

Potencial antifúngico "in vitro" de extratos foliares de espécies de *Justicia* L. (Acanthaceae) diante de isolados clínicos veterinários de dermatófitos

Antifungal potential "in vitro" of foliar extracts of *Justicia* L. (Acanthaceae) species against veterinary clinical isolates of dermatophytes

Potencial antifúngico "in vitro" de extractos foliares de especies *Justicia* L. (Acanthaceae) frente a aislados clínicos veterinarios de dermatofitos

Recebido: 30/06/2022 | Revisado: 13/07/2022 | Aceito: 16/07/2022 | Publicado: 23/07/2022

Paulo Roberto Lima de Azevedo Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4436-1433>
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: paroliazjr@gmail.com

Rickson Alves Marques de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0508-3904>
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: ricksonalves100@gmail.com

Marcela Barlette Mendes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3926-6127>
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: marcela_barlette@hotmail.com

Mário Mendes Bonci

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3837-7378>
Universidade de São Paulo, Brasil
E-mail: mariobonci@usp.br

Claudete Rodrigues Paula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1156-0834>
Universidade de São Paulo, Brasil
E-mail: crpmicol@uol.com.br

Francisco de Assis Baroni

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0582-1911>
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: baronimicol@gmail.com

Luiz Ricardo dos Santos Tozin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0231-7592>
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: ricardo.tozin@gmail.com

Águida Aparecida de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8685-0345>
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: aguidaoliveira@gmail.com

Resumo

Dermatófitos são fungos queratinofílicos, que digerem a queratina de pele, pelo e unhas, utilizando-a como nutriente. Por essa natureza são capazes de invadir esses tecidos, causando assim, infecções denominadas dermatofitoses. Uma das principais classes de antifúngicos utilizadas no tratamento das dermatofitoses é a dos azóis. Devido ao aumento da resistência dos fungos a esses fármacos, procura-se cada vez mais novos compostos com o fim de contornar esse problema. *Justicia paracambi* e *Justicia wasshauseniana* são espécies de plantas nativas do território brasileiro, que pertencem a um gênero conhecido por possuir propriedades medicinais. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade de antifúngicos comerciais, e a atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólico e aquoso de *J. paracambi* e *J. wasshauseniana* sobre dermatófitos oriundos de amostras clínicas veterinárias. Os ensaios foram realizados pela técnica da difusão em disco de papel como descrito por Kirby-Bauer, utilizando-se os extratos das folhas das plantas citadas e os discos de antifúngicos comerciais. De acordo com os resultados, cetoconazol apresentou a maior atividade antifúngica e, miconazol, a menor. Em relação aos extratos, o aquoso de *J. paracambi* apresentou maior atividade antifúngica. Conclui-se que *J. paracambi* e *J. wasshauseniana* possuem potencial antifúngico a ser explorado como alternativa aos fármacos comerciais tradicionais, principalmente pela observação das zonas de inibição produzidas pelo extrato aquoso de *J. paracambi*.

Palavras-chave: Antimicrobianos; Azóis; Dermatofitose; Plantas; Resistência.

Abstract

Dermatophytes are keratinophilic fungi, which digest the keratin of skin, hair and nails, using it as a nutrient. By this nature they are able to invade these tissues, thus causing infections called dermatophytosis. One of the main classes of antifungals used in the treatment of dermatophytosis is the azoles. Due to the increasing resistance of fungi to these drugs, new compounds are increasingly being sought in order to overcome this problem. *Justicia paracambi* and *Justicia wasshauseniana* are native plant species to the Brazilian territory, which belong to a genus known to have medicinal properties. Thus, the objective of the present work was to evaluate the activity of commercial antifungal agents, and the antifungal activity of hydroalcoholic and aqueous extracts of *J. paracambi* and *J. wasshauseniana* on dermatophytes from veterinary clinical samples. Assays were performed using the paper disk diffusion technique as described by Kirby-Bauer, using extracts from the leaves of the aforementioned plants and commercial antifungal disks. According to the results, ketoconazole showed the highest antifungal activity and miconazole the lowest. Regarding the extracts, the aqueous of *J. paracambi* showed higher antifungal activity. It is concluded that *J. paracambi* and *J. wasshauseniana* have antifungal potential to be explored as an alternative to traditional commercial drugs, mainly by observing the zones of inhibition produced by the aqueous extract of *J. paracambi*.

