



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

HALANA LIRENA NAOMA LIMA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA LECTINA
DE FOLHAS DE *Bauhinia monandra* (BmoLL)**

RECIFE
2022

HALANA LIRENA NAOMA LIMA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA LECTINA
DE FOLHAS DE *Bauhinia monandra* (BmoLL)**

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

Orientadora: Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho

Coorientadora: Profa. Dra. Rejane Pereira Neves

RECIFE
2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Oliveira, Halana Lirena Naoma Lima de.

Avaliação de atividade antifúngica da lectina de folhas de *bauhinia monandra* (BmoLL). / Halana Lirena Naoma Lima de Oliveira. – 2022.

65 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho.

Coorientadora: Rejane Pereira Neves.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, 2022.

Inclui referências.

1. *Bauhinia monandra*. 2. *Candida*. 3. *Cryptococcus*. I. Coelho, Luana Cassandra Breitenbach Barroso. (Orient.). II. Neves, Rejane Pereira. (Coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-170

HALANA LIRENA NAOMA LIMA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA LECTINA DE FOLHAS DE
Bauhinia monandra (BmoLL)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, da Universidade Federal de Pernambuco, centro de Biociências como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia. Área de Concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Aprovado em: 18/02/2022.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Universo por ter desenrolado esta formidável jornada diante de mim. Agradeço a Deus por ter me guiado por todo este caminho e por ter me carregado em Seus braços durante os momentos mais difíceis do percurso. Sem a Sua mão eu não teria chegado até aqui.

Agradeço à minha família - meus pais Hosana Cavalcante e José Paulo, minha irmã Hamona Tainara e meu tio Glauco Gilbeon - meu porto seguro. Não importando o tamanho da tormenta ou desafio, vocês sempre estavam lá. Agradeço por toda instrução que me foi dada, pelo apoio constante, pela base e fundação sobre a qual fui capaz de me estabelecer. Pela criação que me deram e pelo esforço monumental que vocês realizaram para que minha irmã e eu tivéssemos acesso à educação de qualidade. Agradeço pelas madrugadas insones, por aqueles malabarismos que fazíamos para que eu conseguisse frequentar a Universidade mesmo quando morava numa cidade do interior, por todas as caronas para lá e para cá e de volta. E agradeço por terem suportado esses sete anos de distância, nos quais a preocupação foi uma constante – se eu estava bem, se estava segura, se já tinha jantado. Agradeço por cada beijo, cada abraço, cada afago num momento de tristeza; é um privilégio imensurável pertencer a esta família e dividir a vida com vocês. Não é possível descrever em palavras toda gratidão e alegria que sinto. Vocês fazem parte deste trabalho também.

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho por ter me acolhido e por todos os ensinamentos, é uma grande honra tê-la tido como guia. Agradeço também à minha coorientadora, Profa. Dra. Rejane Pereira Neves e a todos aqueles que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, Dr. Silvio Assis de Oliveira Ferreira, Dra. Maria Daniela Silva Buonafina Paz, Dr. Franz de Assis Graciano dos Santos e Dra. Melyna Chaves Leite.

Agradeço a meus amigos e irmãos de profissão Vitória Maciel da Silva, Thamires do Nascimento Souza, Josimara do Nascimento, Vinícius Santos Vilas Boas, Matheus Ranieli Calado Lima, Wagner Roberto Cirilo da Silva, Ana

Emília de Medeiros Roberto e Bruna Rodrigues de Sousa, que alegria caminhar com vocês! Que feliz encontro tivemos. Obrigada por todo apoio e pelos momentos de leveza dos quais desfrutamos. Não consigo imaginar como teria sido minha caminhada científica e minha vida se não tivéssemos nos encontrado.

Agradeço a meus amigos de infância Raul Guilherme, Vitória Karoline e Letícia Freitas por tudo que já passamos juntos e pelo que ainda virá.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de Bolsa, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro.

Agradeço ao Laboratório de Micologia Médica Sylvio Campos/CB/UFPE, ao Laboratório de Imunodiagnóstico de Micoses Sistêmicas/CB/UFPE, e ao Laboratório de Bioquímica de Proteínas/CB/UFPE, bem como aos seus componentes.

Por fim, agradeço a todos os trabalhadores da saúde e pesquisadores que incansavelmente batalharam durante esses últimos dois anos para que, apesar das incontáveis perdas, pudéssemos transpor este desafio colossal.

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué, 1:9

RESUMO

Lectinas são proteínas que possuem sítios de ligação a carboidratos, capazes de interagir reversivelmente e especificamente com esses açúcares. As lectinas isoladas a partir de plantas do gênero *Bauhinia* demonstraram variadas atividades, como por exemplo atividade anticâncer, inseticida, e também antifúngica. *Bauhinia monandra*, espécie conhecida popularmente como pata-de-vaca, é uma planta ornamental da família das Fabaceae usada na medicina popular como hipoglicemiante e da qual também foram isoladas lectinas. O objetivo deste trabalho foi descrever a atividade antifúngica da lectina de folhas de *Bauhinia monandra*, BmoLL, bem como sua ação no tratamento de biofilme formado por leveduras do gênero *Candida*. O método utilizado seguiu as condições descritas no documento do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008). A lectina BmoLL foi preparada e utilizada na faixa de 0,96 µg/mL a 492 µg/mL. Para os testes, foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços de fundo plano, nas quais 100 µL de cada diluição de lectina testada estavam nas colunas 1 a 10. Meio RPMI 1640 (100 µL) foram distribuídos nas colunas 11 e 12, que foram utilizadas como controle de crescimento e esterilização, respectivamente. A leitura foi realizada depois de 24 h para espécies de *Candida* spp. e 48 h para espécies de *Cryptococcus* spp. Para o ensaio de biofilme as leveduras produtoras de biofilme foram cultivadas em *Yeast Extract Peptone* (YPD) a 37°C *overnight*; em seguida foram suspensas em meio RPMI tamponado com HEPES e ajustadas para concentração de 10⁶ células/mL. A quantificação dos biofilmes foi realizada com o ensaio de redução de sal tetrazólico, as placas foram então incubadas em temperatura de 37°C por 48 h, e a leitura foi realizada com comprimento de onda 540 nm. Após o período de 48 h de crescimento do biofilme, o conteúdo dos poços foi transferido para uma nova placa e os poços da mesma foram preenchidos com 180 µL da solução contendo a lectina BmoLL diluída em RPMI 1640. Após 18 h de ação, a leitura foi realizada com comprimento de onda 540 nm. Para a análise, o teste de comparações múltiplas de Tukey foi realizado para todas as médias obtidas com o nível de significância de 5%. A BmoLL apresentou potencial inibitório do crescimento das leveduras de *Candida* e *Cryptococcus* em concentrações que variaram de 246 a 492 µg/mL e também foi capaz de inibir a continuação da formação e aumento do biofilme de *Candida parapsilosis* na concentração de 492 µg/mL.

Palavras-chave: *Bauhinia monandra*; *Candida*; *Cryptococcus*.

ABSTRACT

Lectins are proteins that have carbohydrate binding sites, capable of reversibly and specifically interacting with these sugars. The lectins isolated from plants of the genus *Bauhinia* demonstrated varied activities, such as anticancer, insecticidal, and also antifungal activity. *Bauhinia monandra*, popularly known as pata-de-vaca (cow's roof), is an ornamental plant of the Fabaceae family used in folk medicine as a hypoglycemic agent and from which lectins were also isolated. The objective of this work was to describe the antifungal activity of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) as well as its action in the treatment of biofilm formed by yeasts of the genus *Candida*. The method used followed the conditions described in the document of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008). BmoLL lectin was prepared and used in the range of 0.96 µg/mL to 492 µg/mL. For the tests, 96-well flat-bottomed microtiter plates were used, in which 100 µL of each tested lectin dilution were in columns 1 to 10. 100 µL of RPMI 1640 medium were distributed in columns 11 and 12, which were used as growth control and sterilization, respectively. The reading was performed after 24h for *Candida* spp. and 48h for *Cryptococcus* spp. For the biofilm assay, the biofilm-producing yeasts were cultured in Yeast Extract Peptone (YPD) at 37°C overnight; then they were suspended in HEPES-buffered RPMI medium and adjusted to a concentration of 10⁶ cells/mL. The quantification of biofilms was performed using the tetrazolic salt reduction assay, the plates were then incubated at a temperature of 37°C for 48 h, and the reading was performed at a wavelength of 540 nm. After a period of 48 h of biofilm growth, the contents of the wells were transferred to a new plate and the wells were filled with 180 µL of the solution containing the BmoLL lectin diluted in RPMI 1640. After 18 h of action, the reading was performed at a wavelength of 540 nm. For analysis, Tukey's multiple comparison test was performed for all means obtained with a significance level of 5%. BmoLL showed inhibitory potential for the growth of *Candida* and *Cryptococcus* yeasts at concentrations ranging from 246 to 492 µg/mL and was also able to inhibit the continuation of the formation and increase of *Candida parapsilosis* biofilm at a concentration of 492 µg/mL.

Keywords: *Bauhinia monandra*; *Candida*; *Cryptococcus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Aspecto micro e macromorfológico de espécies de <i>Candida</i> spp.....	17
Figura 2- Linha do tempo do desenvolvimento de agentes fúngicos.....	21
Figura 3- Culturas de <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> em Ágar Sabouraud.....	25
Figura 4- Ciclo da infecção por <i>Cryptococcus</i>	26
Figura 5- Folhas e flores de <i>Bauhinia monandra</i>	34

ARTIGO

Figura 1- Indução da formação de biofilme em isolados de <i>Candida</i> spp.....	43
Figura 2- Tratamento do biofilme de isolados de <i>Candida</i> spp. com BmoLL....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Lectinas com atividade antifúngica frente a fungos fitopatogênicos..	32
Tabela 2- Lectinas com atividade inibidora frente a leveduras e/ou fungos filamentosos.....	33

ARTIGO

Tabela 1. Concentração inibitória mínima da lectina frente aos isolados.....	41
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

BmoLL	-Lectina das folhas de <i>Bauhinia monandra</i>
CIM	-Concentração inibitória mínima
GXM	-Glucuronoxilomanana

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1 CANDIDÍASE.....	16
2.1.1 Manifestações clínicas.....	17
2.1.2 Fatores predisponentes.....	19
2.1.3 Tratamento.....	20
2.1.4 Resistência.....	22
2.1.5 Biofilme.....	23
2.2 CRIPTOCOCOSE.....	24
2.2.1 Manifestações clínicas.....	26
2.2.2 Tratamento.....	27
2.3 LECTINAS DE PLANTAS.....	28
2.4 <i>Bauhinia monandra</i>	34
3 OBJETIVOS.....	36
3.1 OBJETIVO GERAL.....	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
4 ARTIGO.....	37
5 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos cosmopolitas e ubíquos, capazes de causar doenças em seres humanos, e ainda que não possuam tanta expressividade em comparação com as infecções bacterianas resistentes e surtos virais, esse grupo de organismos representa uma ameaça significativa à saúde pública (ALMEIDA et al., 2019).

Desde os primórdios da microbiologia, a micologia foi ofuscada pela bacteriologia, que reunia quantidade maior de patógenos. Assim, por muito tempo, os fungos foram considerados contaminantes sem importância (LEDERMANN, 2017.) No entanto, nos últimos anos as doenças fúngicas emergiram em todo o mundo, e junto com elas o uso de drogas antifúngicas na terapia e profilaxia, resultando no aumento da resistência fúngica. *Candida* spp. é o agente causador de infecções fúngicas mais comum no mundo e as candidemias são responsáveis por elevada mortalidade, principalmente em pacientes em Unidade de Terapia Intensiva, UTI (CHOWDHARY et al. 2017).

A candidíase é uma infecção oportunista causada por fungos do gênero *Candida*. *C. albicans* é a espécie mais comum causadora da infecção no ser humano, visto que esta levedura faz parte da microbiota; entre outras espécies causadoras estão *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. A infecção pode se manifestar nas formas: mucocutânea, cutânea e sistêmica, podendo esta última ser letal em pacientes imunodeprimidos (PEIXOTO, et al., 2014).

Da mesma forma, o fungo dimórfico *Cryptococcus* spp., causador da criptococose, representa um problema de saúde pública no Brasil, visto que é responsável por formas clínicas que atingem o sistema nervoso central, causando meningoencefalite, e o pulmonar, induzindo aumento da mortalidade (SOARES et al., 2019).

A criptococose é uma doença grave que acomete o ser humano e animais, cujo principal agente é *Cryptococcus neoformans*, entre suas fontes ambientais estão os excrementos de pombos. A infecção pode ocorrer por inalação de esporos e a micose se manifesta mais acentuadamente em pessoas e animais com baixa imunidade celular, sendo considerada a doença oportunista com maior morbimortalidade em pacientes portadores de HIV (QUEIROZ, et al., 2008; GARCIA-RUBIO, 2020).

Nas três décadas passadas, a resistência antimicrobiana se tornou uma questão em foco, por isso, tem se intensificado a busca por novas alternativas

terapêuticas a partir de fontes naturais, a exemplo das plantas medicinais. O uso de plantas para cura e tratamento de doenças acompanha a história da civilização humana, e embora diversos estudos a respeito de produtos naturais derivados de plantas sejam desenvolvidos a cada ano, ainda permanecem não identificados um grande número de compostos e substâncias vegetais que podem ser fontes promissoras para a base de novas terapias (HOBSON, 2021; MENEZES, 2021; OZMA, 2021). Nesse cenário, surgem as lectinas.

Lectinas são proteínas que possuem sítios de ligação a carboidratos, capazes de interagir reversivelmente e especificamente com esses açúcares através de pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e forças de Van der Waals. Essas proteínas que já foram isoladas de plantas, animais, microrganismos, fungos superiores e de líquens, são moléculas com habilidade de reconhecimento dentro da célula ou entre células, cujas interações com carboidratos fazem parte do sistema de defesa (CAMPOS et al., 2016).

As lectinas isoladas a partir de plantas do gênero *Bauhinia* demonstraram variadas atividades, como por exemplo atividade anticâncer e inseticida (CAGLIARI et al., 2018). *Bauhinia monandra*, espécie conhecida popularmente como pata-de-vaca, é uma planta ornamental da família das Fabaceae usada na medicina popular como hipoglicemiante e da qual também foram isoladas lectinas, tendo sido comprovada atividade inseticida frente a *Nasutitermes corniger* e também a atividade antifúngica frente a fungos do gênero *Fusarium* de uma lectina isolada da raiz de *B. monandra* (SOUZA et al., 2011).

