

Avaliação da toxicidade dérmica de uma formulação hidrogel de Goma Guar contendo *Lactiplantibacillus plantarum* M2

Evaluation of the dermal toxicity of a Guar Gum hydrogel formulation containing *Lactiplantibacillus plantarum* M2

Evaluación de la toxicidad dérmica de una formulación de hidrogel de goma guar que contiene *Lactiplantibacillus plantarum* M2

DOI: 10.54033/cadpedv22n1-030

Originals received: 12/02/2024

Acceptance for publication: 12/23/2024

Ademilton Costa Alves

Doutorando em Biotecnologia

Instituição: Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE)

Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil

E-mail: professorademiltonalves@gmail.com

Sergio Murilo da Silva Braga Martins Júnior

Doutor em Física pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)

Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil

E-mail: sergiomurillo21@gmail.com

Lucas dos Santos Silva

Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde

Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)

Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil

E-mail: lucasds.silva99@gmail.com

José Victor Trindade Belo

Graduando em Biomedicina

Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)

Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil

E-mail: josevictor.belo1943@gmail.com

Mauro Victor Castro Lemos

Graduando em Biomedicina

Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)

Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil

E-mail: maurocastro832@gmail.com

Raphael Guedes Silva

Graduado em Biomedicina
Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: raphael017114@ceuma.com.br

Joicy Cortez de Sá Sousa

Doutora em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: joicy.sa@ufma.br

Luís Cláudio Nascimento da Silva

Pós-Doutor em Biotecnologia pela Universidade de Copenhague, KU, Dinamarca
Instituição: Universidade Ceuma (UNICEUMA)
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: luiscln.silva@ceuma.br

RESUMO

Os custos elevados do tratamento de lesões epiteliais, a crescente resistência microbiana e os efeitos colaterais de terapias convencionais destacam a necessidade de novas abordagens terapêuticas. Nesse cenário, a bioprospecção de compostos bioativos e produtos biotecnológicos ganham relevância. Biomateriais como polissacarídeos têm apresentado excelente destaque. E formulações como os hidrogéis, que podem funcionar como sistemas de administração de medicamentos e curativos inteligentes que respondem a estímulos como pH, temperatura e luz, revelam ser aplicações importantes, mundialmente. Entre suas possíveis combinações promissoras estão os probióticos, principalmente as bactérias ácido-láticas, que apresentam potencial para estimular o sistema imunológico e combater vírus, bactérias e fungos. Um exemplo interessante de polímero para o desenvolvimento de produtos probióticos tópicos é a goma guar, derivada da semente da leguminosa *Cyamopsis tetragonolobus*, que se destaca por ser um polissacarídeo hidrofílico com propriedades gelificantes e espessantes. Tais produtos necessitam apresentar um efetivo controle de segurança de seus usos, qualidade avaliada pela análise da toxicidade dérmica, a partir dos resultados de testes in vivo, em camundongos, por exemplo. O presente estudo buscou avaliar a toxicidade dérmica de uma formulação desenvolvida de hidrogel à base de goma guar contendo *Lactiplantibacillus plantarum* M2. A metodologia empregada, envolveu a avaliação da toxicidade da formulação, a toxicidade dérmica por dose repetida, análises dos parâmetros hematológicos e bioquímicos e ainda a análises histopatológicas da pele tratada dos camundongos. Os resultados indicaram ausência de irritação, toxicidade ou alterações hematológicas e histopatológicas, reforçando a segurança e eficácia da formulação.

Palavras-chave: Toxicidade. Hidrogéis. Probióticos. Segurança.

ABSTRACT

The high costs of treating epithelial lesions, growing microbial resistance and the side effects of conventional therapies highlight the need for new therapeutic approaches. In this scenario, the bioprospecting of bioactive compounds and biotechnological products is gaining relevance. Biomaterials such as polysaccharides have stood out. And formulations such as hydrogels, which can function as drug delivery systems and intelligent dressings that respond to stimuli such as pH, temperature and light, are proving to be important applications worldwide. Promising combinations include probiotics, especially lactic acid bacteria, which have the potential to stimulate the immune system and fight viruses, bacteria and fungi. An interesting example of a polymer for the development of topical probiotic products is guar gum, derived from the seed of the legume *Cyamopsis tetragonolobus*, which stands out for being a hydrophilic polysaccharide with gelling and thickening properties. These products need to be effectively controlled for their safety, a quality assessed by dermal toxicity analysis, based on the results of in vivo tests on mice, for example. This study sought to assess the dermal toxicity of a developed guar gum-based hydrogel formulation containing *Lactiplantibacillus plantarum* M2. The methodology employed involved assessing the toxicity of the formulation, dermal toxicity by repeated dose, analysis of hematological and biochemical parameters and histopathological analysis of the treated skin of mice. The results indicated no irritation, toxicity or hematological and histopathological alterations, reinforcing the safety and efficacy of the formulation.

Keywords: Toxicity. Hydrogels. Probiotics. Safety.

RESUMEN

Los elevados costes del tratamiento de las lesiones epiteliales, la creciente resistencia microbiana y los efectos secundarios de las terapias convencionales ponen de manifiesto la necesidad de nuevos enfoques terapéuticos. En este escenario, la bioprospección de compuestos bioactivos y productos biotecnológicos está cobrando relevancia. Destacan biomateriales como los polisacáridos. Y formulaciones como los hidrogeles, que pueden funcionar como sistemas de administración de fármacos y apósitos inteligentes que responden a estímulos como el pH, la temperatura y la luz, están demostrando ser aplicaciones importantes en todo el mundo. Entre las combinaciones prometedoras están los probióticos, especialmente las bacterias lácticas, que tienen el potencial de estimular el sistema inmunitario y combatir virus, bacterias y hongos. Un ejemplo interesante de polímero para el desarrollo de productos probióticos tópicos es la goma guar, derivada de la semilla de la leguminosa *Cyamopsis tetragonolobus*, que destaca por ser un polisacárido hidrófilo con propiedades gelificantes y espesantes. Es necesario que estos productos cuenten con controles de seguridad eficaces para su uso, una cualidad que se evalúa analizando la toxicidad dérmica, a partir de los resultados de ensayos in vivo en ratones, por ejemplo. Este estudio tenía por objeto evaluar la toxicidad dérmica de una formulación de hidrogel a base de goma guar que contiene *Lactiplantibacillus plantarum* M2. La metodología empleada consistió en evaluar la toxicidad de la formulación, la toxicidad dérmica por dosis repetidas, análisis

de parâmetros hematológicos y bioquímicos y análisis histopatológicos de la piel tratada de los ratones. Los resultados no indicaron irritación, toxicidad ni alteraciones hematológicas e histopatológicas, lo que refuerza la seguridad y eficacia de la formulación.

