



Universidade Federal do Maranhão

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

**O USO DA LECTINA DE *Parkia platycephala* COMO  
MODULADORA DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA E NO  
CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS DE  
RUMINANTES**

ROMÉRIO RODRIGUES DOS SANTOS SILVA

CHAPADINHA – MA

2020

ROMÉRIO RODRIGUES DOS SANTOS SILVA

**O USO DA LECTINA DE *Parkia platycephala* COMO  
MODULADORA DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA E NO  
CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS DE  
RUMINANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Claudener Souza  
Teixeira

CHAPADINHA – MA

2020

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

Silva, Romério Rodrigues dos Santos.

O USO DA LECTINA DE *Parkia platycephala* COMO MODULADORA DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA E NO CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS DE RUMINANTES / Romério Rodrigues dos Santos Silva. - 2020.

63 f.

Orientador(a): Claudener Souza Teixeira.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal/ccaa, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha - MA, 2020.

1. Antibacteriano. 2. Anti-helmíntico. 3. Proteína.  
4. Resistência. I. Teixeira, Claudener Souza. II.  
Título.

ROMÉRIO RODRIGUES DOS SANTOS SILVA

**O USO DA LECTINA DE *Parkia platycephala* COMO  
MODULADORA DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA E NO  
CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS DE  
RUMINANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Claudener Souza Teixeira

Aprovada em: 18/12/2020

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Claudener Souza Teixeira (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Prof. Dr. Ivo Alexandre Leme da Cunha  
Examinador Interno  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Prof. Dr. Samuel Vieira Brito  
Examinador Externo  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

“[...] Continue a nadar [...]”.

GRAHAM WALTERS; Procurando Nemo, 2003.

Aos meus maiores exemplos de força, garra, reconstrução e adaptação. Que jamais mediram esforços para que eu pudesse alcançar todos meus objetivos, aquelas que me ensinaram que a vida é uma batalha diária, um levanta e cai interminável e, sobretudo efêmera demais para ser mal aproveitada. Que me ensinaram o bem, a me defender do mal, como ganhar, perder. E que sempre estiveram no centro do meu universo.

**A minha mãe Alzenir e minha avó Nely, dedico.**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador **Prof. Dr. Claudener Teixeira**, pela orientação, confiança, dedicação, por me permitir fazer parte de sua equipe e por todos os ensinamentos diretos e indiretos.

Aos meus colegas do **LaBEM** em todas as suas formações, por toda contribuição, conhecimento e momentos compartilhados. Em especial a **Ana Lúcia e Maria Helena** por me reinserirem na bioquímica, nos protocolos, por serem as melhores companhias de segunda a segunda.

Ao **Prof. Dr. Lívio Costa-Júnior** e sua equipe do **Laboratório de Controle de Parasitas da Universidade Federal do Maranhão** pela contribuição e parceria na realização dos ensaios parasitológicos.

Ao **Prof. Dr. Henrique Coutinho** e Ao **Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – LMBM** da Universidade Regional do Cariri – URCA, pelos testes microbiológicos.

Ao **Prof. Dr. Mateus Matiuzzi**, e todos seus alunos do **Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da UNIVASF**, pela oportunidade do estágio. Em especial ao **Danilo, Renata e Chirles**. A família do **prof. Mateus, prof, Gabriel e D. Eranir** por me acolherem em sua residência, durante minha estadia em Petrolina – PE.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**, aos professores pelos ensinamentos; ao **Tomaz** por toda sua disponibilidade e competência. Aos meus colegas de mestrado: **Arlan, Luana, Rosilda, Ygor, Maykon, Edegleicia, Grazi, Weverto**, e em especial minha amiga **Jakeline** pelo companheirismo, as intensas risadas, as conversas e os cafés durante todo o mestrado.

A grande amiga que a Bioquímica me deu: **Karla Batista**, sem sua ajuda tudo seria tão complicado, obrigado por me fazer encontrar a solução em meio ao caos, por todas as vezes que eu gritei e você não hesitou em me ajudar.

**Prof. Dr. Jane Lopes** uma das minhas maiores incentivadoras dentro da pesquisa, sem seu incentivo eu nem teria começado o mestrado. Por sua amizade, confiança e inúmeros conselhos.

Ao **Prof. Dr. Alécio Matos** por sempre me dar as palavras mais positivas, e por sempre acreditar em mim. Por todos os conselhos, por me mostrar que sempre posso ir um pouco mais longe do que eu acredito, por sua amizade.

Aos amigos que a UFMA me deu: **Anália Sousa, Eliene Lima, Lucas Bastos, Rebeca Sousa e Lucy Ana** por suas amizades incondicionais pelas conversas, distração, toda ajuda e incentivo.

Ao **Sr. Pires, Francisco e Cassiano** funcionários do FINEP por toda a assistência.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

A FAPEMA, CNPq pelo apoio financeiro em projetos.

Ao meu Deus que por sua infinita misericórdia me faz a cada dia um filho mais forte e sempre me direciona para o melhor caminho.

**Agradeço!**



## SUMÁRIO

	p.
<b>CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>17</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>17</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
2.1. Uso de antimicrobianos na produção animal .....	18
2.2. Resistência e modulação de bactérias aos antibióticos .....	20
2.3. Mecanismos de resistência aos antibióticos .....	23
2.4. Resistência anti-helmíntica .....	25
2.5. <i>Haemonchus contortus</i> e impactos na ovinocaprinocultura .....	26
2.5.1. Ciclo Biológico .....	27
2.6. Lectinas vegetais.....	28
2.6.1. Lectinas de leguminosas e aplicações biotecnológicas mais recentes .....	30
2.6.2. Aspectos gerais da <i>Parkia platycephala</i> e da lectina PPL .....	31
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>33</b>
3.1. Objetivo geral.....	33
3.2. Objetivos específicos .....	33
REFERÊNCIAS .....	34
<b>CAPÍTULO II - <i>Parkia platycephala</i> lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of <i>Haemonchus contortus</i> .....</b>	<b>47</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>49</b>
<b>2. Material and methods .....</b>	<b>50</b>
2.1. Purification of <i>Parkia platycephala</i> seed lectin .....	50
2.2. Hemagglutination activity and inhibition assays.....	50
2.3. Assess anthelmintic activity .....	50
2.3.1. Obtaining nematodes.....	50
2.3.2. Egg hatch test .....	51
2.3.3. Larval exsheathment test.....	51

2.3.4. Larval development test .....	51
<b>2.4. Microbial assays .....</b>	<b>52</b>
2.4.1. Drugs and reagents .....	52
<b>2.5. Bacterial strains.....</b>	<b>52</b>
2.5.1. Preparation and standardization of the inoculum .....	52
<b>2.6. Minimum inhibitory concentration test .....</b>	<b>52</b>
2.6.1. Antibiotic and modulatory activities .....	53
<b>2.7. Statistical analysis .....</b>	<b>53</b>
<b>2.8. Structural analysis .....</b>	<b>53</b>
<b>3. Results and discussion .....</b>	<b>53</b>
3.1. Purification and inhibition assays.....	53
3.2. Anthelmintic activity of PPL.....	55
3.3. Antibacterial activity and modulation of antibiotic activity by PPL.....	56
<b>4. Conclusion .....</b>	<b>58</b>
<b>Conflicts of interest.....</b>	<b>58</b>
<b>Aknowledgements.....</b>	<b>58</b>
<b>Appendix A. Supplementary data.....</b>	<b>59</b>
<b>References.....</b>	<b>59</b>
<b>5. Considerações Finais .....</b>	<b>63</b>

### Lista de abreviações

CDR	Domínio de Reconhecimento de Carboidrato
CFU	Unidade de formação de colônias
CL	Limite de confiança
CLSI	Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
cm	centímetros
ConBr	Lectina de <i>Canavalia brasiliensis</i>
g	Gramas
h	hora
IC50	50% de concentração de inibição
JRL	Lectina relacionada a Jacalina
kDa	Kilodalton
L1	Larva de primeiro estágio
L2	Larva de segundo estágio
L3	Larva de terceiro estágio
L4	Larva de quarto estágio
L5	Larva de quinto estágio
M	mol
mg mL <sup>-1</sup>	Miligramas por mililitros
mg	miligrama
MIC	Concentração Inibitória Mínima
Min	Minutos
mL	mililitro
mL min <sup>-1</sup>	Mililitros por minutos
Mm	milimolar

MS	Matéria seca
NI	Não inibiu
nm	Nanômetros
OPG	Ovos por grama de fezes
PAGE	Eletroforese em gel e poliacrilamida
PB	Proteína Bruta
PBS	Tampão fosfato salino
pH	Potencial de hidrogênio
PI	Pico I
PII	Pico II
PNA	Lectina de amendoim
PPL	Lectina de <i>Parkia platycephala</i>
R <sup>2</sup>	Coefficiente de Determinação
SDS	Dodecil sulfato de sódio
TDL	Teste de desenvolvimento larvar
TEO	Teste de eclosão de ovos
TML	Teste de migração e motilidade larvar
U.H.	Unidade de hemaglutinação
UTIs	Unidade de Terapia Intensiva
VML	Lectina de <i>Vatairea macrocarpa</i>
Mg	Microgramas
μL	Microlitros

**LISTA DE TABELAS**

p.

**CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Tabela 1: Atividades antibacteriana e anti-helmíntica de lectinas de espécies vegetais.....30

**Capítulo II - *Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of *Haemonchus contortus*.**

Table 1. Bacterial source and antibiotic resistance profile.....52

Table 2. Inhibitory effect of monosaccharides and gentamycin on PPL hemagglutinating activity.....54

## LISTA DE FIGURAS

	p.
<b>CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b>	
Figura 1: Mecanismos de resistência das bactérias aos antibióticos.....	23
Figura 2: Ciclo de vida de <i>Haemonchus contortus</i> .....	28
Figura 3: Partes vegetativas de <i>Parkia platycephala</i> .....	32
<b>Capítulo II - <i>Parkia platycephala</i> lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of <i>Haemonchus contortus</i>.</b>	
Fig. 1. PPL purification.....	54
Fig. 2. Inhibitory effect of PPL on the development of <i>Haemonchus contortus</i> .....	55
Fig. 3. Overview of Glc/Man-binding lectin from the seeds of <i>Parkia platycephala</i> - PPL....	56
Fig. 4. Modulatory activity of PPL on the resistance of <i>S. aureus</i> 10, <i>E. coli</i> 06 and <i>P. aeruginosa</i> 15.....	57

## RESUMO

Dentre os compostos bioativos presentes em organismos vegetais, estão as lectinas, proteínas de origem não e tem seu uso reconhecido em diversas atividades biológicas, dentre as tais, antibacteriana e anti-helmíntica. O uso de produtos naturais para essa finalidade tem ganhado mais notoriedade devido à resistência bacteriana e helmíntica às drogas convencionais, comumente utilizadas na produção animal. Dentre os organismos considerados resistentes as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* estão entre os mais frequentes que acometem animais de produção ocasionando infecções graves como mastites, otites, meningites e abscessos, e os helmintos, *Haemonchus contortus* acometendo pequenos e médios ruminantes de grande importância econômica. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de uma lectina de *Parkia platycephala* (PPL) em inibir o desenvolvimento de *Haemonchus contortus* e modular a atividade antibiótica da gentamicina contra cepas multirresistentes de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. A PPL não inibiu a eclosão de ovos de *H. contortus* ou o desembainhamento larval. No entanto, mostrou inibição significativa do desenvolvimento larvar com um  $CI_{50}$  de 0,31 mg/mL. A CIM obtida para a PPL contra todas as cepas bacterianas testadas não foi clinicamente relevante ( $CIM \geq 1,024$  mg/mL). No entanto, quando a PPL foi combinada com gentamicina, um aumento significativo na atividade antibiótica foi observado contra cepas de *S. aureus* e *E. coli*. A inibição da atividade hemaglutinante pela gentamicina ( $CIM = 50$  mM) revelou que esse antibiótico interage com o sítio de ligação de carboidratos da PPL. A interação PPL-gentamicina pode estar diretamente relacionada com o aumento da atividade antibiótica da gentamicina contra cepas de bactérias multirresistentes. A PPL apresentou efeito anti-helmíntico e modulou a atividade antibiótica da gentamicina, podendo ser um novo recurso terapêutico contra cepas bacterianas resistentes e nematóides gastrointestinais.

Palavras-chave: Antibacteriano, anti-helmíntico, resistência, proteína.

## Abstract

Among the bioactive compounds present in plant organisms, there are lectins, proteins of non-origin and their use is recognized in several biological activities, among them, antibacterial and anthelmintic. The use of natural products for this purpose has gained more notoriety due to the bacterial and helminth resistance to conventional drugs, commonly used in animal production. Among the organisms considered resistant to bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* are among the most frequent ones that affect farm animals causing serious infections such as mastitis, otitis, meningitis and abscesses, and helminths, *Haemonchus contortus* affecting small and medium-sized ruminants economic importance. In this context, this work aimed to evaluate the ability of a lectin from *Parkia platycephala* (PPL) to inhibit the development of *H. contortus* and modulate the antibiotic activity of gentamicin against multidrug-resistant strains of *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. PPL did not inhibit the hatching of *H. contortus* eggs or larval drawing. However, it showed significant inhibition of larval development with an IC<sub>50</sub> of 0.31 mg / mL. The MIC obtained for PPL against all tested bacterial strains was not clinically relevant (MIC  $\geq$  1.024 mg / mL). However, when PPL was combined with gentamicin, a significant increase in antibiotic activity was observed against strains of *S. aureus* and *E. coli*. The inhibition of hemagglutinating activity by gentamicin (MIC = 50 mM) revealed that this antibiotic interacts with the PPL carbohydrate binding site. The PPL-gentamicin interaction may be directly related to the increased antibiotic activity of gentamicin against strains of multi-resistant bacteria. PPL had an anthelmintic effect and modulated the antibiotic activity of gentamicin, which could be a new therapeutic resource against resistant bacterial strains and gastrointestinal nematodes.

Keywords: Antibacterial, anthelmintic, resistance, protein.



## CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. Introdução

Na produção animal é comum o uso de antibióticos para combater doenças infecciosas e também para a promoção do crescimento em aves, bovinos, suínos, ovinos e caprinos. O uso desses medicamentos visa maior produtividade animal, conseqüentemente maior lucro em um curto prazo. Entretanto é observado que o uso abusivo desses antibióticos vem acarretando no aumento da resistência bacteriana que é caracterizada pela adaptação dos microrganismos aos antimicrobianos convencionais e ao uso abusivo desses agentes de controle microbiano, lectinas têm sido usadas como alternativas ao uso de antibióticos, por possuírem potencial antimicrobiano já descrito e sua capacidade de interagir com carboidratos da parede celular de bactérias e fungos, ocasionando a inibição do crescimento e morte desses patógenos (COELHO et al., 2018), podem interferir na adesão e invasão das células hospedeiras por bactérias (SILVA et al., 2016) e atuar na modulação da atividade antibiótica, modificando a ação do antibiótico frente os organismos resistentes (SANTOS et al., 2019).

Dentre os organismos considerados multirresistentes, ou seja, aqueles que possuem resistência a mais de duas classes de antibióticos (MALLIK et al., 2013), as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* estão entre os mais frequentes (QIAO et al., 2017), sendo comumente associadas a diversas infecções que acometem animais de produção, dentre elas: mastites clínicas e subclínicas, otites, abscessos, meningites, enterites (MURRAY & PFALLER, 2006; KIDD et al., 2011; SALOMONSEN et al., 2013; GRAÇA et al., 2016; HAMED, 2018).

Outros organismos que apresentam resistência são os helmintos, em especial *Haemonchus contortus* (KOTZE & PRICHARD, 2016). *H. contortus* é uma espécie de nematóide gastrointestinal de alta prevalência, patogenicidade, expansão global e economicamente importante em pequenos ruminantes, pois quando estes animais são acometidos gera um atraso na produção, ocasionado pela perda de peso, redução do consumo de alimentos, diminuição da produção de leite, baixa fertilidade e até mesmo causando mortalidade dos animais (HOWELL et al., 2008; MAIA et al., 2014; COUTINHO et al., 2015). O controle desse nematóide depende da interrupção do ciclo de vida do parasita e é realizado convencionalmente com anti-helmínticos sintéticos e semissintéticos (ALEMU et

al., 2014). Porém, devido à resistência desses organismos aos compostos sintéticos, novas alternativas de controle tem sido buscada (KOTZE; PRICHARD, 2016), para tal, algumas lectinas já demonstraram propriedades potenciais antiparasitárias, entre elas ConBr; cMoL; PHA-1, ConA, WGA (RÍOS-DE ÁLVAREZ et al., 2012; IORDACHE et al., 2015; BATISTA et al., 2018; MEDEIROS et al., 2018).