Tal atividade antifúngica foi ainda relatada em lectinas isoladas em outras espécies do gênero, como a lectina isolada da raiz de *B. unguolata* que demonstrou sua atividade frente a fitopatógenos dos gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*; a lectina foi capaz de inibir o crescimento micelial dos fungos em ensaios *in vitro* (SILVA et al., 2014).

Dentro desse contexto, o presente trabalho descreve a atividade antifúngica da lectina de folhas de *B. monandra*, BmoLL, bem como sua ação no tratamento de biofilme formado por leveduras do gênero *Candida*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CANDIDÍASE

A candidíase é uma infecção fúngica causada por leveduras do gênero *Candida*, sendo o seu representante mais comum e disseminado a espécie *Candida albicans*. O gênero *Candida* pertence ao Filo Deuteromycota, Classe Blastomycetes, Ordem Cryptococcales e Família Cryptococcaceae. (DEORUKHKAR, 2015).

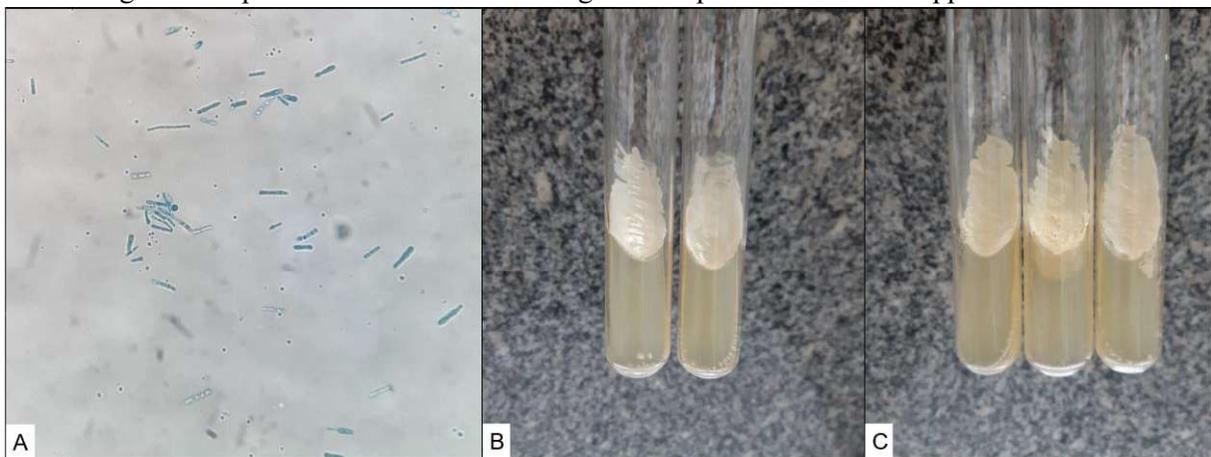
Os fungos deste gênero apresentam estrutura celular que composta pela parede celular quitinosa, característica comum aos fungos, e a membrana citoplasmática fosfolipídica, constituída por proteínas, as quais agem como enzimas, e também o ergosterol, o qual possui funções semelhantes às do colesterol em células animais. As leveduras têm como estrutura primária células de forma ovalado-arredondada que se reproduzem através de brotamento, único ou múltiplo, são esporos de origem assexual denominado blastoconídios. (ROCHA, 2021).

Essas leveduras colonizam normalmente a pele e cavidades corporais, como boca, garganta e vagina, sem causar doenças. No entanto, podem provocar infecções, caso seu crescimento se torne desordenado ou entrem em contato com a corrente sanguínea e órgãos internos. As espécies de *Candida* são a causa número de infecções oportunistas fúngicas em todo o mundo, um traço marcante da sua patogenicidade é sua capacidade de crescer tanto nas formas de levedura, quanto pseudo-hifas e hifas. (DABAS, 2013).

A candidíase pode acometer pacientes imunocompetentes, bem como aqueles indivíduos imunodeprimidos ou imunossuprimidos, porém os casos da micose têm maior incidência nos hospedeiros imunocomprometidos. Por causa disso. Por causa disso, muitas vezes é chamada de a “doença dos doentes” (DEORUKHKAR, 2015). Devido ao avanço da medicina, que permite que pacientes acometidos de doenças graves tenham maior sobrevida, e também pela ascensão de algumas infecções, a população de pacientes imunocomprometidos tem aumentado no mundo, muitos dos quais sofrem procedimentos invasivos, precisam conviver com sondas e cateteres ou ainda fazem uso de medicamentos corticoides, este também é um dos fatores que contribui para ocorrência de infecções deste tipo, implicando na sua maior incidência e prevalência (SARDI et al., 2012).

Além do estado do hospedeiro, um elemento importante para o acontecimento da transição de colonização para infecção é o potencial de virulência da cepa, decorrente, entre outros, da capacidade de alteração morfológica, a depender das condições do ambiente no momento da invasão. Cada uma das formas difere na sua habilidade de infectar. Essas frequentes transformações morfológicas acabam contribuindo para a modificação antigênica por conta das alterações frequentes na superfície da célula (MODRZEWSKA, 2013). A figura 1. mostra micro e macromorfologia de exemplares de *Candida* spp.

Figura 1. Aspecto micro e macromorfológico de espécies de *Candida* spp.



Legenda: A – Pseudohifas de *Candida albicans*; B – Culturas de *C. albicans* em Ágar Sabouraud; C – Culturas de *C. glabrata* em Ágar Sabouraud.

Fonte: A autora.

2.1.1 Manifestações clínicas

As formas pelas quais a candidíase se manifesta podem ser abarcadas em três tipos principais: a forma cutânea, mucocutânea e sistêmica. A candidíase cutânea pode acometer áreas da pele mais propensas ao acúmulo de umidade, como os espaços interdigitais, a região inframamária, axilas, região das virilhas e debaixo das unhas. Já a candidíase mucocutânea acomete a cavidade oral, vulva e canal vaginal, enquanto que a forma disseminada, apesar de rara, acomete órgãos internos e tecidos (PEIXOTO, 2014).

A candidíase cutânea ocorre comumente quando há condições de umidade e temperatura, mais acentuadamente em localidades de climas tropicais ou durante os meses de verão. Dentre as formas nas quais pode se apresentar estão: intertrigo, que atinge as dobras da pele como axilas, virilha, sulco interglúteo, prega submamária, e em indivíduos obesos pode ocorrer na prega suprapúbica;

onicomicose, que resulta em unhas quebradiças, espessas e sem brilho; e paroníquia, uma inflamação da pele ao redor da unha, com destaque para indivíduos cuja ocupação laboral envolve imersão frequente das mãos na água (BARBEDO, 2010). Formam-se lesões satélites eritematosas com bordas bem delimitadas de aspecto descamativo, que causam prurido, produzindo eritema intenso, edema, exsudato purulento e pústulas (BARBEDO, 2013).

A sua forma mucocutânea tem duas representações marcantes: a oral, cuja ocorrência pode ser influenciada pela presença de saliva ácida, xerostomia e uso de próteses dentárias, além do tabaco (RAO, 2012) e que se subdivide em três categorias, (1) aquelas com manifestações agudas, (2) manifestações crônicas e (3) a síndrome de candidíase mucocutânea crônica, que podem ocorrer isoladamente ou em conjunto, em diversos sítios da cavidade oral ao mesmo tempo; as neste caso são caracterizadas por placas espessas e difusas de aspecto esbranquiçado de tamanho variável que podem ser removidas com raspagem, eritema difuso da mucosa, hiperplasia da mucosa e quelite angular (VILA, 2020).

A outra representação, talvez a mais conhecida, é a candidíase vulvovaginal, a maioria das mulheres alberga *Candida* na vagina em algum momento da vida, há um equilíbrio entre estas leveduras e mecanismos de defesa contra elas, resultando na permanência das espécies de *Candida* como comensais, dessa forma, a presença das leveduras na vagina não indica necessariamente candidíase, no entanto, mudanças no ambiente vaginal do hospedeiro podem perturbar este equilíbrio e levar a uma infecção (GONÇALVES, 2016).

Esta é a segunda causa mais comum de infecções vaginais, ficando atrás somente das vaginoses bacterianas, os sinais e sintomas são inespecíficos, porém manifestações clínicas mais corriqueiras envolvem, prurido, hiperemia, queimação, irritação, eritema, dor e desconforto vaginal, dispareunia, disúria, leucorréia, além de edema e fissuras (MTIBAA, 2017).

A candidíase disseminada ou sistêmica, ainda chamada de invasiva compreende as candidemias e a candidíase tecidual profunda, que podem ocorrer concomitantemente ou isoladamente, esta última surge a partir de disseminação hematogênica ou inoculação direta das leveduras em sítios estéreis do corpo, nos países desenvolvidos a candidíase invasiva é a infecção nosocomial fúngica mais comum entre os pacientes hospitalizados, tem inclusive altas taxas de mortalidade, chegando até a 40%, mesmo em pacientes

diagnosticados e que recebem o tratamento antifúngico (KULLBERG, 2015; CLANCY, 2018).

Este tipo de infecção condição associada ao progresso, tem se tornado cada vez mais presente no cotidiano dos serviços de cuidados de saúde, previamente seu principal agente era a *Candida albicans*, no entanto vem ocorrendo uma mudança na sua epidemiologia e a prevalência espécies de *Candida* spp. não-*albicans* como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* tem crescido atualmente, ademais o advento da *C. auris* multidroga resistente, causadora de surtos com rápida disseminação é uma realidade alarmante, em razão da sua capacidade de persistir em ambientes hospitalares e causar surtos prolongados e propensão para adquirir mecanismos de resistência, a *C. auris* se tornou uma possível ameaça global (McCARTY, 2016; PAPPAS, 2018).

2.1.2 Fatores predisponentes

A infecção não é comum em indivíduos imunocompetentes, mas pode ser facilitada pelo uso de esteroides inalatórios, presença de doença pulmonar obstrutiva, realização de cirurgias prévias, uso de drogas intravenosas, uso de acessos intravenosos, nutrição parenteral, presença de diabetes mellitus, gravidez e uso de anticoncepcionais e exposição sistêmica a antifúngicos (MIMIDIS, 2004; GRIGORIOU, 2006; CHEN, 2009; BRETAGNE, 2014).

Grupos vulneráveis a infecção abrangem os imunossuprimidos, pacientes em terapia contra o câncer, terapia com corticosteroides ou drogas citotóxicas, em terapia imunossupressora para doenças autoimunes, e os infectados por HIV, além de pacientes hospitalizados em unidades de terapia intensiva, pacientes com doenças hematológicas, receptores de transplantes de células-tronco hematopoéticas e receptores de transplantes de órgãos, aqueles com uso prévio de antibióticos, com atenção para os de amplo espectro, a ocorrência de sepse, bem como o próprio trauma físico (TANGUAY, 1994; CHOCARRO MARTÍNEZ, 2000; SINGH, 2001; CERQUEIRA, 2010; BARONIA, 2014).

Especificamente sobre a candidíase das mucosas e trato gastrointestinal existem inúmeros fatores que contribuem para a infecção, como secreções digestivas diminuídas, que além de suas funções principais, previnem o supercrescimento de *Candida* e sua penetração nas mucosas, por outro lado dietas ricas em açúcares refinados e sacarose, sucos de frutas, mel, leite e derivados, o consumo de álcool e a deficiência de nutrientes favorecem o

crescimento, bem como função hepática comprometida, estresse crônico e níveis altos de cortisol e capacidade antioxidante reduzida (MARTINS, 2014; AKIMOTO-GUNTHER, 2016).

2.1.3 Tratamento

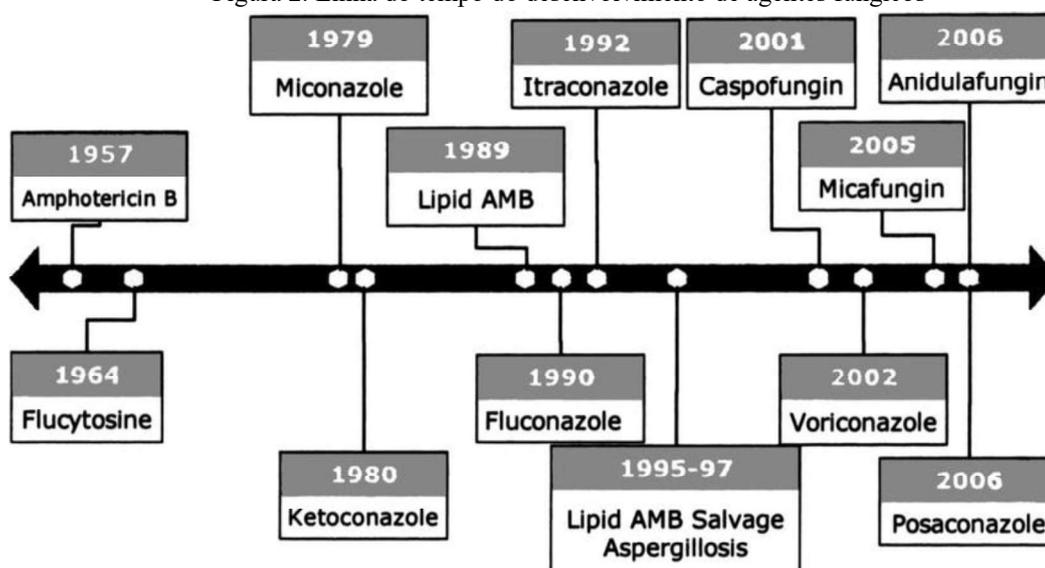
O tratamento da candidíase varia de acordo com sua apresentação, a nistatina, um dos antifúngicos mais antigos e de amplo espectro é o antifúngico mais utilizado tanto para profilaxia quanto para tratamento, em se tratando de candidíase cutânea e terapia tópica, ela e clotrimazol e miconazol, são as primeiras escolhas, pode citar também o sulconazol, e há ainda o tratamento oral com o derivado azólico fluconazol, a uma opção disponível para o abordagem sistêmica da forma cutânea, assim como o cetoconazol oral, outras vertentes incluem ainda combinações com anti-inflamatórios corticosteroides e antimicrobianos como gentamicina e neomicina (EVANS, 2003; KASSEM, 2016; TAUDORF, 2019).