Keywords: Antimicrobials; Azoles; Dermatophytosis; Plants; Resistance.

Resumen

Los dermatofitos son hongos queratinófilos, que digieren la queratina de la piel, cabello y uñas, utilizándola como nutriente. Por esta naturaleza son capaces de invadir estos tejidos, provocando infecciones denominadas dermatofitosis. Una de las principales clases de antifúngicos utilizados en el tratamiento de la dermatofitosis son los azoles. Debido a la creciente resistencia de los hongos a estos fármacos, se buscan cada vez más nuevos compuestos para superar este problema. *Justicia paracambi* y *Justicia wasshauseniana* son especies de plantas nativas del territorio brasileño, que pertenecen a un género conocido por tener propiedades medicinales. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad de agentes antifúngicos comerciales, y la actividad antifúngica de extractos hidroalcohólicos y acuosos de *J. paracambi* y *J. wasshauseniana* sobre dermatofitos de muestras clínicas veterinarias. Los ensayos se realizaron utilizando la técnica de difusión en disco de papel descrita por Kirby-Bauer, utilizando extractos de las hojas de las plantas antes mencionadas y discos antifúngicos comerciales. Según los resultados, el ketoconazol mostró la actividad antifúngica más alta y el miconazol la más baja. En cuanto a los extractos, el acuoso de *J. paracambi* mostró mayor actividad antifúngica. Se concluye que *J. paracambi* y *J. wasshauseniana* tienen potencial antifúngico para ser explorado como una alternativa a las drogas comerciales tradicionales, principalmente mediante la observación de los halos de inhibición producidos por el extracto acuoso de *J. paracambi*.

Palabras clave: Antimicrobianos; Azoles; Dermatofitosis; Plantas; Resistencia.

1. Introdução

Dermatófitos são fungos filamentosos zoonóticos causadores da dermatofitose. São produtores da enzima queratinase responsável pela hidrólise da queratina, seja em resíduos no ambiente ou na constituição de seres vivos, para a obtenção de substrato necessário ao seu desenvolvimento (Bonci et al., 2021; Silva et al., 2021).

Estes fungos prevalecem em áreas quentes, úmidas e com vasto acúmulo de matéria orgânica, como em países de clima tropical e subtropical. Estão divididos em três subgrupos: os zoofílicos, que inclui espécies associadas principalmente à colonização e dermatofitose em animais, sendo um dos principais representantes o *Microsporum canis*; os antropofílicos, como *Trichophyton rubrum*, associados à infecções em pessoas; e por último, os geofílicos, que estão dispersos no material queratinizado do ambiente, em que a espécie *Nannizzia gypsea* é um dos agentes mais presentes. As principais espécies envolvidas na dermatofitose em animais são *M. canis*, *N. gypsea*, *Trichophyton mentagrophytes* e *T. verrucosum* (Hubka et al., 2018).

Quanto à diversidade, os dermatófitos possuem mais de 30 espécies recentemente realocadas e classificadas após sequenciamento “multilocus”, sendo incluídos seis novos gêneros aos já consolidados *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*: *Arthroderma*, *Nannizzia*, *Ctenomyces*, *Lophophyton*, *Guarromyces* e *Paraphyton* (De Hoog et al., 2017).

O tratamento das dermatofitoses pode ser feito de maneira tópica, sistêmica ou pela combinação desses dois métodos. Os azóis como, itraconazol, miconazol e cetoconazol, são os fármacos mais utilizados para o tratamento desta enfermidade. Estas drogas atuam inibindo a síntese do ergosterol, interferindo na integridade da membrana plasmática fúngica (Moriello et al., 2017). O uso indiscriminado destes fármacos tem ocasionado o aumento na ocorrência de mecanismos de resistência pelos

dermatófitos, como expressão de bombas de efluxo, adaptação ao estresse e alteração nos alvos de ação, gerando aumento significativo nas falhas terapêuticas nos quadros dermatofíticos, ocasionando novos desafios para os serviços de saúde (Sacheli & Hayette, 2021).