Palabras clave: Toxicidad. Hidrogeles. Probióticos. Seguridad.

1 INTRODUÇÃO

Os efeitos secundários das terapias convencionais, o custo dos tratamentos relacionados com a patologia cicatricial, o crescimento da resistência microbiana, bem como o número de mortes devido a infecções resultantes da lesão do epitélio revelam uma necessidade na medicina moderna de novas metodologias terapêuticas. Nesse sentido, novas alternativas vêm sendo estudadas com o intuito de auxiliar no tratamento das lesões do tecido epitelial. A bioprospecção de compostos bioativos e produtos biotecnológicos tem ganhado especial destaque nesse processo. Nesse contexto, os probióticos representam uma alternativa com grande potencial, uma vez que possuem diversas aplicações na medicina, conseguindo estimular o sistema imunológico (Ashraf; Shah, 2014), ter atividade contra vírus, bactérias e fungos (Shenoy; Gottlieb, 2019; Infusino *et al.*, 2020; Ji; Yang, 2020) e melhorar o prognóstico de pacientes diabéticos (Ardeshirlarijani *et al.*, 2019).

Diversos microrganismos são utilizados como probióticos, como fungos e bactérias, mas os lactobacilos são os mais utilizados. O gênero *Lactobacillus* foi recentemente revisto, resultando na distribuição de espécies que dão origem a 23 novos gêneros (Zheng *et al.*, 2020). As cepas de *Lactobacillus* têm sido amplamente utilizadas para a cicatrização de feridas, redução de cicatrizes, bem como no tratamento de infecções *in vitro* e *in vivo* (Sodré *et al.*, 2023; Sousa *et al.*, 2023). Neste contexto, a aplicação tópica de lactobacilos tem sido sugerida como uma nova alternativa para o tratamento de feridas, devido às suas capacidades imunomoduladoras e cicatrizantes, bem como aos seus efeitos antagônicos contra agentes patogênicos através da exclusão competitiva (Knackstedt *et al.*, 2020; França, 2021; Habeebuddin *et al.*, 2022).

A espécie *Lactiplantibacillus plantarum*, anteriormente denominada *Lactobacillus plantarum* (Brasil, 2021), uma bactéria Gram-positiva do ácido láctico, é amplamente utilizada na indústria alimentícia e encontrada em alimentos fermentados e no trato gastrointestinal (Rocchetti *et al.*, 2021). Isolados desse agente bioativo se destacam pela produção de proteínas extracelulares, exopolissacarídeos, bacteriocinas e ácidos lipoteicóicos, substâncias que auxiliam na modulação imunológica e possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e potencial anticancerígeno (Fidanza *et al.*, 2021) e atividades antimicrobianas (Altuntas *et al.*, 2024).

Existem vários veículos ou formulações farmacêuticas, como cremes, géis, géis-creme e pomadas, que podem ser usados para desenvolver produtos contendo probióticos. A escolha do veículo é feita conforme as especificações para garantir a viabilidade bacteriana, como um produto probiótico, e a estabilidade do produto, sendo necessário observar fatores como a estabilidade química e física da preparação, a preservação adequada contra contaminação microbiana e a uniformidade do princípio ativo utilizado (Sodré *et al.*, 2023; Sousa *et al.*, 2023).

Os hidrogéis são produtos promissores para a cicatrização de feridas devido a algumas características particulares (Stan *et al.*, 2021). A capacidade dos hidrogéis de proteger o tecido lesionado, absorver o exsudado e apoiar a regeneração do tecido aumenta o seu potencial de cicatrização da pele (Khan *et al.*, 2024). Além disso, estas matrizes poliméricas podem transportar e proporcionar a liberação sustentada de antimicrobianos no leito da ferida, o que pode ser um caminho a seguir para o tratamento de lesões infectadas (Ghiorghita *et al.*, 2024). Os hidrogéis à base de polissacarídeos têm sido utilizados para o desenvolvimento de formulações cicatrizantes devido à sua elevada biocompatibilidade e capacidade de adsorção, promovendo um ambiente úmido na ferida (Pushpamalar *et al.*, 2021; Qi *et al.*, 2022) Um exemplo interessante de polímero para o desenvolvimento de produtos probióticos tópicos é a goma guar, derivada da semente da leguminosa *Cyamopsis tetragonolobus*, que se destaca por ser um polissacarídeo hidrofílico com propriedades gelificantes e

espessantes, tornando-se um ingrediente essencial em uma variedade de formulações tópicas (Tahmouzi *et al.*, 2023).

A pele é exposta a uma ampla variedade de tóxicos que podem causar danos diretos, irritação e corrosão, ou induzir efeitos tóxicos imunomediados. Entender a estrutura básica da pele é importante para a avaliação da toxicidade (Mclean *et al.*, 2024). Portanto, uma compreensão detalhada da estrutura da pele é de extrema relevância para patologistas que avaliam estudos de toxicidade dérmica. Ratos e camundongos têm sido usados há muito tempo em estudos gerais de toxicidade, tanto sistêmico quanto tópico. Assim, determinados testes de avaliação da toxicidade dérmica são necessários, assim como de análises histopatológicas, incluindo ainda estudos mais amplos, bioquímicos e hematológicos, sobre os animais de laboratório utilizados nessas pesquisas *in vivo*.