Passando para a micose na sua forma mucocutânea, por muito nistatina e anfotericina B constituíram a primeira escolha por sua eficácia e também por serem mal absorvidos pelo intestino, o que reduz a hepatotoxicidade, mas aspectos como gosto desagradável e reações gastrointestinais levaram à busca por outras opções, assim observou-se que uso o oral do fluconazol supera a nistatina em termos de erradicação de *Candida*, principalmente em crianças e portadores de HIV e que é tão eficaz quanto a anfotericina B, com a vantagem de ser melhor aceito pelo paciente (GARCIA-CUESTA, 2014; LYU, 2016). Vale acrescentar que em casos mais raros como da candidíase mucocutânea crônica autossômica dominante, vêm sendo exploradas inclusive novas terapias imunomodulatórias, focadas em inibidores de enzimas e citocinas (VAN DER VEERDONK, 2016).

O tratamento da vulvocandidíase depende do quadro: se não complicado ou complicado, no primeiro caso terapia curta (inferior a uma semana) com azólicos como clotrimazol, butoconazol, e miconazol de aplicação local é efetivo em mais de 80% dos casos, uma outra opção é fluconazol oral em dose única; por outro lado para casos complicados, além de maior duração do tratamento incluem combinações medicamentosas, como fluconazol oral com derivados azólicos tópicos, foi demonstrado também que a associação com os suplementos de lactobacilos probióticos pode aumentar a eficácia do fluconazol na cura de vaginites por leveduras. (MARTINEZ, 2008; DOVNIK, 2015).

Já o tratamento da candidíase invasiva mudou muito nos anos recentes, nos últimos vinte anos, foram desenvolvidos diversos novos antifúngicos com novos mecanismos de ação eficazes contra infecções graves, a recomendação de tratamento profilático para pacientes com fatores de risco mesmo sem sinais e sintomas clínicos permanece, o que é um desafio pra o controle da geração de novas espécies resistentes, outra vertente recente e pouco explorada é o das vacinas contra candidíase testada em modelos animais e também em ensaios clínicos, através dos quais se confirmou sua eficácia e segurança (WANG, 2015; BASSETTI, 2018).

Figura 2. Linha do tempo do desenvolvimento de agentes fúngicos



Fonte: CHAPMAN, 2008.

Como essa ainda é uma realidade distante, a abordagem farmacológica da candidíase invasiva, sua forma mais grave, inclui azóis como fluconazol, itraconazol, posaconazol e voriconazol, a anfotericina B, outrora um pilar no tratamento, mas que perdeu espaço devido à sua toxicidade e ao surgimento das equinocandinas como anidulafungina, caspofungina e micafungina, muito potentes, mas ainda seguras para uso clínico, por isso a maioria das espécies de *Candida* spp. são suscetíveis a essas drogas, mas não todas, por causa de mudanças nos padrões de susceptibilidade, existência de resistência intrínseca e ainda o desenvolvimento de resistência adquirida a drogas às quais forma expostas previamente (FLEVARI, 2013; BOTERO-CALDERNO, 2015; BEM-AMI, 2018).

2.1.4 Resistência

Entre as classes de antifúngicos, são encontrados diferentes mecanismos de ação, fungicida ou fungistática, os azóis, como cetoconazol, fluconazol, itraconazol, miconazol e voriconazol, e as alilaminas, como a terbinafina, capazes de bloquear a biossíntese de ergosterol pela inibição de enzimas; os polienos, como nistatina, anfotericina B e pimaricina, ligam-se às moléculas de ergosterol, resultando em poros na parede celular, dessa forma aumentando permeabilidade e vazamento do conteúdo citoplasmático; a 5-fluorocitosina, um antimetabólito que inibe a função do RNA e interfere na síntese de proteínas dentro da célula (SILVA, 2011; RODRIGUES, 2013).

No entanto, uso massivo antimicrobianos na medicina e na agricultura é quase sempre acompanhado pelo desenvolvimento da resistência a estes agentes, com os antifúngicos numericamente restritos, ainda mais quando comparados a antibacterianos, não é diferente; a chave para ocorrência da resistência está na variabilidade genética, posto que uma mutação que confere resistência surge no patógeno e seu futuro é determinado por processos como deriva genética, migração, seleção e recombinação que permitem ao patógeno evadir-se de, remover ou inativar o medicamento (COWEN, 2002).

Existem três rotas pelas quais um paciente pode encontrar-se um organismo resistente: um organismo é inicialmente suscetível, mas sofre mutação e se torna resistente (resistência adquirida ou secundária); o paciente é colonizado ou infectado com múltiplas cepas ou espécies e delas, uma inerentemente resistente, é selecionada; ou o paciente é inicialmente colonizado ou infectado com uma espécie inerentemente resistente (ambas resistências intrínsecas ou primárias); no caso dos azóis, o surgimento de resistência vem se destacando conforme aumenta o seu uso, e entre os mecanismos já identificados incluem alterações no gene que codifica a enzima-alvo ERG11 (o alvo dos azóis é o ergosterol) e superexpressão de genes da bomba de efluxo (a qual expulsa as drogas) incluindo CDR1, CDR2 e MDR1 (REX, 1995; WHITE, 2002; KLEPSEK, 2006; BERKOW, 2017).

O grupo de antifúngicos mais recente, as equinocandinas, anidulafungina, caspofungina e micafungina, tem como alvo a parede celular, interferindo na atividade da enzima β -1,3-D-glucano sintetase, desse modo o mecanismo de resistência à equinocandina envolve alterações dos aminoácidos nas regiões de *hot spots* das subunidades codificadas pelo gene FKS da enzima, contudo a resistência às equinocandinas segue relativamente baixa, o

desenvolvimento da resistência requer exposição prolongada ou repetida à droga, cepas recuperadas de tratamentos falhos com equinocandinas demonstraram aumento das CIMs em relação ao início da terapia, mesmo assim *C. glabrata*, a maior responsável pela resistência em ambientes hospitalares, tem demonstrado um comportamento diferente, no qual sua resistência a estas drogas está relacionada a uma exposição prévia a azóis, em especial fluconazol (PERLIN, 2015; PRISTOV, 2019).

Um último ponto preocupante é a ascensão da resistência em espécies de *Candida* não-*albicans*, como *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* que costumavam ser mais susceptíveis às drogas quando em comparação com *C. albicans* e finalmente a espécie *C. auris* cujos isolados apresentam um perfil multidroga resistente e rápida disseminação (SILVA, 2011; DU, 2020).

2.1.5 Biofilme

Os biofilmes são definidos como comunidades microbianas estruturadas que estão afixadas em uma superfície e compreendidas por uma matriz de material polimérico produzidas pelo próprio microrganismo, a formação de biofilme por *Candida* constitui fator de virulência, uma vez que confere aumento da resistência às drogas antifúngicas, e também dificulta a ação das células do sistema imune frente às leveduras englobadas pela matriz (RAMAGE, 2001; 2005).

Na natureza são uma forma comum de crescimento microbiano, no meio hospitalar, biofilmes microbianos entraram em evidência devido a propagação do uso dispositivos médicos a exemplo de acessos venosos como cateteres centrais, de hemodiálise e diálise peritoneal, cateteres urinários, dispositivos intrauterinos, dispositivos intracardíacos, tubos endotraqueais e shunts cerebrais, nos quais o biofilme pode causar até interrupção da função, isso mostra que essas células são capazes de se aderir a uma ampla gama de materiais, e além de tudo ainda há a possibilidade da formação de dois tipos de biofilme, os monoespécies e os espécies-mistas (MUKHERJEE, 2005; RAMAGE, 2006).

A formação do biofilme segue de quatro etapas: primeiro, as leveduras precisam se aderir a uma superfície; segunda, leve crescimento da colônia e organização celular; terceiro, secreção de substâncias extracelulares poliméricas, as EPS; e quarto, a disseminação dessas células formadoras de biofilme; essa adesão inicial é mediada por interações não específicas, como forças

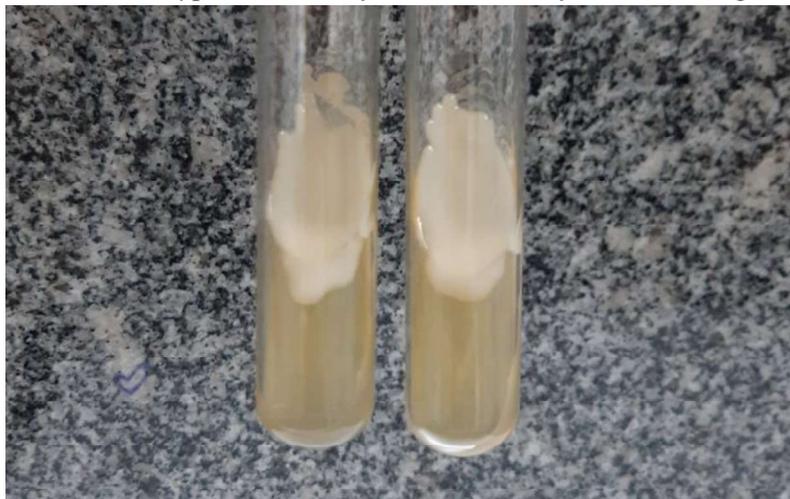
hidrofóbicas e eletrostáticas da superfície celular e por interações específicas como das adesinas na superfície da levedura, outro mecanismo importante é a secreção de moléculas *quorum-sensing*, podendo-se citar dodecanol, farnesol e tirosol, responsáveis pelas transições morfológicas destes fungos (CHEN, 2004; TEN CATE, 2009; SENEVIRATNE, 2008).

Apesar de tudo, os mecanismos da formação de biofilme de *Candida* não foram completamente esclarecidos ainda, a diversidade de adesinas entre as diferentes espécies permite a adaptabilidade e crescimento em condições muito variadas, por exemplo, apenas reforçando a complexidade desta interação, que ainda é influenciada pelo tipo do substrato, as fontes de carbono, a disponibilidade de oxigênio e a presença de saliva, e todas essas condições ainda podem variar de acordo com a espécie ou mesmo a cepa, por isso não há ainda uma abordagem totalmente eficaz contra o problema (CÉLLULAR-CRUZ, 2012; TSUI, 2016; CAVALHEIRO, 2018).

2.2 CRIPTOCOCOSE

Os primeiros casos desta doença no Brasil foram relatados na década de 40, causada por *Cryptococcus* spp., leveduras encapsuladas, a criptococose é uma micose sistêmica de caráter oportunista cujo agente principal *C. neoformans* é dividido em duas variedades, *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii*, as quais têm aspectos clínicos diferentes, normalmente a infecção pela primeira está associada ao estado imune do hospedeiro, enquanto que a segunda infecta mesmo indivíduos imunocompetentes, dessa forma fatores como o estado imunológico, a virulência da cepa e a quantidade de inóculo é que definem o decorrer da infecção (PEFECT, 2000; PAPPALARDO, 2003; LUI, 2006;). A Figura 3 exhibe culturas de *Cryptococcus*.

Figura 3. Culturas de *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* em Ágar Sabouraud.



Fonte: A autora.

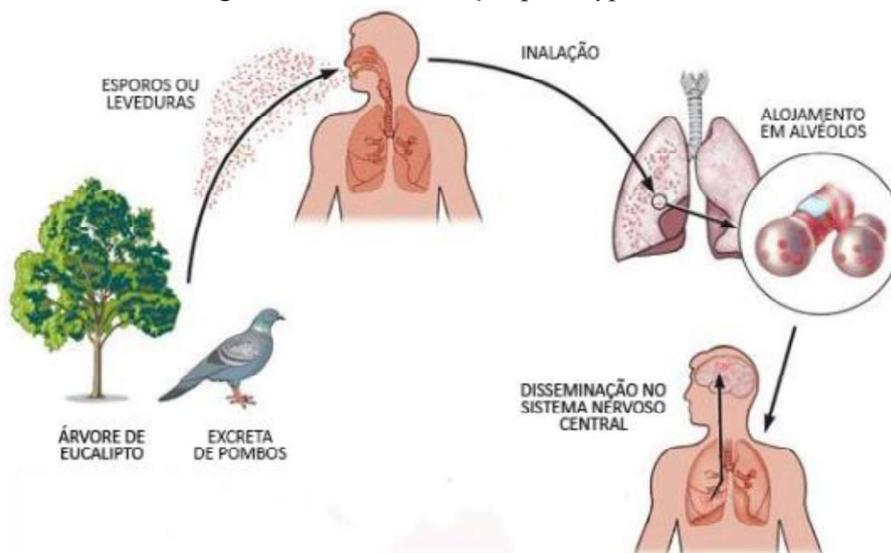
Entre as fontes saprofíticas do fungo estão as fezes pássaros, notadamente pombos, por isso foi popularmente apelidada de “doença do pombo” e também material vegetal em decomposição, como cascas de árvores, folhas e futos secos, nos quais podem permanecer viáveis por mais de dois anos, tem distribuição mundial, predominado a variação *gatti* nas regiões tropicais e subtropicais, e sua incidência cresceu dramaticamente após a epidemia de HIV/AIDS, sendo grande parte dos casos clínicos registrados nos continentes americano e africano (NEGRONI, 2012; MAZIARZ, 2016; ZAVALA, 2020).

Na América Latina, são realizados cada vez mais estudos sobre a micose, visto que a morbidade e mortalidade atribuídas a ela são expressivas, somente a meningite criptocócica soma mais de cinco mil casos por ano, sem contar suas outras manifestações, dos quais quase a metade leva à morte, o Brasil e a Colômbia são os países com os números mais alarmantes de infecção em imunocomprometidos, principalmente os portadores de HIV, cuja mortalidade mundial gira em torno de 15% devido a este tipo de meningite, e mesmo para os pacientes recuperados há ainda um alto risco de morbidade a longo prazo, que incluem sequelas físicas e cognitivas (FIRACATIVE, 2018; GUSHIKEN, 2021).

