bases de dados, 78 estudos foram identificados, encaminhados para a fase de triagem e avaliados quanto a elegibilidade para a revisão sistemática (Figura 5). Inicialmente, foram excluídas 16 duplicatas e 54 estudos durante a fase de triagem. Dentre os 8 estudos analisados quanto aos critérios de elegibilidade, apenas dois foram excluídos nessa fase, em razão do não cumprimento dos requisitos relacionados a administração da intervenção. Um total de 6 artigos foram incluídos na revisão sistemática, sendo que três deles apresentaram experiências *in vivo* que contemplaram os critérios de seleção (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Moghadam *et al.*, 2020 Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021).

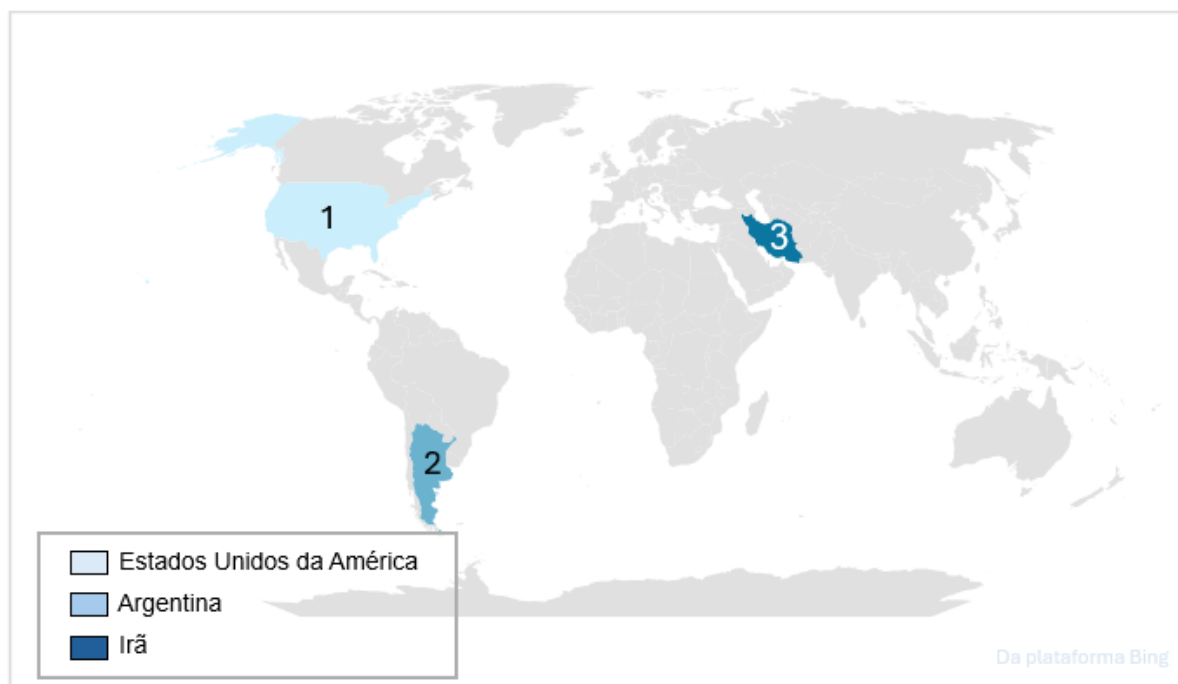
Figura 5 - Fluxograma com o detalhamento da seleção dos estudos incluídos na revisão sistemática.



Fonte: Elaborado pelo autores com base na declaração PRISMA “Itens de Relato Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises” (www.prisma-statement.org), 2025.

A origem geográfica dos 6 estudos (100%, n=6) está compreendida no Irã (50%, n=3), Estados Unidos (16,66%, n=1) e Argentina (33, 33%, n=2), representada na Figura 6.

Figura 6 - Distribuição geográfica dos estudos incluídos na revisão sistemática.

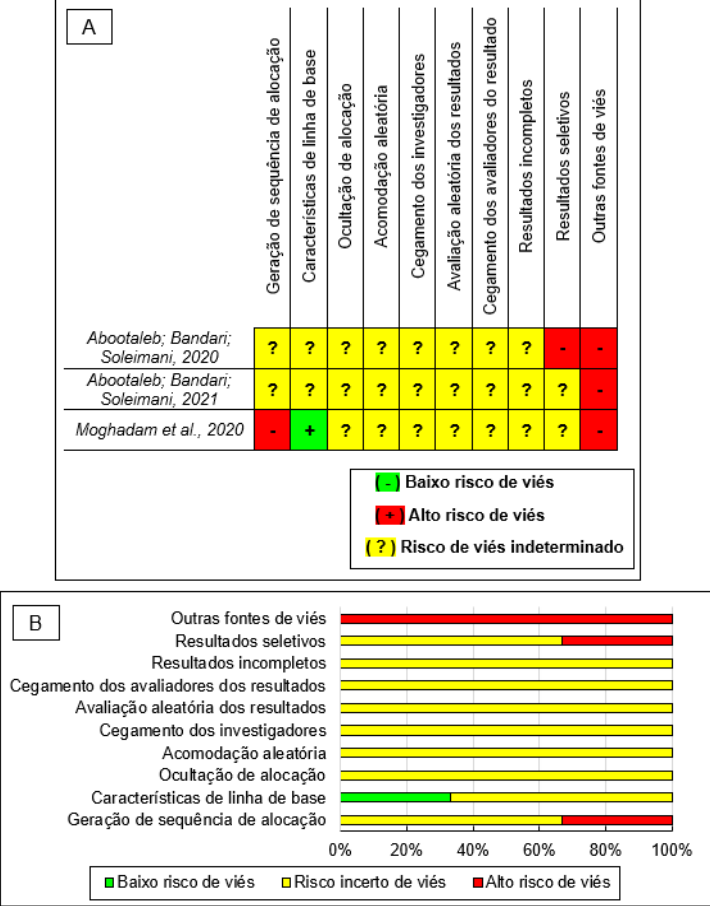


Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

5.2 Resultado da avaliação dos riscos de viés dos estudos *in vivo*

De maneira geral, os estudos apresentaram fragilidades metodológicas, resultando em um risco de viés indeterminado ou alto, disposto com mais detalhes na Figura 7. A maioria dos aspectos específicos de cada estudo foram considerados indeterminados em razão da carência de informações apresentadas no corpo desses textos. Apenas um estudo demonstrou um baixo risco de viés, sendo esse apenas em relação às características de linha de base do modelo animal, limitando significativamente a qualidade da evidência disponível.

Figura 7 - Avaliação dos estudos em animais usando a ferramenta Rob do SYRCLE para estudos em animais. (a) Resultados específicos de cada estudo; (b) Resultados gerais por aspecto.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

5.3 Características das intervenções

A espécie de lactobacilo mais utilizada para o preparo das intervenções, considerando todos os estudos (100%, n=6), foi o *L. plantarum* (66,67%, n=4) (Valdéz *et al.*, 2005; Ramos; Peral; Valdéz, 2008; Moghadam *et al.*, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021). Todas as cepas dessa espécie advieram de culturas comerciais padrão, assim como as demais espécies utilizadas: *L. casei* (16,66%, n=1) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020) e *L. gasseri* (16,66%, n=1) (Lenzemeier *et al.*, 2019).

Assim como explicitado nos critérios de elegibilidade, todos os estudos *in vitro* avaliaram o sobrenadante livre de células (SLC) derivado da espécie de lactobacilo estudada, disposto com mais detalhes na Tabela 1. A cultura total também foi utilizada como intervenção em dois desses trabalhos (Valdéz *et al.*, 2005;

Lenzemeier *et al.*, 2019), enquanto o sobrenadante neutralizado esteve presente no mesmo número de estudos (Valdéz *et al.*, 2005; Ramos; Peral; Valdéz, 2008). Diferentemente das intervenções anteriores, as células lavadas foram avaliadas em um estudo, sendo esse realizado por Valdéz e colaboradores (2005).

Tabela 1 - Principais características dos estudos *in vitro*.