Dentro da Família Fabaceae uma lectina que apresenta grande destaque é a PPL, extraída de sementes da *Parkia platycephala*, popularmente conhecida como “fava-de-bolota”, “faveira” e “visgueira”. Sua lectina é uma proteína de ligação glicose/manose composta por três domínios  $\beta$ -prisma (DEL SOL et al., 2005). A especificidade de ligação dessa lectina por manose, sugere um papel importante na defesa contra patógenos vegetais (MANN et al., 2001). A PPL já teve sua atividade biológica descrita em ações antinoceptivas e antiinflamatórias (BARI, et al., 2016; LEITE et al., 2020).

A *P. platycephala* tem sua distribuição pelo Nordeste do Brasil em áreas de transição entre Cerrado ou Mata Atlântica para a Caatinga (ALVES, et al., 2007; SILVA et al., 2012). Por suas sementes possuírem um considerável teor de proteína bruta (PB) (100g/kg com base na matéria seca – MS) e possuírem um coeficiente de digestibilidade da MS *in vitro* de 880 g / 1000 g de ingestão são comumente utilizadas na alimentação de ruminantes e para produção de silagens. Nesse contexto, é de grande relevância avaliar o efeito da lectina de *Parkia platycephala* contra bactérias multirresistentes e sobre o desenvolvimento de *Haemonchus contortus*.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Uso de antimicrobianos na produção animal**

A produção animal em países tropicais desempenha um papel fundamental no fornecimento de proteínas valiosas para as populações locais (HERNÁNDEZ-CASTELLANO et al., 2019). Segundo IBGE (2020), resultados da Estatística da Produção Pecuária demonstram que a produção de carne bovina alcançou os 1,82 milhões de toneladas e a produção de leite 6,30 bilhões de litros somente no primeiro trimestre de 2020. A produção de caprinos e ovinos chegou a mais de 11,3 milhões e 19,7 milhões de cabeças, respectivamente, somente no ano de 2019 (IBGE, 2019).

A ovinocaprinocultura é uma atividade econômica de grande importância para a economia de países em desenvolvimento, através de geração de empregos e a utilização da

carne como fonte proteica pela população rural. Produtos e subprodutos dessa produção vêm ganhando destaque no mercado mundial, por exemplo, através da produção de leite, leite em pó, sorvetes, diferentes cortes de carne, lã, dentre outros (GOULART et al., 2009)

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a estimativa para produção de carne em 2030 chegará a 330 milhões de toneladas, sendo relativa aos países em desenvolvimento (FAO, 2018). Mediante o aumento da produção animal e a intensificação dos sistemas de criação, a alimentação desses animais torna-se cada vez mais eficiente com a utilização de aditivos que proporcionem melhor produtividade. Com isso estima-se que a utilização de antimicrobianos para diferentes fins na produção animal aumente em 67% de 2010 a 2030 principalmente devido ao aumento da demanda por proteína animal e à intensificação dos sistemas de cultivo em países de baixa e média renda (VAN BOECKEL et al., 2015).

Antimicrobianos são substâncias que têm por capacidade matar ou inibir o crescimento de microrganismos sem comprometer a saúde do indivíduo medicado. Na produção animal, tem seu uso atribuído para o uso profilático, e também como aditivo na alimentação animal (NETO & ALMEIDA, 2006).

Antimicrobianos são usados como aditivos na ração animal visando basicamente quatro objetivos: (1) aumentar a produtividade; (2) diminuir a mortalidade; (3) prevenir infecções e (4) conservação da ração (FAO, 2018). A sua ação na alimentação animal se dá, principalmente, no intestino melhorando a eficiência alimentar (DIBNER & RICHARDS, 2005).

Dentre os antimicrobianos usados com maior frequência como promotor de crescimento estão: avilamicina, tilosina, virginamicina, lincomicina, colistina, flavomicina, bacitracina, e enramicina. Que são usados em rações para frango de corte, suínos, bovinos no intuito de favorecer o crescimento, desenvolvimento ou têm seu uso atribuído a fases específicas do animal como postura para galinhas poedeiras, lactação para vacas leiteiras ou desmame em suínos em fase inicial (PALERMO NETO, 2005).

Esses antimicrobianos também são usados como profiláticos, no controle de doenças de interesses zootécnicos dentre elas doenças como a mastite que afeta animais que atuam na produção leiteira, como cabras e vacas, além de tratar outras doenças ocasionadas por ataque de bactérias e fungos em diversas espécies animais, dentre elas peixes, frangos caprinos, ovinos, bovinos e outros. Gentamicina, amoxicilina, apramicina, oxitetraclina dentre outros

estão entre os antimicrobianos mais usados com a finalidade terapêutica na produção animal (PALERMO NETO, 2005). Devido ao uso descontrolado e/ou mau usos desses antimicrobianos foram detectados fatores de resistência para diversos tipos bacterianos o que ocasionou um sério problema de saúde pública, levando a proibição de algumas dessas substâncias para uso como promotor de crescimento e também para fins terapêuticos em diversos países, inclusive no Brasil, pelo órgão regulamentador ANVISA.

## **2.2. Resistência e modulação de bactérias aos antibióticos**

Os antibióticos são compostos químicos que possuem origem natural e/ou sintética são usados no tratamento de infecções causadas por bactérias patogênicas em humanos e animais e tem como propriedade não gerar danos ao hospedeiro (GUIMARÃES et al., 2010; BOUKI; VENIERI; DIAMADOPOULOS, 2013). Para que um antibiótico seja considerado como eficaz é necessário que ele seja aplicado em concentração suficiente, no local da infecção, consiga atravessar ativa ou passivamente a parede celular do alvo a ser inibido, possuir afinidade pelo sítio de ligação no interior bacteriano e ser capaz de permanecer o tempo suficiente para exercer seu efeito inibitório (ANVISA, 2011; PANKEY & SABATH, 2013). De modo geral, a ação dos antibióticos é direcionada a alvos particulares nos microrganismos tais como: a inibição da síntese da parede celular, a inibição da síntese proteica, a inibição de ácidos nucleicos e a alteração da permeabilidade celular (TORTORA et al., 2005).

A resistência bacteriana é um sério problema por acometer inúmeras perdas na agropecuária, através dos resíduos deixados na carne e leite animal que são usados para consumo humano, anualmente milhões de litros de leite e quantidades significativas de animais são descartados pelos produtores, em decorrência dessa problemática (FAO, 2018). A resistência torna-se ainda mais preocupante em decorrência do desenvolvimento acelerado de determinadas bactérias patogênicas, quando comparadas com a capacidade da indústria de produzir novas drogas, tornando escassa a terapêutica antimicrobiana que é convencionalmente aplicada (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Ela é caracterizada pela capacidade de um organismo de resistir a um agente quimioterápico ao qual este é, normalmente, sensível (MADIGAN et al., 2004). Um organismo também pode ser multirresistente quando ele possui resistência a duas ou mais classes de antibióticos (MALLIK et al., 2013). O desenvolvimento da resistência bacteriana é

uma maneira da bactéria manter sua perpetuação frente à pressão seletiva provocada pelo uso dos antimicrobianos. (OLIVEIRA et al., 2014).

O principal fator para o desencadeamento da resistência aos antibióticos é seu uso irracional, seja pela descontinuidade do tratamento das infecções, falta de orientação profissional e o uso em casos desnecessários (FERREIRA & TERRA JÚNIOR, 2018). Outro fator de surgimento das bactérias resistentes está associado aos antibióticos administrados na agropecuária anualmente em animais, correspondendo a 75% de toda a fração de medicamentos consumidos em alguns países, influenciando diretamente a microbiota ambiental (BARTLETT; GILBERT & SPELLBERG, 2013).

Quanto à classificação da resistência bacteriana ela pode ser do tipo: intrínseca ou natural e adquirida. A resistência intrínseca ou natural é aquela em que os genes de resistência fazem parte do material genético do organismo, sem que ocorra uma exposição prévia ao antibiótico, pode ocorrer por meio de mutações em genes cromossômicos e transferência horizontal de genes (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016; BOSCARIOL, 2013; BLAIR et al., 2015), já a resistência adquirida refere-se a aquisição de genes de resistência através de mutações provenientes da interação antibiótico-microrganismo (BOSCARIOL, 2013).

Dentre os microrganismos considerados resistentes destacam-se com maior frequência as bactérias Gram negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus* (QIAO et al., 2017). Estes microrganismos estão em frequente associação a diversas infecções hospitalares e veterinárias, ambos possuem resistência a uma ampla distribuição de antibióticos, com resistência comprovada a mais de duas classes (BAUM & MARRE, 2005; SCHINDLER; JACINTO & KAATZ, 2013; PANG et al., 2019).

*Escherichia coli* pertence à família Enterobacteriaceae são bastonetes Gram negativos, móveis, anaeróbios facultativos e não formam esporos (BERG, 1996). Esse microrganismo está associado a uma variedade de doenças incluindo sepse, infecções urinárias, meningite e gastroenterite (MURRAY & PFALLER, 2006). A patogenicidade por *Escherichia coli* destaca-se como um dos principais agentes responsáveis por perdas econômicas na indústria avícola, além de estar associada a mastites e abscessos no sistema nervoso central de caprinos, ovinos e bovinos (ITO, et al., 2007; GRAÇA et al., 2016). As cepas patogênicas de *E. coli* são agrupadas em duas categorias, conforme o tipo de doença que podem causar: patogênicas intestinais (diarreio-gênicas) e patogênicas extraintestinais. É

cada vez mais frequente a detecção de *E. coli* multirresistentes, no trato gastrointestinal essas bactérias do tipo comensal podem transferir os seus genes de resistência para diversas outras bactérias, incluindo patogênicas, especialmente quando expostas a agentes antimicrobianos (MELO et al., 2015).

*Pseudomonas aeruginosa* pertence à família Pseudomonadaceae e ao gênero Pseudomonas (ÖZEN & USSERY, 2012). É um bacilo Gram negativo, aeróbio estrito, não forma esporos, pode ser encontrado isolado, aos pares ou em pequenas cadeias (STARADUMSKYTE & ALGIMANTAS, 2014). Está frequentemente implicado em diversos tipos de infecções veterinárias e humanas e é a principal causa de infecção hospitalar dentre os bacilos Gram negativos, é também uma das principais causas de doenças como otite, mastite, endometrite, pneumonia hemorrágica e infecções do trato urinário em rebanhos (KIDD et al., 2011 ; POONSUK e CHUANCHUEN, 2012 ; SALOMONSEN et al., 2013; PANG et al., 2019). *Pseudomonas aeruginosa* apresenta resistência intrínseca a vários antimicrobianos e pode adquirir mecanismos de resistência adicionais devido a eventos de mutações cromossômicas e essa resistência pode ser propagada de geração em geração (MELETIS et al., 2012; ALHAZMI, 2015).

*Staphylococcus aureus* pertence à família Micrococcaceae, são cocos Gram positivos, anaeróbicas facultativas, podem ser encontradas isoladas, em pares ou formando grupos irregulares e são constituintes da microbiota normal da pele e da mucosa humana (LINDSAY; HOLDEN, 2004; TRABULSI & ALTHERTHUM 2005). É um importante patógeno de ruminantes, e é considerado um dos patógenos zoonóticos mais versáteis e devastadores, responsável por causar surtos generalizados de infecção grave, intoxicação alimentar, colonização, mastite animal e pneumonia. Além de causar uma série de infecções em animais, como abortos em ovelhas, estafilococose em coelhos, complexo de pneumonia e osteomielite em aves domésticas (HAMED, 2018).

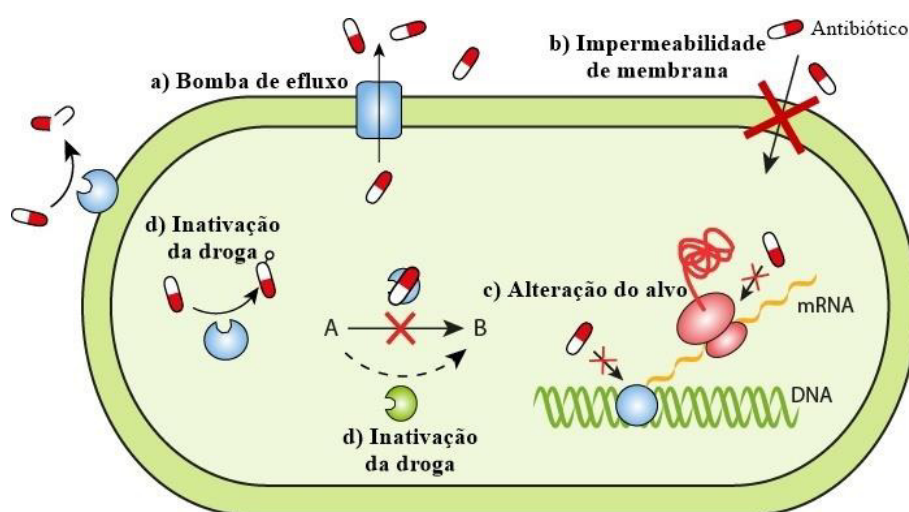
As doenças que são provocadas por *S. aureus* podem ser em decorrência da invasão direta dos tecidos quando ocorre o comprometimento das barreiras naturais de defesa, através de uma bacteremia primária ou decorrentes das toxinas por ele produzidas (BRAUNWALD et al., 2002; LINDSAY; HOLDEN, 2004; SANTOS et al., 2007). *S. aureus* possui uma capacidade acentuada de adquirir resistência antimicrobiana, por meio da transmissão horizontal e aquisição de genes provindos de fontes externas (BARTOLOMEU et al., 2016).

Na busca por novas alternativas para o tratamento de infecções por microrganismos resistentes, estudos têm apostado no uso da modulação e do sinergismo de produtos naturais com antibióticos, que visa potencializar o efeito da droga sem utilizá-la em quantidades que caracterizariam a resistência (KOVÁČ et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016; SANTOS et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020; FREITAS, C. et al., 2020). A modulação atua no uso de um determinado composto que tem a capacidade de modificar a ação do antibiótico frente aos microrganismos testados, porém essa atividade modulatória vai depender de características presentes na substância testada e no microrganismo teste (Gram positivo ou Gram negativo), que variam desde composição da membrana até atuação de mecanismos específicos de resistência bacteriana (FREITAS, T. et al., 2020).

O sinergismo ocorre quando dois ou mais compostos são capazes de interagir e a resposta dessa interação é o aumento, potenciação ou amplificação do efeito esperado (NCUBE; FINNIE; VAN STADEN, 2012). Já foram verificados que as ações sinérgicas exibidas por compostos bioativos combinados com antibióticos podem retardar ou mesmo reverter a evolução da resistência em bactérias (AYAZ et al., 2019).

### 2.3. Mecanismos de resistência aos antibióticos

Existem quatro tipos de mecanismos (figura 2) que podem ocasionar a resistência adquirida aos antibióticos são eles: inativação da droga; alteração do alvo; bomba de efluxo e impermeabilidade de membranas (SCHINDLER et al, 2013).



**Figura 1:** Mecanismos de resistência das bactérias aos antibióticos (ADAPTADO DE REACTGROUP.ORG). a| bomba de efluxo: são capazes de secretar o antibiótico da célula através de divisão celular (retângulo azul); b| Impermeabilidade de membrana: Algumas

bactérias são intrinsecamente resistentes a certos antibióticos simplesmente porque têm uma membrana impermeável; c| Alteração do alvo: se dão pela modificação da proteína alvo e os alvos dessa alteração incluem as mutações na girase (esfera azul); d| Inativação da droga: a inativação pode ocorrer por modificação covalente do antibiótico, como aquela catalisada por acetiltransferases (esfera côncava verde) que agem sobre antibióticos aminoglicosídeos, ou por degradação do antibiótico, como aquela catalisada por  $\beta$ -lactamases (esfera côncava azul) agindo sobre antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. Ac, grupo acetil.

O mecanismo que resulta na inativação da droga é mediado através de ação enzimática e consiste no mecanismo de resistência de maior importância, tem como exemplo a ação de enzimas do tipo  $\beta$ -lactamases e aminoglicosídeos quinases (CAUMO et al., 2010). Essas enzimas são produzidas pela bactéria e têm por finalidade inativar e degradar o antibiótico através dos mecanismos de hidrólise, transferência de um grupo ou processo redox. Os grupos ésteres e amidas que fazem parte da estrutura dos antibióticos são susceptíveis as hidrolises que atuam quebrando as ligações dos grupos pela ação enzimática (DZIDIC; SUSKOVIC & KOS, 2007). O mecanismo de transferência de grupos realça as enzimas transferases e o processo redox ocorre oxidação ou redução induzida pela bactéria patogênica (WRIGHT, 2003; DZIDIC; SUSKOVIC & KOS, 2007).