2.2.1 Manifestações clínicas

A infecção ocorre principalmente por inalação de uma fonte ambiental das leveduras ou esporos que então se alojam nos alvéolos pulmonares, e posteriormente podem permanecer localizados em indivíduos imunocompetentes, causando uma infecção autolimitada que se resolve espontaneamente, ou a infecção pode se agravar e se disseminar por via hematogênica para qualquer parte do corpo, principalmente o sistema nervoso central (SNC) nos pacientes imunocomprometidos; outras formas de infecção mais raras como a inoculação traumática também já foram relatadas (SEVERO, 2009; LINGEGOWDA, 2011). A figura 4. mostra o ciclo da infecção:

Figura 4. Ciclo da infecção por *Cryptococcus*



Disponível em: <https://cientistasfeministas.wordpress.com/2017/09/13/criptococose-uma-doenca-fungica-que-precisa-de-atencao/>

A criptococose pulmonar é relevante em indivíduos imunocomprometidos, mas tem sido gradualmente mais relatada em indivíduos imunocompetentes, pode se desenvolver em uma pneumonia grave com insuficiência respiratória, porém é geralmente assintomática, e quando apresenta sintomas, eles são inespecíficos e incluem tosse, falta de ar, dor torácica e febre, e por conta dessa inespecificidade, a investigação para criptococose é preterida em relação às outras causas de pneumonia, o que leva a um diagnóstico tardio e subdiagnóstico (BRIZENDINE, 2011; CHANG, 2015; SETIANINGRUM, 2019).

Já a criptococose do sistema nervoso central pode se apresentar na forma de encefalite, meningite ou meningoencefalite, é a manifestação clínica mais severa da micose, a maior parte dos casos ocorre em hospedeiros imunossuprimidos, incluindo pacientes com HIV/AIDS, em terapia imunossupressora e receptores de transplante de órgãos, mas também afeta imunocompetentes, a etapa chave para esta infecção é o cruzamento da barreira hematoencefálica, entre os sintomas comuns estão dor de cabeça, convulsões, perda de memória, confusão mental, febre, paraparesia e hemiparesia, ataxia, tremores e déficit motor, porém apesar da etiologia bem descrita, não se compreende totalmente que mecanismos elas usam para esta invasão, uma vez que as leveduras de *Cryptococcus* são muito maiores do que os vírus e bactérias que usualmente causam meningite (LIU, 2012; FRANCO-PAREDES, 2015; KOSHY, 2016; STOTT, 2021).

Uma outra manifestação é a criptococose cutânea que é classificada com base na rota de infecção em: primária, que advém de uma inoculação traumática; e secundária, da disseminação hematogênica, se divide ainda em ser cutâneo-difusa ou cutâneo-localizada, sendo esta última mais comum, tem a capacidade de causar uma ampla gama de lesões, tais como pápulas, maculopápulas, úlceras, nódulos, lesões acneiformes, pústulas e abscessos (SUN, 2010; NOGUCHI, 2019; NOWAK, 2020). Há ainda formas mais incomuns como a ocular, a óssea e a gástrica (EYER-SILVA, 2019; MATSUKI, 2020; FLORES-HERRERA, 2021).

2.2.2 Tratamento

As alternativas de tratamento para criptococose são restritas a três drogas, usadas isoladamente ou associadas: a anfotericina B, reservada a casos mais graves por causa de sua toxicidade, o fluconazol, recomendado nos casos não-graves, e a 5-fluorocitosina/flucitosina, já a classe de drogas mais recente, as equinocandinas não é empregada pois sua atividade antifúngica frente a estas leveduras é irrisória, visto que *Cryptococcus* spp. são intrinsecamente resistentes às equinocandinas (BRATTON, 2013; PERFECT, 2015; IYER1, 2021).

A primeira linha se compõe na associação anfotericina B e flucitosina, podendo ser empregadas as varrições lipossomal (menos tóxica) e desoxicolato da anfotericina, caso não haja disponibilidade de flucitosina, a anfotericina B pode se associada a fluconazol, da mesma forma se a anfotericina B estiver indisponível ou não for tolerada pelo paciente, o fluconazol pode ser combinado

com flucitosina, lembrando que esta última é bastante onerosa e seu uso não é autorizado em alguns países (RAJASINGHAM, 2012; HENAO-MARTÍNEZ, 2018).

Adicionalmente cabe mencionar tratamento da meningite criptocócica especificamente, que embora use as mesmas drogas citadas anteriormente, consiste em três fases: a indução, a consolidação e a manutenção, enquanto as duas primeiras duram semanas, a última pode levar meses, em vista disso a busca por novas moléculas antifúngicas ou moléculas já existentes cujas propriedades antifúngicas ainda não são conhecidas é de suma importância, e alguns exemplos de estudos que vem sendo realizados a esse respeito são o uso de interferon gama (IFN- γ) para modular o sistema imune, o uso de anticorpos recombinantes e monoclonais, de drogas como o antidepressivo sertralina e o tamoxifeno que se mostraram capazes de inibir o crescimento de *Cryptococcus* em ensaios *in vitro*, além de moléculas de carecem mais investigação, como o fosmanogepix (droga em fase de testes), o derivado da arilamidina, T-2307, e o derivado do celecoxibe AR-12, além miltefosina, uma droga usada no tratamento da leishmaniose, mas que demonstraram atividade inibitória contra o fungo (MAKADZANGE, 2014; SANTOS-GANDELMAN, 2018; SPADARI, 2020;).

2.3 LECTINAS DE PLANTAS

Lectinas são proteínas que possuem a capacidade de se ligar reversivelmente a carboidratos com alta especificidade e afinidade, foram chamadas também de hemaglutininas devido a sua capacidade de aglutinar eritrócitos, outras células e precipitar glicoconjugados através da ligação a monossacarídeos e oligossacarídeos específicos, no entanto, posteriormente foram identificadas lectinas que não conservavam esta característica. Essas proteínas não apresentam atividade enzimática e têm origem não-imunológica, assim como não modificam os carboidratos aos quais se ligam, dois aspectos que as diferenciam dos anticorpos ligantes de carboidratos (SHARON, 2003; VAN DAMME, 2008; LAN & NG, 2010).

As lectinas são amplamente encontradas na natureza, já foram isoladas de plantas, fungos e células de animais, inclusive humanas, desde então, as lectinas foram detectadas em mais de mil espécies de plantas e muitas destas foram isoladas, a maioria foi obtidas de sementes, especialmente as sementes de

legumes, pois nessa parte da planta são acumuladas durante a maturação, podem constituir 10% do total de proteínas da semente, apesar de as concentrações isoladas serem geralmente mais baixas, e sua localização nas sementes difere dentre as famílias de plantas. (SHARON, 2008; HAMID, 2013).

Enquanto já se demonstrou que algumas lectinas animais tanto ligam a carboidrato, quanto têm uma segunda função biológica, os papéis específicos das lectinas nas plantas ainda requerem mais esclarecimento, pelo grande número de lectinas isoladas dos tecidos de armazenamento das plantas, especula-se que as lectinas podem servir como proteínas de armazenamento para as plantas, visto que muitas delas também apresentam comportamento semelhante a outras proteínas deste tipo, mesmo assim elas também desempenham uma função vital na resistência das plantas e foram considerados mortais para vírus, bactérias, fungos, insetos e animais (KOMATH, 2006; HIVRALE, 2013).

Muitas lectinas de plantas demonstram especificidade para açúcares presentes em organismos de fora do reino vegetal que são pouco encontrados nas plantas ou totalmente ausentes, e tais açúcares ausentes nas plantas constituem os principais carboidratos de determinadas glicoproteínas de origem animal, além disso foi demonstrado que diferentes estruturas de carboidratos presentes em organismos como vírus, fungos, e insetos interagem com lectinas de plantas, frequentemente as lectinas estão presentes em maiores quantidades e concentração em órgãos e sementes mais vulneráveis a patógenos, outro ponto que ajuda a sustentar o papel de defesa das lectinas vegetais é sua estabilidade sob condições de pH e temperatura desfavoráveis e resistência a proteases de animais e insetos (PEUMANS, 1995; VANDENBORRE, 2011).

Essa atividade inseticida é potente e de ocorrência natural e amplamente utilizada pela indústria de biotecnologia para produzir culturas agrícolas tolerantes a insetos, enquanto algumas lectinas possuem atividade inseticida para um determinado inseto em específico, várias lectinas têm uma ampla atividade inseticida incluindo insetos pertencentes a ordens distantes, levando em consideração que cada lectina possui sua própria característica especificidade de ligação de carboidratos, diferentes lectinas irão interagir com diferentes estruturas-alvo no inseto, dessa forma, as lectinas das plantas podem ser tóxicas para diferentes estágios de desenvolvimento do inseto, porém, o mecanismo de ação preciso através do qual essas proteínas conferem essa atividade inseticida permanece desconhecido (PUSZTAI, 2008; VANDENBORRE, 2011; MACEDO, 2015).

Um grande número de proteínas com atividade antibacteriana e/ou antiviral tem sido isoladas de plantas diferentes, essas proteínas podem interferir diretamente no crescimento, multiplicação e disseminação de agentes microbianos por diferentes mecanismos, como aglutinação e/ou imobilização de microrganismos, mas mesmo que muitas lectinas mostrem atividade antimicrobiana, ensaios clínicos são necessários para estabelecer a eficácia terapêutica, para otimizar a dosagem, e avaliar a biodisponibilidade e possíveis reações alérgicas; aquelas com potencial antiviral já demonstraram atividade frente ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), retrovírus que tem uma superfície coberta por glicoproteínas, dessa forma, lectinas podem fazer ligações cruzadas de glicanos virais de superfície e, assim, prevenir interações com outros co-receptores e alterar também as interações entre o hospedeiro e as proteínas do envelope viral, essa ação antiviral das lectinas vegetais varia, dependendo da sua especificidade para carboidratos, tal como os coronavírus, que são altamente suscetíveis a lectinas específicas de manose que interferem com a ligação viral nas fases iniciais do ciclo de replicação e suprimem o desenvolvimento por ligação no final do ciclo de infecção viral (KEYAERTS, 2007; DIAS, 2015; LAGARDA-DIAZ, 2017).

Por várias décadas as lectinas de plantas foram consideradas substâncias tóxicas para células e animais, assim anteriormente foram usadas somente como ferramentas de reconhecimento para tumores malignos, porém estudos mais recentes demonstraram um importante papel antineoplásico, no qual sua capacidade antiproliferativa tem grande peso, a base para a terapia do câncer usando lectinas advém da capacidade dessas proteínas de atingir vários componentes celulares permitindo uma ampla gama de abordagens em potencial contra o câncer, as lectinas vegetais podem se envolver nas vias de sinalização apoptótica e autofágica através de mecanismos de indução de apoptose e autofagia, principalmente através de três maneiras as lectinas: inativando ribossomos de células cancerosas; localizando seletivamente organelas em células cancerosas, como mitocôndrias; ligando certos receptores contendo açúcar na superfície da célula cancerosa, por isso, as lectinas vegetais são capazes de lidar com muitos tipos de células cancerosas diferentes. (LIU, 2010; FU, 2011; JIANG, 2015; YAU, 2015).

Ainda que menos explorada, cada vez surgem estudos apontando a atividade antifúngica de lectinas de plantas, entre os mecanismos para tal estão sua capacidade de inibição da germinação de esporos e do crescimento hifal, inibição da respiração celular, indução de estresse oxidativo no meio, sua

interação com os componentes da parede celular fúngica que pode provocar uma alteração estrutural e alteração na permeabilidade celular (MIYAKAWA, 2014; REGENTE, 2014; GAUTAM, 2018; CARNEIRO, 2021). As Tabelas 1. e 2. resumizam lectinas isoladas de plantas com capacidade de inibir crescimento fúngico.

Tabela 1. Lectinas com atividade antifúngica frente a fungos fitopatogênicos.

Fonte	Fungos inibidos	Capacidade de Inibição	Referência
<i>Urtica dioica</i>	<i>Botrytis cinerea</i> ; <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> ; <i>Phoma betae</i> ; <i>Phyomyces blakesleeanus</i> ; <i>Septoria nodorum</i> ; <i>Trichoderma hamatum</i> ; <i>T. viride</i> ; <i>Phytophthora erythroseptica</i>	Crescimento de hifa de esporos germinados	Broekaert, 1989
<i>Romanian diploid variety</i>	<i>Fusarium graminearum</i> ; <i>F. oxysporum</i>	Crescimento micelial	Ciopruga, 1999
<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Coprinus comatus</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Rhizoctonia solani</i>	Crescimento micelial	Ye, 2001
<i>Amaranthus viridis</i>	<i>Botrytis cinerea</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i>	Crescimento micelial	Kaur, 2006
<i>Capsicum frutescens</i>	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Fusarium moniliforme</i>	Germinação de esporos	Ngai, 2006
<i>Pisum sativum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Trichoderma viride</i>	Crescimento micelial	Sitohy, 2007
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	<i>Fusarium decemcellulare</i> ; <i>F. fusarioides</i> ; <i>F. lateritium</i> ; <i>F. moniliforme</i> ; <i>F. oxysporum</i> ; <i>F. solani</i> ; <i>F. verticillioides</i>	Crescimento micelial	Sá, 2008
<i>Ophiopogon japonicus</i>	<i>Gibberella sabinetti</i> ; <i>Rhizoctonia solani</i>	Crescimento micelial	Tian, 2008
<i>Conovalia ensiformis</i> ; <i>C. boliviana</i> ; <i>C. maritima</i> ; <i>C. brasiliensis</i> ; <i>C. gladiata</i>	<i>Mucor</i> sp.	Germinação de esporos	Arruda, 2009
<i>Capsicum annuum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Fusarium graminearum</i>	Crescimento e germinação de esporos	Kuku, 2009
<i>Curcuma amarissima</i> Roscoe	<i>Colletotrichum cassiicola</i> ; <i>Exserohilum turcicum</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i>	Crescimento micelial	Kheeree, 2009
<i>Phaseolus coccineus</i>	<i>Gibberella sabinetti</i> ; <i>Helminthosporium maydis</i> ; <i>Rhizoctonia solani</i> ; <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Crescimento micelial	Chen, 2008
<i>Archidendron jiringa</i> Nielsen	<i>Colletotrichum cassiicola</i> ; <i>Exserohilum turcicum</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i>	Crescimento micelial	Charungchittrak, 2010
<i>Curcuma longa</i> L.	<i>Colletotrichum cassiicola</i> ; <i>Exserohilum turcicum</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i>	Crescimento micelial	Petnual, 2010
<i>Setcreasea purpurea</i>	<i>Helminthosporium maydis</i> ; <i>Penicillium italicum</i> ; <i>Rhizoctonia solani</i> ; <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Crescimento micelial	Yao, 2010
<i>Bauhinia manandra</i>	<i>Fusarium solani</i> ; <i>F. oxysporum</i>	Crescimento micelial	Souza, 2011
<i>Ophioglossum pedunculatum</i>	<i>Fusarium graminearum</i> ; <i>Sclerotium rolfsii</i>	Crescimento micelial	He, 2012
<i>Sophora alopecuroides</i>	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>Penicillium digitatum</i>	Crescimento micelial	Lj, 2012
<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Valsa mali</i>	Crescimento micelial	Ang, 2013