Autores e ano	Espécies de Lactobacillus	Cepa de Pseudomonas aeruginosa	Intervenções	Controles
Valdéz <i>et al.</i> , 2005.	<i>L. plantarum</i> ATCC 10241	PA100	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cultura total (T); ➤ SLC ácido (AF); ➤ SLC neutralizado (NF); ➤ Células lavadas (Lp). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>P. aeruginosa</i> em meio LB; ➤ <i>P. aeruginosa</i> em caldo MRS.
Ramos; Peral; Valdéz, 2008.	<i>L. plantarum</i> ATCC 10241	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Amostra policlonal, obtida de uma queimadura crônica; ➤ Cepa isolada, obtida de uma queimadura crônica. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ SLC ácido (AF); ➤ SLC neutralizado (NF). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ DNase tipo I de 1 mg% (D1) ➤ DNase tipo I de 100 mg% (D100).
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021.	<i>L. plantarum</i> PTCC 1058	<i>P. aeruginosa</i> multiresistente isolada de pacientes queimados.	SLC ácido (AF);	<i>P. aeruginosa</i> em caldo BHI.
Lenzmeier <i>et al.</i> , 2019.	<i>L. gasseri</i> ATCC 33323	PAO1	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cultura total (T); ➤ SLC ácido 20 vezes concentrado (AFCs); 	MRS 20 vezes concentrado.
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020.	<i>L. casei</i> PTCC 1608	<i>P. aeruginosa</i> multirresistente isolada de pacientes queimados.	SLC ácido (AF);	<i>P. aeruginosa</i> em caldo BHI.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Em relação aos estudos *in vivo*, somente dois deles, realizados por Abootaleb, Bandari e Soleimani nos anos de 2020 e 2021, utilizaram apenas o SLC como intervenção, enquanto na terceira pesquisa foram estudados, além do sobrenadante isolado, a unidade formadora de colônia (UFC) e a cultura completa (Moghadam *et al.*, 2020), como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Características gerais dos estudos *in vivo*

Autores e ano	Lactobacillus spp.	Pseudomonas aeruginosa	Intervenções	Controles
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021.	<i>L. plantarum</i> PTCC 1058	<i>P. aeruginosa</i> multirresistente isolada de pacientes queimados.	SLC ácido (AF).	Sulfadiazina de prata 1%.
Moghadam <i>et al.</i> , 2020.	<i>L. plantarum</i> 299v	<i>P. aeruginosa</i> , isolada de queimaduras de pacientes hospitalizados	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pomada Eucerin + U.F.C. de <i>L. plantarum</i> 299v (1g/10⁸); ➤ Pomada Eucerin + AF (1g/1ml); Pomada Eucerin + (U.F.C. de <i>L. plantarum</i> 299v + AF) (10⁸/1g/ml). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pomada Eucerin + 0,9% NaCl (1g/1ml); Pomada Eucerin + Imipenem (1g/1mg). Concentração do Imipenem: (50mg/1kg).
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020.	<i>L. casei</i> PTCC 1608	<i>P. aeruginosa</i> multirresistente isolada de pacientes queimados.	SLC ácido (AF).	Sulfadiazina de prata 1%.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

5.4 Características dos estudos *in vitro*

5.4.1 Origem e características das cepas de *P. aeruginosa*

Todos os estudos (100%, n=6) incluídos nessa revisão partiram de análises utilizando culturas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa*, especificadas na Tabela 1 e 2. Em parte deles, as cepas foram obtidas de culturas padronizadas (33,33%, n=2), sendo elas *P. aeruginosa* PA 100 e *P. aeruginosa* PAO1 (Váldez *et al.*, 2005; Lenzmeier *et al.*, 2019). Nos mesmos estudos, a *P. aeruginosa* 119 qsc mutante e *P. aeruginosa* PAO1/pMP7605 também foram incluídas nos experimentos, porém, apenas como ferramentas auxiliares na avaliação da produção de acil-homoserina lactonas e visualização por Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM), respectivamente.

Nos demais artigos (66,67%, n= 4), foram utilizadas cepas de *P. aeruginosa* isoladas de pacientes queimados hospitalizados ou de lesões com caráter crônico, todas declaradamente resistentes a antibióticos e outros tratamentos (Ramos; Peral; Valdéz *et al.*, 2008; Moghadam *et al.*, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021). O perfil de resistência da *P. aeruginosa* utilizada nos experimentos avaliado pelo diâmetros dos halos resultantes do ensaio de susceptibilidade à antimicrobianos foi reportado em apenas dois estudos, sendo ambas as cepas resistentes à Ceftazidima, Imipenem e Ciprofloxacina (Moghadam *et al.*, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021), descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Perfil de resistência dos isolados clínicos utilizados nos estudos incluídos na revisão sistemática.

Autores e ano	Origem da cepa de <i>P. aeruginosa</i>	Resistência à:
<i>Ramos; Peral; Valdéz et al, 2008.</i>	➤ Queimadura crônica	Não informado
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021.</i>	➤ Queimadura	Ceftazidima Imipenem Ciprofloxacina Gentamicina Amicacina Piperaciclina Colistina
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020.</i>	➤ Queimadura	Não informado
<i>Moghadam et al., 2020.</i>	➤ Queimadura	Ceftazidima Imipenem Ciprofloxacina Gentamicina Amicacina Tetraciclina

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

5.4.2 Testes realizados

Reunindo-se os estudos, obteve-se um número de 10 testes diferentes realizados em um total de 6 estudos (100%, n=6), sendo estes: ensaio de inibição do crescimento em caldo; ensaios de inibição da produção direta e indireta de acil-homoserina lactonas; ensaio de inibição biofilme estático em microplaca; ensaio de inibição de elastase; atividade de DNase; ensaio de zona de inibição; inibição da formação de biofilme pelo método do deslizamento em lâmina de vidro; cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do SLC e ensaio de inibição da formação e desintegração do biofilme.

Os testes realizados em mais de um estudo foram os ensaios de biofilme estático em microplaca (33,33%, n=2) (Váldez *et al.*, 2005; Ramos; Peral; Valdéz *et al.*, 2010), inibição do crescimento em caldo (33,33%, n= 2) (Váldez *et al.*, 2005; Lenzemeier *et al.*, 2019), HPLC do SLC (33,33%, n= 2) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021) e inibição da formação de

biofilme pelo método do deslizamento em lâmina de vidro (33,33%, n=2) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021).

5.5 Características dos estudos *in vivo*

5.5.1 Modelo animal

Em todos os estudos *in vivo*, os autores utilizaram o modelo animal murino de linhagem Wistar e sexo masculino (100%, n=3) e afirmaram a aprovação dos projetos pelos comitês de ética a qual foram submetidos. O peso das cobaias foi informado por dois desses estudos, sendo 250 ± 20 g (33,33%, n=1) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021) e 200-250g (33,3%, n=1) (Moghadam *et al.*, 2020), enquanto na última pesquisa essa informação não foi relatada (33,3%, n=1) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020).

Em relação a idade dos animais, apenas um dos manuscritos informou o parâmetro de 8-10 semanas (33,33%, n=1) (Moghadam *et al.*, 2020) e nos demais esse aspecto não foi descrito no corpo do texto (66,66%, n=2) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021).

5.5.2 Lesão e infecção

Na totalidade dos estudos (100%, n=3), a lesão foi induzida por queimadura na região das costas dos animais e classificada como de segundo grau. Para isso, os pelos foram raspados e dois tipos de dispositivos metálicos foram utilizados, um deles com o diâmetro de 1cm, aquecido em água fervente e colocado em contato com a pele da cobaia por 5 segundos (66,66%, n=2) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021) e o outro, descrito como uma barra de aço quente com temperatura de 95°C e diâmetro de 2 cm (33,33%, n=1) (Moghadam *et al.*, 2020). Os dados apurados mostram que em todos os estudos as lesões foram infectadas com cepas *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes descritas na Tabela 2 e 3.

A obtenção das cepas de *P. aeruginosa* se deu através de isolados clínicos de pacientes com queimaduras hospitalizados nos Hospitais Firooz Gar (33,33%,

n=2) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021) e Motahari (33,33%, n=1) (Moghadam *et al.*, 2020), todos localizados em Teerã, Irã (100%, n=3). Ainda, as concentrações bacterianas para a indução das infecções foram de 200-300 UFC (66,66%, n=2) (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021) e 1 ml da cepa na concentração de 1.5×10^8 UFC/ml (33,33%, n=1) (Moghadam *et al.*, 2020).

5.5.3 Tratamento

Em dois dos estudos *in vivo* (66,66%), o SLC foi administrado por aspersão uma vez ao dia, durante 28 dias, sem a utilização veículo (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021). Em contrapartida, o terceiro estudo (33,33%) aponta a utilização da pomada Eucerin® como veículo para o teste de três diferentes tratamentos, sendo eles a unidade formadora de colônia (UFC), o SLC e a cultura completa. A vista disso, a aplicação dos tratamentos sob a forma de pomada sobre as queimaduras também foi realizada uma vez por dia, no entanto, apenas durante 14 dias (Moghadam *et al.*, 2020).