O segundo tipo de mecanismo de resistência é alteração do alvo ou dos sítios-alvo da droga. É conhecido como um dos mecanismos de resistência mais específicos, pois ele impede as ligações sítios-alvo, resultando na incapacidade de penetração do antibiótico na superfície das células bacterianas, e conseqüentemente qualquer efeito inibitório ou bactericida (CAUMO et al., 2010). Ocorre por alteração da estrutura do peptidoglicano, interferência na síntese de proteínas ou na síntese de DNA (RICE & BONOMO, 2005).

As bombas de efluxo são proteínas de membrana ativamente responsáveis pelo transporte de muitos antibióticos para fora da célula. Esse mecanismo de resistência ocorre através de um transporte ativo dos antibióticos do meio intracelular para o meio extracelular impedindo que o antibiótico se concentre no interior da célula, esse mecanismo afeta todas as classes de antibióticos (DZIDIC, SUSKOVIC, & KOS, 2007; GONÇALVES, 2010; BLAIR et al., 2015).

E por último o mecanismo de resistência conhecido por impermeabilidade de membranas ou alteração da permeabilidade. As espécies Gram-negativas são intrinsecamente menos permeáveis a muitos antibióticos, quando comparadas com as espécies Gram-positivas (KOJIMA & NIKAIDO, 2013), isto porque as estruturas que compõem a membrana interna das bactérias Gram-negativas são constituídas por fosfolipídios e a membrana externa por



lipídeos. Esta constituição provoca uma lenta penetração do fármaco e a passagem pela membrana externa é realizada através das porinas, que formam canais hidrofílicos (DZIDIC, SUSKOVIC, & KOS, 2007). E para exercer a sua função os antibióticos hidrofílicos atravessam a membrana externa por difusão, através das porinas e esse mecanismo de resistência consiste na diminuição das porinas ou na substituição das existentes por porinas mais seletivas (WOZNIAK & WALDOR, 2010).

#### **2.4. Resistência anti-helmíntica**

Um grave problema econômico na produção animal é a resistência aos anti-helmínticos que vem ocorrendo de maneira generalizada em parasitas de ovinos, caprinos e bovinos. Essa resistência consiste na capacidade natural de espécies de nematóides gastrintestinais em tolerar uma dose de anti-helmínticos que seria eficaz para a maioria dos indivíduos de uma população sensível, sendo resultado de seleção natural após exposição de uma população de parasitos ao fármaco (VADLEJCH et al., 2014). Existem basicamente três tipos de resistência anti-helmíntica: A lateral quando ocorre entre produtos do mesmo grupo químico; resistência anti-helmíntica cruzada quando ocorre entre duas drogas de grupos diferentes e a resistência anti-helmíntica múltipla que ocorre quando o parasito é resistente a mais de duas bases farmacológicas (MOLENTO et al., 2011).

Além do uso inadequado e exacerbado dos anti-helmínticos, algumas práticas de manejo também são responsáveis por causar essa resistência como a utilização prolongada do mesmo grupo de anti-helmínticos; alta frequência de tratamentos; a rápida rotação de princípios ativos e dosagens inadequadas; além de tratamentos sistemáticos do rebanho sem prévio exame diagnóstico; tratamento durante o período da seca; aquisição de animais com helmintos resistentes sem realização de quarentena, nem tratamento prévio eficiente. A realização dessas estratégias de manejo é considerada como medidas que podem ser utilizadas para o desenvolvimento de protocolos de tratamentos anti-helmínticos (TORRES-ACOSTA & HOSTE, 2008; NICIURA et al., 2012; VADLEJCH et al., 2014; JACKSON et al., 2012).

O diagnóstico dessa resistência se dá por diversos testes dentre eles: 1) testes *in vivo*: Foi um dos primeiros testes desenvolvidos no intuito de avaliar a eficácia anti-helmíntica e ele resulta em uma estimativa por comparação da contagem de ovos eliminados nas fezes (OPG) em animais tratados e não tratados, ou apenas um grupo, antes e após o tratamento. Neste teste as populações de nematóides são consideradas resistentes quando a eficácia for menor que 95% (CABARET; BERRAG, 2004). 2) Testes *in vitro*: que inclui o teste de eclosão de

ovos (TEO) que consiste na incubação dos ovos dos nematóides na presença de uma série de concentrações de tiabendazol por 24-48 horas seguido de quantificação dos ovos e larvas de primeiro estágio (COLES et al., 2006); teste de desenvolvimento larvar (TDL) está baseado na capacidade de alguns anti-helmínticos em impedir o desenvolvimento de larvas e o teste de migração e motilidade larvar (TML) que baseia-se na paralisia muscular como efeito farmacológico nos nematoides visualizada por meio de redução da migração através de uma barreira permeável (FORTES et al., 2013). 3) Diagnóstico molecular: pela resistência ser um fenômeno hereditário que resulta em alterações genéticas que são responsáveis pelo fenótipo de resistência é possível o desenvolvimento de técnicas moleculares para identificar a resistência precocemente com o objetivo de promover mudanças no controle e traçar um panorama mundial da resistência (MORTIER; PRICHARD, 2008, PAPADOPOULOS, 2008).

## **2.5. *Haemonchus contortus* e impactos na ovinocaprinocultura**

A criação de pequenos ruminantes, seja para abate, puro sangue ou produção de leite, destaca-se pela sua produtividade e por sua habilidade adaptativa, sendo uma das culturas mais comuns na região Nordeste, é uma atividade de grande importância econômica e social por ser capaz de gerar ganhos para populações de baixa renda, especificamente de regiões áridas e semiáridas do Brasil (FERREIRA et al., 2019), no Brasil a maioria dos rebanhos de pequenos ruminantes é criada de forma semiextensiva e esse tipo de criação está susceptível à incidência biológica e econômica que são provocadas pelo estabelecimento de infecções parasitárias por nematóides gastrointestinais que se configuram como o principal causador da maioria das doenças de ovinos e caprinos (COSTA et al., 2009; RODRIGUEZ et al., 2015).

Dentre os nematóides gastrointestinais que são responsáveis por causar diversas doenças parasitárias em pequenos ruminantes destaca-se *Haemonchus contortus*, pela crescente mortalidade registrada nesses animais em decorrência da infecção (EMERY et al., 2016). *Haemonchus contortus* é uma espécie hematófaga pertencente ao filo Nematoda, ordem Strongylida, habita em sua fase adulta o abomaso de seus hospedeiros, que são ruminantes de pequeno e médio porte (SANTOS et al., 2016). Durante seu desenvolvimento passam por diversas fases e morfologicamente se apresenta nas fases de ovo, larva e adulto. O indivíduo adulto possuem de 2-3 cm de comprimento, machos e fêmeas são diferenciados pela presença de ovários em espirais na cor branca que são envoltos pelo intestino nas fêmeas

e microscopicamente a fêmea possui um apêndice vulvar e o macho um lobo dorsal assimétrico e espicula com ganchos (URQUHART; ACEDO, 2001).

A patogenia de *Haemonchus contortus* é conhecida como Hemoncose que dentre os principais sintomas provocados destacam-se: anemia severa, dificuldade respiratória, perda de peso, fraqueza, aparecimento de edema mandibular, redução na eficiência reprodutiva e, conseqüentemente a morte do animal (CARVALHO, 2011; YUKI, 2012). E a hemoncose afeta economicamente a ovinocaprinocultura, pois seus malefícios ocasiona uma queda da produção de leite e carne, causa um retardamento do crescimento animal, aumento dos gastos com custos para o controle do parasita e manutenção dos animais, o produtor também perde com a morte dos animais e a baixa fertilidade dos rebanhos de produção (VIEIRA, 1999; COUTINHO et al., 2015).

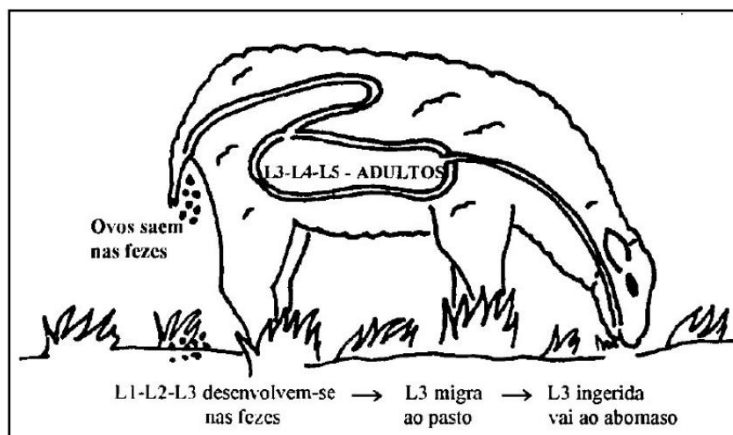
O controle desse parasita tem se dado através do uso de anti-helmínticos, porém o uso inadequado dessas drogas tem se tornado uma preocupação de saúde pública, devido à aquisição de resistência desses parasitas por certas drogas (REINIGER et al., 2017). A grande problemática da resistência anti-helmíntica é que a aplicação de anti-helmínticos deixa resíduos nas propriedades, nas carcaças de animais e acabam por interferir nos lucros dos produtores e na saúde do consumidor (VAN WYR et al., 2006).

Devido à necessidade de tornar os sistemas de produção mais eficientes e sustentáveis, diminuindo a resistência anti-helmíntica, é que tem se buscado métodos alternativos para o controle desses parasitas (ZAROS et al., 2014).

### **2.5.1. Ciclo biológico**

O parasita possui um ciclo de vida direto (Figura 3), ou seja, sem a necessidade de um hospedeiro intermediário, com duas fases: uma de vida livre, no ambiente e outra parasitária (SANTOS et al., 2014). As fêmeas e os machos estão localizados no abomaso, onde realizam a cópula. As fêmeas são ovíparas e liberam seus ovos no interior do abomaso, sendo excretados posteriormente junto com as fezes dando início a fase de vida livre. Os ovos no ambiente, junto às fezes passam por transformações e sob condições favoráveis de temperatura e umidade eclodem dando origem a larva de primeiro estágio (L1), que se alimenta de bactérias presentes no ambiente e em 24-27h se desenvolvem em larvas de segundo estágio (L2), e posteriormente evoluem para a terceira fase larval (L3) também

conhecida como a fase infectante (FORTES, 2004; CLIMENI et al., 2008; KUMARASINGHA et al., 2016).



**Figura 2:** Ciclo de vida de *Haemonchus contortus* (GIRÃO et al., 1998).

As larvas L3 tem a capacidade de migrar para fora da massa fecal e ficam dispostas em plantas forrageiras, estas plantas servem de alimento para muitos animais, que acabam por ingerir as plantas contaminadas com o parasita em sua fase infectante dando inicio a fase parasitária do ciclo biológico (SILVA et al., 2008; SANTOS et al., 2012). Após ser ingerida a L3 perde a cutícula no abomaso e passa para o quarto estágio (L4), onde se inicia o consumo de sangue, e logo após passam para o último estágio a fase adulta (L5), em que os machos e fêmeas copulam e chegam a produzir entre 5000 a 15000 ovos, dando inicio a um novo ciclo (SANTOS et al., 2014a; EMERY et al., 2016).

## 2.6. Lectinas vegetais

O primeiro estudo com lectinas vegetais data do ano de 1888, em um trabalho de Peter Herrman Stillmark, sobre a toxicidade de extratos de *Ricinus communis* (mamona) que foram capazes de aglutinar eritrócitos, neste trabalho Stillmark descreveu à presença de uma proteína extraída, a ricina (KENNEDY et al., 1995; SHARON; LIS, 2004). A capacidade de aglutinar eritrócitos além de ser observada em extratos de ricina, foi observada também através dos extratos tóxicos de *Abrus precatorius*, que tem a abrina como proteína caracterizada (JUAN et al., 2017).

Anos depois diversas outras substâncias aglutinantes tóxicas e não tóxicas foram caracterizadas através de outras espécies vegetais, e somente após a descoberta que essas hemaglutininas são capazes de distinguirem entre os tipos sanguíneos é que passaram a

nomeá-las lectinas, do Latim, *legere* que significa selecionar ou escolher o que se refere à habilidade dessas proteínas de ligarem-se seletivamente aos carboidratos (PAIVA et al., 2013). Anos mais tarde o termo lectina foi usado para definir proteínas ou glicoproteínas de origem não imune capaz de reconhecer e se ligar reversivelmente a carboidratos específicos sem alterar suas estruturas químicas (PEUMANS; VAN DAMME, 1995).

As lectinas vegetais estão presente em diferentes tecidos vegetativos, desde cerne (SÁ et al., 2008), cascas (COSTA et al., 2018), folhas (GOMES et al., 2013), grãos de pólen, raízes (KUKU et al., 2009) frutos (RATAPANO et al., 2001), caules, rizomas (BISWAS; CHATTOPADHYAYA, 2015) e flores (CHOLAK et al., 2016). Mas em sua grande maioria são encontradas em cotilédones e endospermas das sementes que chegam a constituir de 0,1% a 5% do total de proteínas nestes tecidos (DIAZ et al., 2015).

Nas plantas, acredita-se que as lectinas atuam transportando e armazenando carboidratos (NAKAMURA et al., 2002), realizando uma ligação entre bactérias fixadoras de nitrogênio à raiz das plantas, sejam responsáveis por inibir o crescimento fúngico, além de atuarem na proteção das plantas contra ataques de insetos (WANG et al., 2000; VANDENBORRE; SMAGGHE; VAN DAMME, 2011).

Lectinas apresentam uma grande variedade estrutural, mas em paridade possuem a presença de ao menos um sítio específico de ligação a carboidratos, que corresponde ao chamado domínio de reconhecimento de carboidrato – CDR (LAM; NG, 2011; CARVALHO et al., 2018). Devido a essas habilidades de reconhecimento e especificidade de ligação de maneira reversível aos carboidratos é que lectinas vegetais estão divididas em quatro grupos principais, são eles: merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas (PEUMANS; VAN DAMME, 1998).

As merolectinas têm como característica a presença de apenas um domínio para ligação a carboidratos, são monovalentes e devido a essa característica são incapazes de aglutinar células. A lectina mais conhecida desse grupo é a Viena, extraída a partir do látex de *Hevea brasiliensis* (VAN PARIJS et al., 1991). O grupo Hololectinas possui dois ou mais domínios idênticos de ligação a carboidratos, e podem aglutinar células. A maioria das lectinas de plantas pertence a esse grupo (PEUMANS; VAN DAMME, 1998). Quimerolectinas são proteínas com um ou mais domínios de ligação a carboidratos e um domínio não relacionado. A lectina PPL é um exemplo de quimerolectina, extraída de

sementes de *Parkia platycephala* (CAVADA et al., 2006). Superlectinas consistem de pelo menos dois domínios de ligação a açúcares diferentes (PEUMANS; VANDAMME, 1998).

### 2.6.1. Lectinas de leguminosas e aplicações biotecnológicas mais recentes

Dentre várias lectinas do reino vegetal, as mais estudadas provém da família *Leguminosae*, além de possuírem o maior número de estudos são as que possuem o maior número de lectinas purificadas e caracterizadas (MISHRA et al., 2019; SHARON; LIS, 2004; VAN DAMME, 2014). Lectinas de leguminosas apresentam alta homologia de estrutura primária e terciária, porém apresentam diferentes propriedades biológicas quando aplicadas em ensaios experimentais, o que se faz necessário o estudo de cada lectina de forma isolada para que o potencial biotecnológico de cada molécula seja determinado (COELHO et al., 2017).

Dentre as várias atividades biológicas descritas de lectinas destacam-se o uso como antibacteriana e anti-helmíntica, nos últimos anos têm sido realizados estudos com lectinas vegetais, no intuito de comprovar sua eficácia em um possível tratamento contra bactérias patogênicas e nematoides gastrointestinais (BATISTA et al., 2018; SANTOS et al., 2019).

**Tabela 1:** Atividades antibacteriana e anti-helmíntica de lectinas de espécies vegetais

Atividade Biológica	Espécie vegetal	Lectina	Referência
Antibacteriana	<i>Vatairea macrocarpa</i>	VML	SANTOS et al., 2019
	<i>Apuleia leiocarpa</i>	ApulSL	CARVALHO et al., 2015
	<i>Tamarindus indica</i>	EMtL	OSMAN et al., 2016
	<i>Bauhinia variegata</i>	BvvL	KLAFKE et al., 2013; KLAFKE et al., 2016
Anti-helmíntica	<i>Phaseolus vulgari</i>	PHA-1	RÍOS-DE ÁLVAREZ et al., 2012
	<i>Canavalia ensiformis</i>	ConA	
	<i>Triticum vulgare;</i>	WGA	
	<i>Canavalia brasiliensis</i>	ConBr	BATISTA et al., 2018
	<i>Moringa oleifera</i>	CMoL	MEDEIROS et al., 2018

As lectinas podem apresentar atividade antibacteriana através de vários mecanismos, dentre eles, o bloqueio dos seus movimentos (DAMICO, 2002), através da capacidade da lectina de reconhecer carboidratos presentes nas células bacterianas que pode ocasionar a alteração da estrutura da bactéria e na permeabilidade de sua membrana o que leva à inibição do crescimento do microrganismo e até mesmo sua morte (GAIDAMASH; STADEN, 2002). E o efeito anti-helmíntico da lectina é conferido pelo local de ligação dos carboidratos que essas proteínas possuem, além da interação com resíduos de carboidratos no núcleo de glicanos presentes nos parasitas (BATISTA et al., 2018).