Tabela 2. Lectinas com atividade inibidora frente a leveduras e/ou fungos filamentosos

Fonte	Fungos inibidos	Apenas leveduras	Leveduras e Filamentosos	Referência
<i>Talisia esculenta</i>	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		X	Freire, 2002
<i>Caesalpinia ferrea</i>	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Candida albicans</i> ; <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ; <i>Trichoderma viride</i>		X	Ximenes, 2004
<i>Artocarpus incisa</i> ; <i>A. integrifolia</i>	<i>Fusarium moniliforme</i> ; <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		X	Trindade, 2006
<i>Abelmoschus esculentus</i> ; <i>Canavalia brasiliensis</i> ; <i>Mucuna pruriens</i> ; <i>Clitoria fairchildiana</i> ; <i>Dioclea virgata</i> ; <i>Bauhinia variegata</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	X		Klafke, 2012
<i>Canavalia brasiliensis</i>	<i>Candida albicans</i> ; <i>C. guilliermondii</i> ; <i>C. membranaefaciens</i> ; <i>C. parapsilosis</i> ; <i>C. shehatae</i> ; <i>C. tropicalis</i> ; <i>Kloeckera apiculata</i> ; <i>Trichosporon cutaneum</i>	X		Gomes, 2012
<i>Dioclea rostrata</i>	<i>Candida guilliermondii</i> ; <i>C. membranaefaciens</i> ; <i>C. shehatae</i> ; <i>Kloeckera apiculata</i>	X		Gomes, 2012
<i>Dioclea violacea</i>	<i>Candida albicans</i> ; <i>C. guilliermondii</i> ; <i>C. membranaefaciens</i> ; <i>C. obtusa</i> ; <i>C. parapsilosis</i> ; <i>C. shehatae</i> ; <i>C. tropicalis</i> ; <i>Kloeckera apiculata</i> ; <i>Rhodotorula glutinis</i>	X		Gomes, 2012
<i>Canavalia maritima</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>	X		Farias, 2013
<i>Helianthus annuus</i>	<i>Candida albicans</i> ; <i>C. parapsilosis</i> ; <i>C. tropicalis</i> ; <i>Pichia membranifaciens</i>	X		Regente, 2014

2.4 *Bauhinia monandra*

A *B. monandra* é uma planta da família das Fabaceae, é popularmente conhecida como pata-de-vaca ou pluma de Napoleão, tem ampla distribuição nas regiões tropicais, onde é usada como planta ornamental, também cresce em solos pobres e seu uso na medicina popular inclui chás, infusões e extratos para diabetes, com intuito de controlar e diminuir a glicemia, além do tratamento de infecções e como analgésico (MENEZES, 2007; SOUZA et al., 2011).

Figura 5. Folhas e flores de *Bauhinia monandra*.



Disponível em: <https://ciprest.blogspot.com/2020/02/bauhinia-rosa-pintada-monandra-bauhinia.html>

Esse efeito hipoglicemiante foi comprovado tanto a partir das proteínas isoladas de folhas da planta, quanto a partir do extrato da mesma, que além da citada ainda apresenta atividade antioxidante, considerada potente quando comparada com de outros extratos de plantas, e a qual se atribui a presença de compostos esteroidais e flavonoides, os quais já foram isolados de *B. monandra*, ademais a planta possui também potencial antinociceptivo, em vista dessas evidências se torna mais compreensível a sua ampla difusão no uso popular (ARGOLO, 2004; FERNANDES, 2012; CAMPOS, 2016; OLIVEIRA, 2020).

Suas aplicações se estendem também para o campo da agricultura, visto que foi comprovada a sua atividade inseticida e anti-larvas, e além disso o óleo extraído das suas sementes tem propriedades que o tornam um bom candidato a

matéria-prima para produção de biodiesel um combustível biodegradável e renovável, que é uma fonte de energia alternativa ao uso de combustíveis fósseis e muito importante para redução do impacto ambiental (MACEDO, 2007; AKINTUNDE, 2015; BETIKU, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antifúngico da lectina BmoLL frente a leveduras das espécies *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp., bem como seu potencial inibidor na formação de biofilme fúngico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar, por meio de ensaios de susceptibilidade, a atividade antifúngica da lectina BmoLL frente a leveduras;
- Confirmar a produção de biofilme fúngico;
- Avaliar a atividade da lectina na formação de biofilme por leveduras;
- Inferir dados para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas a partir da lectina BmoLL.

4 ARTIGO (a ser submetido)

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA LECTINA DE FOLHAS DE *Bauhinia monandra* (BmoLL)

Halana Lirena Naoma Lima de Oliveira¹, Silvio Assis de Oliveira Ferreira²,
Rejane Pereira Neves³, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho⁴.

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE.

²Doutor em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE.

³Professora Adjunta do Departamento de Micologia, Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE.

⁴Professora Pesquisadora do Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE.

Resumo

As infecções fúngicas constituem um problema de saúde grave e a cada vez mais disseminado mundialmente. Diante disso é imprescindível a busca por novas alternativas terapêuticas e as plantas, há muito utilizadas pela humanidade como tratamento para doenças, são uma grande fonte de substâncias medicinais. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antifúngica da lectina de folhas de *Bauhinia monandra* (BmoLL) frente a leveduras de *Candida* spp. e *Cryptococcus neoformans*, através da avaliação da capacidade de inibição do crescimento e da sua atividade antibiofilme. BmoLL se mostrou capaz de inibir o crescimento das células de leveduras das espécies testadas e também demonstrou atividade antibiofilme frente a *Candida parapsilosis*.

Palavras-chave: *Bauhinia monandra*, *Candida*, *Cryptococcus*.

1. INTRODUÇÃO

As infecções graves por fungos se tornaram um problema de saúde pública a nível global, constituindo uma das principais causas de mortalidade relacionadas a doenças infecciosas. Porém as opções disponíveis de tratamento são limitadas a poucas classes de antifúngicos, cuja eficácia varia de acordo com a espécie infectante [1-2]. Espécies de *Candida* estão entre as causas mais comuns de infecção sistêmica nosocomial, com *Candida albicans* prevalecendo como a principal causa de candidíase invasiva, seguida de *C. glabrata*, que provocam uma elevada incidência de infecções invasivas em pacientes sob cuidado intensivo, além disso o surgimento de espécies multirresistentes, como *C. auris*,

que sobrevive a diversos desinfetantes e pode persistir em superfícies inertes mesmo após limpeza [3-5]. O comportamento de outras espécies de interesse clínico também vem se modificando, a exemplo de *Cryptococcus neoformans*, cuja incidência também vem crescendo, bem como a detecção de cepas resistentes em pacientes [6-8]. Dessa forma é imperativa a busca por novas alternativas terapêuticas para o enfrentamento dessas doenças; nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica de uma lectina isolada das folhas de *Bauhinia monandra* (BmoLL).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Purificação da Lectina

No preparo da coluna de cromatografia de afinidade, utilizou-se 10 mL do suporte insolúvel da goma guar, o qual foi equilibrado com tampão citrato de sódio 10 mM pH 6,5 em 15 mM de NaCl até alcançar a absorvância zero a 280 nm. Adicionou-se então 11 mg da fração de 0-60% das folhas de *B. monandra* na coluna e se procedeu uma lavagem com o mesmo tampão até a absorvância zero a 280 nm. Para eluição foi usada uma solução de 50 mM de galactose em tampão citrato de sódio 10 mM pH 6,5 em 15 mM de NaCl (Coelho e Silva, 2000). Foram coletadas alíquotas de 2 mL das frações e separando as que tiveram maior pico de absorvância 280 nm, seguido de diálise com tampão citrato fosfato (pH 6,5) nas seguintes proporções: para cada 1 mL da alíquota de maior pico se usou 100 mL de tampão por 1 h.

2.2 Obtenção dos Isolados Fúngicos

Os isolados foram obtidos a partir da Coleção de Culturas Micoteca URM e da Coleção de Culturas do Laboratório de Imunodiagnóstico das Micoses Sistêmicas, ambos do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco. Foram selecionadas cepas de leveduras das espécies *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp. As mesmas foram purificadas transferindo-se fragmentos de colônia para o meio Ágar Sabouraud e posteriormente as leveduras foram mantidas no mesmo meio.

2.3 Determinação da Atividade Antifúngica

O método utilizado seguiu as condições descritas no documento do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008). O meio de cultura foi o RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA) com L-glutamina e sem bicarbonato de sódio, pH $7,0 \pm 0,1$, com ácido morfolino propanossulfônico (MOPS, 0,165 mol/L, Sigma-Aldrich). O meio de cultura foi esterilizado em membranas de 0,22 μm (*Millipore, Darmstadt, Alemanha*). A lectina BmoLL foi preparada e utilizada na faixa de 0,96 $\mu\text{g/mL}$ a 492 $\mu\text{g/mL}$, diluída no próprio meio. Isolados das leveduras foram semeados em tubos de meio Sabouraud e incubados *overnight* (18-24h) a 35°C. Sequencialmente, as suspensões dos isolados foram preparadas em solução salina (0,85 g/L), e padronizadas numa faixa de 88 a 90% de transmitância utilizando um espectrofotômetro a 530 nm de acordo com a escala 0.5 de MacFarland. O volume do inóculo foi posteriormente diluído para dar uma concentração final de cerca de $0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 CFU/mL. Para os ensaios foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços de fundo plano (TPP, *Trasadingen, Suíça*), nas quais 100 μL de cada diluição de lectina testada estavam nas colunas 1 a 10. Em seguida, 100 μL de meio RPMI 1640 foram distribuídos nas colunas 11 e 12, que foram utilizadas como controle de crescimento e esterilização, respectivamente. Posteriormente, 100 μL do inóculo padronizado foi adicionado aos poços das colunas 1 a 11 e as microplacas foram incubadas a 35 ° C por 24 h para espécies de *Candida* spp. e 48 h para espécies de *Cryptococcus* spp. para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), definida como a menor concentração de antifúngico capaz de inibir pelo menos 50% do crescimento.

2.4 Avaliação da Formação de Biofilme

As leveduras produtoras de biofilme foram cultivadas em *Yeast Extract Peptone* (YPD) a 37°C *overnight*; em seguida foram suspensas em meio RPMI tamponado com HEPES e ajustadas para concentração de 10^6 células/mL. Posteriormente 100 μL foram adicionados em poços das placas de poliestireno de 96 poços e então incubadas durante 2 h em agitador a 37°C para adesão; depois disso o sobrenadante foi desprezado e adicionado mais 180 μL do meio RPMI-HEPES e então incubado 48 h a 37°C para posterior avaliação. A quantificação dos biofilmes foi realizada com o ensaio de redução de sal tetrazólico, onde 20 μL , na proporção de 5 μL para 1 mL de tampão PBS,

esterilizado por filtração em membrana (*Millipore*, poros 0,22 μL) foi adicionado a cada poço da placa de microtitulação, inclusive nos controles; as placas foram então incubadas na ausência de luz em temperatura de 37°C por 18 h. Posteriormente, o corante foi aspirado e então adicionado 200 μL de isopropanol (Berridge et al., 2005; Krom et al., 2007). As placas foram mantidas em repouso por 15 min e em seguida foram transferidos 100 μL do conteúdo de cada poço para uma nova placa de microtitulação a fim de proceder leitura em leitor de microplacas com 540 nm de comprimento de onda (Ramage et al., 2002; Krom et al., 2007; Pierce et al., 2008).

2.5 Tratamento do biofilme

Após o período de 48 h de crescimento do biofilme, o conteúdo dos poços foi transferido para uma nova placa e os poços da mesma foram preenchidos com 180 μL da solução contendo a lectina BmoLL diluída em RPMI 1640. Seis horas após a adição foi realizada a quantificação dos biofilmes com o ensaio de redução de sal tetrazólico, onde 20 μL , na proporção de 5 μL para 1 mL de tampão PBS, esterilizado por filtração em membrana (*Millipore*, poros 0,22 μL), foi adicionado a cada poço da placa de microtitulação, inclusive nos controles. As placas foram incubadas na ausência de luz a temperatura de 37°C por 18 h. Posteriormente, o corante foi aspirado e então adicionado 200 μL de isopropanol. As placas foram mantidas em repouso por 15 min e em seguida foram transferidos 100 μL do conteúdo de cada poço para uma nova placa de microtitulação a fim de proceder a leitura em leitor de microplacas com 540 nm de comprimento de onda.

2.6 Análise estatística

Para a análise, o teste de comparações múltiplas de Tukey foi realizado para todas as médias obtidas com o nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade antifúngica

Foram obtidos 35 isolados fúngicos, sendo 29 espécies de *Candida* spp. e seis de *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. A Tabela 1. mostra as concentrações

inibitórias mínimas (CIM) em $\mu\text{g/mL}$ necessárias para inibir no mínimo 50% do crescimento fúngico, que varia de 246 a 492 $\mu\text{g/mL}$. Outras duas lectinas ligadoras de galactose do gênero *Bauhinia* demonstraram atividade antifúngica, porém contra fungos fitopatogênicos, como a lectina das raízes de *B. monandra* que inibiu 30% do crescimento de espécies de *Fusarium* na concentração de 120 $\mu\text{g/mL}$ [9] e a lectina de semente de *B. unguolata* que inibiu de 30 a 40% do crescimento de *Fusarium solani* e *F. moniliforme* na concentração de 160 $\mu\text{g/mL}$ [10]. Já as lectinas de *Phaseolus vulgaris* e *Glycine max* foram capazes de inibir *F. oxysporum* e *Rhizoctonia solani*, também fitopatogênicos, em concentrações variando de 3617 a 5058 $\mu\text{g/mL}$ e 5465 a 6786 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente [11].