5.6 Principais resultados

5.6.1 Estudos *in vitro*: Inibição do crescimento e fatores de virulência

De acordo com os dados extraídos dos estudos *in vitro* incluídos nessa revisão sistemática, todos os sobrenadantes livres de células em sua forma natural ácida (AF) e cultura total (T), preparados a partir dos *Lactobacillus plantarum* ATCC 10241 e PTCC 1058, inibiram significativamente os biofilmes formados pelas cepas de *P. aeruginosa*, especificados na Tabela 1 (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021; Ramos; Peral; Valdéz, 2010).

Em contrapartida, o filtrado neutralizado (NF) – preparado após a neutralização do pH ácido característico do sobrenadante ácido derivado do *L. plantarum* ATCC 10241 – não apresentou efeitos significativos sobre o biofilme desenvolvido pela PA100, caracterizada como uma amostra de clone isolado (Váldez *et al.*, 2005). Em outro estudo, a atividade inibitória de uma intervenção NF

semelhante, proveniente da mesma espécie de lactobacilo, método de neutralização e pH final, também foi insatisfatória sobre o biofilme produzido pela cepa de *P. aeruginosa* isolada, porém, quanto a colônia policlonal da mesma espécie bacteriana, a inibição foi significativa (Ramos; Peral; Valdéz, 2010).

A atividade de DNase não foi constatada em nenhum dos derivados do *L. plantarum* ATCC 10241 quando dispostos em ágar DNA, sendo este um resultado auxiliar na compreensão do mecanismo de ação desses compostos (Ramos; Peral; Valdéz, 2010). Ademais, informações sobre composição do AF provenientes dos probióticos *L. plantarum* PTCC 1058 e *L. casei* PTCC 1608 foram obtidas pela análise por cromatografia de alta performance (HPLC), indicando a presença de quatro ácidos principais: ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico e ácido succínico (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021).

Ainda sobre os ensaios relacionados ao biofilme bacteriano, os preparados provenientes das demais espécies de lactobacilos dispostas na Tabela 1, também revelaram efeitos sobre a progressão desse fator de virulência. De acordo com os autores, o sobrenadante ácido derivado do *L. casei* promoveu a redução da adesão da *P. aeruginosa* em lâmina, porém, a quantificação exata dessa diminuição não foi relatada, uma vez que os resultados foram apresentados apenas na forma de imagens (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021).

Já o ensaio performed com o uso do AF proveniente do *L. gasseri*, ocasionou a desintegração e inibição da formação do biofilme, pois ao final do tempo de incubação, houve um decréscimo significativo nas massas dos biofilmes em relação ao controle, reportando-se apenas a visualização microscópica de alguns aglomerados de bactérias dispersas na amostra tratada após 8 horas de crescimento do biofilme (Lenzmeier *et al.*, 2019).

Os derivados de *Lactobacillus spp.* também se demonstraram promissores contra a forma planctônica da *P. aeruginosa*. A adição da cultura total ou sobrenadante ácido provenientes do *L. plantarum* ATCC 10241 propiciaram a diminuição significativa da contagem de UFC/ml⁻¹ das cepas de *P. aeruginosa* PA100 e PA01, respectivamente (Valdez *et al.*, 2005; Lenzmeier *et al.*, 2019). Em contrapartida, o sobrenadante mostrou uma redução na sua atividade bacteriana após a neutralização, enquanto a intervenção caracterizada pela unidade formadora de

colônia lavada com solução salina tamponada com fosfato (Lp) não propiciou inibição (Váldez *et al.*, 2005).

Em relação às acil-homosserina lactonas, a cultura total e AF preparados a partir do *L. plantarum* ATCC 10241 bloquearam significativamente a atividade e/ou síntese dessas moléculas, avaliadas por ensaios direto e indireto. No entanto, notou-se uma moderada, porém significativa, interferência propiciada pelo meio Man Rogosa e Sharpe (MRS), utilizado no cultivo dos lactobacilos. Esse achado foi destacado pela observação de atividade inibitória pelo controle MRS (meio sem os lactobacilos) sobre as acil-homoserina lactonas, tanto no ensaio indireto quanto no direto.

No mesmo estudo, esse componente não apresentou interferência na ação das intervenções sobre a elastase produzida pela PA100, havendo a inibição significativa da atividade dessa enzima por todos os preparados: cultura total, AF e NF, sendo que a cultura total se mostrou mais efetiva (Valdéz *et al.*, 2005).

5.6.2 Estudos *in vivo*: aspectos microscópicos e macroscópicos da lesão infectada

Na avaliação realizada após 21 dias de tratamento, os grupos de animais infectados com cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes e tratados com os sobrenadantes ácidos preparados a partir de culturas de *L. casei* PTCC 1608 e *L. plantarum* PTCC 1058, foram os únicos a atingir a cicatrização completa das lesões nesse dia, enquanto o mesmo feito foi observado nos grupos controle positivo apenas na avaliação seguinte, realizada no 28º dia. Os estudos histológicos das lesões através da coloração com Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Masson mostraram um número aumentado de fibroblastos associado a camadas epidérmicas e dérmicas mais espessas (Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020; Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021).

Diferentes derivados preparados a partir do *L. plantarum* 299v, também foram avaliados quanto aos impactos na cicatrização de queimaduras infectadas, ao passo que, ao fim do período de 14 dias de tratamento, o princípio ativo a conseguir a maior taxa de cicatrização foi a UFC não lavada do lactobacilo, seguido pelas demais intervenções, detalhadas no apêndice H, referente ao estudo de Moghadam e colaboradores (2020).

Embora a cicatrização tenha respondido melhor à UFC, o derivado a inibir o crescimento da *P. aeruginosa* em 100% das lesões no menor tempo de tratamento foi a união desse derivado com o sobrenadante ácido. Outrossim, ao fim do período de administração das intervenções, as contagens médias de leucócitos dos murinos tratados apenas com o sobrenadante ácido ou UFC não lavada foram significativamente maiores que o controle positivo, o qual continha como princípio ativo o antimicrobiano Imipenem (Moghadam *et al.*, 2020).

6 DISCUSSÃO

Atribuída à capacidade de escape ao efeito biocida dos antimicrobianos e expressão de uma gama fatores de virulência, a *P. aeruginosa* demonstra relevante papel como agente patogênico oportunista causador de infecções em pacientes queimados, de modo que, o sucesso no tratamento dos indivíduos acometidos depende de intervenções eficazes contra diferentes aspectos dessa bactéria (Li *et al.*, 2021).

A inibição e desconstrução satisfatórias dos biofilmes por grande parte dos sobrenadantes constatada nessa revisão sistemática, principalmente demonstradas pelos filtrados ácidos derivados de *Lactobacillus spp.*, associada à inatividade de DNase, sugere que a interação entre o biofilme e os fatores inibidores possivelmente presentes em derivados específicos dos lactobacilos seja caracterizada por mecanismos de ação diferentes da degradação de DNA extracelular (Ramos; Peral; Valdéz, 2010).

Essa inibição pode estar relacionada à atividade de biosurfactantes, compostos comprovadamente produzidos por espécies de lactobacilos, capazes de desintegrar biofilmes já formados e impedir a aderência bacteriana, etapas importantes para o estabelecimento dessa matriz polimérica (Ma; Tu; Chen, 2023). Além disso, a detecção de células bacterianas dispersas apenas na amostra tratada mais tardiamente reforça a importância da intervenção precoce na inibição desse fator de virulência (Thomas; Thomas, 2021).

Outrossim, a impossibilidade de crescimento dos biofilmes tratados com o sobrenadante ácido, também propõe a existência de metabólitos secundários inibidores provenientes desse tratamento. Isso pois, apesar do ácido láctico produzido pelos lactobacilos apresentar eficiência antimicrobiana sobre patógenos Gram-negativos, ambientes dotados de um pH moderadamente ácido também podem acabar induzindo a formação de biofilmes mais densos por cepas específicas de *P. aeruginosa*, o que não ocorreu a partir da adição do AF (Mozaheb *et al.*, 2023; Ma; Tu; Chen, 2023).

No entanto, é importante salientar que as quantidades de sobrenadante usadas podem não ter sido suficientes para a acidificação do meio de crescimento

da *P. aeruginosa*, dado que as informações acerca do pH final após o tratamento não foram relatadas nos estudos.