### **2.6.2. Aspectos gerais da *Parkia platycephala* e da lectina PPL**

*Parkia platycephala* comumente conhecida por “fava de bolota”, “visgueira” ou “faveira” é uma espécie pertencente à família Leguminosae e subfamília Mimosoideae, de ocorrência nos domínios da Amazônia, Caatinga e Cerrado das regiões Norte e Nordeste do Brasil (FORZZA et al., 2010). É uma espécie vegetativa de grande porte, chegando a atingir de 8 a 18 metros de altura, seu tronco é curto e cilíndrico e possui uma inflorescência (Figura 1 A) característica que é disposta em capítulos globosos sobre pedúnculo pendentes (LORENZI, 2002). Os frutos são classificados como legumes indeiscentes (Figura 1 B/C), geralmente são produzidos durante a estação seca, entre os meses de agosto a outubro (BULHÃO; FIGUEIREDO, 2002).

A espécie possui potencial madeiro e também é utilizada na integração de sistemas de atividades agrícolas, florestais e pastoris não só por sua plasticidade e rápido crescimento, mas também por seus frutos (vagens), que é uma excelente fonte de alimento para ruminantes quando maduros (ALVES et al., 2007).



**Figura 3:** Partes vegetativas de *Parkia platycephala* (A) Inflorescência; (B) frutos imaturos; (C) sementes maduras. Fonte: Própria do autor.

As lectinas do gênero *Parkia* têm sido bastante estudadas nos últimos anos, isso devido a grande diversidade de espécies presente no gênero. Em geral, estas lectinas possuem especificidade de ligação a manose/glicose e possuem em comum algumas propriedades bioquímicas e biofísicas, como conformação dimérica ou heterotetramérica (CAVADA et al., 1997; CAVADA et al., 2000; OGUNTIBEJU, 2014).

A lectina de *Parkia platycephala*, denominada PPL, foi a primeira do seu gênero a ter sua sequência de aminoácidos elucidada, onde sua estrutura primária é composta por 447 resíduos de aminoácidos (MANN et al., 2001). E a análise tridimensional demonstrou que sua estrutura monomérica é formada por três domínios  $\beta$ -prisma, onde cada um possui um CDR diferente (DEL SOL et al., 2005).

Em atividades biológicas, PPL já teve seu efeito descrito em atividade antinociceptiva em testes de contorções induzidas por ácido acético e também teve efeito antiinflamatório descrito (BARI et al., 2016). LEITE e colaboradores (2020) também comprovaram a atividade antinociceptiva orofacial da PPL e atestaram que a atividade está relacionada à interação da PPL com os glicanos presentes no receptor TRPV1. A interação com glicanos na superfície celular é uma das possíveis responsáveis pelas inúmeras atividades biológicas, descritas ou não, das lectinas entre elas a atuação como antiparasitária e antibacteriana (CAVADA et al., 2020).



### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar a capacidade da lectina de *Parkia platycephala* (PPL) em inibir o desenvolvimento de *Haemonchus contortus* em ruminantes e modular a atividade antibiótica da gentamicina contra cepas multirresistentes de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*;

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Purificar a lectina PPL;
- Realizar a atividade hemaglutinante;
- Determinar a concentração inibitória mínima;
- Avaliar o efeito modulador da PPL no antibiótico gentamicina frente às cepas bacterianas multirresistentes;
- Avaliar o efeito da PPL na eclodibilidade de ovos, desembainhamento e desenvolvimento de *H. contortus*.

## REFERÊNCIAS

- ALEMU, G.; ALMAW, G.; ABERA, M. Incidence rate of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in subclinical mastitis at smallholder dairy cattle farms in Hawassa, Ethiopia. **African Journal of Microbiology Research**, 8:252-256.
- ALHAZMI, ALAA. *Pseudomonas aeruginosa*-Pathogenesis and Pathogenic mechanisms. **International Journal of Biology**, v. 7, n. 2, p. 44, 2015.
- ALVES, A.A., SALES, R.O., NEIVA, J.N.M., MEDEIROS, A.N., BRAGA, A.P., & AZEVEDO, A.R. (2007). Degradabilidade ruminal in situ de vagens de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) em diferentes tamanhos de partículas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 59(4), 1045-1051.
- ALVES, A.A., VENDAS, R.O., NEIVA, J.N., MEDEIROS, A.N., BRAGA, A.P., AZEVEDO, A.R. Degradabilidade ruminal in situ de vagens de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) em diferentes tamanhos de partículas. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2007; 59 (4): 1045-1051.
- ANVISA, 2011 - **Medidas de Prevenção e controle da Resistência Microbiana e Programa de uso Racional de Antimicrobianos em Serviços de Saúde** - [http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/inicio.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/inicio.htm).
- ARAÚJO, R. S., BARBOSA-FILHO, J. M., SCOTTI, M. T., SCOTTI, L., DA CRUZ, R. M., FALCÃO-SILVA, V., DE SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P., & MENDONÇA-JUNIOR, F. J. (2016). Modulation of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus* with Coumarin Derivatives. **Scientifica**, 2016, 6894758.
- AYAZ, M., ULLAH, F., SADIQ, A., ULLAH, F., OVAIS, M., AHMED, J., & DEVKOTA, H. P. (2019). Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. **Chemico-biological interactions**, 308, 294–303.
- BARI, A. U.; SANTIAGO, M.Q.; OSTERNE, V.J.; PINTO-JUNIOR, V.R.; PEREIRA, L.P.; SILVA-FILHO, J.C.; DEBRAY, H.; ROCHA, B.A.; DELATORRE, P.; TEIXEIRA, C.S.; NETO, C.C.; ASSREUY, A.M.; NASCIMENTO, K.S.; CAVADA, B.S. Lectins from *Parkia biglobosa* and *Parkia platycephala*: A comparative study of structure and biological effects. **International Journal of Biological Macromolecules**. 2016 Nov; 92:194-201.
- BARTLETT, J.G.; GILBERT, D.N.; SPELLBERG, B. Seven Ways to Preserve the Miracle of Antibiotics. **Clinical Infectious Diseases**. 2013; 56(10):1445-1450.doi:10.1093/cid/cit070.
- BARTOLOMEU, M.; ROCHA, S.; CUNHA, Â.; NEVES, M. G. P. M. S.; FAUSTINO, M. A.; ALMEIDA, A. Effect of photodynamic therapy on the virulence factors of *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 267, p.1-11, 2016.
- BATISTA, K.L.R.; SILVA, C.R.; SANTOS, V.F.; SILVA, R.C.; ROMA, R.R.; SANTOS, A.L.E.; PEREIRA, R.O.; DELATORRE, P.; ROCHA, B.A.M.; SOARES, A.M.S.; COSTA-JÚNIOR, L.M.; TEIXEIRA, C.S.; Structural analysis and anthelmintic activity of *Canavalia brasiliensis* lectin reveal molecular correlation between the carbohydrate recognition domain and glycans of *Haemonchus contortus*, **Molecular and Biochemical Parasitology**. 225 (2018) 67–72.

- BAUM, H. V.; MARRE, R. Antimicrobial resitence of *Escherichia coli* and therapeutic implications. **International Journal of Mediacal Microbiology**, 295. 503-511, 2005.
- BERG, R. D. The indigenous gastrointestinal microflora. **Trends in microbiology**, v.4, n. 11, p. 430-435, 1996.
- BISWAS, H.; CHATTOPADHYAYA, R. Stability of *Curcuma longa* rhizome lectin: Role of N-linked glycosylation. **Glycobiology**, v. 26, n. 4, p. 410-426, 2015.
- BLAIR, J. M. et al. Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Nature**, v. 13, p. 42- 51, 2015.
- BOULI, C. B.; VENIERI, D.; DIAMADOPOULOS, E. Detection and fate of antibiotic resistant bactéria in wastewater treatment plants: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.91, p.1-9, 2013.
- BRAUNWALD, E. et al. **Harrison Medicina Interna**. 15. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2002.
- BULHÃO, C. F.; PAULO S. FIGUEIREDO, P. S. Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no nordeste do Maranhão. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 361-369, 2002.
- CABARET, J.; BERRAG, B. Faecal egg count reduction test for assessing anthelmintic efficacy: average versus individually based estimations. **Veterinary parasitology**, v. 121, p. 105-113, 2004.
- CARVALHO, A., DA SILVA, M. V., GOMES, F. S., PAIVA, P. M., MALAFAIA, C. B., DA SILVA, T. D., VAZ, A. F., DA SILVA, A. G., ARRUDA, I. R., NAPOLEÃO, T. H., CARNEIRO-DA-CUNHA, M. D., & CORREIA, M. T. (2015). Purification, characterization and antibacterial potential of a lectin isolated from *Apuleia leiocarpa* seeds. **International journal of biological macromolecules**, 75, 402–408.
- CARVALHO, C. O. **Eficácia de extratos vegetais em nematódeos parasitas: avaliação in vitro em *Haemonchus contortus* e avaliação in vivo em *Strongyloides venezuelensis***. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2011.
- CARVALHO, E. V. M. M. et al. Lectins as mitosis stimulating factors: Briefly reviewed. **Life sciences**, 2018.
- CAUMO, K. Resistência bacteriana no meio ambiente e implicações na clínica hospitalar. **Revista liberato**, v. 11, n. 16, p. 89 – XX, jul/dez. 2010.
- CAVADA, B. S.; MORENO, F. B. B.; ROCHA, B. A. M.; AZEVEDO, W. F.; CASTELLÓN, R. E. R.; GOERSCH, G. V.; NAGANO, C. S.; SOUZA, E. P.; NASCIMENTO, K. S.; RADIS-BAPTISTA, G.; DELATORRE, P.; LEROY, Y.; TOYAMA, M. H.; PINTO, V. P. T.; SAMPAIO, A. H.; BARETTINO, D.; DEBRAY, H.; CALVETE, J. J.; SANZ, L. cDNA cloning and 1.75 Å crystal structure determination of PPL2, na endochitinase and N-acetylglucosamine-binding hemagglutinin from *Parkia platycephala* seeds. **The FEBS jornal**, v.273, n. 17, p. 2962-3974, 2006.

- CAVADA, B.S.; MADEIRA, S.V.F.; CALVETE, J.J.; SOUSA, L.A.G.; BOMFIM, L.R.; DANTAS, A.R.; LOPES, M.C.; GRANGEIRA, T.B.; FREITAS, B.T.; PINTO, V.P.T.; LEITE, K.B.; RAMOS, M.V. Purification chemical and immunochemical properties of a new lectin from mimosoideae (*Parkia discolor*). **Preparative Biochemistry & Biotechnology**. 30 (2000), pp. 271-280.
- CAVADA, B.S.; OSTERNE, V.J.S.; OLIVEIRA, M.V.; PINTO-JUNIOR, V.R.; SILVA, M.T.L.; BARI, A.U.; LIMA, L.D.; LOSSIO, C.F.; NASCIMENTO, K.S. Reviewing Mimosoideae lectins: A group of under explored legume lectins. **International journal of biological macromolecules**. 2020 Jul 1;154:159-165.
- CAVADA, B.S.; SANTOS, C.F.; GRANGEIRO, T.B.; MOREIRA DA SILVA, L.I.M.; CAMPOS, M.J.O.; DE SOUSA, F.A.M.; J.J. Calvete Isolation and partial characterization of a lectin from *Parkia platycephala* Benth seeds. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 3 (1997), pp. 109-115.
- CHAGAS, A. M., SAMPAIO JUNIOR, F. D., PACHECO, A., DA CUNHA, A. B., CRUZ, J., SCOFIELD, A., & GÓES-CAVALCANTE, G. F200Y polymorphism of the  $\beta$ -tubulin isotype 1 gene in *Haemonchus contortus* and sheep flock management practices related to anthelmintic resistance in eastern Amazon. **Veterinary parasitology**, 226, 104–108. (2016).
- CHOLAK, I. S.; ABUDAYEH, Z. H. M.; KARÍUK, U. V.; ABUALASSAL, Q.; HASSOUNEH, L. K. M. A study of lectin activity in buds of *Sophora japonica* L. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 9, p. 1877-1881, 2016.
- CLIMENI, B. S. O. et al. **Hemoncose ovina**. Editora FAEF. São Paulo, ano 11, n.11, jul. 2008.
- COELHO, B. B.; L. C., SILVA, M. S.; OLIVEIRA, P. F; W., DE MOURA, M. C., VIANA PONTUAL, E., SOARES GOMES, F., GUEDES PAIVA, P. M., NAPOLEÃO, T. H., & DOS SANTOS CORREIA, M. T. (2018). Lectins as antimicrobial agents. **Journal of applied microbiology**, 125(5), 1238–1252.
- COELHO, L. C., SILVA, P. M., LIMA, V. L., PONTUAL, E. V., PAIVA, P. M., NAPOLEÃO, T. H., & CORREIA, M. T. (2017). Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/Pharmacological and Therapeutic Applications. **Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM**, [s.l.], v. 2017, p. 1594074, 2017.
- COSTA, R. B., CAMPANA, P. T., CHAMBERGO, F. S., NAPOLEÃO, T. H., PAIVA, P., PEREIRA, H., OLIVA, M., & GOMES, F. S. Purification and characterization of a lectin with refolding ability from *Genipa americana* bark. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 517-523, 2018.
- COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Doenças parasitárias me ruminantes no semi-árido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 563-568, 2009.
- COUTINHO, R. M. A.; BENVENUTI, C. L. ANDRADE-JÚNIOR, A. L. F.; SILVA, F. C.; NEVES, M. R. M.; NAVARRO, A. M. C.; VIEIRA, L. S.; ZAROS, L. G. Phenotypic markers to characterize F2 crossbreed goats infected by gastrointestinal nematodes. **Small Ruminant Research**, v. 123, n. 1, p.173–178, jan. 2015.

DEL SOL, F.G; NAGANO, C.S; CAVADA, B.S; CALVETE, J.J. The first crystal structure of a mimosoideae lectin reveals a novel quaternary arrangement of a widespread domain, **Journal of Molecular Biology**. 353 (2005) 574–583.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n. 4, p. 634-643, 2005.

DIAS, R., MACHADO, L., MIGLIOLO, L., & FRANCO, O. L. Insights into animal and plant lectins with antimicrobial activities. **Molecules**. [s.l.]: V. 20, n.1, pp. 519-541, 2015.

DZIDIC, S., SUSKOVIC, J., KOS, B., (2008). Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Technology Biotechnology**. 46(11), 11-21.

EMERY, D.L., HUNT, P.W., LE JAMBRE, L.F., 2016. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? **International Journal for Parasitology**. 46, 755-769.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS FAO  
Action Plan on AMR in Food and Agriculture.

FERREIRA, J.B., SOTOMAIOR, C.S., BEZERRA, A.C.D.S. et al. Sensitivity and specificity of the FAMACHA© system in tropical hair sheep. **Tropical Animal Health and Production**, 2019.

FERREIRA, R. L.; TERRA JÚNIOR, A. T. Estudo sobre a automedicação, o uso irracional de medicamentos e o papel do farmacêutico na sua prevenção. **Revista Científica Faema**, [s.l.], v. 9, n. p.570-576, 15 jun. 2018.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4 ed. Icone, 696p.2004.

FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E. M.; CARVALHO JR, A. A.; COSTA, A.; COSTA, D. P. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio - Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. 1 v. 871 p.

FREITAS, C., SANTOS, F., DANTAS-JUNIOR, O. M., INÁCIO, V. V., MATIAS, E., QUINTANS-JÚNIOR, L. J., AGUIAR, J., & COUTINHO, H. (2020). Enhancement of antibiotic activity by phytochemicals of *Turnera subulata*. **Natural product research**, 34(16), 2384–2388.

GAIDAMASH, M.; STADEN, J. Interaction of lectin-like proteins of South African medicinal plants with *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, p. 131–135, 2002.

GIRÃO, E. S.; GIRÃO, R. N.; MEDEIROS, L. P. **Verminose em ovinos e seu controle**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 1998. 19 p. (Embrapa Meio-Norte, Circular Técnica,19).

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

GRAÇA, D.L. et al. Patologia do Sistema Nervoso. In: SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. (Eds.). **Patologia Veterinária**. São Paulo: Roca, 2010. p. 525-610.

GUIMARÃES, D. O. ; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**. 2010; 33:667–679.

HAMED, M. I. (2018). Detection of Methicillin-resistant and Biofilm-producing *Staphylococcus aureus* in Bovine Mastitis. **Journal of Advanced Veterinary Research**, 8(4), 95-100.