Os extratos e compostos bioativos isolados de plantas consideradas medicinais têm demonstrado potencial antifúngico alternativo de baixo custo para controle de fungos, emergindo como possíveis opções terapêuticas para casos de dermatofitoses não responsivos aos antifúngicos comerciais tradicionais (Gonçalves et al., 2011; Lopes et al., 2017). A família Acanthaceae possui cerca de 3000 espécies descritas, sendo inúmeras com potencial biológico. *Justicia* L. é o seu maior gênero, com aproximadamente 600 espécies e apresentando ampla distribuição, com representantes na África, Ásia, Oceania, América tropical e subtropical (Ezcurra 2002; Powo 2021).

O gênero *Justicia* L., ainda pouco explorado farmacologicamente, possui espécies com aplicações farmacológicas importantes e de uso já consolidado na medicina popular. Trabalhos recentes têm comprovado a atuação destas espécies no tratamento da dor, inflamações, doenças respiratórias e potencial anticâncer (Oliveira & Andrade, 2000; Alonso-Castro et al. 2012; Sudevan et al. 2019). Sobre a ação antimicrobiana, estudos mostram que espécies de *Justicia*, como *Justicia gendarussa*, atuam positivamente no controle dos dermatófitos *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Nannizzia gypsea* e *Nannizzia fulva* (Sharma et al., 2011).

As espécies *Justicia paracambi* Braz e *Justicia wasshauseniana* Profice são nativas do Brasil (Chagas et al., 2020), sendo a primeira endêmica do Parque Nacional Municipal do Curió (PNM Curió), localizado no município de Paracambi, Rio de Janeiro, e a segunda encontrada nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Bahia. Vale salientar que a verificação do potencial de uso medicinal de plantas nativas brasileiras é um assunto importante a ser explorado, visto a ampla biodiversidade encontrada no país.

Segundo estudo da análise química de *Justicia wasshauseniana*, testes positivos apontaram a presença de esteróides, triterpenóides, cumarinas, carboidratos e cardioativos nos extratos de diclorometano; e saponinas, alcalóides, cumarinas, carboidratos e cardioativos nos extratos de metanol. Tais extratos passaram por testes, apresentando potencial contra radicais livres de DPPH, atividade antinociceptiva e antiinflamatória. Ademais, o estudo afirma que o gênero é bioprodutor de alcalóides, o que indica, juntamente com as utilizações na medicina popular, um direcionamento de importância para pesquisas de aplicação das propriedades químicas do mesmo, fomentando a ampliação do conhecimento fitoquímico das espécies e sustentando, conseqüentemente, a elucidação de novos fármacos (Fernandes, 2016). Não foram encontrados estudos fitoquímicos de *J. paracambi*, pois é uma espécie descrita recentemente (Braz, 2015).

Visando a ampliação da utilização assertiva dessas espécies vegetais, obtenção de tratamentos antifúngicos alternativos e menos agressivos para diversas micoses, bem como a consolidação de produtos do mercado nacional brasileiro, que valorizem a tecnologia e pesquisa do país, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade de antifúngicos comerciais (clotrimazol, itraconazol, miconazol e cetoconazol), e a atividade antifúngica dos extratos hidroalcolico e aquoso de *J. paracambi* e *J. wasshauseniana* sobre dermatófitos oriundos de amostras clínicas veterinárias.