A não inibição ou diminuição da bioatividade demonstrada pela interação entre sobrenadantes neutralizados e cepas isoladas quando comparadas às cepas policlonais, como relatado na presente revisão, pode estar relacionada à maior variedade genética presente nas amostras policlonais e consequente susceptibilidade aumentada à variação de moléculas inibidoras no sobrenadante (van Schaik *et al.*, 2005). Além disso, existe a possibilidade das múltiplas passagens da amostra original em meio de cultura para o isolamento do clone de *P. aeruginosa* a ser utilizado em um dos ensaios terem favorecido variações fenotípicas e mutações no microrganismo, influenciando assim na sua interação *in vitro* com o sobrenadante neutralizado (USP 37, 2012).

Além da extraordinária resistência conferida pelo biofilme, a importante função desempenhada pela 3O-C12-HSL e C4-HSL na comunicação e coordenação de atividades envolvidas na sobrevivência e adaptação da *P. aeruginosa*, mediada pelo mecanismo de quorum-sensing (QS), as destaca como alvos no combate a esse patógeno bacteriano (Moura-alves *et al.*, 2019). A vista disso, a inibição da síntese e atividade dessas moléculas pelos derivados de *Lactobacillus spp.* destaca o potencial multimodal dessas intervenções, apesar da influência do meio de crescimento MRS nos resultados obtidos (Moura-alves *et al.*, 2019).

No entanto, o estudo da interação dos sobrenadantes e outros derivados sobre os fatores de virulência pertencentes à *P. aeruginosa* durante infecção tecidual ativa seria capaz de esclarecer melhor o impacto desses fatores na evolução da lesão, mecanismo de ação dos preparados provenientes de *Lactobacillus spp.* nas queimaduras infectadas e no processo de restauração da integridade e funcionalidade tecidual.

Assim como os estudos *in vitro* promovem o melhor entendimento sobre a interação entre os fatores de virulência da *P. aeruginosa* e os derivados de *Lactobacillus spp.*, a experimentação *in vivo* fornece informações valiosas sobre os efeitos do uso dessa intervenção na cicatrização de queimaduras infectadas por esse microrganismo. Ao considerar a eliminação mais rápida da *P. aeruginosa* presente nas lesões infectadas e a melhoria no tempo e qualidade da cicatrização, pressupõe-se que o sobrenadante de lactobacilos possua uma ação antibacteriana,

predominantemente relacionada à presença de bacteriocinas, como já reportado na comunidade científica (Knackstedt; Knackstedt; Gatherwright, 2020; Mozaheb *et al.*, 2023; Ma; Tu; Chen, 2023).

Indícios do aumento no número de fibroblastos e a presença de camadas epidérmicas e dérmicas mais espessas nos grupos tratados com os sobrenadantes ácidos, descritos em dois estudos incluídos nessa revisão, expandem a gama de possíveis efeitos exercidos pelas moléculas produzidas nesse meio, sendo um deles a eventual interação com fibroblastos e vias de sinalização, divulgado mediante ensaios *in vitro* envolvendo probióticos e culturas de fibroblastos dérmicos humanos (HDFs) (Zhang *et al.*, 2025).

Ainda, as vantagens de produção constante dos metabólitos e a aderência competitiva podem ter sido promovidas pela unidade formadora de colônia, seja isolada ou junto ao sobrenadante, uma vez que a sua presença resultou em efeitos positivos proeminentes em parte dos estudos avaliados. Ademais, elementos celulares estruturais do lactobacilo como o envelope celular e ácidos tecóicos podem interagir com o sistema imunológico do hospedeiro, desempenhando assim um papel imunomodulatório (Ma; Tu; Chen, 2023).

No que diz respeito à robustez dos estudos, Valdéz e colaboradores (2005) sobressaíram-se em relação aos demais ao serem os únicos a avaliar o potencial inibidor das intervenções sobre moléculas QS e elastase de *P. aeruginosa*, provendo assim, resultados que repercutiram em uma discussão detalhada sobre a bioatividade do sobrenadante ácido concentrado.

De maneira análoga, o ensaio de inibição dinâmica do biofilme apresentado por Lenzemeier e colaboradores (2019) proveu informações inovadoras sobre o comportamento do biofilme em relação a variações no tempo de tratamento, sendo a visualização por microscopia um fator diferencial decisivo para a interpretação. Além disso, esse mesmo estudo foi o único a avaliar a possível contribuição de compostos específicos provenientes do sobrenadante de *Lactobacillus spp.* para a bioatividade desse derivado além do pH, ao investigar a presença de proteínas termo-lábeis e Peróxido de Hidrogênio nesse preparado.

Apesar do aporte das informações apresentadas para o entendimento da interação entre o sobrenadante e outros de derivados de *Lactobacillus spp.* e a *P. aeruginosa*, a descrição dos detalhes metodológicos e resultados nos estudos de

Abootaleb e colaboradores foi insatisfatória, principalmente em relação ao cegamento dos pesquisadores, obtenção e apresentação dos resultados dos estudos *in vivo*, prejudicando a confiabilidade dos desfechos. Outrossim, a omissão da quantificação do cristal violeta referente ao ensaio de inibição do biofilme torna incompleta a interpretação do grau de inibição pelo leitor.

7 CONCLUSÃO

Os resultados provenientes dessa revisão sistemática fornecem importantes informações sobre a interação dos sobrenadantes e outros derivados de *Lactobacillus spp.* com o crescimento, fatores regulatórios e de virulência associados às cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, bem como os efeitos na cicatrização de queimaduras de segundo grau infectadas por essa bactéria a partir de um modelo animal.

As evidências apresentadas demonstraram-se promissoras em relação à aplicação biotecnológica dos probióticos e pós bióticos, dos quais destacaram-se os efeitos do sobrenadante ácido, cultura completa e a UFC, tanto nos estudos *in vivo*, quanto *in vitro*. No entanto, a distribuição geográfica restrita, principalmente em relação aos estudos *in vivo*, acompanhada da falta de padronização nos parâmetros avaliativos, carência de dados metodológicos importantes e resultados quantitativos em ambas as metodologias, foram fatores contribuintes para um alto risco de viés nas experimentações, apresentação e interpretação dos resultados, limitando também a comparação entre estudos.

Apesar dos impasses encontrados, os desfechos encontrados fundamentam a realização de novos estudos nesse âmbito, sendo esses adequadamente reportados, para que assim, um conjunto de dados mais homogêneo, claro e de maior qualidade possibilite o asseguramento das proposições apresentadas e uma futura aplicação biotecnológica efetiva e segura dos derivados de *Lactobacillus spp.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOOTALLEB, M.; MOHAMMADI BANDARI, N.; ARBAB SOLEIMANI, N. Interference of *Lactobacillus casei* with *Pseudomonas aeruginosa* in the treatment of infected burns in Wistar rats. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 143–149, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.22038/IJBMS.2020.47447.10920>. Acesso em: 10 jun. 2025.

ABOOTALLEB, M.; MOHAMMADI BANDARI, N.; ARBAB SOLEIMANI, N. Interference of *Lactiplantibacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* on the infected burns in Wistar rats. **Journal of Burn Care & Research**, [S. l.], v. 43, n. 4, p. 951–956, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jbcr/irab229>. Acesso em: 10 jun. 2025.

ALVES, A. C. et al. Global trends and scientific impact of topical probiotics in dermatological treatment and skincare. **Microorganisms**, v. 12, n. 10, 2024.

BYRD, A. L.; BELKAID, Y.; SEGRE, J. A. The human skin microbiome. **Nature reviews. Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 143–155, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.157> Acesso em: 11 jun 2025.

CROWLEY, T. E. Overview of the methods for purification of metabolites that are secreted by bacteria. Em: **Purification and Characterization of Secondary Metabolites**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 19–31.

DIEDEREN, B. M. W. et al. Epidemiology of clinically relevant bacterial pathogens in a burn center in the Netherlands between 2005 and 2011. **Journal of Burn Care & Research**, [S. l.], v. 36, n. 3, p. 446–453, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/BCR.0000000000000144>. Acesso em: 10 jun. 2025.

ESCANDÓN-VARGAS, K. et al. Healthcare associated infections in burn patients: Timeline and risk factors. **Burns**, v. 46, n. 8, p. 1775–1786, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2020.04.031>. Acesso em: 09 abr. 2025.

GBD 2017 DISEASE AND INJURY INCIDENCE AND PREVALENCE COLLABORATORS. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017. **Lancet**, v. 392, n. 10159, p. 1789–1858, 2018. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32279-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32279-7). Acesso em: 09 abr. 2025.