Tabela 1. Concentração inibitória mínima da lectina frente aos isolados

Isolado	Espécie	CIM ($\mu\text{g/mL}$)
A1	<i>Candida parapsilosis</i>	492
A2	<i>C. parapsilosis</i>	492
A3	<i>C. glabrata</i>	C*
A4	<i>C. albicans</i>	492
A5	<i>C. parapsilosis</i>	246
A6	<i>C. glabrata</i>	492
A7	<i>C. tropicalis</i>	492
A8	<i>C. tropicalis</i>	C*
URM4124	<i>C. albicans</i>	C*
URM4261	<i>C. parapsilosis</i>	492
B1	<i>C. albicans</i>	492
B2	<i>C. albicans</i>	C*
B3	<i>C. glabrata</i>	492
B4	<i>C. parapsilosis</i>	492
B5	<i>C. tropicalis</i>	492
B6	<i>C. glabrata</i>	492
URM6902	<i>Cryptococcus neoformans</i>	246
URM6905	<i>C. neoformans</i>	492
URM6906	<i>C. neoformans</i>	492
URM6907	<i>C. neoformans</i>	C*
URM6909	<i>C. neoformans</i>	492

Legenda: C* – Houve crescimento de mais de 50% no poço de maior concentração.

Com relação a lectinas vegetais capazes de inibir fungos de interesse clínico, uma lectina de sementes de *Helianthus annuus* provocou inibição de 45 a 98% do crescimento de *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ [12], enquanto que uma lectina de folhas de *Calliandra surinamensis* foi testada frente a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*, porém foi capaz de inibir apenas a última, na

concentração de 125 $\mu\text{g/mL}$ [13]. Além dessas a lectina isolada de *Punica granatum* demonstrou ser capaz de inibir o crescimento de *C. albicans* e *C. krusei* em concentrações entre 12,5 e 25 $\mu\text{g/mL}$ [14], bem como a lectina de sementes de *Moringa oleífera* que inibiu o crescimento de quatro espécies do gênero: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* com CIM de 20 $\mu\text{g/mL}$ [15]. Concentrações ainda menores foram alcançadas com lectinas de seis plantas diferentes: *Abelmoschus esculentus*, *Canavalia brasiliensis*, *Mucuna pruriens*, *Clitoria fairchildiana*, *Dioclea virgata* e *Bauhinia variegata*, que foram testadas frente a *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans* e *C. gatti*, porém somente *C. parapsilosis* teve o crescimento inibido nas concentrações de 0,97 a 125 $\mu\text{g/mL}$, sendo a CIM mais elevada de *Bauhinia variegata* [16], além dessas uma lectina de folhas de *Portulaca elatior* demonstrou potencial inibitório nas concentrações 0,74 a 1,48 $\mu\text{g/mL}$ frente a *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* [17], sendo essas mais efetivas e com CIMs menores do que a BmoLL.

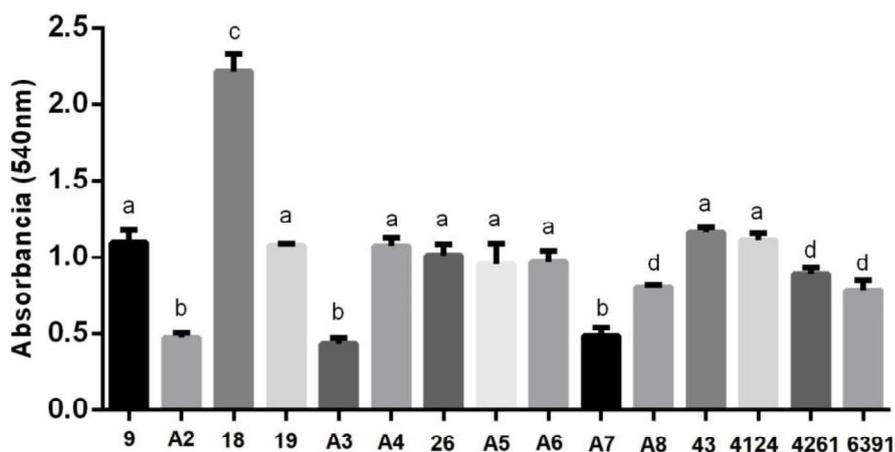
Entre os mecanismos relatados para esta atividade estão o aumento da permeabilidade da membrana, aumento do número de células sofrendo apoptose e necrose, a indução do estresse oxidativo e formação de espécies reativas de oxigênio, colapso energético, dano à parede celular e ruptura das células de leveduras, hiperpolarização da membrana mitocondrial, peroxidação de lipídeos, e ligação à quitina da parede celular fúngica [14,15,17,18]. Quanto às leveduras de *Cryptococcus*, uma lectina das sementes de *Moringa oleífera* obteve CIM de 6,25 $\mu\text{g/mL}$ frente às espécies *C. neoformans* e *C. gatti*, bastante inferiores ao da BmmoL [19], os mecanismos de ação da lectinas incluem aumento no número de células necróticas, danos na integridades de organelas, como lisossomos, redução do potencial de membrana, além da interferência na formação da cápsula através da inibição da produção do seu principal componente, a glucuronoxilomanana (GXM), a ligação não ocorre à cápsula, mas sim à parede celular, porém a morte celular ocorre por causa da interrupção da liberação dos componentes capsulares [20-21].

3.2 Produção de biofilme

Os biofilmes são comunidades microbianas complexas fixadas em uma superfície e formadas por uma matriz polimérica produzida pelo próprio microrganismo. No caso da *Candida*, a formação de biofilme constitui fator de virulência, uma vez que confere aumento da resistência às drogas antifúngicas, e também dificulta a ação das células do sistema imune frente às leveduras

englobadas por esta matriz [22-23]. Esses complexos são capazes de aderir a uma ampla gama de materiais, e dessa forma tem se tornado colonizantes comuns no meio hospitalar. Biofilmes microbianos têm sido relatados em diversos dispositivos médicos como acessos venosos e catéteres e dispositivos de hemodiálise, nos quais o crescimento do biofilme pode causar obstrução e interrupção da função [24-25]. A Figura 1 mostra a formação do biofilme dos isolados de *Candida*.

Figura 1. Indução da formação de biofilme em isolados de *Candida* spp.



-Os isolados 9; 18; 19; 26; 43 e 6391 se referem a isolados de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. cruzi*. A especificação dos demais está descrita na Tabela 1. Todos os quinze isolados testados exibiram a capacidade de produzir biofilme. Os dados representam a média e o desvio padrão (SD) da absorbância do MTT durante a produção de biofilme por leveduras do gênero *Candida* com três repetições. Diferentes letras indicam diferença significativa na produção de biofilmes entre os isolados de *Candida*. A formação de biofilme variou entre as espécies, não havendo espécie que produzisse essencialmente mais biofilme que outra; isolados de *C. parapsilosis* produziram tanto o maior percentual de biofilme (18), quanto o menor (A2).

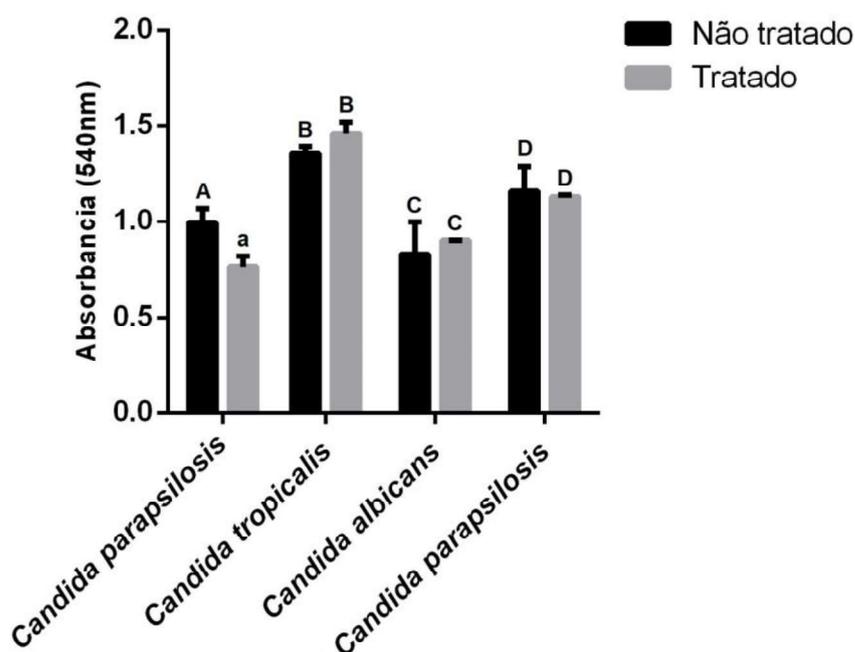
3.3 Tratamento do biofilme

A Figura 2 mostra o efeito do tratamento do biofilme com a lectina BmoLL. os dados representam a média e o desvio padrão (SD) da absorbância do MTT durante o tratamento de biofilme com BmoLL de leveduras do gênero *Candida* com três repetições. Letras maiúsculas e minúsculas indicam diferença significativa no tratamento do biofilme. A lectina foi capaz de

diminuir a formação de biofilme de um isolado de *C. parapsilosis* na concentração de 492 $\mu\text{g/mL}$, os demais tratados não exibiram diferença significativa em relação ao controle.

Em relação a atividade antibiofilme de lectinas, os biofilmes bacterianos são mais estudados, por exemplo, a mesma lectina de *Calliandra surinamensis* mostrou essa atividade frente ao biofilme de *Staphylococcus saprophyticus* na concentração de 800 $\mu\text{g/mL}$ [13], no entanto mais estudos vêm sendo realizados a respeito de biofilme fúngico. Uma lectina de *Machaerium acutifolium* inibiu a formação do biofilme de *C. parapsilosis* na concentração de 36 μM , porém não teve efeito sobre a degradação do biofilme [26].

Figura 2. Tratamento do biofilme de isolados de *Candida* spp. com BmoLL.



Já uma lectina de *Alpinia purpurata* teve efeito no desenvolvimento do biofilme de *C. albicans* e *C. parapsilosis* em concentrações entre 12,5 a 400 $\mu\text{g/mL}$ [27]; outras lectinas de plantas também foram avaliadas frente a biofilmes de *C. albicans* e *C. tropicalis*, sendo essas isoladas de *Bauhinia bauhinioides*, *Bryothamnion seaforthi*, *Cratylia floribunda*, *Hypnea musciformis* e *Vatairea macrocarpa*, das quais apenas a de *Cratylia floribunda* diminuiu o número de células viáveis do biofilme de *C. albicans*, porém não foi capaz de alterar a quantidade de biomassa ou matriz do mesmo, sobre o biofilme de *C. tropicalis*; nenhuma lectina mostrou efeito [28]. No entanto, tais estudos se referem a inibição da formação ou desenvolvimento do biofilme, e não ao tratamento da matriz madura, um estudo que aborda o tratamento de biofilme foi realizado não com biofilme de espécies de *Candida*, mas com *Cryptococcus neoformans* e

demonstrou atividade com concentrações entre 24 e 400 µg/mL [19], semelhante a BmoLL, cuja concentração que apresentou efeito foi de 492 µg/mL, que indica que nesta concentração a lectina foi capaz de interromper a continuação da formação e aumento do biofilme.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Universidade Federal de Pernambuco, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

4. REFERÊNCIAS

1. KSIEZOPOLSKA, E.; GABALDÓN, T. Evolutionary Emergence of Drug Resistance in *Candida* Opportunistic Pathogens. *Genes*, v. 9, n. 9, p. 461, set. 2018.
2. LEE, Y. et al. Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and Beyond. *Chemical Reviews*, v. 121, n. 6, p. 3390–3411, mar. 2021.
3. ALDEJOHANN, A. M. et al. Emergence of resistant *Candida glabrata* in Germany. *JAC-Antimicrobial Resistance*, v. 3, n. 3, p. 122, jul. 2021.
4. CHAKRABARTI, A.; SOOD, P. On the emergence, spread and resistance of *Candida auris*: host, pathogen and environmental tipping points. *Journal of Medical Microbiology*, v. 70, n. 3, mar. 2021.
5. LOCKHART, S. R. *Candida auris* and multidrug resistance: Defining the new normal. *Fungal Genetics and Biology*, v. 131, p. 103243, out. 2019.
6. ZAFAR, H. et al. A titanic drug resistance threat in *Cryptococcus neoformans*. *Current Opinion in Microbiology*, v. 52, p. 158–164, dez. 2019.
7. BERMAS, A.; GEDDES-MCALISTER, J. Combatting the evolution of antifungal resistance in *Cryptococcus neoformans*. *Molecular Microbiology*, v. 114, n. 5, p. 721–734, nov. 2020.

8. BONGOMIN, F. et al. A systematic review of fluconazole resistance in clinical isolates of *Cryptococcus* species. *Mycoses*, v. 61, n. 5, p. 290–297, maio 2018.
9. SOUZA, J. D. et al. A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 65, n. 5, p. 696–702, ago. 2011.
10. SILVA, H. C. et al. BUL: A novel lectin from *Bauhinia unguolata* L. seeds with fungistatic and antiproliferative activities. *Process Biochemistry*, v. 49, n. 2, p. 203–209, fev. 2014.
11. MOHSEN, S. F. E. et al. Isolation and Antifungal Activity of Plant Lectins against some Plant Pathogenic Fungi. *Alexandria Science Exchange Journal*, v. 39, n. 1, p. 161–167, mar. 2018.
12. REGENTE, M. et al. A Sunflower Lectin with Antifungal Properties and Putative Medical Mycology Applications. *Current Microbiology*, v. 69, n. 1, p. 88–95, jul. 2014.
13. PROCÓPIO, T. F. et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 98, p. 419–429, maio 2017.
14. DA SILVA, P. M. et al. PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 108, p. 391–400, mar. 2018
15. SANTOS, L. M. M. et al. Anti-*Candida* activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). *Journal of Medical Mycology*, v. 31, n. 2, p. 101074, jun. 2021.
16. KLAFKE, G. B. et al. Assessment of Plant Lectin Antifungal Potential Against Yeasts of Major Importance in Medical Mycology. *Mycopathologia*, v. 175, n. 1–2, p. 147–151, fev. 2013.
17. DA SILVA, S. P. et al. Purification, Characterization, and Assessment of Antimicrobial Activity and Toxicity of *Portulaca elatior* Leaf Lectin (PeLL). *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, ago. 2021.
18. DEL RIO, M.; DE LA CANAL, L.; REGENTE, M. Plant Antifungal Lectins: Mechanism of Action and Targets on Human Pathogenic Fungi. *Current Protein & Peptide Science*, v. 21, n. 3, p. 284–294, mar. 2020.