Dessa forma, justifica-se a necessidade de explorar alternativas biocompatíveis e sustentáveis no campo da biotecnologia aplicada à saúde. Além de contribuir para o avanço do conhecimento teórico sobre a interação entre biopolímeros naturais e microrganismos probióticos em matrizes farmacêuticas, a pesquisa fornece subsídios práticos para o desenvolvimento de produtos seguros e eficazes para aplicação tópica. Tal abordagem auxilia na demanda crescente por soluções inovadoras no cuidado da pele, especialmente no contexto de formulações funcionais com propriedades hidratantes, cicatrizantes e antimicrobianas, atendendo a rigorosos padrões de segurança e eficácia necessários ao mercado farmacêutico e dermocosmético.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade dérmica de uma formulação inovadora de hidrogel à base de goma guar, incorporada com o probiótico *Lactiplantibacillus plantarum* M2. Essa análise buscou fornecer uma base científica sólida para a aplicação segura e eficaz dessa formulação em potenciais tratamentos dérmicos, contribuindo para o desenvolvimento de produtos dermocosméticos e terapêuticos que aliem biocompatibilidade, funcionalidade e sustentabilidade.

2 METODOLOGIA

2.1 ORIGEM E MANUTENÇÃO DAS CEPAS MICROBIANAS

Os microrganismos probióticos utilizados neste estudo, *Lactiplantibacillus plantarum* M2, são mantidos sob refrigeração a 80 °C, oriundos da Coleção Microbiana da Universidade CEUMA.

2.2 FORMULAÇÃO DE HIDROGÉIS CONTENDO *Lactiplantibacillus plantarum* M2

L. plantarum M2, foram escolhidos previamente, pois já haviam sido avaliados, em estudos clínicos anteriores, e constatadas as melhores concentrações desses bioativos associados a melhor concentração de hidrogel, a partir da formulação polissacarídica de Goma Guar da empresa Dinâmica Química® (Sodré *et al.*, 2023; Sousa *et al.*, 2023). Todos os componentes da formulação foram pesados numa balança analítica de precisão. Os materiais foram esterilizados a 121 °C por 15 minutos. O gel foi preparado com uma concentração de 1,54% de goma guar. Foi utilizada água destilada esterilizada e a solução foi homogeneizada durante 12 horas com um agitador magnético. Após 12 horas de agitação, a biomassa não liofilizada de *L. plantarum* M2 foi adicionada ao gel para obter uma concentração de 10%. A formulação foi agitada durante mais 1 hora.

2.3 ANIMAIS

2.3.1 Condições éticas

Este projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade CEUMA - UNICEUMA, Protocolo 003/2023 de 20/12/2023. Após esta aprovação, foi possível ter acesso às instalações do biotério e aos camundongos da espécie *Mus musculus*, da linhagem Swiss, de

6 a 8 semanas, machos e fêmeas, do biotério dessa universidade, onde foram mantidos e monitorados durante o experimento em ambiente com temperatura, umidade e luminosidade controladas. Os animais foram alimentados com ração específica para roedores e água *ad libitum*.

2.3.2 Avaliação da toxicidade da formulação

Para os testes de avaliação da toxicidade dérmica aguda, camundongos Swiss, entre machos e fêmeas, foram divididos aleatoriamente em dois grupos cada grupo contendo 5 animais ($n = 05$), aos quais foi raspada uma área de 2 cm² da região dorsal (na linha média cervical) 24 horas antes do procedimento experimental. Após esse período, 1 g da formulação com bactérias lácticas foi aplicado topicamente na área depilada no grupo de tratamento, e o grupo controle foi tratado apenas com o hidrogel à base de goma guar. Após a aplicação, os animais foram observados atentamente durante 14 dias, conforme Park *et al.* (2010). No 15º dia, os animais foram submetidos à eutanásia, por anestésicos injetáveis, cetamina e xilazina. A área da pele onde ocorreu as aplicações foi coletada de cada animal, para posterior processamento e análises histopatológicas (Oecd, 2001; Lulekal *et al.*, 2019).

2.3.3 Toxicidade dérmica por dose repetida

Camundongos Swiss foram divididos em três grupos, cada grupo contendo 5 animais ($n = 05$), entre machos e fêmeas. Cada animal teve uma área de 2 cm² de sua região dorsal raspada (na linha média cervical) 24 horas antes do procedimento experimental (Oecd, 2008). Após este período, 1 g/dia da formulação com bactérias lácticas foi aplicada topicamente na área depilada no grupo de tratamento durante 28 dias, e os grupos de controle foram tratados com o hidrogel de goma guar; ou 1 mL de solução salina (NaCl a 0,9%). Os animais foram observados diariamente para registrar possíveis alterações cutâneas, fisiológicas e/ou comportamentais, ou morte. O peso corporal de todos os animais foi determinado previamente, antes do início do tratamento

e semanalmente até o final dos testes. No final da experiência, os animais foram eutanasiados por anestésicos injetáveis, cetamina e xilazina, e o sangue foi colhido por punção cardíaca para análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. A área da pele onde ocorreu as aplicações foi coletada de cada animal, para posterior processamento e análises histopatológicas (Lulekal *et al*, 2019).

2.3.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos como a média \pm erro padrão da média. A avaliação estatística dos resultados foi efetuada através da análise de variância - ANOVA, utilizada para comparar as médias entre os grupos, seguida do teste de Kruskal - Wallis, para avaliar o tipo de distribuição das amostras. E foi adotado um nível de significância de 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi possível avaliar a toxicidade da formulação de hidrogel desenvolvida a base de goma guar isolada e associada ao *Lanctiplantibacillus plantarum* M2, seguindo a tabela de pontuação apresentada na metodologia de Park *et al*. (2010), que revelou um resultado geral, de ausência de edema e de eritema, na avaliação da pele dos dois grupos de camundongos Swiss avaliados nesta pesquisa (Tabela 1).

Conforme discutido por Gowda *et al*. (2024), determinados probióticos demonstram efeitos protetores na pele, reduzindo o edema e o eritema, além de apresentarem potencial para promover um ambiente anti-inflamatório. No entanto, ensaios clínicos adicionais são indispensáveis para uma avaliação mais aprofundada da estabilidade e funcionalidade dessas formulações, bem como para orientar de forma mais precisa a indicação segura de tratamentos dermatológicos baseados nesses bioativos. Os resultados obtidos na presente pesquisa, apresentados na Tabela 1, corroboram o potencial promissor do uso de formulações probióticas no contexto dermatológico.