GOODWINE, J. et al. Pyruvate-depleting conditions induce biofilm dispersion and enhance the efficacy of antibiotics. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 3763, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-40378-z>. Acesso em: 09 abr. 2025.

HOOIJMANS, C. R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, [S. l.], v. 14, p. 43, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>. Acesso em: 10 jun. 2025.

JURADO-MARTÍN, I.; SAINZ-MEJÍAS, M.; MCCLEAN, S. *Pseudomonas aeruginosa*: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 3128, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22063128>. Acesso em: 10 jun. 2025.

KIM, S.-K. *et al.* Role of probiotics in human gut microbiome-associated diseases. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 9, p. 1335–1340, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.4014/jmb.1906.06064>. Acesso em: 10 jun. 2025.

KNACKSTEDT, R.; KNACKSTEDT, T.; GATHERWRIGHT, J. The role of topical probiotics on wound healing: A review of animal and human studies. **International wound journal**, v. 17, n. 6, p. 1687–1694, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iwj.13451> Acesso em: 11 jun 2025.

LACHIEWICZ, A. M. *et al.* Bacterial infections after burn injuries: Impact of multidrug resistance. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 12, p. 2130–2136, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cix682>. Acesso em: 09 abr. 2025.

LENZMEIER, T. D. *et al.* Application of *Lactobacillus gasseri* 63 AM supernatant to *Pseudomonas aeruginosa*-infected wounds prevents sepsis in murine models of thermal injury and dorsal excision. **Journal of Medical Microbiology**, [S. l.], v. 68, n. 10, p. 1560–1572, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.001066>. Acesso em: 10 jun. 2025.

LI, Z. *et al.* Pathogenic characteristics and risk factors for ESKAPE pathogens infection in burn patients. **Infection and Drug Resistance**, [S. l.], v. 14, p. 4727–4738, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/IDR.S338627>. Acesso em: 10 jun. 2025.

LIN, X.; LAI, Y. Scarring skin: Mechanisms and therapies. **International journal of molecular sciences**, v. 25, n. 3, p. 1458, 2024.

MA, L.; TU, H.; CHEN, T. Postbiotics in human health: A narrative review. **Nutrients**, v. 15, n. 2, p. 291, 2023.

MACHADO, P. *et al.* Next-generation wound care: A scoping review on probiotic, prebiotic, synbiotic, and postbiotic cutaneous formulations. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 18, n. 5, 2025.

MARKIEWICZ-GOSPODAREK, A. *et al.* Burn wound healing: Clinical complications, medical care, treatment, and dressing types: The current state of knowledge for clinical practice. **International journal of environmental research and public health**, v. 19, n. 3, p. 1338, 2022

MOURA-ALVES, P. *et al.* Host monitoring of quorum sensing during *Pseudomonas aeruginosa* infection. **Science**, v. 366, n. 6472, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaw1629>. Acesso em: 09 abr. 2025.

MOZAHEB, N. *et al.* A mildly acidic environment alters *Pseudomonas aeruginosa* virulence and causes remodeling of the bacterial surface. **Microbiology Spectrum**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. e0483222, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/spectrum.04832-22>. Acesso em: 10 jun. 2025.

NORMAN, G. *et al.* Antiseptics for burns. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, [S. l.], v. 7, n. 7, p. CD011821, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD011821.pub>. Acesso em: 10 jun. 2025.

OPRIESSNIG, E. *et al.* Epidemiology of burn injury and the ideal dressing in global burn care - Regional differences explored. **Burns**, v. 49, n. 1, p. 1–14, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2022.06.018>. Acesso em: 09 abr. 2025.

PAGE, M. J. *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **BMJ**, [S. l.], v. 372, p. n71, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.n71>. Acesso em: 10 jun. 2025.

PEI, Y.; HAMAR, P.; PEI, D.-S. Deciphering Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanistic Insights and Environmental Risks. **Toxics**, v. 13, n. 4, 2025.

PEÑA, O. A.; MARTIN, P. Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 25, n. 8, p. 599–616, 2024.

PINA-SÁNCHEZ, M.; RUA, M.; DEL POZO, J. L. Present and future of resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: implications for treatment. **Revista española de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia**, v. 36 Supl 1, p. 54–58, 2023.

QIN, S. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 1, p. 199, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>. Acesso em: 09 abr. 2025.

RAMOS, A. N.; PERAL, M. C.; VALDEZ, J. C. Differences between *Pseudomonas aeruginosa* in a clinical sample and in a colony isolated from it: comparison of virulence capacity and susceptibility of biofilm to inhibitors. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 33, n. 3, p. 267–275, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2008.10.004>. Acesso em: 10 jun. 2025.

SANTAMARINA-FERNÁNDEZ, R. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* vaccine development: Lessons, challenges, and future innovations. **International journal of molecular sciences**, v. 26, n. 5, 2025.

SAUER, K. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. **Journal of Bacteriology**, v. 184, n. 4, p. 1140–1154, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.184.4.1140-1154.2002>. Acesso em: 09 abr. 2025.

SAUVAGE, S.; HARDOUIN, J. Exoproteomics for Better Understanding *Pseudomonas aeruginosa* Virulence. **Toxins (Basel)**, v. 12, n. 9, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/toxins12090571>. Acesso em: 09 abr. 2025.

SHAH, A. B. et al. Probiotic significance of Lactobacillus strains: a comprehensive review on health impacts, research gaps, and future prospects. **Gut microbes**, v. 16, n. 1, p. 2431643, 2024.

SMITH, R. S.; IGLEWSKI, B. H. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 56–60, 2003. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5274\(03\)00008-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5274(03)00008-0). Acesso em: 09 abr. 2025.

SMOLLE, C. et al. Recent trends in burn epidemiology worldwide: A systematic review. **Burns**, v. 43, n. 2, p. 249–257, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2016.08.013>. Acesso em: 09 abr. 2025.

SOLEYMENZADEH MOGHADAM, S. et al. Comparison of the effects of Lactobacillus plantarum versus imipenem on infected burn wound healing. **Medical Journal of the Islamic Republic of Iran**, [S. l.], v. 34, p. 94, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34171/mjiri.34.94>. Acesso em: 10 jun. 2025.

STOKES, M. A. R.; JOHNSON, W. D. Burns in the Third World: an unmet need. **Annals of Burns and Fire Disasters**, v. 30, n. 4, p. 243–246, 2017. Acesso em: 09 abr. 2025.

THOMAS, R. E.; THOMAS, B. C. Reducing biofilm infections in burn patients' wounds and biofilms on surfaces in hospitals, medical facilities and medical equipment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 24, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph182413195>. Acesso em: 09 abr. 2025.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. The United States Pharmacopeia 2014: USP 37; The National Formulary: NF 32. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, 2012. Acesso em: 09 abr. 2025.

VALDÉZ, J. C. et al. Interference of Lactobacillus plantarum with *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro* and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. **Clinical Microbiology and Infection**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. 472–479, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01142.x>. Acesso em: 10 jun. 2025.

VAN DUIN, D. et al. Timeline of health care-associated infections and pathogens after burn injuries. **American Journal of Infection Control**, [S. l.], v. 44, n. 12, p. 1511–1516, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2016.07.027>. Acesso em: 10 jun. 2025.

VAN SCHAIK, E. J. et al. DNA binding: a novel function of *Pseudomonas aeruginosa* type IV pili. **Journal of Bacteriology**, [S. l.], v. 187, n. 4, p. 1455–1464, 2005.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.187.4.1455-1464.2005>. Acesso em: 10 jun. 2025.

WARBY, R.; MAANI, C. V. Burn classification. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025.

WEGH, C. A. M. et al. Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 19, p. 4673, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. **Who.int**, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Acesso em: 09 abr. 2025.

YAN, F.; POLK, D. B. Probiotics and immune health. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 27, n. 6, p. 496–501, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/MOG.0b013e32834baa4d>. Acesso em: 09 abr. 2025.

ZHANG, S. *et al.* Probiotics promote cellular wound healing responses by modulating the PI3K and TGF- β /Smad signaling pathways. **Cell Communication and Signaling**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 195, 2025. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-025-02179-y>. Acesso em: 10 jun. 2025.

ŻWIEREŁŁO, W. et al. Burns: Classification, pathophysiology, and treatment: A review. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, 2023.

APÊNDICE A – STRING DE BUSCA E RESULTADOS OBTIDOS DA BASE DE DADOS PUBMED.