2. Metodologia

2.1 Área de coleta e material vegetal

Amostras de folhas das espécies *Justicia paracambi* e *Justicia wasshauseniana* foram coletadas no Parque Natural Municipal do Curió (PNM Curió), Paracambi, RJ (22° 36' 39" S; 43° 42' 33" O), em julho de 2021. O PNM Curió engloba uma área de aproximadamente 1.100 ha, em sua maior parte ocupado por vegetação florestal e onde predomina a Floresta Atlântica Ombrófila Submontana. O clima varia entre brando subtropical nas áreas montanhosas, com um inverno seco e verão quente e chuvoso, e tropical quente e úmido em outras áreas, com temperatura média anual de 23,4° C (Fraga et al. 2012;

Cysneiros et al. 2015). O Parque é em parte protegido pela Companhia de Água do Estado (CEDAE), uma vez que faz parte da bacia do Rio Guandu, com grande abundância de recursos hídricos. Por outro lado, esta área é vulnerável à degradação ambiental em função de diferentes fatores, como: sua localização urbana, o costume de exploração de espécies nativas, atividade de caçadores, turismo irregular e a fiscalização deficiente.

As amostras foram secas em temperatura ambiente por sete dias. Após a manutenção do peso constante, as amostras foram acondicionadas em saco plástico até a realização do experimento.

Ramos férteis foram depositados no Herbário RBR do Departamento de Botânica da UFRRJ.

2.2 Preparação e diluição dos extratos

As amostras de folha de ambas as espécies vegetais foram pesadas após secagem e trituração. O extrato hidroalcoólico foi obtido utilizando etanol e água (7:3 vol/vol) em recipiente fechado e protegido da luz, a uma concentração de 100 e 250 mg mL⁻¹. O extrato aquoso foi obtido nas mesmas concentrações, aquecendo brevemente a água destilada em contato com as folhas secas e trituradas. Os extratos foram filtrados em filtros Milipore de 0,22 micrômetros antes do uso.

2.3 Cepas utilizadas

Foram utilizadas sete cepas clínicas de *Nannizzia gypsea*, duas cepas clínicas de *Microsporium canis* e uma cepa clínica de *Trichophyton mentagrophytes*. Todas isoladas de casos clínicos veterinários, envolvendo ou não transmissão para humanos, e todas cedidas pelo Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da UFRRJ. As cepas foram incubadas em ágar Sabouraud, por sete dias, em estufa controlada a uma temperatura de 27°C antes do teste antimicrobiano.

2.4 Delineamento experimental - Teste antimicrobiano

A atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólico e aquosos das duas plantas foi constatada pela técnica de difusão em disco de papel descrito pela metodologia de Kirby-Bauer como citado por Okura e Rende (2008) e preconizado pelo “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (Wayne - CLSI, 1997/2010).

As suspensões dos microrganismos diluídas em solução salina 0,9% foram inseridas às placas, com auxílio de “swab”. Os fatores de diluição foram ajustados à turvação de acordo com a escala 0,5 de McFarland.

O meio de cultura utilizado nos ensaios foi o agar Sabouraud com cloranfenicol acrescido de glicose e azul de metileno a 2% e 0,5 µg/mL, respectivamente, conforme o “Clinical & Laboratory Standards Institute” (Wayne - CLSI, 2010).

Os discos de antifúngicos utilizados foram Clotrimazol (50 mcg), Miconazol (50 mcg), Itraconazol (10 mcg) e Cetoconazol (50 mcg), obtidos comercialmente da marca Sensifungidisc CECON.

3. Resultados e Discussão

Os extratos aquosos e hidroalcoólicos produzidos a 100 mg mL⁻¹ de ambas as espécies foram incapazes de causar inibição do crescimento dos fungos avaliados (dados não mostrados). Por outro lado, diversos fungos demonstraram inibição de crescimento frente a extratos na concentração de 250 mg mL⁻¹. O extrato aquoso de *J. paracambi* (250 mg mL⁻¹) provocou inibição de crescimento nas cepas NG2, NG4 e NG7. As duas primeiras citadas, foram cepas que apresentaram resistência notória aos compostos azólicos de uso na clínica médica. O extrato aquoso de *J. wasshauseniana* (250 mg mL⁻¹) não interferiu no crescimento fúngico, porém o hidroalcoólico da mesma planta (250 mg mL⁻¹) inibiu parcialmente o crescimento das cepas NG1 e NG7 (Quadro 1).