Tabela 1. Avaliação diária da toxicidade da formulação, de possíveis reações cutâneas, nos camundongos Swiss tratados com o gel de goma guar e nos tratados com o gel + *L. plantarum* M2, durante 14 dias.

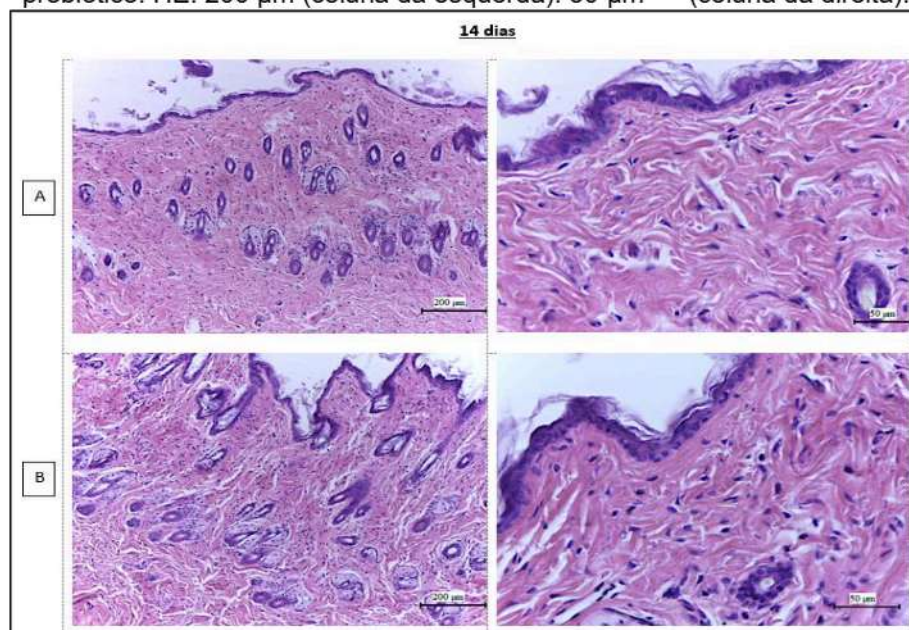
Pontuação de reações cutâneas	Pontuação
Camundongos tratados com GEL	0
Camundongos tratados com GEL + Probiótico	0

Legenda: 0: Sem eritema ou sem edema; 1: Eritema ou edema quase imperceptível; 2: Eritema bem definido ou edema leve; 3: Eritema moderado a grave ou edema moderado; 4: Eritema ou edema intenso.

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 1. Análise histológica de toxicidade cutânea (epiderme e derme) em camundongos Swiss, durante 14 dias.

Legenda: A: Grupo A, animais tratados com gel base. B: Grupo B, animais tratados com gel + probiótico. HE. 200 µm (coluna da esquerda). 50 µm (coluna da direita).



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Foram realizadas análises histopatológicas da epiderme e da derme, com resultado de ausência de toxicidade cutânea em todos os animais/lâminas analisadas; nenhuma alteração histológica significativa, com a epiderme e a derme com características histológicas nos padrões normais, conforme mostrado na Figura 1.

A relevância de análises histológicas, como as da pele, sendo um órgão totalmente acessível e manipulável durante experimentos é enaltecida nos

estudos de Moroki. (2023), que constata na epiderme, na derme e demais estruturas associadas às características histológicas fundamentais para avaliação toxicológica. Diferenças regionais e entre espécies, como na espessura do estrato córneo, influenciam a absorção dérmica de compostos. Assim, compreender sua estrutura, funções e possíveis artefatos é essencial para análises toxicológicas em aplicações tópicas e sistêmicas, especialmente em estudos com ratos e camundongos, amplamente utilizados nessa área, reiteram Weatherly *et al.* (2024).

Da mesma forma, Rozas *et al.* (2021) apontaram que a aplicação de probióticos pode influenciar a microbiota da pele, contribuindo para a redução das respostas inflamatórias e do edema nas áreas tratadas. Essas descobertas reforçam o potencial dos probióticos como uma alternativa segura e eficaz em formulações dermatológicas destinadas a proteger e manter a integridade da pele. Cenário que pode ser constatado também nesta atual pesquisa, com o score “ 0 ”, tanto para edema quanto para eritema nas avaliações submetidas aos camundongos adultos da raça Swiss, entre machos e fêmeas, registrado na Tabela 2.

Tabela 2. Avaliação diária da toxicidade dérmica por dose repetida, de possíveis reações cutâneas, nos camundongos Swiss dos três grupos tratados: grupo salina (NaCl 0,9%); grupo gel base (goma guar); e o grupo gel + prob (goma guar + *L. plantarum* M2), durante 28 dias.

Pontuação de reações cutâneas Pontuação

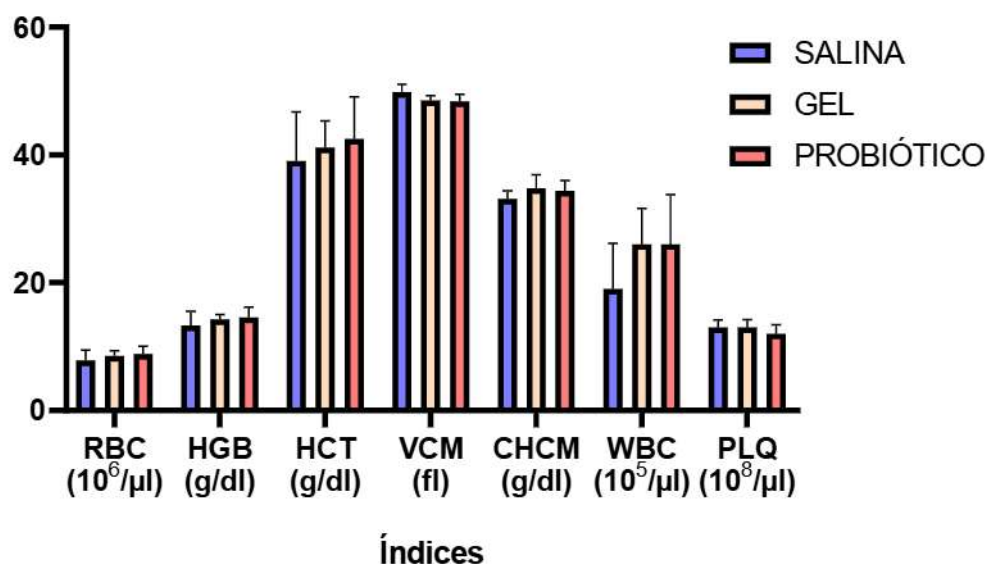
Grupo Salina	0	0: Sem eritema ou sem edema;
Grupo Gel base	0	1: Eritema ou edema quase imperceptível;
Grupo GEL + Prob	0	2: Eritema bem definido ou edema leve;
		3: Eritema moderado a grave ou edema moderado; 4: Eritema ou edema intenso.