19. SANTOS, L .M. M. Investigação do potencial antifúngico de lectina de sementes de *Moringa oleífera* WSMoL) contra espécies de *Candida* e *Cryptococcus*. 2021. 82 f. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) – Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.
20. FONSECA, F. L. et al. Binding of the wheat germ lectin to *Cryptococcus neoformans* chitooligomers affects multiple mechanisms required for fungal pathogenesis. *Fungal Genetics and Biology*, v. 60, p. 64–73, nov. 2013.
21. JONES, T. H. et al. Novel Antifungal Activity for the Lectin Scytovirin: Inhibition of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, p. 755, maio 2017.
22. RAMAGE, G. et al. Biofilm Formation by *Candida dubliniensis*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 9, p. 3234–3240, set. 2001.
23. RAMAGE, G. et al. *Candida* Biofilms: an Update. *Eukaryotic Cell*, v. 4, n. 4, p. 633–638, abr. 2005.
24. MUKHERJEE, P. K. et al. *Candida* biofilm: a well-designed protected environment. *Medical Mycology*, v. 43, n. 3, p. 191–208, jan. 2005.
25. RAMAGE, G.; MART NEZ, J. P.; L 3PEZ-RIBOT, J. L. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Research*, v. 6, n. 7, p. 979–986, nov. 2006.
26. DIAS, L. P. et al. *Machaerium acutifolium* lectin alters membrane structure and induces ROS production in *Candida parapsilosis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 163, p. 19–25, nov. 2020.
27. FERREIRA, G. R. S. et al. Antimicrobial potential of *Alpinia purpurata* lectin (ApuL): Growth inhibitory action, synergistic effects in combination with antibiotics, and antibiofilm activity. *Microbial Pathogenesis*, v. 124, p. 152–162, nov. 2018.
28. VASCONCELOS, M. A. et al. Effect of Algae and Plant Lectins on Planktonic Growth and Biofilm Formation in Clinically Relevant Bacteria and Yeasts. *BioMed Research International*, v. 2014, p. 1–9, 2014.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute - NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testig. CLSI/NCCLS document M38-A2, 2008.
30. COELHO, L. C. B. B.; DA SILVA, M. B. R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. *Phytochemical Analysis*, v. 11, n. 5, p. 295–300, set. 2000.

31. BERRIDGE, M.V.; HERST, P.M. and TAN, A.S. Tetrazolium Dyes as Tools in Cell Biology: New Insights into Their Cellular Reduction. *Biotechnology Annual Review*, v. 11, p. 127-152, 2005.
32. KROM, B.P.; COHEN, J.B.; FESER, G.E.M.; CIHLAR, R.L. Optimized *Candida* biofilm microtiter assay. *Journal Microbiological Methods*, 68, 421–423, 2007.
33. RAMAGE, G., et al. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 49, p. 973-980, 2002.
34. PIERCE, C. G., et al. A simple and reproducible 96well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc*, v. 3, p. 1494-1500, 2008.

5 CONCLUSÕES

A lectina extraída das folhas de *B. monandra* (BmoLL) foi capaz de inibir o crescimento de leveduras do gênero *Candida*, entre elas: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, bem como o crescimento de leveduras da espécie *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, demonstrando seu potencial antifúngico.

Além disso, BmoLL também demonstrou atividade antibiofilme frente a um isolado de *Candida parapsilosis*.

REFERÊNCIAS

- AKIMOTO-GUNTHER, L. et al. Highlights Regarding Host Predisposing Factors to Recurrent Vulvovaginal Candidiasis: Chronic Stress and Reduced Antioxidant Capacity. **PLOS ONE**, v. 11, n. 7, p. e0158870, jul. 2016.
- AKINTUNDE, A. M.; AJALA, S. O.; BETIKU, E. Optimization of *Bauhinia monandra* seed oil extraction via artificial neural network and response surface methodology: A potential biofuel candidate. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 387–394, maio 2015.
- ALMEIDA, F.; RODRIGUES, M. L.; COELHO, C. The Still Underestimated Problem of Fungal Diseases Worldwide. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 214, fev. 2019.
- ARGOLO, A. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 2, p. 229–233, nov. 2004.
- ARRUDA, F. V. S. Atividade de lectinas de leguminosas sobre a germinação de esporos de fungos fitopatogênicos. 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
- BAIXENCH, M.-T. et al. Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: case report and review. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 6, p. 1076–1083, abr. 2007.
- BARBEDO, L.S. confirmação diagnóstica e identificação das espécies causais em candidíase cutânea. 2020. 145 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas) – Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
- BARBEDO, L.S. et al. Etiologia dos casos de candidíase cutânea atendidos no serviço de micologia da Universidade Federal Fluminense, Brasil. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**; v. 33, p. 53-59, nov. 2013.

BARONIA, A.; MARAK, K. R. Risk prediction for invasive candidiasis. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, v. 18, n. 10, p. 682–688, out. 2014.

BASSETTI, M. et al. What has changed in the treatment of invasive candidiasis? A look at the past 10 years and ahead. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. suppl_1, p. i14–i25, jan. 2018.

BEN-AMI, R. Treatment of Invasive Candidiasis: A Narrative Review. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 97, ago. 2018.

BERKOW, E. L.; LOCKHART S. R. “Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective.” **Infection and drug resistance**, v. 10 , p. 237-245, jul. 2017.

BETIKU, E.; AKINTUNDE, A. M.; OJUMU, T. V. Banana peels as a biobase catalyst for fatty acid methyl esters production using Napoleon’s plume (*Bauhinia monandra*) seed oil: A process parameters optimization study. **Energy**, v. 103, p. 797–806, maio 2016.

BOTERO-CALDERON, L.; BENJAMIN, D. K.; COHEN-WOLKOWIEZ, M. Advances in the treatment of invasive neonatal candidiasis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 16, n. 7, p. 1035–1048, maio 2015.

BRATTON, E. W. et al. Approaches to Antifungal Therapies and Their Effectiveness among Patients with Cryptococcosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 6, p. 2485–2495, jun. 2013.

BRETAGNE, S. et al. Predisposing factors and outcome of uncommon yeast species-related fungaemia based on an exhaustive surveillance programme (2002–14). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 6, p. 1784–1793, 1 jun. 2017.

BRIZENDINE, K.; BADDLEY, J.; PAPPAS, P. Pulmonary Cryptococcosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 32, n. 06, p. 727–734, dez. 2011.

BROEKAERT, W. F.; VAN PARIJS, J.; LEYNS, F.; JOOS, H.; PEUMANS, W. J.. A Chitin-Binding Lectin from Stinging Nettle Rhizomes with Antifungal Properties. **Science**, [s.l.], v. 245, n. 4922, p. 1100-1102, set. 1989.

CAGLIARI, R.; KREMER, F. S.; PINTO, L. DA S. *Bauhinia* lectins: Biochemical properties and biotechnological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 811–820, nov. 2018.

CAMPOS, J. K. L. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Bauhinia monandra* leaf lectin. **Biochimie Open**, v. 2, p. 62-68, 2016.

CARNEIRO, D. C. et al. A patent review of the antimicrobial applications of lectins: Perspectives on therapy of infectious diseases. **Journal of Applied Microbiology**, p. jam.15263, ago. 2021.

CAVALHEIRO, M.; TEIXEIRA, M. C. *Candida* Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. **Frontiers in Medicine**, v. 5, p. 28, 13 fev. 2018.

CERQUEIRA, D. F. et al. Oral *Candida* colonization and its relation with predisposing factors in HIV-infected children and their uninfected siblings in Brazil: the era of highly active antiretroviral therapy. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 39, n. 2, p. 188–194, fev. 2010.

CHAPMAN, S. W.; SULLIVAN, D. C.; CLEARY, J. D. In Search of the Holy Grail of Antifungal Therapy. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association**, v. 119, p. 197–216, 2008.

CHANG, C.; SORRELL, T.; CHEN, S. Pulmonary Cryptococcosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 36, n. 05, p. 681–691, set. 2015.

CHEN, H. et al. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 14, p. 5048–5052, abr. 2004.

CHEN, S. C. A. et al. Candidaemia with uncommon *Candida* species: predisposing factors, outcome, antifungal susceptibility, and implications for management. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, n. 7, p. 662–669, jul. 2009.

CHOCARRO MARTÍNEZ, A. et al. Risk Factors for Esophageal Candidiasis. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 19, n. 2, p. 96–100, mar. 2000.

CHOWDHARY, A.; SHARMA, C.; MEIS, J. F. *Candida auris*: A rapidly emerging cause of hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. **PLOS Pathogens**, v. 13, n. 5, p. e1006290, maio 2017.

CIOPRAGA, J.; GOZIA, O.; TUDOR, R.; BREZUICA, L.; DOYLE, R. J.. *Fusarium* sp. growth inhibition by wheat germ agglutinin. **Biochimica Et Biophysica Acta - General Subjects**, [s.l.], v. 1428, n. 2-3, p. 424-432, ago. 1999.

CLANCY, C. J.; NGUYEN, M. H. Diagnosing Invasive Candidiasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 5, maio 2018.

COWEN, L. E.; ANDERSON, J. B.; KOHN, L. M. Evolution of Drug Resistance in *Candida Albicans*. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 139–165, out. 2002.

CUÉLLAR-CRUZ, M. et al. *Candida* species: new insights into biofilm formation. **Future Microbiology**, v. 7, n. 6, p. 755–771, jun. 2012.

DABAS, P. S. An approach to etiology, diagnosis and management of different types of candidiasis. **Journal of Yeast and Fungal Research**, v. 4, n. 6, p. 63–74, ago. 2013.

DEORUKHKAR, S. C.; SAINI, S. Candidiasis: Past, present and future. **International Journal of Infectious and Tropical Diseases**, v. 2, n. 1, p. 12–24, 2015.

DIAS, R. et al. Insights into Animal and Plant Lectins with Antimicrobial Activities. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 519–541, jan. 2015.

DU, H. et al. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 10, p. e1008921, out. 2020.

EVANS, E. What interventions are effective for the prevention and treatment of cutaneous candidiasis? **Journal of WOCN**, v. 30, n. 1, p. 11–16, jan. 2003.

EYER-SILVA, W. DE A. et al. Gastric cryptococcosis: an unusual presentation of a common opportunistic disorder. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, p. e10, 2019.

FARIAS, D. L. Isolamento, purificação e atividades biológicas de uma nova lectina de sementes de feijão da praia (*Canavalia Maritima*). 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

FERNANDES, A. J. D. et al. Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1–7, 2012.

FIRACATIVE, C. et al. The status of cryptococcosis in Latin America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 7, abr. 2018.

FLEVARI, A. et al. Treatment of invasive candidiasis in the elderly: a review. **Clinical Interventions in Aging**, v. 8, p. 1199–1208, 9 set. 2013.

FLORES HERRERA, M. F. et al. Multimodal Imaging in AIDS-Related Ocular Cryptococcosis. **Case Reports in Ophthalmological Medicine**, v. 2021, p. 1–7, fev. 2021.

FRANCO-PAREDES, C. et al. Management of *Cryptococcus gattii* meningoencephalitis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 15, n. 3, p. 348–355, mar. 2015.

FREIRE, M. G. et al. Isolation and partial characterization of a novel lectin from *Talisia esculenta* seeds that interferes with fungal growth. **Plant Physiology And Biochemistry**, [s.l.], v. 40, n. 1, p. 61-68, jan. 2002.

FU, L. et al. Plant lectins: Targeting programmed cell death pathways as antitumor agents. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 43, n. 10, p. 1442–1449, out. 2011.

GARCIA-CUESTA, C.; SARRION-PEREZ, MG.; BAGAN, JV. Current treatment of oral candidiasis: A literature review. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, p. e576–e582, 2014.

GARCIA-RUBIO, R. et al. The Fungal Cell Wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2993, 9 jan. 2020.

GAUTAM, A. K. et al. Characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) lectin for biological activity. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 24, n. 3, p. 389–397, maio 2018.

GOMES, B. S. et al. Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 770-778, jun. 2012.

GONÇALVES, B. et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 905–927, nov. 2016.

GRIGORIOU, O. et al. Prevalence of clinical vaginal candidiasis in a university hospital and possible risk factors. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 126, n. 1, p. 121–125, maio 2006.

GUSHIKEN, A. C.; SAHARIA, K. K.; BADDLEY, J. W. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, Fungal Infections. v. 35, n. 2, p. 493–514, jun. 2021.

HAMID, R. Lectins: Proteins with Diverse Applications. **Journal of Applied Pharmaceutical Science** Vol. 3, p. S93-S103, 2013.

HENAO-MARTÍNEZ, A. F.; CHASTAIN, D. B.; FRANCO-PAREDES, C. Treatment of cryptococcosis in non-HIV immunocompromised patients: **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 31, n. 4, p. 278–285, ago. 2018.

HIVRALE, A.; INGALE, A. Plant as a plenteous reserve of lectin. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, n. 12, p. e26595, dez. 2013.

HOBSON, C.; CHAN, A. N.; WRIGHT, G. D. The Antibiotic Resistome: A Guide for the Discovery of Natural Products as Antimicrobial Agents. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 6, p. 3464–3494, mar. 2021.

IYER, K. R. et al. Treatment strategies for cryptococcal infection: challenges, advances and future outlook. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 7, p. 454–466, jul. 2021.

JIANG, Q.-L. et al. Plant lectins, from ancient sugar-binding proteins to emerging anti-cancer drugs in apoptosis and autophagy. **Cell Proliferation**, v. 48, n. 1, p. 17–28, fev. 2015.

KASSEM, A. A. et al. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) with enhanced solubilization of nystatin for treatment of oral candidiasis: Design, optimization, in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 218, p. 219–232, jun. 2016.

KAUR, N.; DHUNA, V.; KAMBOJ, S.S.; AGREWALA, J.; SINGH, J.. A Novel Antiproliferative and Antifungal Lectin from *Amaranthus viridis* Linn Seeds. **Protein & Peptide Letters**, [s.l.], v. 13, n. 9, p. 897-905, set. 2006.

KEYAERTS, E. et al. Plant lectins are potent inhibitors of coronaviruses by interfering with two targets in the viral replication cycle. **Antiviral Research**, v. 75, n. 3, p. 179–187, set. 2007.

KLAFKE, G. B. et al. Assessment of Plant Lectin Antifungal Potential Against Yeasts of Major Importance in Medical Mycology. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 175, n. 1-2, p. 147-151, 19 nov. 2012.