Novos estudos acerca do potencial antimicrobiano das espécies *Justicia paracambi* e *Justicia wasshauseniana* devem ser realizados, adaptando diferentes metodologias e formas de extração de seus compostos, considerando que são plantas da

Mata Atlântica, originais do Brasil, e que muitas plantas do gênero já estão há décadas no uso popular (Kitadi et al., 2019).

Quadro 1. Efeitos dos antifúngicos azólicos e dos extratos hidroalcoólico (250 mg mL⁻¹) e aquoso (250 mg mL⁻¹) de *Justicia paracambi* e *Justicia wasshauseniana* sobre cepas clínicas de dermatófitos oriundas de animais.

Fungos	Clotrimazol	Cetoconazol	Miconazol	Itraconazol	<i>Justicia paracambi</i>		<i>Justicia wasshauseniana</i>	
					Hidroalcoólico	Aquoso	Hidroalcoólico	Aquoso
NG1	38 (Sensível)	30 (Sensível)	18 (Intermediário)	16 (Intermediário)	10	0	11	0
NG2	0 (Resistente)	0 (Resistente)	0 (Resistente)	0 (Resistente)	0	19	0	0
TM1	14 (Intermediário)	34 (Sensível)	10 (Intermediário)	18 (Intermediário)	0	0	0	0
NG3	26 (Sensível)	8 (Resistente)	8 (Resistente)	12 (Intermediário)	0	0	0	0
NG4	14 (Intermediário)	38 (Sensível)	0 (Resistente)	0 (Resistente)	0	13	0	0
NG5	32 (Sensível)	32 (Sensível)	26 (Sensível)	0 (Resistente)	0	0	0	0
NG6	16 (Intermediário)	0 (Resistente)	0 (Resistente)	0 (Resistente)	0	0	0	0
NG7	20 (Intermediário)	30 (Sensível)	0 (Resistente)	18 (Intermediário)	0	40	12	0
MC1	16 (Intermediário)	22 (Sensível)	8 (Resistente)	12 (Intermediário)	0	0	0	0
MC2	30 (Sensível)	40 (Sensível)	0 (Resistente)	16 (Intermediário)	0	14	0	0

NG – *Nannizzia gypsea*; TM – *Trichophyton mentagrophytes*; MC – *Microsporum canis*. *Medidas dos halos de inibição estão expressas em milímetros. Fonte: Autores.

A dermatofitose em humanos e em animais geralmente é crônica, exige um longo tempo de tratamento e muitas vezes a combinação de antifúngicos, combinação esta que para ser efetiva deve-se unir antifúngicos com diferentes mecanismos de ação (Lana et al., 2016; Silva et al., 2021). O tratamento pode ser tópico, sistêmico ou ambos, utilizando basicamente duas classes principais de agentes antifúngicos: os azóis e as alilaminas (Silva et al., 2021). Considerando a importância em saúde pública das dermatofitoses e o crescente problema de resistência antifúngica há uma necessidade urgente de novos estudos acerca do desenvolvimento de novos fármacos sintéticos ou naturais (Ccana, et al., 2020).

O primeiro passo de uma pesquisa em busca de um fármaco natural antimicrobiano ou antifúngico é o teste do produto bruto ou extrato bruto, e logo depois o teste dos seus compostos bioativos de diferentes grupamentos químicos. Nesse aspecto, as plantas são a primeira opção de teste por serem um material de fácil acesso e manuseio, e pela sua riqueza de compostos bioativos (Lopes, et al., 2017). Como demonstrado aqui, os extratos brutos de espécies vegetais podem indicar a possibilidade de criação de novos fármacos por meio destas espécies.