BUSCA	QUADRO	RESULTADOS
#1	"Lactobacillus"[All Fields] OR "Probiotics"[All Fields] OR "Probiotic"[All Fields]	81.112
#2	"Burns"[All Fields] OR "Burn"[All Fields] OR "Thermal injury"[All Fields] OR "Thermal injuries"[All Fields]	138.678
#3	" <i>Pseudomonas aeruginosa</i> "[All Fields] OR "Bacillus aeruginosus"[All Fields] OR "Bacillus pyocyaneus"[All Fields] OR "Bacterium pyocyaneum"[All Fields] OR "Pseudomonas polycolor"[All Fields] OR "Pseudomonas pyocyanea"[All Fields]	82.377
#4	("Pseudomonas aeruginosa"[All Fields] OR "Bacillus aeruginosus"[All Fields] OR "Bacillus pyocyaneus"[All Fields] OR "Bacterium pyocyaneum"[All Fields] OR "Pseudomonas polycolor"[All Fields] OR "Pseudomonas pyocyanea"[All Fields]) AND ("Burns"[All Fields] OR "Burn"[All Fields] OR "Thermal injury"[All Fields] OR "Thermal injuries"[All Fields]) AND ("Lactobacillus"[All Fields] OR "Probiotics"[All Fields] OR "Probiotic"[All Fields])	21

APÊNDICE B – STRING DE BUSCA E RESULTADOS OBTIDOS DA BASE DE DADOS EMBASE

BUSCA	QUADRO	RESULTADOS
#17	#14 AND #15 AND #16	57
#16	#11 OR #12 OR #13	112,802
#15	#5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10	142,483
#14	#1 OR #2 OR #3 OR #4	190,684
#13	'probiotic'	59,827
#12	'probiotics'	36,116
#11	'lactobacillus'	73,865
#10	'pseudomonas pyocyanea'	151
#9	'pseudomonas polycolor'	4
#8	'bacterium pyocyaneum'	12
#7	'bacillus pyocyaneus'	112
#6	'bacillus aeruginosus'	3
#5	' <i>Pseudomonas aeruginosa</i> '	142,146
#4	'thermal injuries'	1,267
#3	'thermal injury'	12,990
#2	'burn'	122,645
#1	'burns'	107,658

APÊNDICE C – CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS *IN VIVO* E MODELO ANIMAL

Autores e Ano	País	Modelo animal	Linhagem/espécie	Sexo	Idade	Peso
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020</i>	Irã	Murino	Ratos Wistar	M	NI	NI
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021</i>	Irã	Murino	Ratos Wistar	M	NI	250g ± 20
<i>Moghadam et al., 2020</i>	Irã	Murino	Ratos Wistar	M	8 à 10 semanas	200-250g

Legenda: M= masculino; NI= Não informado; g= gramas

APÊNDICE D – CARACTERÍSTICAS DA LESÃO E INFECÇÃO DOS ESTUDOS *IN VIVO*.

Autores e Ano	Tipo de lesão	Modo de indução da lesão	Cepa bacteriana	Modo de indução da infecção
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020.	Queimadura	Dispositivo metálico com 1cm de diâmetro foi aquecido em água fervente e colocado em contato com as costas do animal por 5 segundos.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multiresistente isolada de pacientes queimados hospitalizados no Hospital Firoozgar, em Teerã, Irã.	200 - 300 UFC da <i>P. aeruginosa</i> foi colocada sobre a superfície da queimadura logo após sua indução (dia 0).
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021.	Queimadura	Dispositivo metálico com 1cm de diâmetro foi aquecido em água fervente e colocado em contato com as costas do animal por 5 segundos.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multiresistente isolada de pacientes queimados hospitalizados no Hospital Firoozgar, em Teerã, Irã.	200 - 300 UFC da <i>P. aeruginosa</i> foi colocada sobre a superfície da queimadura logo após sua indução (dia 0).
Moghadam et al., 2020.	Queimadura	Barra de aço quente com diâmetro de 2 cm e temperatura de 95°C.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , isolada de queimaduras de pacientes hospitalizados no Hospital Motahari, em Teerã, Irã.	Foi inoculado 1 ml da cepa (1.5×10^8 UFC/ml) na queimadura após 24 horas (dia 1).

Legenda: °C= graus Célsius; UFC= unidade formadora de colônia; UFC/ml= Unidade formadora de colônia por ml.

APÊNDICE E – CARACTERÍSTICAS DO TRATAMENTO DOS ESTUDOS *IN VIVO*.

Autores e Ano	Tratamento	Modo de preparo	Rota de administração	Posologia	Duração (dias)	Controles
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020.	Sobrenadante livre de células (SLC) derivado de culturas de <i>Lactobacillus casei</i> PTCC 1608.	O lactobacilo cultivado por 1 dia em caldo MRS foi centrifugado e filtrado em membrana 0.2µm.	Tópica – O SLC foi aplicado sobre a queimadura por aspersão.	A cada 24 horas.	28.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Controle negativo: Sem tratamento; ➤ Controle positivo: Sulfadiazina de prata 1%.
Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021.	Sobrenadante livre de células (SLC) derivado de culturas de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> PTCC 1058.	O lactobacilo cultivado por 1 dia em caldo MRS foi centrifugado e filtrado em membrana 0.2µm.	Tópica – O SLC foi aplicado sobre a queimadura por aspersão.	A cada 24 horas.	28.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Controle negativo: Sem tratamento; ➤ Controle positivo: Sulfadiazina de prata 1%.
Moghadam et al., 2020.	<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v, sendo: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Pomada Eucerin + pellet celular (1g/10⁸); ➤ Pomada Eucerin + SLC (1g/1ml); ➤ Pomada Eucerin + (pellet celular+ SLC) (10⁸/1g/ml). 	O lactobacilo cultivado por 2 dias em caldo MRS foi centrifugado e filtrado em membrana 0.22µm.	Tópica – Cada um dos tratamentos sob a forma de pomada foi aplicado sobre a queimadura.	A cada 24 horas.	14.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Controle negativo: Pomada Eucerin +0,9% NaCl (1g/1ml), ➤ Controle positivo: Pomada Eucerin + Imipenem (1g/1mg). Concentração do Imipenem: (50mg/1kg).

Legenda: °C= Graus célcus; MRS= Man, Rogosa e Sharpe; SLC= sobrenadante livre de células; PTCC = Persian Type Culture Collection

APÊNDICE F – RESULTADOS ESPECÍFICOS DO ESTUDO *IN VIVO* DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2020.

Autores e Ano	Tratamento	Modo de avaliação	Intervalo de avaliação	Resultados específicos relatados
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020.</i>	Sobrenadante livre de células (SLC) preparado a partir de culturas de <i>Lactobacillus casei</i> PTCC 1608.	1. Área da ferida (método da régua), cálculo das taxas referentes a área da lesão aberta e cicatrização; 2. Estudo Histopatológico: avaliação de inflamação, reepitelização, neovascularização, formação de tecido de granulação e acumulação de colágeno a partir da microscopia óptica das lâminas histopatológicas obtidas por biópsia.	Semanal: dias 7, 14, 21 e 28 do período de tratamento.	1. No sétimo dia de tratamento, a taxa de cicatrização referente aos controles positivo e negativo foi de 0%. Já a do grupo tratado com o SLC foi de 75%. O grupo tratado com o SLC atingiu a cicatrização completa (taxa de cicatrização = 100% e área da lesão aberta = 0%) no 21º dia de tratamento, enquanto o controle positivo (sulfadiazina de prata 1%) atingiu o mesmo feito no 28º dia. 2. No 28º dia, as feridas tratadas com o SLC apresentaram camadas de derme e epiderme mais grossas, quando comparada ao grupo controle positivo

Legenda: SLC= Sobrenadante livre de células; : °C= Graus célcus;

APÊNDICE G – RESULTADOS ESPECÍFICOS DO ESTUDO *IN VIVO* DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2021.

Autores e Ano	Tratamento	Modo de avaliação	Intervalo de avaliação	Resultados específicos relatados
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021.</i>	Sobrenadante livre de células (SLC) preparado a partir de culturas de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> PTCC 1058.	1. Área da ferida (método da régua), cálculo das taxas referentes a área da lesão aberta e cicatrização 2. Estudo Histopatológico: avaliação de inflamação, reepitelização, neovascularização, formação de tecido de granulação e acumulação de colágeno a partir da microscopia óptica das lâminas histopatológicas obtidas por biópsia das queimaduras.	Semanal: dias 7, 14, 21 e 28 do período de tratamento.	1. O grupo tratado com o SLC atingiu a cicatrização completa (taxa de cicatrização = 100% e área da lesão aberta = 0%) no 21º dia de tratamento, enquanto o controle positivo (sulfadiazina de prata 1%) atingiu o mesmo feito no 28º dia. 2. No dia 28 de tratamento, os estudos histopatológicos revelaram que a pele do grupo tratado com o SLC de <i>L. plantarum</i> PTCC 1058 apresentou camadas epidérmicas e dérmicas mais espessas e um maior número de células fibroblásticas em comparação com os outros grupos.