KLEPSEK, M. E. *Candida* Resistance and Its Clinical Relevance. **Pharmacotherapy**, v. 26, n. 6part2, p. 68S-75S, jun. 2006.

KOMATH, S. S.; KAVITHA, M.; SWAMY, M. J. Beyond carbohydrate binding: new directions in plant lectin research. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 4, n. 6, p. 973, 2006.

KOSHY, J. M. et al. Clinical Diversity of CNS Cryptococcosis. **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 64, n. 10, p. 15–19, out. 2016.

KUKU, A. et al. Purification of a mannose/glucose-specific lectin with antifungal activity from pepper seeds (*Capsicum annuum*). **African Journal of Biochemistry Research**, [s.l.], v. 3 (6), p. 272-278, jun, 2009.

KULLBERG, B. J.; ARENDRUP, M. C. Invasive Candidiasis. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 15, p. 1445–1456, out. 2015.

LAGARDA-DIAZ, I.; GUZMAN-PARTIDA, A.; VAZQUEZ-MORENO, L. Legume Lectins: Proteins with Diverse Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1242, jun. 2017.

LAM, Sze Kwan; NG, Tzi Bun. Lectins: production and practical applications. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 89, n. 1, p. 45-55, out. 2010.

LANNOO, N.; VAN DAMME, E. J. M. Lectin domains at the frontiers of plant defense. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, 13 ago. 2014.

LEDERMANN, W. Historia sucinta de *Candida albicans*, blanca pero no tanto. **Rev. chil. infectol.**, Santiago, v. 34, n. 5, p. 429-430, oct. 2017.

LINGEGOWDA, B. P. et al. Primary cutaneous cryptococcosis due to *Cryptococcus gattii* in Singapore. **Singapore Medical Journal**, v. 52, n. 7, p. e160-162, jul. 2011.

LIU, B.; BIAN, H.; BAO, J. Plant lectins: Potential antineoplastic drugs from bench to clinic. **Cancer Letters**, v. 287, n. 1, p. 1–12, jan. 2010.

LIU, T.-B.; PERLIN, D. S.; XUE, C. Molecular mechanisms of cryptococcal meningitis. **Virulence**, v. 3, n. 2, p. 173–181, mar. 2012.

LUI, G. Cryptococcosis in apparently immunocompetent patients. **QJM**, v. 99, n. 3, p. 143–151, fev. 2006.

LYU, X. et al. Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 1161–1171, 16 mar. 2016.

MACEDO, M. L. R. et al. Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 146, n. 4, p. 486–498, abr. 2007.

MACEDO, M.; OLIVEIRA, C.; OLIVEIRA, C. Insecticidal Activity of Plant Lectins and Potential Application in Crop Protection. **Molecules**, v. 20, n. 2, p. 2014–2033, jan. 2015.

MAKADZANGE, A.; MCHUGH, G. New Approaches to the Diagnosis and Treatment of Cryptococcal Meningitis. **Seminars in Neurology**, v. 34, n. 01, p. 047–060, abr. 2014.

MARTINS, N. et al. Candidiasis: Predisposing Factors, Prevention, Diagnosis and Alternative Treatment. **Mycopathologia**, v. 177, n. 5–6, p. 223–240, jun. 2014.

MATSUKI, T.; MIYAMOTO, S.; YAMASHITA, T. Cryptococcal osteomyelitis of the Zygomatic bone: a case report. **BMC Infectious Diseases**, v. 20, n. 1, p. 399, dez. 2020.

MAZIARZ, E. K.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 179–206, mar. 2016.

MCCARTY, T. P.; PAPPAS, P. G. Invasive Candidiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 103–124, mar. 2016.

MENEZES, F. DE S. et al. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 8–13, mar. 2007.

MENEZES, J. C. J. M. D. S.; CAMPOS, V. R. Natural biflavonoids as potential therapeutic agents against microbial diseases. **Science of The Total Environment**, v. 769, p. 145168, maio 2021.

MIMIDIS, K. et al. Predisposing factors and clinical symptoms in HIV-negative patients with *Candida* oesophagitis: are they always present? **International Journal of Clinical Practice**, v. 59, n. 2, p. 210–213, 15 set. 2004.

MIYAKAWA, T. et al. A Secreted Protein with Plant-Specific Cysteine-Rich Motif Functions as a Mannose-Binding Lectin That Exhibits Antifungal Activity. **Plant Physiology**, v. 166, n. 2, p. 766–778, out. 2014.

MODRZEWSKA, B.; KURNATOWSKI, P. Selected pathogenic characteristics of fungi from the genus *Candida*. **Annals of Parasitology**, v. 59, n. 2, p. 57–66, 2013.

MTIBAA, L. et al. Vulvovaginal candidiasis: Etiology, symptomatology and risk factors. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, n. 2, p. 153–158, jun. 2017.

MUKHERJEE, P. K. et al. *Candida* biofilm: a well-designed protected environment. **Medical Mycology**, v. 43, n. 3, p. 191–208, jan. 2005.

NEGRONI, R. Cryptococcosis. **Clinics in Dermatology**, v. 30, n. 6, p. 599–609, nov. 2012.

NGAI, Patrick H. K.; NG, T. B.. A lectin with antifungal and mitogenic activities from red cluster pepper (*Capsicum frutescens*) seeds. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 74, n. 2, p. 366-371, fev. 2007.

- NOGUCHI, H. et al. Cutaneous Cryptococcosis. **Medical Mycology Journal**, v. 60, n. 4, p. 101–107, 2019.
- NOWAK, M. et al. Cutaneous cryptococcosis: an underlying immunosuppression? Clinical manifestations, pathogenesis, diagnostic examinations and treatment. **Advances in Dermatology and Allergology**, v. 37, n. 2, p. 154–158, 2020.
- OLIVEIRA, D. P. DE et al. Perfil fitoquímico e potencial antioxidante de extratos etanólicos da espécie *Bauhinia monandra* Kurz (Fabaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 86551–86564, 2020.
- OZMA, M. A. et al. Baicalin, a natural antimicrobial and anti-biofilm agent. **Journal of Herbal Medicine**, v. 27, p. 100432, jun. 2021.
- PAPPALARDO, M. C. S. M.; MELHEM, M. S. C. Cryptococcosis: a review of the brazilian experience for the disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, n. 6, p. 299–305, dez. 2003.
- PAPPAS, P. G. et al. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 18026, 7 jun. 2018.
- PEIXOTO, J.V. et. al. Candidiasis – a literature review. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**. Vol.8, n.2, p.75-82, Jun-Ago 2014.
- PERFECT, J. R. Cryptococcosis. In: MANDELL, G. L.; DIAMOND, R. D. (Eds.). . **Atlas of Infectious Diseases**. London: Current Medicine Group, 2000. p. 79–93.
- PERFECT, J. R.; BICANIC, T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, p. 49–54, maio 2015.
- PERLIN, D. S. Echinocandin Resistance in *Candida*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 61, n. suppl_6, p. S612–S617, dez. 2015.

PRISTOV, K. E.; GHANNOUM, M. A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 7, p. 792–798, jul. 2019.

PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, EJM. Lectins as Plant Defense Proteins. **Plant Physiology**, v. 109, n. 2, p. 347–352, 1 out. 1995.

PUSZTAI, A. Uses of plant lectins in bioscience and biomedicine. **Frontiers in Bioscience**, v. 13, n. 13, p. 1130, 2008.

QUEIROZ, J. P. A. F. et al. Criptococose - Uma Revisão Bibliográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 2, p. 32-38, 2008.

RAJASINGHAM, R. et al. Cryptococcal Meningitis Treatment Strategies in Resource-Limited Settings: A Cost-Effectiveness Analysis. **PLoS Medicine**, v. 9, n. 9, p. e1001316, 25 set. 2012.

RAMAGE, G. et al. Biofilm Formation by *Candida dubliniensis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 9, p. 3234–3240, set. 2001.

RAMAGE, G. et al. *Candida* Biofilms: an Update. **Eukaryotic Cell**, v. 4, n. 4, p. 633–638, abr. 2005.

RAMAGE, G.; MARTÁNEZ, J. P.; LÃ³PEZ-RIBOT, J. L. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. **FEMS Yeast Research**, v. 6, n. 7, p. 979–986, nov. 2006.

RAO, P. K. Oral Candidiasis – A Review. **Scholarly Journal of Medicine**, Vol. 2(2), p. 26-30, fev. 2012.

REGENTE, M. et al. A Sunflower Lectin with Antifungal Properties and Putative Medical Mycology Applications. **Current Microbiology**, v. 69, n. 1, p. 88–95, jul. 2014.

REX, J. H.; RINALDI, M. G.; PFALLER, M. A. Resistance of *Candida* species to fluconazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 1, p. 1–8, jan. 1995.

ROCHA, W. R. V. DA et al. Gênero *Candida* - Fatores de virulência, Epidemiologia, Candidíase e Mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e43910414283, abr. 2021.

RODRIGUES, C. F.; SILVA, S.; HENRIQUES, M. *Candida glabrata*: a review of its features and resistance. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 5, p. 673–688, maio 2014.

SÁ, R. A. et al. Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodruon urundeuva* heartwood. **Wood Science and Technology**, v. 43, n. 1–2, p. 85–95, fev. 2009.

SANTOS-GANDELMAN, J.; RODRIGUES, M. L.; MACHADO SILVA, A. Future perspectives for cryptococcosis treatment. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 28, n. 8, p. 625–634, 3 ago. 2018.

SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10–24, 1 jan. 2013.

SENEVIRATNE, C.; JIN, L.; SAMARANAYAKE, L. Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. **Oral Diseases**, v. 14, n. 7, p. 582–590, 30 set. 2008.

SETIANINGRUM, F.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R.; DENNING, D. W. Pulmonary cryptococcosis: A review of pathobiology and clinical aspects. **Medical Mycology**, v. 57, n. 2, p. 133–150, fev. 2019.

SEVERO, C. B. et al. Cryptococcosis in children. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 10, n. 4, p. 166–171, dez. 2009.

SHARON, N. e LIS, H. **Lectins**. 2nd Edition, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003.

SHARON, N. Lectins: past, present and future1. **Biochemical Society Transactions**, v. 36, n. 6, p. 1457–1460, dez. 2008.

SILVA, H. C. et al. BUL: A novel lectin from *Bauhinia unguolata* L. seeds with fungistatic and antiproliferative activities. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 203-209, 2014.

SILVA, S. et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis* : biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 2, p. 288–305, mar. 2012.

SINGH, N. Trends in the Epidemiology of Opportunistic Fungal Infections: Predisposing Factors and the Impact of Antimicrobial Use Practices. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 10, p. 1692–1696, nov. 2001.

SITOHY, M.; DOHEIM, M.; BADR, H. Isolation and characterization of a lectin with antifungal activity from Egyptian *Pisum sativum* seeds. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 104, n. 3, p. 971-979, jan. 2007.

SOARES, E. A. et al. Mortality by cryptococcosis in Brazil from 2000 to 2012: A descriptive epidemiological study. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, n. 13, v. 7, p. 1-17, 2019.

SOUZA, J. D. et al. A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 696-702, 2011.

SPADARI, C. DE C. et al. New Approaches for Cryptococcosis Treatment. **Microorganisms**, v. 8, n. 4, p. 613, abr. 2020.

STOTT, K. E. et al. Cryptococcal meningoencephalitis: time for action. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 9, p. e259–e271, set. 2021.

TANGUAY, K. E.; MCBEAN, M. R.; JAIN, E. Nipple candidiasis among breastfeeding mothers. Case-control study of predisposing factors. **Canadian Family Physician**, v. 40, p. 1407–1413, ago. 1994.

TAUDORF, E. H. et al. Cutaneous candidiasis – an evidence-based review of topical and systemic treatments to inform clinical practice. **Journal of the**

European Academy of Dermatology and Venereology, v. 33, n. 10, p. 1863–1873, out. 2019.

TEN CATE, J. M. et al. Molecular and Cellular Mechanisms That Lead to *Candida* Biofilm Formation. **Journal of Dental Research**, v. 88, n. 2, p. 105–115, fev. 2009.

TIAN, Qin; WANG, Wei; MIAO, Chen; PENG, Hao; LIU, Bo; LENG, Fangwei; DAI, Lei; CHEN, Fang; BAO, Jinku. Purification, characterization and molecular cloning of a novel mannose-binding lectin from rhizomes of *Ophiopogon japonicus* with antiviral and antifungal activities. **Plant Science**, [s.l.], v. 175, n. 6, p. 877-884, dez. 2008.

TRINDADE, M. B. et al. Structural characterization of novel chitin-binding lectins from the genus *Artocarpus* and their antifungal activity. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Proteins And Proteomics**, [s.l.], v. 1764, n. 1, p. 146-152, jan. 2006.

TSUI, C.; KONG, E. F.; JABRA-RIZK, M. A. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. **Pathogens and Disease**, v. 74, n. 4, p. ftw018, jun. 2016.
VAN DAMME, E. J. M.; LANNOO, N.; PEUMANS, W. J. Plant Lectins. In: **Advances in Botanical Research**. [s.l.] Elsevier, v. 48p. 107–209, 2008.

VAN DE VEERDONK, F. L.; NETEA, M. G. Treatment options for chronic mucocutaneous candidiasis. **Journal of Infection**, v. 72, p. S56–S60, jul. 2016.

VANDENBORRE, G.; SMAGGHE, G.; VAN DAMME, E. J. M. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1538–1550, set. 2011.

VILA, T. et al. Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 15, jan. 2020.

WANG, X. et al. Vaccines in the treatment of invasive candidiasis. **Virulence**, v. 6, n. 4, p. 309–315, 19 maio 2015.

WHITE, T. C. et al. Resistance Mechanisms in Clinical Isolates of *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 6, p. 1704–1713, jun. 2002.

XIMENES, N. C. A. Purificação e Caracterização da lectina da Vagem de *Caesalpinia ferrea* (CfePL): Aplicação Biológica. 2004. 60 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

YAU, T. et al. Lectins with Potential for Anti-Cancer Therapy. **Molecules**, v. 20, n. 3, p. 3791–3810, fev. 2015.

Ye, X.Y., Ng, T.B., Tsang, P.W.K. et al. Isolation of a Homodimeric Lectin with Antifungal and Antiviral Activities from Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) Seeds. **J Protein Chem** v. 20, p. 367–375, 2001.

ZAVALA, S.; BADDLEY, J. W. Cryptococcosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 41, n. 01, p. 069–079, fev. 2020.