HERNÁNDEZ-CASTELLANO, L.E., NALLY, J.E., LINDAHL, J. et al. Dairy science and health in the tropics: challenges and opportunities for the next decades. **Tropical Animal Health and Production**. 51, 1009–1017 (2019).

IORDACHE, F.; IONITA, M.; MITREA, L. I.; FAFANEATA, C.; POP, A. Antimicrobial and antiparasitic activity of lectins. **Current Pharmaceutical Biotechnology**. 2015; 16: 152-161.

ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.L.; MIYAJI, S.O. Diagnóstico diferencial das enfermidades bacterianas, fúngicas e parasitárias que acometem os frangos de corte. Cascavel, PR: **Coluna do Saber**, p.160, 2007.

JACKSON, F.; VARADY, M.; BARTLEY, D.J. Managing anthelmintic resistance in goats: can we learn lesson from sheep? **Small Ruminant Research**. v.103, p3-9, 2012.

JUAN, Laura Lavín et al. Pharmaceutical applications of lectins. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 42, p. 126-133, 2017.

KENNEDY, J.F., PAIVA, P.M.G.,CORREIA, M.T.S. CAVALCANTI, M.S.M., COELHO, L.C.B.B.Lectins, versatile proteins of recognition: a review. **Carbohydrate Polymers**, n. 26, p. 219-230, 1995.

KIDD TJ, GIBSON JS, MOSS S, GREER RM, COBBOLD RN, WRIGHT JD ET AL (2011) Clonal complex *Pseudomonas aeruginosa* in horses. **Veterinary Microbiology**. 149:508–512.

KLAFKE, G. B., MOREIRA, G. M., PEREIRA, J. L., OLIVEIRA, P. D., CONCEIÇÃO, F. R., LUND, R. G., GRASSMANN, A. A., DELLAGOSTIN, O. A., & DA SILVA PINTO, L. (2016). Lectin I from *Bauhinia variegata* (BVL-I) expressed by *Pichia pastoris* inhibits initial adhesion of oral bacteria in vitro. **International journal of biological macromolecules**, 93(Pt A), 913–918.

KLAFKE, G., BORSUK, S., GONÇALES, R., ARRUDA, F., CARNEIRO, V., TEIXEIRA, E., COELHO DA SILVA, A., CAVADA, B., DELLAGOSTIN, O. AND PINTO, L. (2013), Inhibition of initial adhesion of oral bacteria through a lectin from *Bauhinia variegata* L. var. *variegata* expressed in *Escherichia coli*. **Journal of applied microbiology**, 115: 1222-1230.

KOJIMA, S.; NIKAIDO, H. Permeation rates of penicillins indicate that *Escherichia coli* porins function principally as nonspecific channels. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 110, 2629–2634, 2013.

- KOTZE, A. C.; PRICHARD, R. K. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*. In: **Advances in Parasitology**. [s.l.] Elsevier, 2016. v. 93p. 397–428.
- KOVAČ J, ŠIMUNOVIĆ K, WU Z, KLANČNIK A, BUCAR F, ZHANG Q, ET AL. (2015) Antibiotic Resistance Modulation and Modes of Action of (-)- $\alpha$ -Pinene in *Campylobacter jejuni*. **PLoS ONE** 10(4): e0122871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122871>
- KUKU, A.; ODEKANYIN, O.; ADENIRAN, K.; ADEWUSI, M.; OLONADE, T. Purification of a manose/glucose – specific lectina with antifungal activity from pepper seeds (*Capsicum annum*). **African Journal of Biochemistry Research**, v.3,n.6,p.272-278,jun.2009.
- KUMAR, KK.; REDDY, G.; REDDY, B.; SHEKAR, P.; SUMANTHI, J. CHANDRA, K. P. Biological role of lectins: A review. **Journal of Orofacial Sciences**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 20, 2012.
- KUMARASINGHA, R.; PRESTON, S.; YEO, T. C.; LIM, D. S. L.; TU, C. L.; PALOMBO, E. A.; SHAW, J. M.; GASSER, R. B.; BOAG, P. R. Anthelmintic activity of selected ethno medicinal plant extracts on parasitic stages of *Haemonchus contortus*. **Parasites & Vectors**, v. 9, p. 187, 2016.
- LAM, S. K. & Ng, T. B. 2010. Lectins: production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 89:45-55.
- LAM, SZE KWAN; N.G, TZI BUN. Lectins: production and practical applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 89, n. 1, p. 45-55, 2011.
- LEITE, G.O., SANTOS, S., BEZERRA, F., SENA E SILVA, F. E., DE CASTRO RIBEIRO, A. D., ROMA, R. R., SILVA, R., SANTOS, M., SANTOS, A., TEIXEIRA, C. S., & CAMPOS, A. R. (2020). Is the orofacial antinociceptive effect of lectins intrinsically related to their specificity to monosaccharides?. **International journal of biological macromolecules**, 161, 1079–1085.
- LINDSAY, J. A., HOLDEN, M. T. G. *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome? **Trends in Microbiology**, v. 12, p. 378-385, 2004.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. 368 p.
- LOUREIRO RJ, ROQUE F, RODRIGUES AT, ET AL. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**.2016;34(1):77-84.
- MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10 ed. São Paulo: Pearson/Prentice Hall; 2004.
- MAIA, D.; ROSALINSKI-MORAES, F.; WYK, J. A. V.; WEBER, S.; SOTOMAIOR, C. S. Assessment of a hands-on method for FAMACHA© system training. **Veterinary Parasitology**, v. 200, n. 1–2, p. 165–171, fev. 2014.

- MALLIK, D., KUMAR, A., SARKAR, S. K., & GHOSH, A. S. (2013). Multiple resistance mechanisms acting in unison in an *Escherichia coli* clinical isolate. **Current microbiology**, 67(6), 748–753.
- MANN, K., FARIAS, C. M., DEL SOL, F. G., SANTOS, C. F., GRANGEIRO, T. B., NAGANO, C. S., CAVADA, B. S., & CALVETE, J. J. (2001). The amino-acid sequence of the glucose/mannose-specific lectin isolated from *Parkia platycephala* seeds reveals three tandemly arranged jacalin-related domains. **European journal of biochemistry**, 268(16), 4414–4422.
- MEDEIROS, M. L. S.; MOURA, M.C.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B.; BEZERRA, A. C. D. S.; SILVA, M. D. C. Nematicidal activity of a water soluble lectin from seeds of *Moringa oleifera*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 782–789, 2018.
- MEJÍA, E.G.; PRISECARU, V.I.; Lectins as bioactive plant proteins: a potential in cancer treatment. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.45, p.425-445, 2005.
- MELETIS, G.; EXINDARI, M.; VAVATSI, N.; SOFIANOU, D.; DIZA, E. Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Hippokratia**. 2012 Oct;16(4):303-7.
- MELO, D. B.; MENEZES, A. P. D. O.; REIS, J. N.; GUIMARÃES, A. G. Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Escherichia coli* isolated from humans and foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 4, p. 1165-1170, 2015.
- MISHRA, A., BEHURA, A., MAWATWAL, S., KUMAR, A., NAIK, L., MOHANTY, S. S., MANNA, D., DOKANIA, P., MISHRA, A., PATRA, S. K., & DHIMAN, R. Structure-function and application of plant lectins in disease biology and immunity. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 134, p. 110827, 1 dez. 2019.
- MOLENTO. M. B.; FORTES, F. S.; PONDELEK, D. A. S.; BORGES, F. A.; CHARGAS, A. C. S.; TORRES-ACOSTA, J. F. J.; GELDHORF, P. Challenges of nematode control in ruminants: Focus on Latin America. **Veterinary Parasitology**. V.180, p.126-132, 2011.
- MORENO, F.B.M.B., DE OLIVEIRA T.M., MARTIL D.E., VICOTI M.M., BEZZERA G.A., ABREGO J.R.B., CAVADA B.S., DE AZEVEDO W.F. JR. (2008). Identification of a new quaternary association for legume lectins. **Journal of Structural Biology**., 161:133-143.
- MOTTIER, M., PRICHARD, R.K. Genetic analysis of a relationship between macrocyclic lactone and benzimidazole anthelmintic selection on *Haemonchus contortus*. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 18, p. 129–140, 2008.
- MURRAY, P.R., PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**, São Paulo – SP, Elsevier, 2006.
- NAKAMURA, S.; IKEGAMI, A.; MATSUMURA, Y.; NAKANISHI, T.; NOMURA, K. Molecular cloning and expression. Of the manose/glucose specific lectin from *Castanea crenata* cotyledons. **Journal of Biochemistry**. [s.l.]: 131 (2), pp. 241-246, 2002.
- NAPOLEÃO, T.H.; GOMES, F.S.; LIMA, T. A.; SANTOS, N.D.L.; SÁ, R.A.; ALBUQUERQUE, A.C.; COELHO, L. C.B.B.; PAIVA, P.M.G. Termiticidal activity of



lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. **International Biodeteriorations & Biodegradation**. V.65,p.52-59. 2011.

NCUBE, B.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. In vitro antimicrobial synergism within plant extract combinations from three South African medicinal bulbs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 81– 89, 2012.

NUNES, B.S.; RENSONNET, N.S.; DAL-SECCO, D.; VIEIRA, S.M.; CAVADA, B.S.; TEIXEIRA, E.H.; MOURA, T.R.; TEIXEIRA, C.S.; CLEMENTE-NAPIMOGA, J.T.; CUNHA, F.Q.; NAPIMOGA, M.H. Lectin extracted from *Canavalia grandiflora* seed presents potential anti-inflammatory and analgesic effects. **Naunyn-Schmied Arch Pharmacol**. v.379, p.609-616, 2009.

OGUNTIBEJU, O. Antioxidant-antidiabetic agents and human health. **InTech**, 10 (2014), pp. 5772-57029.

OLIVEIRA, C. F.; MOREY, A.T.; BIASI-GARBIN, R. P.; PERUGINI, M. R. E.; YAMAUCHI, L. M.; YAMADA-OGATTA, S.F. Emergência de *Staphylococcus aureus* resistentes aos antimicrobianos: Um desafio contínuo. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 13, n. 2, p.242-247, 2014.

OLIVEIRA, M., MOURA, G., DA CRUZ, J., LIMA, R., DOS SANTOS, E. A., ANDRADE, J. C., ALENCAR, M., LANDIM, V., COUTINHO, H., & UCHOA, A. F. (2020). Serine protease inhibition and modulatory-antibiotic activity of the proteic extract and fractions from *Amburana cearensis*. **Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, 135, 110946.

OSMAN, M.E.M; AWADALLAH, A.K.E; KONOZY, E.H.E. Isolation purification and partial characterization of three lectins from *Tamarindus indica* seeds with a novel sugar specificity. **International Journal of Plant Sciences**., 6 (1) (2016), pp. 13-19.

ÖZEN, A.I., USSERY, D.W. Defining the *Pseudomonas* genus: where do we draw the line with *Azotobacter*? **Microbial Ecology**. 2012 Feb;63(2):239-48.

PAIVA, P.M.G. et al. Protease inhibitors from plants: Biotechnological insights with emphasis on their effects on microbial pathogens. In: MÉNDEZ-VILLAS, A. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Badajoz: **Formatex Research Center**, 2013.

PALERMO NETO, J.; SPINOZA, H.S.; GÓRNIK, S.L. (Eds). **Farmacologia aplicada à avicultura**. Rocca: São Paulo, 2005. 366p.

PANG, Z.; RAUDONIS, R.; GLICK, B.R.; LIN, T.J.; CHENG, Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology Advances**. 2019 Jan-Feb;37(1):177-192.

PANKEY, G., SABATH, L. (2013). Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram positives bacterial infections. **Oxford Journals**, 38, 864-865.

PAPADOPOULOS, E. Anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Small Ruminant Research**, v. 76, p. 99–103, 2008.

PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J.. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiology**. USA, v.109, n. 2, p. 347-352, out. 1995.

PEUMANS, Willy J.; DAMME, Els JM Van. Plant lectins: versatile proteins with importante perspectives in biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 15, n. 1, p. 199-228, 1998.

POONSUK K, CHUANHUEN R (2012) Contribution of the MexXY multidrug efflux pump and other chromosomal mechanisms on aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine and feline infections. **The Journal of Veterinary Medical Science** 74:1575–1582.

PROCÓPIO T.F.; MOURA M.C, ALBUQUERQUE L.P.; GOMES F.S.; SANTOS N.D.L.; COELHO L.C.B.B.; PONTUALE.V.; NAPOLEÃO T.H.; Antibacterial lectins: action mechanisms, defensive roles and biotechnological potential, in: E. Collins (Ed.), *Antibacterials: Synthesis, Properties and Biological Activities*, Nova Science Publishers Inc. 2017; 69–89.

QIAO, M.; YING, G. G.; SINGER, A. C.; ZHU, Y. G. Review of antibiotic resistance in China and its environment. **Environment International**, v.110, n. 2018, 160-172. 2017.

RATAPANO, S.; NGAMJUNYAPORN, W.; CHULAVATNATOL, M. Interaction of a mulberry leaf lectina with a phytopathogenic bacterium, *P. syringae pv mori*. **Plant Science**, v.160, p. 739-744, 2001.

REINIGER, R. C. P. et al. Can *Haemonchus placei* -primary infected naïve lambs withstand *Haemonchus contortus* infections? **Research in Veterinary Science**, v. 114, p. 136–142, out. 2017.

RICE, L., BONOMO, R. (2005). Genetic and Biochemical mechanisms of bacterial. em Viclor Lorian, M. D. (Eds), **Antibiotics in Laboratory Medicine** (5ª ed., pp. 441-476). Nova Iorque.

RIOS DE ALVAREZ, L.; JACKSON, F.; GREER, A.; BARTLEY, Y.; BARTLEY, DJ; GRANT, G.; HUNTLEY, J.F, 2012. Triagem *in vitro* de lectinas de plantas e extratos de plantas tropicais para propriedades anti-helmínticas. **Veterinario. Parasit.**, 186: 390-398.

S. HOWELL, J. BURKE, J. MILLER, T. TERRILL, E. VALENCIA, M. WILLIAMS, L. WILLIAMSON, A. ZAJAC, R.KAPLAN. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the south eastern United states. **JAVMA**, 233 (2008), pp. 1913-1919, 10.1016/j.vetpar.2012.01.013

SÁ, R. A. et al. Induction of mortality on *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae) by *Myracrodruon urundeuva* heartwood lectin. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 62, p. 460–464, 2008.

SÁ, R.A.; SANTOS, N.D.L.; DA SILVA, C.S.B.; NAPOLEÃO, T.H.; GOMES, F.S.; CAVADA, B. S.; COELHO, L.C.B.B.; NAVARRO, D.M.A.F.; BIEBER, L.W.; PAIVA, P.M.G. Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. **Comparative Biochemistry and Physiology**.v.149. p. 300-306, 2009.

SALOMONSEN CM, THEMUDO GE, JELSBAK L, MOLIN S, HOIBY N, HAMMER AS (2013) Typing of *Pseudomonas aeruginosa* from hemorrhagic pneumonia in mink (Neovison vison). **Vet Microbiol** 163:103–109.

SANTOS, A. L.; OLIVEIRA SANTOS, DILVANI, DE FREITAS, CÍCERO CARLOS, LEAL ALVES FERREIRA, BRUNO, AFONSO, ILÍDIO F., RANGEL RODRIGUES, CARLOS, CASTRO, HELENA C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial** [en linea]. 2007, 43(6), 413-423.

SANTOS, A.F.; CAVADA, B.S.; ROCHA, B.A.M.; NASCIMENTOS, K.S.; SANT'ANA, A.E.G. Toxicity of some glucose/manose-binding lectins to *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*. **Bioresource Technology**, v.101,p.794-798, 2010.

SANTOS, M. C.; SILVA, B. F.; AMARANTE, A. F. T. Environmental Factors Influencing the Transmission of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.188, p. 277-284, 2012.

SANTOS, M. V. B.; PEREIRA, A. L.; MARCELINO, S. A. C.; CARMO, P. M. S.; CAMPOS SANTOS, M.; PEDROSO, P. M. O.; PIMENTEL, L. A.; OLIVEIRA-FILHO, J. C. Levantamento de parasitoses gastrointestinais em pequenos ruminantes no Recôncavo da Bahia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 181-182, 2016.

SANTOS, M.C., XAVIER, J.K., AMARANTE, M.R.V, BASSETTO, C.C., AMARANTE, A.F.T., 2014. Immune response to *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* in sheep and its role on parasite specificity. **Vet. Parasitol.** 203, 127-138.