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Os resultados das avaliações hematológicas e bioquímicas mantiveram-se nos valores das médias de referências dos padrões considerados de normalidade, para essa espécie, raça, sexo e faixa etária. As médias observadas dos índices hematimétricos foram: RBC ($8,8 \pm 1,2 \times 10^6 / \mu\text{l}$), HGB ($14,5 \pm 1,6 \text{g/dl}$), HCT ($42,5 \pm 6,5 \text{g/dl}$), VCM ($48,3 \pm 1,0 \text{fl}$), CHCM ($34,4 \pm 1,5 \text{g/dl}$),

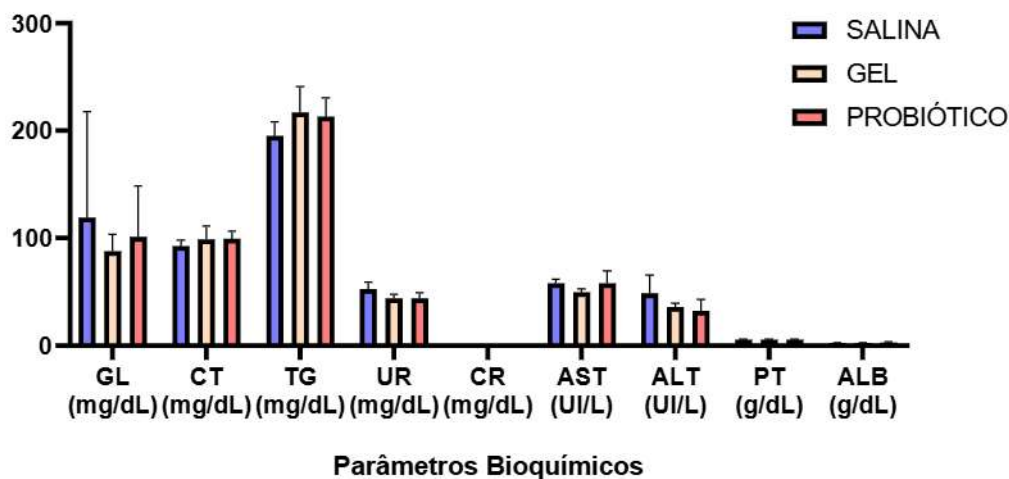
WBC ($26 \pm 7,7 \times 10^3/\mu\text{l}$) e PLQ ($12 \pm 1,4 \times 10^6/\mu\text{l}$), representados na Figura 2 e as médias dos parâmetros bioquímicos foram: GL ($101 \pm 47,6$ mg/dl), CT ($99,3 \pm 7,2$ mg/dl), TG ($213 \pm 17,5$ mg/dl), UR (44 ± 5 mg/dl), CR ($0,4 \pm 0,1$ mg/dl), AST ($58 \pm 11,5$ UI/L), ALT ($32,3 \pm 10,5$ UI/L), PT ($5,4 \pm 0,5$ g/dl) e ALB ($2,9 \pm 0,5$ g/dl), representados na Figura 3. Ocorrências não discordantes são referenciadas, na maioria dos achados, frequentemente, relatadas em estudos atuais e correlacionados (Barbosa *et al.*, 2017; Patel *et al.*, 2023).

Figura 2. Avaliação dos parâmetros hematimétricos em camundongos adultos Swiss, machos e fêmeas, dos três grupos tratados grupo Salina (NaCl 0,9%); grupo Gel (goma guar); e o grupo Probiótico (goma guar + *Lactiplantibacillus plantarum* M2), da avaliação da toxicidade dérmica por dose repetida, durante 28 dias.



Todos os resultados das análises foram obtidos de um analisador automatizado por citometria de fluxo a laser, com microscopia complementar. Legenda: RBC: Número de hemácias; HGB: Hemoglobina; HCT: Hematócrito; VCM: Volume corpuscular médio; CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: Índice de anisocitose; WBC: Número de leucócitos; PLQ: Número de plaquetas; VR: Valores de referência. Obtidos de Quesenberg KE, Carpenter JW (eds) *Ferrets, Rabbits and Rodents Clinical Medicine and Surgery*. 4th ed. St. Louis: Saunders, 2020, pp. 243 and 290.
Fonte: Dados da pesquisa (2024)