Legenda: SLC= Sobrenadante livre de células; °C= Graus célcus;

APÊNDICE H – RESULTADOS ESPECÍFICOS DO ESTUDO *IN VIVO* DE MOGHADAM ET AL., 2020.

Autores e Ano	Tratamento	Modo de avaliação	Intervalo de avaliação	Resultados específicos relatados
Moghadam et al., 2020.	<p><i>Lactobacillus plantarum</i> 299v, sendo:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Pomada Eucerin + pellet celular (1g/10⁸); ➤ Pomada Eucerin + SLC (1g/1ml); ➤ Pomada Eucerin + (pellet celular+ SLC) (10⁸/1g/ml). 	<p>1. Área da ferida (método da régua) e cálculo da taxa de cicatrização;</p> <p>2. Avaliação hematológica da ferida: Contagem de leucócitos.</p> <p>3. Cultura das feridas: obtenção de camadas superficiais da lesão com um swab estéril posteriormente cultivado em ágar sangue e incubado por 24 horas a 37°C.</p>	<p>Semanal: dias 0, 7 e 14 do período de tratamento.</p>	<p>1. No dia 14º dia, o tamanho médio das feridas no grupo tratado somente com pellet foi signmenor do que nos grupos controle negativo (p= 0.001), positivo (p= <0.001) e sobrenadante (p= 0.003). A respeito da taxa de cicatrização, a porcentagem do grupo referente ao pellet maior quando comparada ao controle positivo (p=0.014). Além disso, a taxa foi maior no grupo pellet + sobrenadante, quando comparada ao grupo sobrenadante (p= 0.004).</p> <p>2. Houve um aumento significativo na contagem de leucócitos no grupo referente ao pellet celular, avaliado como superior ao valor do grupo controle positivo (p= 0.002) no dia 14. Além disso, o número de leucócitos do grupo sobrenadante também foi maior que o controle positivo nesse mesmo dia (p= 0.001).</p> <p>3. No 7º dia de tratamento, o grupo tratado com sobrenadante + pellet celular foi o único a atingir 100% de lesões negativas para <i>P. aeruginosa</i>. No dia 14 todos os grupos, exceto o controle positivo, demonstraram 100% de casos negativos.</p>

Legenda: SLC= Sobrenadante livre de células; : °C= Graus célcus;

APÊNDICE I – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO *IN VITRO* DE VALDÉZ ET AL., 2005.

Autores e Ano	País	Intervenção(s) e modo de preparo	Cepa(s) bacteriana	Testes realizados	Controles
Valdéz et al., 2005.	Argentina	<p><i>Lactobacillus Plantarum</i> ATCC 10241, crescido em caldo MRS, sendo:</p> <p>Cultura total (T);</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ SLC ácido (AF), através da centrifugação e filtração do sobrenadante em membrana 0,22µm; ➤ SLC em pH 7, obtido pela neutralização do AF com 8 M de NaOH (NF); ➤ Células lavadas, na concentração de 10⁶ UFC/mL (Lp). 	<p><i>P. aeruginosa</i> PA100 e <i>P. aeruginosa</i> 119 qsc mutante*</p>	<p>1. Teste de Inibição em caldo e contagem em ágar MacConkey;</p> <p>2. Produção direta de Acil-homosserina-lactonas;</p> <p>3. Produção indireta de Acil-homosserina-lactonas;</p> <p>4. Ensaio estático de biofilme em microplaca de 96 poços: medição da absorbância do cristal violeta após 1 e 7 horas de incubação;</p> <p>5. Ensaio de elastase: medição da absorbância após 1 e 18h de incubação.</p>	<p>1. Controle LB: <i>P. aeruginosa</i> em meio LB;</p> <p>Controle MRS: <i>P. aeruginosa</i> em caldo MRS.</p> <p>2. Controle LB: <i>P. aeruginosa</i> em meio LB;</p> <p>Controle MRS: <i>P. aeruginosa</i> em caldo MRS.</p> <p>3. Controle LB: <i>P. aeruginosa</i> em meio LB;</p> <p>Controle MRS: <i>P. aeruginosa</i> em caldo MRS.</p> <p>4. Controle LB: <i>P. aeruginosa</i> em meio LB;</p> <p>Controle MRS: <i>P. aeruginosa</i> em caldo MRS.</p> <p>5. Controle LB: <i>P. aeruginosa</i> em meio LB;</p> <p>Controle MRS: <i>P. aeruginosa</i> em caldo MRS.</p>

Legenda: NI = Não informado; MRS= Man, Rogosa e Sharpe; Legenda: °C= Graus celsius; SLC= sobrenadante livre de células; LB: Luria- Bertani; ATCC: American Type Culture Collection. *= Esta cepa tem uma fusão transcricional *lacZ* aleatória no cromossomo de um *lasI-rhlI* duplo mutante, assim, ela não produz 3O-C12-HSL e C4-HSL, mas responde à presença desses compostos aumentando a expressão de β -galactosidase e foi usada para detectar a produção de acil-homoserina-lactonas (AHLs) pela PA100.

APÊNDICE J – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO *IN VITRO* DE RAMOS; PERAL; VALDÉZ, 2010

Autores e Ano	País	Intervenção(s) e modo de preparo	Cepa(s) bacteriana	Testes realizados	Controles
Ramos; Peral; Valdéz, 2010	Argentina	<p>Sobrenadantes livres de células preparados a partir de culturas de <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 10241, em caldo MRS a 37° C, sendo:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Filtrado ácido (AF): obtido após centrifugação e filtração em filtro de 0,22 µm; ➤ Filtrado neutralizado (NF): parte do AF neutralizado com 8 M de NaOH, até a obtenção de pH 7. 	<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> obtida de uma queimadura crônica de um mês de evolução e resistente a diversos tratamentos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ (I): Mistura de cepas (amostra policlonal). ➤ (II): Cepa isolada através de múltiplas passagens em meio LB. 	<p>1. Ensaio estático de biofilme em microplaca de 96 poços (avaliação pela medição da absorbância após 1 e 6 horas de incubação;</p> <p>2. Detecção de atividade de DNase pelos Filtrados Ácido (AF) Neutralizado (NF) e cultura completa de <i>L. plantarum</i> em ágar DNase;</p>	<p>1. Controle negativo: NI; Controle positivo: : DNase tipo I de 1 mg% (D1) e 100 mg% (D100);</p> <p>2. Controle negativo: NI; Controle positivo: DNase tipo I de 1 mg% (D1) e 100 mg% (D100).</p>

Legenda: NI = Não informado; MRS= Man, Rogosa e Sharpe; Legenda: °C= Graus célcus; SLC= sobrenadante livre de células; LB: Luria- Bertani; ATCC: American Type Culture Collection.

APÊNDICE K – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO *IN VITRO* DE LENZMEIER *ET AL*, 2019.

Autores e Ano	País	Intervenção(s) e modo de preparo	Cepa(s) bacteriana	Testes realizados	Controles
<i>Lenzmeier et al, 2019.</i>	Estados Unidos	Preparados a partir da cultura de <i>Lactobacillus gasseri</i> ATCC 33323, crescidos por 48h em caldo MRS à 37°C, sendo: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Cultura completa de <i>Lactobacillus gasseri</i> ATCC 33323 (Lg63AM); ➤ SLC 20 vezes concentrado partir da centrifugação, passagem em coluna 5000 Da MWCO e filtragem em filtro de poro de 0.2µm. 	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01, cepa prototrófica originalmente isolada de uma ferida infectada e PA01/pMP7605 **	1. Ensaio de zona de inibição: Zonas de não crescimento da PA01 em contato com o LgCS e Lg63AM. 2. Ensaio de inibição em caldo: contagem de unidades formadoras de colônia CFU de PA01 após incubação em LgCS. 3. Ensaio de inibição da formação ou desintegração do biofilme em placa de 24 poços, analisados de maneira quantitativa através da absorção do cristal violeta ou qualitativa por observação em CLSM.	1. Controle negativo: MRS 20 vezes concentrado; Controle positivo: NI. 2. Controle negativo: MRS 20 vezes concentrado; Controle positivo: NI. 3. Controle negativo: MRS 20 vezes concentrado; Controle positivo: NI.