SANTOS, V. F., COSTA, M. S., CAMPINA, F. F., RODRIGUES, R. R., SANTOS, A., PEREIRA, F. M., BATISTA, K., SILVA, R. C., PEREIRA, R. O., ROCHA, B., COUTINHO, H., & TEIXEIRA, C. S. (2020). The Galactose-Binding Lectin Isolated from *Vatairea macrocarpa* Seeds Enhances the Effect of Antibiotics Against *Staphylococcus aureus*-Resistant Strain. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(1), 82–90.

SCHINDLER, B.D.; JACINTO, P.; KAATZ, G.W. Inhibition of drug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*: current status of potentiating existing antibiotics. **Future Microbiol.** 2013 Apr;8(4):491-507.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from haemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**. 2004; 14: 53-62.

SILVA P. M., NAPOLEÃO T. H., SILVA L. C. P. B. B., FORTES D. T. O., LIMA T. A., ZINGALI R. B; PAIVA P. M. G. (2016). The juicy sarcotesta of *Punica granatum* contains a lectin that affects growth, survival as well as adherence and invasive capacities of human pathogenic bacteria. **Journal of Functional Foods**, 27, 695–702.

- SILVA, B. F.; AMARANTE, M. R.; KADRI, S. M.; CARRIJO-MAUAD, J. R.; AMARANTE, A. F. Vertical Migration of *Haemonchus contortus* Third Stage Larvae on *Brachiaria decumbens* Grass. **Veterinary Parasitology**, v. 158, p. 85-92, 2008.
- SILVA, L. R. F.; ALVES, A. A.; VASCONCELOS, V. R.; N, H. T. S. & MOREIRA, F. M. A. (2012). Nutritive value of diets containing pods of faveira (*Parkia platycephala* Benth.) for confined finishing sheep. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(4), 1065-1069.
- SILVA, M.D.C.; SÁ, R.A.; NAPOLEÃO, T.H.; GOMES, F.S.; SANTOS, N.D.L.; ALBUQUERQUE, A.C.; XAVIER, H.S.; PAIVA, P.M.G.; CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Purified Cladonia verticillaris lichen lectin: Insecticidal activity on *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.63,p. 334-340, 2009.
- STARADUMSKYTE, D.; ALGIMANTAS, P. Non-Fermentative Gram-Negative Bacteria in Drinking Water. **Journal of Water Resource and Protection**.Vol.6 No.2, 2014.
- TORRES-ACOSTA, J.F.J.; HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. **Small Ruminant Research**. v.77, p.159-173, 2008.
- TORTORA GJ, FUNKE BR, CASE CL. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.
- TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2016.
- TRABULSI, L. R.; ALTHERTHUM, F. **Microbiologia**. *Staphylococcus aureus*. São Paulo: Atheneu, 2005.
- URQUHART, G. M.; ACEDO, C. S. **Parasitología veterinaria**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2001.
- VADLEJCH, J.; KOPECKÝ, O. KUDRNÁCOVÁ, M. JANKVSKÁ, I. LANGROVÁ, I. The effect of risk factors of sheep flock management practices on the development of anthelmintic resistance in the Czech Republic. **Small Ruminant Research**. v. 117, p. 183-190, 2014.
- VAN BOECKEL, T. P., BROWER, C., GILBERT, M., GRENFELL, B. T., LEVIN, S. A., ROBINSON, T. P., TEILLANT, A., & LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial use in food animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 112(18), 5649–5654. (2015).
- VAN DAMME, E. J. M. History of plant lectin research. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, [s.l.], v. 1200, p. 3–13, 2014.
- VAN PARIJS, J.; BROEKAERT, W.F.; GOLDSTEIN, I.J.; PEUMANS, W.J. Hevein: na antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. **Planta**. v. 183, n. 2, p. 258–262, 1991.
- VAN WYR, J. A.; HOSTE, H.; KAPLAN, R. M.; BESIÉ, R. B., Target selective treatment for worm management-How do we sell rational program to farmers? **Veterinary Parasitology**, v.139, p.336-346, 2006.

VANDENBORRE, G.; SMAGGHE, G.; VAN DAMME; E. J. M. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. **Phytochemistry**. [s.l.]: 72, pp. 1538–1550, 2011.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, n. 3-4, p. 99-103, 1999.

WANG, H., GAO, J., & NG, T. B. A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Biochem. Biophysics Res. Commun.** [s.l.]: v. 275, pp. 810-816, 2000.

WOZNIAK, R. A.; WALDOR, M. K. Integrative and conjugative elements: mosaic mobile genetic elements enabling dynamic lateral gene flow. **Nature Reviews Microbiology**, 552–563, 2010.

WRIGHT, G. (2003). Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. **Advanced Drug Delivery Reviewa**, 57, 1451-1464.

ZAROS, L. G., NEVES, M. R., BENVENUTI, C. L., NAVARRO, A. M., SIDER, L. H., COUTINHO, L. L., & VIEIRA, L. S. Response of resistant and susceptible Brazilian Somalis crossbreed sheep naturally infected by *Haemonchus contortus*. **Parasitology Research**, v. 113, n. 3, p. 1155–1161, mar. 2014.

## Capítulo II

---

Este capítulo apresenta o artigo ***Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of *Haemonchus contortus***", escrito de acordo com as normas do periódico Microbial Pathogenesis no qual foi publicado.

***Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of *Haemonchus contortus***

Romerio R.S.Silva<sup>a</sup>, Carolina R. Silva<sup>b</sup>, Valdenice F. Santos<sup>a</sup>, Cristina R. S. Barbosa<sup>c</sup>, Debora F. Muniz<sup>c</sup>, Ana L. E. Santos<sup>a</sup>, Maria H. C. Santos<sup>a</sup>, Bruno A. M. Rocha<sup>d</sup>, Karla L. R. Batista<sup>a</sup>, Livio M. Costa-Júnior<sup>b</sup>, Henrique D. M. Coutinho<sup>c</sup>, Claudener S. Teixeira<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, Maranhão, Brazil

<sup>b</sup>Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

<sup>c</sup>Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brazil

<sup>d</sup>Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Ceará, Brazil

\*Correspondence to: Claudener S. Teixeira, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal do Maranhão, LaBEM, Campus do Chapadinha S/N, 65500-000, Chapadinha, Maranhão, Brazil. E-mail: claudener@gmail.com

## Abstract

Lectins have been studied in the past few years as an alternative to inhibit the development of pathogenic bacteria and gastrointestinal nematodes of small ruminants. The development of new antibacterial and anthelmintic compounds is necessary owing to the increase in drug resistance among important pathogens. Therefore, this study aimed to evaluate the capacity of a glucose/mannose-binding lectin from *Parkia platycephala* seeds (PPL) to inhibit the development of *Haemonchus contortus* and to modulate antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains, thereby confirming its efficacy when used in combination with gentamicin. PPL at the concentration of 1.2 mg/mL did not show inhibitory activity on *H. contortus* in the egg hatch test or the exsheathment assay. However, it did show significant inhibition of *H. contortus* larval development with an IC<sub>50</sub> of 0.31 mg/mL. The minimum inhibitory concentration (MIC) obtained for PPL against all tested bacterial strains was not clinically relevant (MIC  $\geq$  1024  $\mu$ g/mL). However, when PPL was combined with gentamicin, a significant increase in antibiotic activity was observed against *S. aureus* and *E.coli* multi-resistant strains. The inhibition of hemagglutinating activity by gentamicin (MIC = 50 mM) revealed that it may be interacting with the carbohydrate-binding site of PPL. It is this interaction between the antibiotic and lectin carbohydrate-binding site that may be responsible for the enhanced activity of gentamicin against multi-resistant strains. It can be concluded that PPL showed selective anthelmintic effect, inhibiting the development of *H. contortus* larvae and that it increased the effect of the antibiotic gentamicin against multi-resistant bacterial strains, thus constituting a potential therapeutic resource against resistant bacterial strains and *H. contortus*.

**Keywords:** Antimicrobial; Anthelmintic; Gentamicin; Lectin; Agglutinin



## 1. Introduction

Plant lectins, have been studied in the past few years as an alternative to inhibit the development of pathogenic bacteria and gastrointestinal nematodes [1,2].

*Haemonchus contortus* infection is one of the most important health problems that affects small ruminant productivity worldwide, especially in the tropics and subtropics. The parasite has a simple, direct life-cycle that has both a free-living phase (on pasture) and parasitic phase (in the host animal). The larvae can develop into egg-laying adults within the host animal in as little as 2–3 weeks [3].

Infection caused by resistant bacteria is also a serious problem, lead to up to two-fold higher rates of adverse outcomes compared with similar infections caused by susceptible strains. These adverse outcomes may be clinical or economic and reflect primarily the failure or delay of antibiotic treatment [4].

The development of new antibacterial and anthelmintic substances is necessary owing to the increase in drug resistance among important pathogens [5,6]. The ability of bacteria and nematodes to select for antibacterial resistance has raised concerns among scientists and clinicians. This resistance is mainly characterized by the adaptation of the microorganisms to conventionally used antimicrobials and anthelmintics [7,8]. Such resistance also results from the over-use use such drugs and the weakening of programs which aim to control infections [9,10].

Infections caused by these pathogens raise the incidence of morbidity and mortality, as well as hospitalization time and treatment costs [11,12]. This problem is further complicated by the fact that the development of new drugs does not match the rate at which resistance mechanisms evolve. This fact is indicative to the huge problem to the drug resistance, being necessary new alternative to combat these microorganisms [13,14].

Plant lectins are defined as proteins that possess at least one noncatalytic domain that binds reversibly to a specific mono- or oligosaccharide [15]. These proteins are also known to play important roles in the immune system by recognizing carbohydrates found exclusively in pathogens or are otherwise inaccessible in host cells [16]. In addition, plant lectins can act as mediators of a wide range of biological events that involve the crucial step of protein-carbohydrate recognition, such as cell communication, host defense, fertilization, cell development, parasitic infection, tumor metastasis and inflammation [17].

*Parkia platycephala* lectin (PPL) is a glucose/mannose-binding protein composed of three  $\beta$ -prism domains organized in tandem, each one possessing a different carbohydrate recognition domain (CRD) [18]. This lectin is classified as a Jacalin-related lectin (JRL), a subgroup of proteins often associated with biotic and abiotic stimuli and with plant defense mechanisms against phytopathogens [19].

This study aimed to evaluate the capacity of a glucose/mannose-binding lectin from *P. platycephala* seeds (PPL) to inhibit the development of *H. contortus* nematode and to modulate antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains, confirming its efficacy when used in combination with gentamicin.

## **2. Material and methods**

### **2.1. Purification of *Parkia platycephala* seed lectin**

*P. platycephala* seeds were collected from plants located at Chapadinha, Maranhão, Brazil. The seeds from *P. platycephala* were ground to a fine powder in a coffee mill, and the soluble proteins were extracted at 25 °C by continuous stirring with 50 mL of 0.15 M NaCl and 5 g of *P. platycephala* powder for 4 h, followed by centrifugation at 10,000×g at 4 °C for 20 min. Protein purification was carried out by the affinity chromatography protocol, as previously described by Cavada et al. [20], using a Sephadex®-G75 column (Sigma, St. Louis, MO) (2 × 10 cm). This fraction (*P. platycephala* lectin - PPL) was freeze-dried and purity-tested by SDS-PAGE [21].

### **2.2. Hemagglutination activity and inhibition assays**

Hemagglutination assays were carried out as described by Moreira and Perrone [22] using serial dilutions with rabbit erythrocytes, either native or treated with proteolytic enzymes (trypsin or papain - Sigma, St. Louis, MO). Results were expressed in hemagglutinating units (HU), with one HU being defined as the smallest amount (mg) of protein per mL capable of inducing visible agglutination. Lectin carbohydrate-binding specificity was defined as the smallest sugar concentration capable of fully inhibiting agglutination. Two-fold serial dilutions (initial concentration: 100 mM) of d-glucose, d-galactose, d-mannose, β-lactose and gentamicin were prepared in distilled water. Lectin (4 HU) was added to each dilution. All carbohydrates and gentamicin were obtained from Sigma, St. Louis, MO.

### **2.3. Assess anthelmintic activity**

#### **2.3.1. Obtaining nematodes**

A strain of *H. contortus* originally obtained from goat's abomasum naturally infected of Chapadinha city, Maranhão, Brazil was maintained in sheep which were fed with hay, 2% live weight of balanced supplement (20% of crude protein), and water *ad libitum*. Previously, *in vitro* tests had demonstrated resistance of this strain population to benzimidazole compounds. This experiment was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of UFMA, Brazil under protocol number 23,115.005443/2017–51.

Fresh feces from sheep artificially infected with *H. contortus* were macerated, washed with warm distilled water (37 °C) and passed through 1 mm, 105 μm, 55 μm and 25 μm graduated screens (Bertel, São Paulo, Brazil). The eggs were suspended in saturated saline, washed three times to eliminate the remaining salt and were re-suspended in distilled water [23].

To obtain *H. contortus* L3 larvae, feces from artificially infected lambs were macerated, placed in glass beakers and incubated at 27 °C for 15 days. The beakers were filled with warm water, the contents poured into a Petri dish, the L3 larvae allowed to migrate, and storage set at 6 °C [24,25].

#### 2.3.2. Egg hatch test

PPL was diluted in PBS (pH 7.2) with six serial dilutions at 50% and 1.2 mg/mL as the initial concentration (0.0375–1.2 mg/mL). Approximately 100 eggs/well were placed in 96-well plates, and 100 µL of each treatment (PBS and the PPL in the different concentration) was added (four replicates were performed to each concentration) and incubated for 48 h (27 °C, relative humidity > 80%). For the negative control, eggs were incubated with the same buffer (PBS pH 7.2) used to dissolve PPL. Only assays with eggs hatched higher than 90% in the negative control were used. Eggs and larvae were counted in an inverted microscope [26].

#### 2.3.3. Larval exsheathment test

PPL was diluted in PBS (pH 7.2) with six serial dilutions at 50% and 1.2 mg/mL as the initial concentration (0.0375–1.2 mg/mL), followed by the addition of live *H. contortus* L3 previously selected using Baermann apparatus and incubation at 21 °C for 3 h. After incubation, the larvae were washed and centrifuged (1,014×g) three times with PBS. Approximately 1000 larvae/tube were subjected to the artificial exsheathment process by contact with sodium hypochlorite (2.0%, w/v). The percentages of larval exsheathment process were monitored at 0-, 20-, 40- and 60-min intervals by observation under an inverted microscope Axio Vert (Zeiss, Oberkochen, Germany). Tests were performed with four replicates. The same buffer (PBS pH 7.2) used to dissolve PPL was also used for the negative control [27].

#### 2.3.4. Larval development test

*H. contortus* eggs were obtained, as previously described in section 2.3.1. One hundred eggs/well (100 µL) were added to a 96-well plate and incubated at 27 °C for 24 h to obtain first-stage larvae (L1). Forty µL of solution containing *Escherichia coli* (autoclaved *E. coli*) 0.11 mg/mL, NaCl 2.24 mg/mL, yeast extract 2.8 mg/mL, amphotericin B (Sigma, St. Louis, MO) 0.018 mg/mL and 2.8% of Earle's solution (Sigma, St. Louis, MO) were added in all wells. PPL was diluted in PBS (pH 7.2) with six serial dilutions at 50% and 0.5 mg/mL as the initial concentration (0.0156–0.5 mg/mL). Four replicates to each concentration were performed. The plates were incubated at 27 °C for six days and then the proportions of unhatched eggs and L1, L2 and L3 in each well were counted under an inverted microscope [28]. The results expressed were the percentage of L1 and L2 to the total number of larvae counted.

## 2.4. Microbial assays

### 2.4.1. Drugs and reagents

PPL and gentamicin were dissolved to a concentration of 1024 µg/mL in sterile distilled water.

### 2.5. Bacterial strains

Multi-resistant *Staphylococcus aureus* 10, *Escherichia coli* 06 and *Pseudomonas aeruginosa* 15 strains were used in the assays.

The Microbiology and Molecular Biology Laboratory of the Regional University of Cariri (URCA) provided the strains with resistance profiles identified in Table 1. These were maintained in blood agar base (Difco Laboratories, Detroit, MI) and cultured at 37 °C for 24 h in Heart Infusion Agar (HIA, Difco Laboratories).

**Table 1.** Bacterial source and antibiotic resistance profile.

Strains	Source	Resistance profile*
<i>E. coli</i> 06	Urine culture	Cf, Cef, Ca, Cro. Ca, Cef, Cf, Oxa, Pen, Amp, Amox, Mox,
<i>S. aureus</i> 10	Rectal Swab	Cip, Lev, Asb, Amc, Cla, Azi, Clin.
<i>P. aeruginosa</i> 15	Catheter tip	Cpm, Ctz, Imi, Cip, Ptz, Lev, Mer

Amp-Ampicillin; Asb-Ampicillin + Sulbactam; Amox-Amoxicillin; Amc-Amoxicillin+Ac. clavulanic; Azi-Azithromycin; Ca- Cefadroxil; Cf-Cephalotin; Cef-Cephalexin; Cla-Clarithromycin; Cro- Ceftriaxone; Cip-Ciprofloxacin; Clin-Clindamycin; Imi - imipenem; Lev-levofloxacin; Mer-Meropenem; Mox-Moxifloxacin; Oxa-oxacillin, Pen –Penicillin; Ptz - Piperacilina + Tazobactam

### 2.5.1. Preparation and standardization of the inoculum

After cultivation and growth of the microorganisms for the required period, the inoculum was prepared according to CLSI [29]. The bacteria were placed in test tubes containing 5 mL of sterile saline (0.9% NaCl). The suspension was then shaken by vortex, and its turbidity was compared and adjusted based on the McFarland scale, which corresponds to 10<sup>6</sup> CFU/mL.