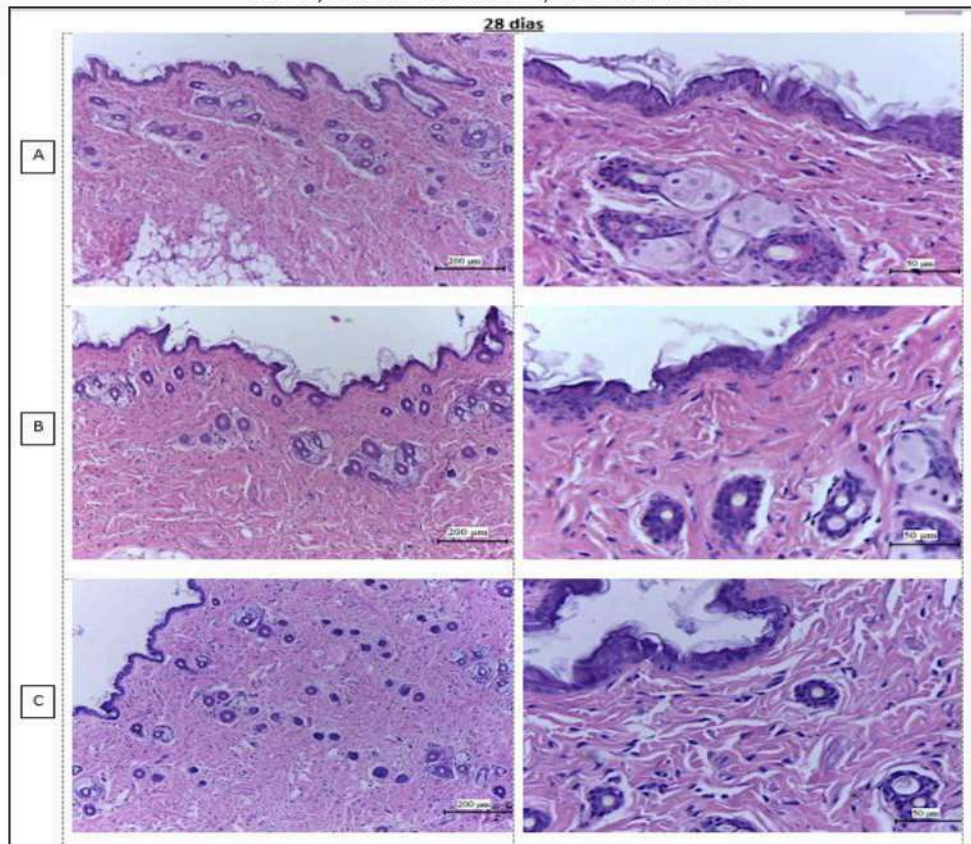
Figura 3. Avaliação dos parâmetros bioquímicos em camundongos adultos Swiss, machos e fêmeas, dos três grupos tratados grupo Salina (NaCl 0,9%); grupo Gel (goma guar); e o grupo Probiótico (goma guar + *Lactiplantibacillus plantarum* M2), da avaliação da toxicidade dérmica por dose repetida, durante 28 dias.



Todos os resultados das análises foram obtidos de um analisador bioquímico automatizado por espectrofotometria (colorimétrico e enzimático). Legenda: GL: Glicemia; CT: Colesterol; Triglicérides; UR: Uréia; CR: Creatinina; AST: Transaminase oxalacética; TGP: Transaminase pirúvica; PT: Proteínas totais; ALB: Albumina; VR: Valores de referência. Obtidos de Quesenberg KE, Carpenter JW (eds) Ferrets, Rabbits and Rodents Clinical Medicine and Surgery. 4th ed. St. Louis: Saunders, 2020, pp. 243 and 290.
Fonte: Dados da pesquisa (2024)

A avaliação de parâmetros hematológicos e bioquímicos é importante para estabelecer o estado fisiológico dos animais de laboratório. Eles são usados como biomarcadores do estado nutricional de um rato ou camundongo e ainda no diagnóstico de infecções e doenças, bem como de lesões em órgãos. De forma geral, os resultados dos valores hematológicos e bioquímicos, frequentemente, apresentam-se nas faixas de referência normais para esses espécimes, conforme descrito por Kinyi *et al.* 2023. Em contrapartida, inúmeros pesquisadores destacam a dificuldade de padronizações formais para esses marcadores hematológicos e bioquímicos e a busca em estabelecer valores de referência para esses parâmetros a serem direcionados a diferentes linhagens e/ou populações de camundongos (Patel *et al.*, 2024).

Figura 4. Análise histológica de toxicidade cutânea (epiderme e derme) em camundongos Swiss, machos e fêmeas, durante 28 dias.



Legenda: A: Grupo A, animais tratados com gel base. B: Grupo B, animais tratados com gel + probiótico. C: Grupo C, animais tratados com salina. HE. 200 µm (coluna da esquerda). 50 µm (coluna da direita).

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Não foram observadas, em todos os animais/lâminas analisadas, nenhuma alteração histológica significativa, estando a epiderme e derme com características histológicas nos padrões de normalidade. Detalhadamente, não foi observada presença de debris celulares; ausência de alterações celulares na epiderme, estando a mesma com estratificação e queratinócitos característicos; ausência de alterações circulatórias e inflamatórias na derme, estando a mesma com celularidade padrão, distribuição uniforme dos feixes de fibras colágenas e presença dos anexos cutâneos, folículos pilosos e glândulas sebáceas, conforme apresentado na Figura 4.

As análises histológicas, especialmente da pele, são fundamentais em estudos toxicológicos, particularmente, com o suporte de animais de laboratório, ratos e camundongos, amplamente utilizados nessa área, como já destacado por

Weatherly *et al.* (2024). E conseguir realizar as análises das estruturas estratificadas da pele desses espécimes e verificar as suas características histológicas associadas, representa um ganho imensurável ao êxito da avaliação toxicológica de possíveis novas formulações dermatológicas, conforme ressaltado por Moroki (2023) e somado aos estimulantes resultados apresentados na atual pesquisa.

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que a formulação desenvolvida hidrogel de Goma Guar com o probiótico *Lactiplantibacillus plantarum* M2 não registrou alterações dérmicas, como eritema e edema, nos ensaios clínicos in vivo com camundongos Swiss, nenhuma reação positiva foi observada nos testes de irritabilidade dérmica e toxicidade, demonstrando, em suma, a possível segurança da formulação probiótica testada. Além disso, não ocorreram alterações nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos analisados, reforçando assim a possível proposta de adaptação e continuidade dos estudos deste promissor bioproduto tópico.

Outrossim, esses resultados responderam à questão central da pesquisa, ao demonstrar a segurança dérmica da associação testada. Essa descoberta não apenas reforça o potencial da formulação para aplicações em tratamentos dermatológicos, como também destaca sua possível relevância para a sociedade ao atender à crescente demanda por produtos biocompatíveis, sustentáveis e com propriedades terapêuticas.