O método de Kirby-Bauer ou de disco difusão, utilizado neste trabalho, já é proposto e utilizado como técnica de avaliação de antifúngicos comerciais e extratos naturais, estes últimos ainda com potencial antifúngico não totalmente desvendado. Através dessa metodologia, extratos de plantas do gênero *Justicia* mostraram promissora atividade antifúngica frente a leveduras de *Candida* (Vinothkumar et al., 2017; Venkatachalam et al., 2019). Muitas plantas do mesmo gênero já apresentaram atividade antifúngica também quando utilizado o método de concentração inibitória mínima (MIC): Sridhar, et al., (2014) observaram efeito inibitório do extrato etanólico de *Justicia nesii* sobre cepas de *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Diversas espécies de plantas encontradas no Brasil já tiveram seus compostos bioativos com ação antidermatofítica comprovada, tais como: *Piper solmsianum*, *Pterocaulon polystachyum*, *Capsicum frutescens*, *Yucca gloriosa* e *Medicago sativa* (Lopes, et al., 2017).

Vale ressaltar que este método de avaliação de atividade antifúngica também funciona muito bem para rastrear e detectar possível surgimento de resistência antifúngica em cepas clínicas, como também corroborado pelos resultados. A cepa NG4 apresentou resistência a miconazol e itraconazol, a cepa NG6 apresentou resistência a cetoconazol, miconazol e itraconazol, cepa TM2 a clotrimazol e itraconazol e a cepa NG2 apresentou resistência a todos os azólicos testados. A busca de novas alternativas antifúngicas se mostra crescente e urgente, visto que as cepas aqui testadas são de origem clínica, isoladas

de animais com lesões aparentes, e algumas possivelmente associadas a transmissão do fungo aos seus tutores.

4. Conclusão

Nota-se que cepas de dermatófitos podem apresentar resistência a fármacos antifúngicos comerciais já estabelecidos na rotina clínica veterinária, podendo ocorrer falhas terapêuticas em quadros de dermatofitose, e que *J. paracambi* e *J. wasshauseniana* possuem potencial antifúngico a ser explorado como alternativa a esses fármacos comerciais, principalmente pela observação das zonas de inibição produzidas pelo extrato aquoso de *J. paracambi*.