### 2.6. Minimum inhibitory concentration test

For Minimum Inhibitory Concentration (MIC) assays, 100 µL of the inoculum was diluted in 10% BHI (Brain Heart Infusion) to give a concentration of 10<sup>5</sup> CFU/mL.

A volume of 100  $\mu\text{L}$  of BHI and inoculum was added to each well of a 96-well plate, followed by 100  $\mu\text{L}$  of serial dilutions of PPL, varying in concentrations from 1024  $\mu\text{g}/\text{mL}$  to 1.0  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . The plates were submitted to incubation for 24 h at 37  $^{\circ}\text{C}$ . To determine the bacterial MIC, 20  $\mu\text{L}$  of resazurin (Sigma, St. Louis, MO) were added to each well, and after 1 h, the color change of the wells from blue to red signaled microbial growth, whereas permanent blue indicated the absence of growth in accordance with CLSI [29].

#### 2.6.1. Antibiotic and modulatory activities

The antibiotic and modulatory activities of PPL were evaluated according to Coutinho et al., [30]. The tests were performed in triplicate. 100  $\mu\text{L}$  of the inoculum were diluted in 10% BHI to give a concentration of  $10^5$  CFU/mL of each multi-resistant strain and PPL with volume corresponding to a subinhibitory concentration ( $\text{MIC}/8 = 128 \mu\text{g}/\text{mL}$ ). Controls were prepared with only 1,350  $\mu\text{L}$  of BHI (10%) and 150  $\mu\text{L}$  of bacterial suspension. The microdilution was performed with 100  $\mu\text{L}$  of each antibiotic up to the penultimate well, and the final volumes were discarded. The plates were then incubated at 37  $^{\circ}\text{C}$  for 24 h and read through the addition of resazurin.

#### 2.7. Statistical analysis

Data analysis was performed using the statistical program GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Inc., San Diego, CA, USA). The MIC values of the PPL and antibiotics were obtained in triplicate. The results were compared with the control and analyzed with two-way ANOVA, after be transformed to obtain a normal distribution using the geometric mean of the triplicates and the standard deviation of the mean as the central data. Subsequently, a Bonferroni post hoc test was performed where  $p < 0.05$  and  $p < 0.0001$  were considered significant. Also performed in triplicate, raw data of the egg hatch test, larval exsheathment test and larval development test were initially transformed to  $\text{Log}(X)$ , normalized, and then nonlinear regression was calculated to get the IC50 (50% inhibition concentration).

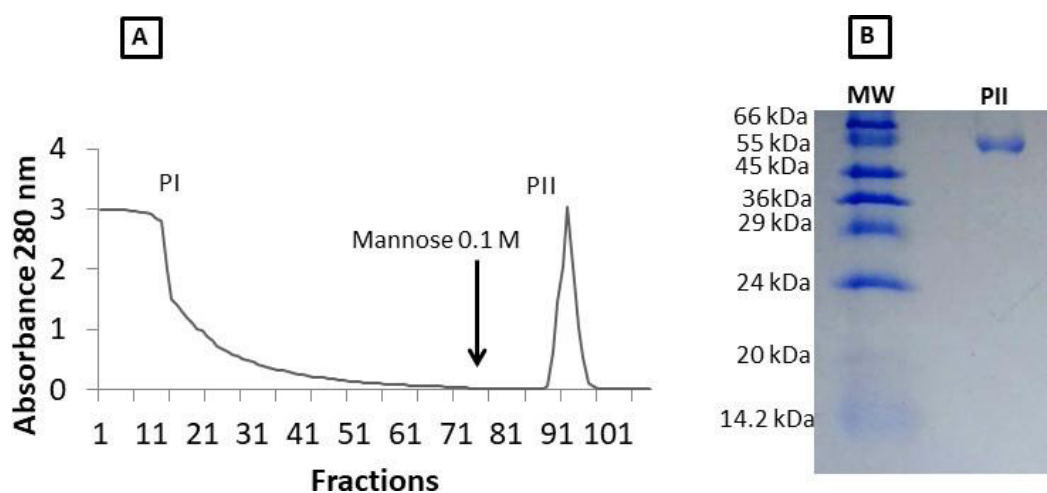
#### 2.8. Structural analysis

Three-dimensional structure of PPL monomer (PDB code 1ZGS) [19] was used to represent the  $\beta$ -prism domains and carbohydrate-binding sites from the lectin. All figures were performed with the PyMOL program [31].

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Purification and inhibition assays

The chromatogram showed two peaks, the first (PI) corresponding to unbound protein fraction and the second (PII) corresponding to the retained protein fraction (Fig. 1A). In SDS-PAGE, PII showed a single band with a relative mass of 50 kDa which corresponds to molecular weight of the PPL (Fig. 1B).



**Fig. 1.** PPL purification. (A) Elution profile of PPL in Sephadex G-75 chromatography. (B) SDS-PAGE profile, (MW) Molecular mass markers: bovine serum albumin, 66 kDa; glutamic dehydrogenase, 55 kDa; ovalbumin, 45 kDa; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, 36 kDa; carbonic anhydrase, 29 kDa; trypsinogen, 24 kDa; trypsin inhibitor, 20 kDa and  $\alpha$ -lactalbumin 14.2 kDa.

The inhibition of hemagglutinating activity showed that PPL has an affinity for gentamicin, glucose and mannose with minimum inhibitory concentrations of 50, 25 and 12.5 mM, respectively, and that no affinity was presented for the other carbohydrates tested, as described in Table 2. Hemagglutination assay is a simple method to obtain semi-quantitative data on the sugar binding and specificity of a lectin [32]. Santos et al., [1], also demonstrated that *Vatairea macrocarpa* lectin showed interaction with gentamicin in the hemagglutinating inhibition assay. In addition, the interaction of gentamicin in the carbohydrate recognition domain (CRD) was proposed by molecular docking, thus suggesting the use of plant lectins as potential adjuvant molecules in the action of this antibiotic.

**Table 2.** Inhibitory effect of monosaccharides and gentamycin on PPL hemagglutinating activity.

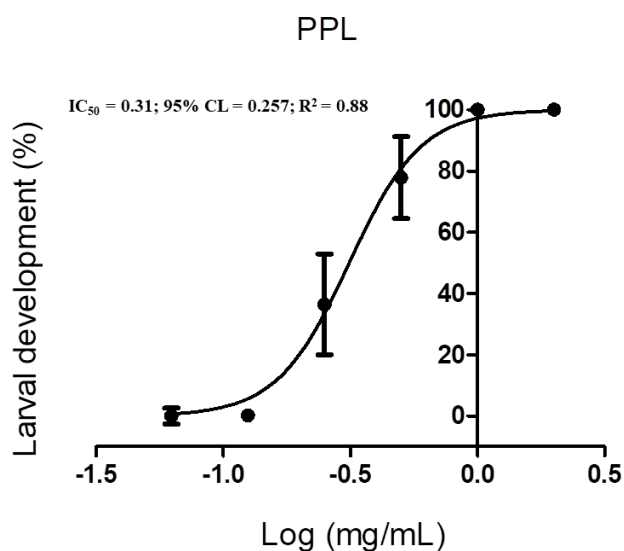
Substances	MIC (mM) <sup>a</sup>
D-Glucose	25
D-Mannose	12.5
Gentamycin	50
D-Galactose	NI <sup>b</sup>
$\beta$ -Lactose	NI

<sup>a</sup>MIC, minimum inhibitory concentration;

<sup>b</sup>NI, substance not inhibitory until a concentration of 100 mM.

### 3.2. Anthelmintic activity of PPL

PPL at the concentration of 1.2 mg/mL did not inhibit *H. contortus* egg hatch or larval exsheathment. However, it did show significant inhibition of *H. contortus* larval development with an  $IC_{50}$  of 0.31 mg/mL (Fig. 2).



**Fig. 2.** Inhibitory effect of PPL on the development of *Haemonchus contortus*. The graph shows the inhibition of developing *H. contortus* larvae at different concentrations of PPL. L1 and L3 stages were quantified relative to the respective untreated control. Bars represent the means of three independent experiments. Error bars indicate the standard deviations. Half inhibition concentration ( $IC_{50}$ ) in mg/mL, confidence limits (CL) and coefficient of determination ( $R^2$ ) were added at the top of the graph.

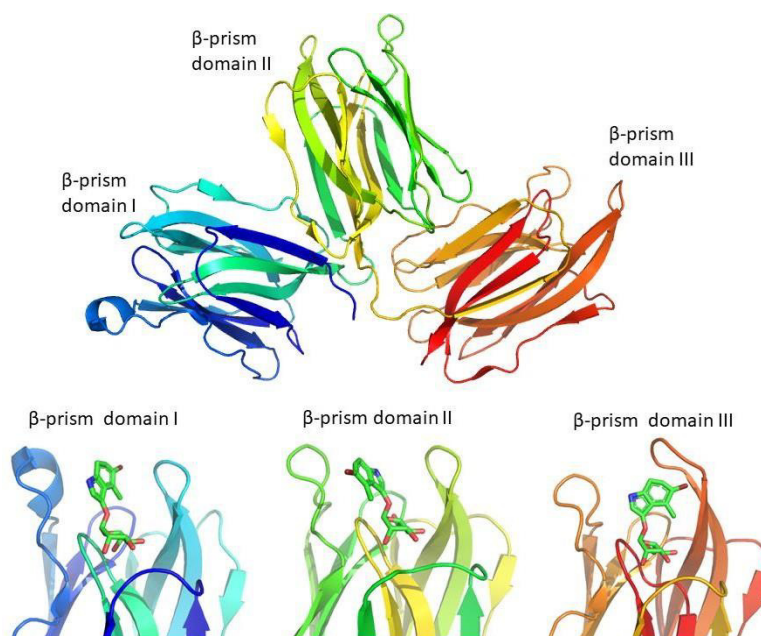
Diverse classes of proteins have been targeted in inhibition studies of *H. contortus* development, including chitinases, protease inhibitors and lectins [2,33].

Lectins of different species of plants and fungi present an inhibitory effect on the larval development of *H. contortus* [34,35]. Inhibition of the development of these nematodes is related to the carbohydrate-binding site that these proteins possess. Batista et al., [2], also demonstrated the ability of a mannose-binding lectin of *Canavalia brasiliensis* (ConBr) seeds to inhibit the larval development of *H. contortus*. The authors postulated that the action of ConBr may be related to the ability of lectins to interact with residues of mannose present in core the glycans of *H. contortus*.

The ability of PPL to recognize and interact with mannose and glucose present in glycans could be the reason why PPL showed the only effect on the inhibition of larval development. Schallig et al. [36] evaluated the interaction of different plant lectins with carbohydrates of *H. contortus* and observed that lectins that recognize and interact with mannose, glucose or N-acetyl-d-glucosamine are the most effective in extracts of infective larvae and adults of *H. contortus*. In addition, Palmer and McCombe [37] demonstrated that Glc/Man-binding lectin of *Canavalia*

*ensiformis* (ConA) showed low interaction with *H. contortus* eggs. On the other hand, the galactose-binding lectin of peanut (PNA) showed strong interaction with the carbohydrates of the eggs. Suggesting that modifications in glycosylation pattern in the different phases of *H. contortus* may be related to the effect of PPL and other lectins in this nematode.

PPL is a mannose-binding lectin present in *P. platycephala* [20]. This lectin is formed by a monomer composed of three  $\beta$ -prism-I domains (Fig. 3). Although the topological structure of the three domains is similar, they represent only about 50% similarity in the primary sequence. Each domain presents different peculiarities in the interactions with the mannose residues [18]. This ability to interact differently with the same carbohydrate may enhance the ability of this lectin to interact with different mannose residues present in the *H. contortus* glycans and thus contribute also to its effect on the inhibition of this nematode.



**Fig. 3.** Overview of Glc/Man-binding lectin from the seeds of *Parkia platycephala* - PPL. Monomeric assembly of PPL and carbohydrate-binding sites are shown in cartoon representation. Molecular ligands are in stick representation, and carbons from X-man are colored in green.

### 3.3. Antibacterial activity and modulation of antibiotic activity by PPL

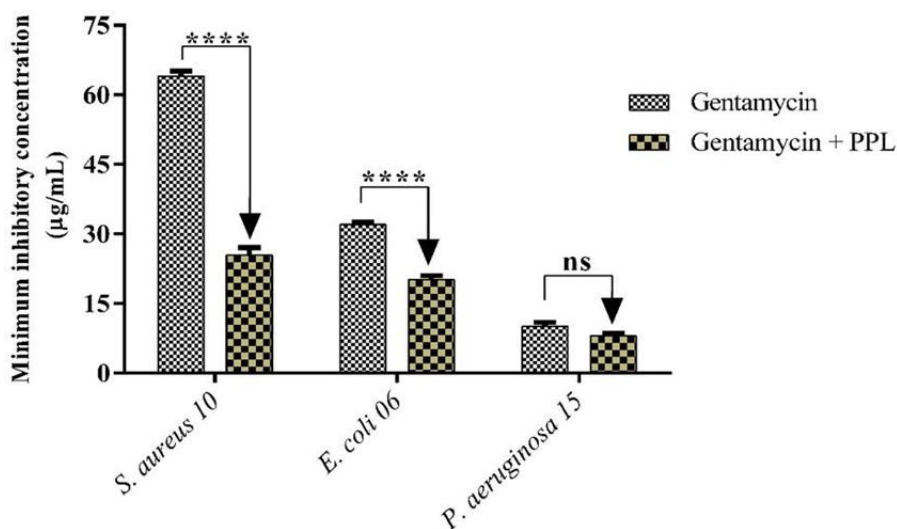
Antibacterial activity of PPL was performed against multi-resistant *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa* strains and evaluated by Minimum Inhibitory Concentration (MIC), which was determined to correspond to the final concentration of  $\geq 1,024 \mu\text{g/mL}$  for all strains. These values are not considered clinically relevant for their direct antibacterial effect. MIC values greater than  $1,000 \mu\text{g/mL}$  are considered to lack direct antibacterial activity for clinical practice [38].



Plant lectins have the ability to recognize and interact with Gram-positive and Gram-negative bacteria [39,40]. The antibacterial effect of the lectins occurs through interaction with peptidoglycans, polysaccharides and lipopolysaccharides (LPSs) on the bacterial cell wall [41]. Cyanobacterial and fungal lectins with affinity for complex carbohydrates have shown promise in inhibiting the growth of *E. coli* and resistant strains of *S. aureus* and *P. aeruginosa* [42].

In addition to direct antimicrobial activity, some compounds can alter the antibacterial activity of antibiotics by inhibiting pump efflux, increasing membrane permeability to antimicrobials, and, thereby, increasing the efficacy of these drugs against multi-resistant bacteria [43]. Natural compounds, such as secondary metabolites, lipids, and proteins that exhibit increased antibiotic activity for specific strains, are defined as antibiotic modulating agents [1,44,45].

The results of PPL activity are shown in Fig. 4. PPL enhanced the activity of gentamicin against *S. aureus*, decreasing the MIC from 64 to 25.4 µg/mL. Proportionally, this value corresponds to a 61.0% reduction in the amount of gentamicin needed to have the same effect on the strain under study. In the presence of PPL, the activity of gentamicin decreased the MIC from 32 to 20.2 µg/mL for *E. coli*. This value corresponds to a 36.9% reduction in the amount of gentamicin needed to have the same effect in *E. coli*. On the other hand, PPL showed no significant effect on the modulation of gentamicin activity against the *P. aeruginosa* strain. This difference can be due the bacterial extracellular polysaccharides, forming an extra barrier against the influx of drugs on *P. aeruginosa* [46].



**Fig. 4.** Modulatory activity of PPL on the resistance of *S. aureus* 10, *E. coli* 06 and *P. aeruginosa* 15. Quadruple asterisks indicate statistically significant difference with  $p < 0.0001$ ; ns, not statistically significant value with  $p > 0.05$ .

Gentamicin is the most commonly used aminoglycoside antibiotic, and it is indicated for moderate-to-severe bacterial infections caused by sensitive agents,

primarily Gram-negative bacteria [47]. The resistance mechanisms of these antibiotics include (1) structural changes in the bacterial cell wall; (2) removal of the antibiotic through the efflux pump; (3) mutations in the ribosome and (4) inactivation of the antibiotic by aminoglycoside-modifying enzymes [48].