No âmbito acadêmico, o trabalho contribui para o avanço do conhecimento sobre a integração de biopolímeros naturais e probióticos em matrizes farmacêuticas, abrindo novas perspectivas para pesquisas no campo da biotecnologia aplicada à saúde. Contudo, reconhece-se que o estudo apresenta limitações, como a ausência de ensaios clínicos em larga escala e a avaliação de efeitos a longo prazo. Recomenda-se, portanto, que futuras investigações explorem esses aspectos, bem como ampliem a caracterização funcional e a eficácia terapêutica da formulação em diferentes condições clínicas.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos a Universidade CEUMA - UNICEUMA, pela disponibilização de sua estrutura física e funcional e de forma mais específica ao Biotério e ao Laboratório de Patogenicidade Microbiana - LAPMIC, pertencentes a essa instituição de ensino, pela contribuição relevante para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ALTUNTAS, E.G., CELIK, A.A., SEVIM, B., TOK, K.C., GUMUSTAS, M., MERGEN, H., JUNEJA, V.K. A Novel Bioprotective Strain of *Lactiplantibacillus plantarum* F2 Physiological, Genetical, and Antimicrobial Characterization. **Foodborne Pathog Dis.** 2024. Sep 11. doi: 10.1089/fpd.2024.0005. Epub ahead of print. PMID: 39258750.

ASHRAF, R.; SHAH, N. P. Immune System Stimulation by Probiotic Microorganisms. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 7, p. 938–956, 5 jan. 2014.

BARBOSA, B. S., PRAXEDES, E. A., LIMA, M. A., PIMENTEL, M. M. L., SANTOS, F. A., BRITO, P. D., LELIS, I. C. N. G., MACEDO, M. F., Bezerra, M. B. Haematological and Biochemical Profile of Balb-c Mice. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, n. 1, p. 5, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.22456/16799216.80473>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Macrotema de alimentos: Alteração taxonômica de espécies do gênero *Lactobacillus*: perguntas & respostas**. 1. ed. Brasília: Anvisa, 2021. 12 p.

FIDANZA, M.; PANIGRAHI, P.; KOLLMANN, T. R. *Lactiplantibacillus plantarum*–nomad and ideal probiotic. **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 712236, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.712236>

FRANÇA, K. Topical Probiotics in Dermatological Therapy and Skincare: A Concise Review. **Dermatology and Therapy (Heidelberg)**, v. 11, n. 1, p. 71-77, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13555-020-00476-7>.

GHIORGHITA, C., PLATON, I., LAZAR, M.M., DINU, M.V., APROTOSOAIE, A.C. Trends in polysaccharide-based hydrogels and their role in enhancing the bioavailability and bioactivity of phytochemicals. **Carbohydrate polymers**, 334, 122033. 2024.

GOWDA V., SARKAR R., VERMA D., DAS A. Probiotics in Dermatology: An Evidence based Approach. **Indian Dermatol Online J.** 2024 May 24;15(4):571-583. doi: 10.4103/idoj.idoj_614_23. PMID: 39050079; PMCID: PMC11265726.

HABEEBUDDIN M., KARNATI R.K., SHIROORKAR P.N., NAGARAJA S., ASDAQ S.M.B., KHALID A. M., FATTEPUR S. Topical Probiotics: More Than a Skin Deep. **Pharmaceutics**. 2022 Mar 3;14(3):557. doi: 10.3390/pharmaceutics14030557. PMID: 35335933; PMCID: PMC8955881.

INFUSINO F., MARAZZATO M., MANCONE M., FEDELE F., MASTROIANNI C.M., SEVERINO P., CECCARELLI G., SANTINELLI L., CAVARRETTA E., MARULLO A.G.M., MIRALDI F., CARNEVALE R., NOCELLA C., BIONDI-

ZOCCAI G., PAGNINI C., SCHIAVON S., PUGLIESE F., FRATI G., D'ETTORRE G. Diet Supplementation, Probiotics, and Nutraceuticals in SARS-CoV-2 Infection: A Scoping Review. **Nutrients**. v. 12, n. 6, p. 1718, 8 jun. 2020.

JI, J.; YANG, H. Using Probiotics as Supplementation for Helicobacter pylori Antibiotic Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. 1136, 8 fev. 2020.

KHAN, M.U., ASLAM, M.A., ABDULLAH, M.F., AL-ARJAN, W.S., STOJANOVIC, G.M., HASAN, A. Hydrogels: Classifications, fundamental properties, applications, and scopes in recent advances in tissue engineering and regenerative medicine – A comprehensive review. **Arabian Journal of Chemistry**. V. 17, p. 10, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2024.105968>.

KNACKSTEDT, R.; KNACKSTEDT, T.; GATHERWRIGHT, J. The role of topical probiotics in skin conditions: A systematic review of animal and human studies and implications for future therapies. **Experimental Dermatology**, v. 29, n. 1, p. 15-21, jan. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/exd.14032>.

KINYI, H. W., KATO, C. D., TUSUBIRA, D., KIWANUKA, G. N. (2023). Comparison of the Nutritional Status of Swiss Albino Mice Fed on Either a Purified or Cereal-Based Diet for 15 weeks. **Biochemistry Research International**. p. 1-9, 2023. Disponível em <https://doi.org/10.1155/2023/9121174>

LULEKAL, E., TESFAYE, S., GEBRECHRISTOS. S., DIRES, K., ZENEBE, T., ZEGEYE, N., FELEKE, G., KASSAHUN, A., SHIFERAW, Y., MEKONNEN, A. Phytochemical analysis and evaluation of skin irritation, acute and sub-acute toxicity of Cymbopogon citratus essential oil in mice and rabbits. **Toxicol Rep**. Nov 4;6:1289-1294, 2019. Disponível em <https://doi:10.1016/j.toxrep.2019.11.002>.

MCLEAN P., MARSHALL J., GARCÍA-BILBAO A., BEAL D., KATSUMITI A., CARRIÈRE M., BOYLES M.S.P. A comparison of dermal toxicity models; assessing suitability for safe(r)-by-design decision-making and for screening nanomaterial hazards. **Toxicol In Vitro**. 2024 May; 97:105792. doi: 10.1016/j.tiv.2024.105792. Epub 2024 Feb 15. PMID: 38364873.