Legenda: NI = Não informado; MRS= Man, Rogosa e Sharpe; Legenda: °C= Graus célcus; SLC= sobrenadante livre de células; LB: Luria- Bertani; ATCC: American Type Culture Collection.

**= Esta cepa produz uma proteína fluorescente visualizada por Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM).

APÊNDICE L – CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO *IN VITRO* DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2020 E ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2021.

Autores e Ano	País	Intervenção(s) e modo de preparo	Cepa(s) bacteriana	Testes realizados	Controles
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2020.</i>	Irã	Sobrenadante livre de células preparado a partir de culturas de <i>Lactobacillus casei</i> PTCC 1608 como previamente descrito na tabela 5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistente isolada de pacientes queimados hospitalizados no Hospital Firoozgar, em Teerã, Irã.	1. Inibição do biofilme: Atividade antiadesiva do SLC pelo método de deslizamento em lâmina; 2. Cromatografia Líquida de Alta Performance do SLC.	1. Controle negativo: Lâmina de biofilme formado pela <i>P.aeruginosa</i> apenas em caldo BHI; Controle positivo: NI;
<i>Abootaleb; Bandari; Soleimani, 2021.</i>	Irã	Sobrenadante livre de células (SLC) preparado a partir da cultura de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> PTCC 1058, preparado como previamente descrito na tabela 5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistente isolada de pacientes queimados hospitalizados no Hospital Firoozgar, em Teerã, Irã.	1. Inibição do biofilme: Atividade antiadesiva do SLC pelo método de deslizamento em lâmina; 2. Cromatografia Líquida de Alta Performances do SLC.	1. Controle negativo: Lâmina de biofilme formado pela <i>P.aeruginosa</i> apenas em caldo BHI; Controle positivo: NI.

Legenda: NI = Não informado; MRS= Man, Rogosa e Sharpe; Legenda: °C= Graus célcus; SLC= sobrenadante livre de células; LB: Luria- Bertani; ATCC: American Type Culture Collection.

APÊNDICE M – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO *IN VITRO* DE VALDÉZ ET AL., 2005.

Intervenção(s)	Ensaio de inibição de biofilme estático em placa de 96 poços:	Ensaio de inibição do crescimento em caldo e contagem de colônias	Ensaio de inibição da produção direta de Acil-homosserina-lactonas.	Ensaio de inibição da produção indireta de Acil-homosserina-lactonas	Ensaio de elastase
Preparados a partir da cultura de <i>Lactobacillus Plantarum</i> ATCC 10241, crescido em caldo MRS à 37°C, sendo:	Comparados ao controle de crescimento da <i>P. aeruginosa</i> (LB):	Comparados ao controle LB:	Comparados ao controle LB:	Comparados ao controle LB:	Comparados ao controle LB:
➤ Cultura total (T);	➤ T e AF= Capacidade inibitória após 7 horas de incubação (p < 0.001).	➤ T e AF = nenhuma célula bacteriana viável;	➤ T = Inibição significativa (p < 0.001);	➤ T= Inibição significativa (p < 0.001);	➤ T= Inibição significativa (p < 0.001);
➤ SLC ácido (AF);		➤ NF= reduzida capacidade de inibição do crescimento da PA 100 (97%), quando comparado ao controle LB (p < 0.001);	➤ AF= Inibição significativa (p < 0.01);	➤ AF= Inibição significativa (p < 0.001);	➤ AF= Inibição significativa (p < 0.01);
➤ SLC neutralizado (NF);	Inibição independente do crescimento da PA 100.		➤ NF= não significativa.	➤ NF = Inibição significativa (p < 0.01);	➤ NF = Inibição significativa (p < 0.05);
➤ Células lavadas (Lp).		➤ Lp= nenhuma capacidade de inibição.	➤ Controle MRS Inibição significativa. Porém menor (p < 0.05).	➤ Controle MRS = Inibição significativa, porém menor (p < 0.05).	➤ Controle MRS = não significativa;

Legenda: MRS= Man, Rogosa e Sharpe; °C= Graus célsius; SLC= sobrenadante livre de células; LB: Luria- Bertani; ATCC: American Type Culture Colletcion

APÊNDICE N – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO *IN VITRO* DE RAMOS; PERAL; VALDÉZ, 2010

Intervenção	Ensaio estático de biofilme em placa de 96 poços	Atividade de DNase
<p>Sobrenadantes livres de células preparados a partir de culturas de <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 10241, em caldo MRS a 37° C, sendo:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Filtrado ácido (AF); ➤ Filtrado neutralizado (NF). 	<p>Biofilme formado pelo isolado clínico policlonal:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Filtrados AF e NF = inibições significativamente superiores às duas concentrações de DNase ($p < 0,001$); <p>Biofilme formado pela cepa isolada:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ AF = inibição significativamente superior às duas concentrações de DNase ($p < 0,0001$); ➤ NF = Inibição significativamente inferior à solução de DNase 100mg% ($p < 0,001$). <p>Inibição independente da taxa de formação do biofilme.</p>	<p>Nenhuma atividade de DNase foi encontrada nos sobrenadantes (AF e NF) e na colônia completa de <i>L. plantarum</i> ATCC 10241 em ágar DNase.</p>

Legenda: MRS= Man, Rogosa e Sharpe; °C= Graus célcus; ATCC: American Type Culture Collection.

APÊNDICE O – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO *IN VITRO* DE LENZMEIER ET AL, 2019.

Intervenção	Ensaio de zona de inibição	Ensaio de inibição em caldo em placa de 24 poços	Ensaio de inibição da formação ou desintegração do biofilme	Visualização dos biofilmes por Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM)
Preparados a partir da cultura de <i>Lactobacillus gasseri</i> ATCC 33323, crescidos por 48h em caldo MRS à 37°C, sendo:	A cultura completa (Lg63AM) e o LgCS inibiram significativamente o crescimento da cepa PAO1. Não houve inibição pelo cMRSB.	Comparado ao cMRSB: ➤ O LgCS reduziu as c.f.u. ml ⁻¹ da PAO1 de maneira significativa (p < 0.0001)	Tratamento após 0h de crescimento do biofilme: ➤ A biomassa do biofilme formado na presença de LgCS foi menor do que a produzida na presença de cMRSB (p < 0.0001). Tratamento após 4h de crescimento do biofilme: ➤ Os biofilmes tratados com LgCS tiveram redução da biomassa em 16 vezes, quando comparado ao controle Tratamento após 8h de crescimento do biofilme: ➤ O tratamento com LgCS reduziu a biomassa dos biofilmes em 40 vezes, quando comparado ao controle.	Tratamento após 0h de crescimento do biofilme: ➤ Na presença de LgCS, nem biofilme ou células bacterianas da PAO1/pMP7605 foram detectadas. Tratamento após 4h de crescimento do biofilme: ➤ Nenhum sinal do biofilme foi visualizado nas amostras tratadas com LgCS; Tratamento após 8h de crescimento do biofilme: ➤ Apenas alguns aglomerados dispersos de células foram visualizados nas amostras tratadas com LgCS.
➤ Cultura completa;				
➤ SLC 20 vezes concentrado (LgCS).				

Legenda: °C= Graus celsius; cMRS= Controle positivo composto pelo meio de Man, Rogosa e Sharpe.

APÊNDICE P – RESULTADOS ESPECÍFICOS DOS TESTES REALIZADOS NO ESTUDO *IN VITRO* DE ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2020 E ABOOTALEB; BANDARI; SOLEIMANI, 2021.

Intervenção	Ensaio de inibição da formação de biofilme (método do deslizamento em lâmina):	Cromatografia Líquida de Alta Performance
Sobrenadante livre de células preparado a partir de culturas de <i>Lactobacillus casei</i> PTCC 1608.	O SLC de <i>L. casei</i> PTCC 1608 demonstrou efeito na redução da adesão de <i>P. aeruginosa</i> em lâmina de vidro*.	Foram detectados quatro ácidos orgânicos principais: ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico e ácido succínico.
Sobrenadante livre de células (SLC) preparado a partir de culturas de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> PTCC 1058.	A presença do SLC de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> PTCC 1058 reduziu significativamente o processo de adesão do biofilme na lâmina de vidro*.	Foram detectados quatro ácidos orgânicos principais: ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico e ácido succínico.

Legenda: PTCC: Persian Type Culture Collection.

*Os resultados foram apresentados apenas na forma de imagens.