Studies have shown that the increased bactericidal activity of aminoglycosides associated with natural products could be considered an alternative to the combined use of different classes of antibiotics in a single drug. In addition, this association is a promising strategy in combating bacterial resistance [[49], [50], [51]].

Santos et al., [1], demonstrated the modulatory effect of *Vatairea macrocarpa* lectin (VML) on the antibiotic activity of gentamicin against multi-resistant *S. aureus* strains, corroborating the results obtained in this study. On the other hand, PPL increased the antibiotic activity of gentamicin against strains of *E. coli*, but VML did not present a significant effect against the same strain. This difference may be related to the carbohydrate specificity of each lectin. For example, PPL interacts with glycans containing the mannose and/or glucose residues in their structure, while VML interacts with glycans containing galactose residues [52]. Thus, we propose that lectins can increase the antibiotic activity of gentamicin by two distinct mechanisms: (1) interacting with gentamicin in the CRD and thereby facilitating the entry of the antibiotic into the bacterial cytoplasm or (2) interacting with glycans present in efflux pumps and consequently blocking, or modifying, their conformational structure. However, more detailed studies are needed to prove these mechanisms of action.

#### **4. Conclusion**

The present study demonstrated that *P. platycephala* lectin can inhibit the development of *H. contortus* L3 and enhance the antibiotic activity of gentamicin against multi-resistant bacterial strains. Based on these results, PPL shows promise as a candidate lectin for the control of gastrointestinal parasites and as an adjuvant for the development of new synergistic therapies with aminoglycoside antibiotics.

#### **Conflicts of interest**

The authors declare no conflicts of interest regarding the publication of this article.

#### **Acknowledgements**

This study was partly funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), referring to the Research Productivity Grants of Bruno Anderson Matias Rocha, Livio Martins Costa Junior and Henrique Douglas Melo Coutinho.

## Appendix A. Supplementary data

The following is the Supplementary data to this article:

### References

- [1] V.F. Santos, M.S. Costa, F.F. Campina, R.R. Rodrigues, A.L.E. Santos, F.M. Pereira, K.L.R. Batista, R.C. Silva, R.O. Pereira, B.A.M. Rocha, H.D.M. Coutinho, C.S. Teixeira, The galactose-binding lectin isolated from *VATAIREA MACROCARPA* seeds enhances the effect of antibiotics against *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*-resistant strain, *Probiotics Antimicrob. Protein* (2019), [https://doi: 10.1007/s12602-019-9526-z](https://doi.org/10.1007/s12602-019-9526-z).
- [2] K.L.R. Batista, C.R. Silva, V.F. Santos, R.C. Silva, R.R. Roma, A.L.E. Santos, R.O. Pereira, P. Delatorre, B.A.M. Rocha, A.M.S. Soares, L.M. Costa-Júnior, C.S. Teixeira, Structural analysis and anthelmintic activity of *CANAVALIA BRASILIENSIS* lectin reveal molecular correlation between the carbohydrate recognition domain and glycans of *HAEMONCHUS contortus*, *Mol. Biochem. Parasitol.* 225 (2018) 67–72.
- [3] M.A. Taylor, R.L. Coop, R. Wall, *Veterinary Parasitology*, fourth ed., Wiley Blackwell, UK, 2016.
- [4] N.D. Friedman, E. Temkin, Y. Carmeli, The negative impact of antibiotic resistance, *Clin. Microbiol. Infect.* 22 (2016) 416–422.
- [5] S.E. Rossiter, M.H. Fletcher, W.M. Wuest, Natural products as platforms to overcome antibiotic resistance, *Chem. Rev.* 117 (2017) 12415–12474.
- [6] T.G. Geary, J.A. Sakanari, C.R. Caffrey, Anthelmintic drug discovery: into the future, *J. Parasitol.* 101 (2015) 125–133.
- [7] J.M. Munita, A.S. Bayer, C.A. Arias, Evolving resistance among Gram-positive pathogens, *Clin. Infect. Dis.* 15 (2015) 48–57.
- [8] H.A. Shalaby, Anthelmintics resistance; how to overcome it?, *Iran, J. Parasitol.* 8 (2013) 18–32.
- [9] C.P. Garcia, Resistencia bacteriana en Chile, *Rev. Chil. infectol.* (2003) 11–23.
- [10] R. Kaplan, A. Vidyashankar, An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance, *Vet. Parasitol.* 186 (2012) 70–78.
- [11] R. Laxminarayan, A. Duse, C. Wattal, A.K. Zaidi, H.F. Wertheim, N. Sumpradit, E. Vlieghe, G.L. Hara, I.M. Gould, H. Goossens, C. Greko, A.D. So, M. Bigdeli, G. Tomson, W. Woodhouse, E. Ombaka, A.Q. Peralta, F.N. Qamar, F. Mir, S. Kariuki, Z.A. Bhutta, A. Coates, R. Bergstrom, G.D. Wright, E.D. Brown, O. Cars, Antibiotic resistance — the need for global solutions, *Lancet Infect. Dis.* 13 (2013) 1057–1098.
- [12] R.B. Besier, L.P. Kahn, N.D. Sargison, J.A. Van Wyk, Diagnosis, treatment and management of *HAEMONCHUS contortus* in small ruminants, *Adv. Parasitol.* 93 (2016) 181–238.

- [13] E. Lautenbach, E.N. Perencevich, Addressing the emergence and impact of multi-drug-resistant gram-negative organisms: a critical focus for the next decade, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 35 (2014) 333–335.
- [14] J.C. Williams, Anthelmintic treatment strategies: current status and future, *Vet. Parasitol.* 72 (1997) 461–477.
- [15] W.J. Peumans, E.J.M. Van Damme, Lectins as plant defense proteins, *Plant Physiol.* 109 (1995) 347–352.
- [16] S.H. Loh, J.Y. Park, E.H. Cho, S.Y. Nah, Y.S. Kang, Animal lectins: potential receptors for ginseng polysaccharides, *J. Ginseng. Res.* 41 (2017) 1–9.
- [17] E.H. Teixeira, F.V.S. Arruda, K.S. Nascimento, V.A. Carneiro, C.S. Nagano, B.R. Silva, A.H. Sampaio, B.S. Cavada, Biological applications of plants and algae lectins: an overview, in: C.F. Chang (Ed.), *Carbohydrates-Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology*, InTech., Rijeka, Croatia, 2012, pp. 533–558.
- [18] F.G. Del Sol, C.S. Nagano, B.S. Cavada, J.J. Calvete, The first crystal structure of a mimosoideae lectin reveals a novel quaternary arrangement of a widespread domain, *J. Mol. Biol.* 353 (2005) 574–583.
- [19] Y. Xiang, M. Song, Z. Wei, J. Tong, L. Zhang, L. Xiao, Z. Ma, Y. Wang, A jacalin-related lectin-like gene in wheat is a component of the plant defence system, *J. Exp. Bot.* 62 (2011) 5471–5483.
- [20] B.S. Cavada, C.F. Santos, T.B. Grangeiro, L.I.M.M. Silva, M.J.O. Campos, F.A.M. Sousa, J.J. Calvete, Isolation and partial characterization of a lectin from *PARKIA PLATYCEPHALA*. Benth seeds, *Physiol. Mol. Biol. Plants* 3 (1997) 109–115.
- [21] U.K. Laemli, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature* 227 (1970) 680–685.
- [22] R.A. Moreira, J.C. Perrone, Purification and partial characterization of a lectin from *PHASEOLUS VULGARIS*, *Plant Physiol.* 59 (1977) 783–787.
- [23] G.C. Coles, C. Bauer, F.H.M. Borgsteede, S. Geerts, T.R. Klei, M.A. Taylor, P.J. Waller, World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.). Methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance, *Vet. Parasitol.* 44 (1992) 35–44.
- [24] F.H.S. Roberts, J.P. O'Sullivan, Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infection the gastro-intestinal tract of cattle, *Aust. Agric. Res.* 1 (1950) 99–192.
- [25] H. Ueno, P.C. Gonçalves, Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes, Japan International Cooperation Agency., 1998, p. 144.
- [26] P.E. Vercoe, H.P.S. Makkar, A.C. Schlink, *In Vitro Screening of Plant Resources for Extra-nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies*, Dordrecht, (2010).
- [27] D. Bahuaud, C.M.O. De Montellano, S. Chauveau, F. Prevot, F. Torres-Acosta, I. Fouraste, H. Hoste, Effects of four tanniferous plant extracts on the in vitro ex-

sheathment of third-stage larvae of parasitic nematodes, *Parasitology* 132 (2006) 545–554.

[28] J. Demeler, U. Küttler, A. El-Abdellati, K. Stafford, A. Rydzik, M. Varady, F. Kenyon, G. Coles, J. Höglund, F. Jackson, J. Vercruysse, G. von Samson-Himmelstjerna, Standardization of the larval migration inhibition test for detection of resistance to ivermectin into gastro intestinal nematoids of ruminants, *Vet. Parasitol.* 174 (2010) 58–64.

[29] CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute, *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, eighth ed., CLSI, 2008.

[30] H.D.M. Coutinho, J.G.M. Costa, E.O. Lima, V.S. Falcão-Silva, J.P.S. Júnior, Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin-resistant *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* by *TURNERA ULMIFOLIA* L, *BMC Complement Altern. Med.* 8 (2009) 9–13.

[31] W. Delano, *The Pymol Molecular Graphics System*, (2002).

[32] L. Adamová, L. Malinová, M. Wimmerová, New sensitive detection method for lectin hemagglutination using microscopy, *Microsc. Res. Tech.* 77 (2014) 841–849.

[33] H.O. Salles, A.C. L Braga, M.T.S.C. Nascimento, A.M.P. Sousa, A.R. Lima, L.S. Vieira, A.C.R. Cavalcante, A.S. Egito, L.B. S Andrade, Lectin, hemolysin and protease inhibitors in seed fractions with ovicidal activity against *HAEMONCHUS contortus*, *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 23 (2014) 136–143.

[34] L. Ríos-de Álvarez, F. Jackson, A. Greer, Y. Bartley, D.J. Bartley, G. Grant, J.F. Huntley, In vitro screening of plant lectins and tropical plant extracts for anthelmintic properties, *Vet. Parasitol.* 25 (2012) 390–398.

[35] C. Heim, H. Hertzberg, A. Butschi, S. Bleuler-Martinez, M. Aebi, P. Deplazes, M. Künzler, S. Štefanić, Inhibition of *HAEMONCHUS contortus* larval development by fungal lectins, *Parasites Vectors* 19 (2015) 425.

[36] H.D. Schallig, M.A. van Leeuwen, Carbohydrate epitopes on *Haemonchus contortus* antigens, *Parasitol. Res.* 82 (1996) 38–42.

[37] D.G. Palmer, I.L. McCombe, Lectin staining of trichostrongylid nematode eggs of sheep: rapid identification of *HAEMONCHUS contortus* eggs with peanut agglutinin, *Int. J. Parasitol.* 26 (1996) 447–450.

[38] F.B. Holetz, G.L. Pessini, N.R. Sanches, C.D.G. Aparício, C.V. Nakamura, B.P. Dias-Filho, Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases, *Memórias do Inst. Oswaldo Cruz.* 97 (2002) 1027–1031.

[39] O.A. Awoyinka, J.O. Awe, O.A. Omosebi, O. Osukoya, F.C. Oladele, B.A. Olofinbiyi, M.F. Asaolu, Interaction of glucose/sucrose binding lectin isolated from Nigeria wild bean with *E. coli* and *S. AUREUS*, *Food Nutr. Sci.* 8 (2017) 1085–1092.

- [40] P.H. Surya, K.K. Elyas, M. Deepti, Bacterial agglutination by a lectin from the leaves of the medicinal plant, *PIMENTA DIOICA* (L.) Merr, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 10 (2018) 35–43.
- [41] F. Iordache, M. Ionita, L.I. Mitrea, C. Fafaneata, A. Pop, Antimicrobial and anti-parasitic activity of lectins, *Curr. Pharmaceut. Biotechnol.* 16 (2015) 152–161.
- [42] L.C.B.B. Coelho, P.M.S. Silva, W.F. Oliveira, M.C. Moura, E.V. Pontual, F.S. Gomes, P.M.G. Paiva, T.H. Napoleão, M.T.S. Correia, Lectins as antimicrobial agents, *J. Appl. Microbiol.* 125 (2018) 1238–1252.
- [43] S.R. Tintino, C.D.M. Oliveira-Tintino, F.F. Campina, P. W. Limaverde, P.S. Pereira, J.S. Siqueira-Junior, H.D.M. Coutinho, L.J. Quintans-Júnior, T.G. Silva, T.C. Leal- Balbino, V.Q. Balbino, Vitamin K enhances the effect of antibiotics inhibiting the efflux pumps of *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* strains, *Med. Chem. Res.* 27 (2018) 261–267.
- [44] T.P. Chaves, R.E.E. Pinheiro, E.S. Melo, M.J.S. Soares, J.S.N. Souza, T.B. Andrade, T.L.G. Lemos, H.D.M. Coutinho, Essential oil of *EUCALYPTUS CAMALDULENSIS* Dehn potentiates  $\beta$ -lactam activity against *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* and *ESCHERICHIA coli* resistant strains, *Ind. Crops Prod.* 112 (2018) 70–74.
- [45] F.S. Oliveira, T.S. Freitas, R.P. Cruz, M.S. Costa, R.L.S. Pereira, L.J. Quintans-Júnior, I.R.A. Menezes, A.A.S. Araujo, H.D.M. Coutinho, M.P.P. Andrade, B.M.H. Sousa, P.S.S.M.R. Nunes, Evaluation of the antibacterial and modulatory potential of  $\alpha$ -bisabolol,  $\beta$ -cyclodextrin and  $\alpha$ -bisabolol/ $\beta$ -cyclodextrin complex, *Biomed. Pharmacother.* 92 (2017) 1111–1118.
- [46] I. Ghai, S. Ghai, Exploring bacterial outer membrane barrier to combat bad bugs, *Infect. Drug Resist.* 10 (2017) 261–273.
- [47] M.P. Mingeot-Leclercq, Y. Glupczynski, P.M. Tulkens, Aminoglycosides: activity and resistance, *Antimicrob. Agents Chemother.* 43 (1999) 727–737.
- [48] S. Garneau-Tsodikovaa, K.J. Labby, Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives, *Med.Chem.Comm.* 7 (2016) 11–27.
- [49] F.M.S. Gomes, X.J. Cunha, Santos, F.S. Joycy, Y.M.L.S. Matos, S.R. Tintino, S. Thiago Freitas, H.D.M. Coutinho, Evaluation of antibacterial and modifying action of catechin antibiotics in resistant strains, *Microb. Pathog.* 115 (2018) 175–178.
- [50] Y.F. Pereira, M.S. Costa, S.T. Relison, J.R. Esmeraldo, R.G.F. Fábio, M.F. B De Sá, I.R.A. Menezes, H.D.M. Coutinho, J.G.M. Costa, E. Sousa, Modulation of the antibiotic activity by the *MAURITIA FLEXUOSA* (buriti) fixed oil against methicillin-resistant *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) and other multidrug-resistant (MDR) bacterial strains, *Pathogens* 7 (2018) 98–106.
- [51] C.F. Bezerra, C.J. Camilo, M.K.N. Silva, T.S. Freitas, J. Ribeiro-Filho, H.D.M. Coutinho, Vanillin selectively modulates the action of antibiotics against resistant bacteria, *Microb. Pathog.* 113 (2017) 265–268.
- [52] M.V. Ramos, B.S. Cavada, L.R. Bonfim, H. Debray, A.M. Mazard, J.J. Calvete, T.B. Grangeiro, P. Rougé, Specific interactions of the *PARKIA PLATYCEPHALA*

lectin (Mimosoideae) with simple sugars and complex glycans as studied by surface plasmon resonance, Protein Pept. Lett. 6 (1999) 215–222.

## **5. Considerações Finais**

A problemática por trás da resistência bacteriana e anti-helmíntica afeta diretamente a produção animal. Atualmente muitos estudos têm demonstrado a ação efetiva de proteínas de origem vegetal no controle desses organismos, seja atuando isoladamente ou modulando a atividade de antibióticos. A ação moduladora da proteína tem como função potencializar o uso do antibiótico, em quantidades menores que o de costume, sem favorecer a resistência.

Nossos achados com testes *in vitro* demonstraram a ação efetiva da lectina PPL, isolada de uma planta nativa (*Parkia platycephala*) do cerrado e muito usada como alimento para ruminantes, como moduladora da atividade antibiótica da gentamicina contra cepas de *S. aureus* e *E. coli* e como inibidora das larvas L3 de *Haemonchus contortus*.