MOROKI T. Morphological characteristics and notes of the skin in preclinical toxicity assessment. **J Toxicol Pathol**. 36(2):85-94, 2023. Disponível em <https://doi:10.1293/tox.2022-0103>

OECD. **OECD Annual Report 2001**, OECD Publishing, Paris, 2001. Disponível em <https://doi.org/10.1787/annrep-2001-en>.

OECD. **OECD Annual Report 2008**, OECD Publishing, Paris, 2008. Disponível em <https://doi.org/10.1787/annrep-2008-en>.

PARK, Y.H., KIM, J.N., JEONG, S.H., CHOI, J. E., LEE, S. H., CHOI, B. H., LEE, J. P., SOHN, K. H., PARK, K. L., KIM, M. K., SON, S. W. Assessment of dermal toxicity of nanosilica using cultured keratinocytes, a human skin equivalent model and an in vivo model. **Toxicology**. 267(1-3), 178-181. 2010. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.10.011>.

PATEL, N.; SHRIVASTAVA, R.; SHRIVASTAVA, V. Thymoquinone Attenuates Hematological and Biochemical Alterations Induced by Potassium Bromate Toxicity in Female Albino Mice, *Mus musculus*, **Biological Forum – An International Journal**. 15(4): 710-716, 2023.

PATEL, S., PATEL, S., KOTADIYA, A., PATEL, S., SHRIMALI, B., JOSHI, N., PATEL, T., TRIVEDI, H., PATEL, J., JOHARAPURKAR, A., JAIN, M. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. **Laboratory Animal Research**, 40(1), 7. 2024. Disponível em <https://doi.org/10.1186/s42826-024-00194-7>.

PUSHPAMALAR J., MEGANATHAN, P., TAN, H.L., DAHLAN, N.A., OOI, L.T., NEEROOA, B.N.H.M., ESSA, R.Z., SHAMELI, K., TEOU, S.Y. Development of a Polysaccharide-Based Hydrogel Drug Delivery System (DDS): An Update. **Gels**. 27;7(4):153, 2021. Disponível em <https://doi:10.3390/gels7040153>.

QI, L., ZHANG, C., WANG, B., YIN, J., YAN, S. Progress in Hydrogels for Skin Wound Repair. **Macromolecular bioscience**. 22(7): e2100475. 2022. Disponível em <https://doi:10.1002/mabi.202100475>.

ROCCHETTI, M. T.; RUSSO, P.; CAPOZZI, V.; DRIDER, D.; SPANO, G.; FIOCCO, D. Bioprospecting antimicrobials from *Lactiplantibacillus plantarum*: Key factors underlying its probiotic action. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 21, p. 12076, 2021.

ROZAS, M.; HART, R. A.; FABREGA, M. J., ZORGANI, A., GUELL, M., PAETZOLD, B., BRILLET, F. From Dysbiosis to Healthy Skin: Major Contributions of *Cutibacterium acnes* to Skin Homeostasis. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 628, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030628>.

SADIE-VAN G. H., KOTZÉ-HÖRSTMANN, L. Rat models of diet-induced obesity and metabolic dysregulation: Current trends, shortcomings and considerations for future research. **Obesity research & clinical**. 17(6), 449–457. 2023. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.orcp>.

SHENOY, A.; GOTTLIEB, A. Probiotics for oral and vulvovaginal candidiasis: A review. **Dermatologic Therapy**, 32(4):e12970. 2019. Disponível em <https://doi:10.1111/dth.12970>.

SODRE, M.T.C., FERRAZ, F.A., ALENCAR, A.K.V., SILVA, K.F., SILVA, D.H.D.S., SILVA, L.D.S., ARAÚJO CARNEIRO, J.S.D.S., MONTEIRO, C.A.,

SILVA, L.C.N., MONTEIRO, A.S. The Potential of *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 14917 in the Development of Alginate-Based Gel Formulations with Anti-*Staphylococcus aureus* Properties. **Pharmaceuticals**. 7;16(8):1112, 2023. Disponível em [https://doi: 10.3390/ph16081112](https://doi.org/10.3390/ph16081112).

SOUSA, M.A.D.S., FERREIRA, A.F., DA SILVA, C.C., SILVA, M.A., BAZAN, T.A.X.N., MONTEIRO, C.A., MONTEIRO, A.S., SOUSA, J.C.S., DA SILVA L.C.N., ZAGMIGNAN, A. Development and Characterization of Hydroxyethyl Cellulose-Based Gels Containing *Lactobacilli* Strains: Evaluation of Antimicrobial Effects in In Vitro and Ex Vivo Models. **Pharmaceuticals (Basel)**. v. 16, n. 3, p. 468, 2023. Disponível em [https://doi: 10.3390/ph16030468](https://doi.org/10.3390/ph16030468).

TAHMOUZI, S., MEFTAHIZADEH, H., EYSHI, S., MAHMOUDZADEH, A., ALIZADEH, B., MOLLAKHALILI-MEYBODI, N., HATAMI, M. Application of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) gum in food technologies: A review of properties and mechanisms of action. **Food Sci Nutr**. 7;11(9):4869-4897, 2023. Disponível em [https://doi: 10.1002/fsn3.3383](https://doi.org/10.1002/fsn3.3383).

WEATHERLY, L. M., SHANE, H. L., JACKSON, L. G., LUKOMSKA, E., BAUR, R., COOPER, M. P., ANDERSON, S. E. Systemic and immunotoxicity induced by topical application of perfluoroheptane sulfonic acid (PFHpS) or perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) in murine model. **Journal of Immunotoxicology**. 21(1), 2371868, 2024. Disponível em <https://doi.org/10.1080/1547691X.2024.2371868>.

ZHENG, J., WITTOUCK, S., SALVETTI, E., FRANZ, C. M. A. P., HARRIS, H. M. B., MATTARELLI, P., O'TOOLE, P. W., POT, B., VANDAMME, P., WALTER, J., WATANABE, K., WUYTS, S., FELIS, G. E., GÄNZLE, M. G., LEBEER, S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2782–2858, 1 abr. 2020.