Referências

- Alonso-Castro, A. J., Ortiz-Sánchez, E., Domínguez, F., Arana-Argáez, V., del Carmen Juárez-Vázquez, M., Chávez, M., & García-Carrancá, A. (2012). Antitumor and immunomodulatory effects of *Justicia spicigera* Schldl (Acanthaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 141(3), 888-894.
- Bonci, M. M., Makita, M. T., de Almeida Mendes, C., de Abreu, D. P. B., Ribeiro, L. V., Duarte, G. A. B., & de Assis Baroni, F. (2021). In vitro virulence evaluation of clinical and environmental isolates of dermatophyte fungi. *Research, Society and Development*, 10(6), e21110615699-e21110615699.
- Braz, D. M. (2015). *Justicia paracambi*, a new Brazilian species of Acanthaceae. *Phytotaxa*, 236(2), 184-190.
- Ccana, C. M., Cruz, C. T., & Jimenez, C. C. (2020). Anti-*Trichophyton rubrum* activity of the essential oil of *Clinopodium brevicalyx* and elaboration of a topical emulsion. *Journal of High Andean Research*, 22(2), 182-190.
- Chagas, E. C. O., & Costa-Lima, J. L. (2020). "*Justicia*" in *Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15351>
- Cysneiros, V. C., Oliveira Junior, J. M., Gai, T. D., & Braz, D. M. (2015). Diversity, community structure and conservation status of an Atlantic Forest fragment in Rio de Janeiro State, Brazil. *Biota Neotropica*, 15(2), 1-15.
- De Hoog, G. S., Dukik, K., Monod, M., Packeu, A., Stubbe, D., Hendrickx, M., & Gräser, Y. (2017). Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*, 182(1), 5-31.
- Ezcurra, C. (2002). El género *Justicia* (Acanthaceae) en Sudamérica Austral. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 225-280.
- Fernandes, R. D. (2016). Estudo Fitoquímico de *Justicia wasshauseniana* (Acanthaceae), *Tetrapteryx acutifolia* e *Lophanthera lactescens* (Malpighiaceae) e atividades biológicas. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Química. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/2021>.
- Fraga, M. E., Braz, D. M., Rocha, J. F., Pereira, M. G., & Figueiredo, D. V. (2012). Interação microrganismo, solo e flora como condutores da diversidade na Mata Atlântica. *Acta botânica brasílica*, 26(4), 857-865.
- Gonçalves, D. M., Araújo, J. H. B., Francisco, M. S., Coelho, M. A., & Franco, J. M. (2011). Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 13(2), 197-202.
- Hubka, V., Peano, A., Cmokova, A., & Guillot, J. (2018). Common and emerging dermatophytoses in animals: well-known and new threats. In *Emerging and epizootic fungal infections in animals* (pp. 31-79). Springer, Cham.
- Kitadi, J. M., Lengbiye, E. M., Gbolo, B. Z., Inkoto, C. L., Muanyishay, C. L., Lufuluabo, G. L., & Mpiana, P. T. (2019). *Justicia secunda* Vahl species: Phytochemistry, Pharmacology and Future Directions: a mini-review. *Discovery Phytomedicine*, 6(4), 157-171.
- Lana, D. F. D., Batista, B. G., Alves, S. H., & Fuentefria, A. M. (2016). Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento. *Clinical and biomedical research*. 36(4), 230-241.
- Lopes, G., Pinto, E., & Salgueiro, L. (2017). Natural Products: An Alternative to Conventional Therapy for Dermatophytosis? *Mycopathologia*, 182(1), 143-167.
- Moriello, K. A., Coyner, K., Paterson, S., & Mignon, B. (2017). Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary dermatology*, 28(3), 266-e68.
- Oliveira, A. F. M., & Andrade, L. D. H. C. (2000). Caracterização morfológica de *Justicia pectoralis* Jacq. e *J. gendarussa* Burm. F. (Acanthaceae). *Acta amazônica*, 30, 569-569.
- Okura, M. H., & Rende, J. C. (2008). Microbiologia: roteiros de aulas práticas: *Tecmedd*.
- Powo (2021). *Plants of the world online. Facilitado pelo Royal Botanic Gardens, Kew*. <http://www.plantsoftheworldonline.org>
- Sacheli, R., Cuypers, L., Seidel, L., Darfouf, R., Adjetey, C., Lagrou, K., & Hayette, M. P. (2021). Epidemiology of dermatophytes in Belgium: A 5 years' survey. *Mycopathologia*, 186(3), 399-409.
- Sharma, K. K., Saikia, R., Kotoky, J., Kalita, J. C., & Devi, R. (2011). Antifungal activity of *Solanum melongena* L, *Lawsonia inermis* L. and *Justicia gendarussa* B. against Dermatophytes. *International Journal of PharmTech Research*, 3(3), 1635-1640.

- Silva, E. S., Pinto, D. S., dos Santos-Neto, A. G., de Almeida-Junior, E. C., dos Santos, T. B., Rocha, F. S., & Oliveira, I. D. (2021). Aspectos clínicos da ocorrência de dermatofitoses no Estado de Sergipe, Brasil. *Research, Society and Development*, 10(10), e595101019136.
- Sridhar, N., Duggirala, S. L., & Puchchakayala, G. (2014). Antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Justicia neesii*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 9(4), 624-27.
- Sudevan, S., Parasivam, R., Sundar, S., Velauthan, H., & Ramasamy, V. (2019). Investigation of anti-inflammatory and anti-cancer activity of *Justicia adathoda* metabolites. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(4).
- Venkatachalam, D., Rahman, A., Sunny, B., Jacob, J., Kuriyan, N., Raman, R., & Vaniapurackal, R. (2019). Screening of antimicrobial activity of various extracts of the stem *Justicia gendarussa*. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 1-7.
- Vinothkumar, P., Devaki, R., Giftillda Selva Elsee, T., Nalina Saraswathi, K., & Velpandian, V. (2017). Screening of Antibacterial and Antifungal Activities of Siddha Herbal Drug *Kodagasalai chooranam (Justicia procumbens)*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 1247-1255.
- Wayne, P. A. (1997). National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. *M31-T*.
- Wayne, P. A. (2010). National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Clinical Laboratory Standards Institute Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing. *M51-A*.