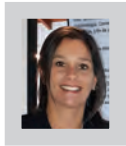


Efecto antibacteriano de pastas alcalinas adicionadas con Aloe vera frente al *Enterococcus faecalis*.

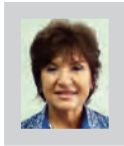
Antibacterial effect of alkaline pastes added with Aloe vera against *Enterococcus faecalis*.



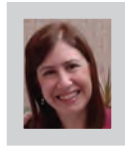
Galiana MB ¹



Karaben V ¹



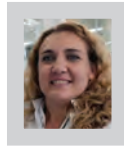
Ortega SM ¹



Britos MR ¹



Lozina LA ¹



Galiana AV ¹



Montiel NB ¹



Lugo de Langhe C ¹



Gualdoni GM ¹

¹ Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes. Argentina

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades pulpares y periapicales presentan como factor etiológico principal la presencia de microorganismos. El desbridamiento y limpieza total del canal radicular devolvería la salud a la pieza dentaria.

Objetivo: determinar la eficacia antibacteriana de pastas alcalinas adicionadas con Aloe vera frente al *Enterococcus faecalis* (E. faecalis).

Material y método: Se formularon y utilizaron pastas alcalinas adicionadas con gel de Aloe vera al 100%, 80%, 50% con propilenglicol y polietilenglicol, que fueron enfrentadas a cepas de E. faecalis para probar su eficacia antibacteriana.

Resultados: las formulaciones que presentaban Aloe vera al 100% y 80% presentaron una mejor eficacia antibacteriana.

Conclusión: Las pastas alcalinas adicionadas con Aloe vera presentan actividad antibacteriana frente al E faecalis.

Palabras claves: antimicrobiana, Aloe vera, *Enterococcus faecalis*, hidróxido de calcio, microorganismos, patología.

SUMMARY

Introduction: Pulp and periapical diseases have the presence of microorganisms as the main etiological factor. Debridement and thorough cleaning of the root canal would restore health to the tooth.

Objective: to test the antibacterial efficacy of alkaline pastes added with Aloe vera against E. faecalis.

Material and method: Alkaline pastes added with 100% Aloe vera gel, 80%, 50% were formulated and used with propylene glycol and polyethylene glycol, which were tested against strains of *Enterococcus faecalis* to test their antibacterial efficacy.

Results: formulations with 100% Aloe vera and 80% presented better antibacterial efficacy.

Conclusion: In this study the combination with Aloe vera presented antibacterial activity against E faecalis.

Keywords: antimicrobial, Aloe vera, *Enterococcus faecalis*, calcium hydroxide, microorganisms, pathology.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades pulpares y periapicales presentan como factor etiológico principal la presencia de microorganismos. El propósito del tratamiento endodóntico es la eliminación y la erradicación de bacterias del complejo sistema de canales radiculares, por lo que se requiere una terapia mecánica conjuntamente con una química. El desbridamiento y limpieza total del canal radicular devolvería la salud a la pieza dentaria^{1, 2}.

Las infecciones primarias de los canales son causadas por una flora predominantemente anaerobia estricta, en cambio en los retratamientos y reinfecciones se encuentran algunos microorganismos que resisten tratamientos convencionales. Tal es el caso de *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), cuya prevalencia es del 24% a 77% en los fracasos endodónticos³. Es una bacteria, gram positiva, anaerobia facultativa que puede sobrevivir a medios hipo e hipertónicos, un pH comprendido entre 2 y 10 y puede resistir la carencia de nutrientes.

Su mecanismo de adhesión le permite reconocer el colágeno de las células del huésped y se organizan formando biofilm, lo que le permite resistir la fagocitosis, la acción de anticuerpos y antimicrobianos^{2,3}. La limpieza mecánica de los canales radiculares va acompañada de la medicación intraconducto, la sustancia de elección es el hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), componente fundamental de las pastas alcalinas. Hermann en 1920 lo introdujo como un agente recubridor pulpar, y luego fue utilizado en el tratamiento endodóntico^{4,5,6}. El hidróxido de calcio como medicación temporaria entre sesiones, se mezcla con un vehículo, preferentemente acuoso o viscoso para conformar pastas alcalinas⁴. El mecanismo de acción del hidróxido de calcio es atribuido principalmente a su pH elevado y por la liberación de iones hidroxilo, produce inhibición del sistema enzimático bacteriano, altera directamente la integridad de la membrana citoplasmática y daña el ADN bacteriano^{4,5}. El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por sí mismo no fue efectivo en la erradicación del microorganismo a profundidades de 250 μm dentro de los túbulos dentinarios; esto se debería a la falta de penetración de la pasta en los mismos, por lo que *E. faecalis* puede persistir en los túbulos dentinarios y volver a infectar el canal radicular⁵. En relación a esto, Mc Hugh demostró que se necesita un pH mayor de 11,0 para la erradicación del microorganismo. Este pH es conocido como umbral de erradicación que luego de permanecer una semana en la dentina interna disminuye su pH a 9,0.³

En la actualidad, se estima que el 80% de la población mundial utiliza productos naturales en el área de la salud. La necesidad de potenciar la acción del hidróxido de calcio desencadenó la búsqueda de alternativas con productos naturales y sus principios activos que le podrían otorgar características farmacológicas particulares⁷. El *Aloe barbadensis miller* llamada, comúnmente Aloe vera, es utiliza-

do medicinalmente y está constituido por más de 75 principios activos; su gel contiene agua, mucílagos y carbohidratos, ácidos y sales orgánicas, enzimas, saponinas, taninos, heteróxidos, antracénicos, esteroides, triacilglicéridos, aminoácidos, ARN, trazas de alcaloides, vitaminas y diversos minerales^{8,9,10,11,12,13}. Químicamente el Aloe vera se caracteriza por la presencia de constituyentes fenólicos separados en dos grupos: las cromonas, como la aloensina, y las antraquinonas; barbaloina, isobarbaloina y la aloemodina. Varios polisacáridos han sido detectados y aislados de la pulpa del Aloe vera, incluyendo manosa, galactosa, arabinosa, sustancias pécticas y ácido glucurónico⁵. Se ha estudiado la función antibacteriana del Aloe vera frente a *S. mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bacteroides fragilis*, *S. pyogenes*, *S. faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans*, *krusei*, *parapsilosis*, Herpes simple, Cytomegalovirus, virus de la varicela-zoster, virus de la influenza.^{14,15,16,17,18}.

El Aloe vera es un producto natural que por sus principios activos potenciaría la acción de las pastas alcalinas. El objetivo del presente trabajo es determinar la eficacia antibacteriana de pastas alcalinas adicionadas con Aloe vera frente al *E. faecalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental in vitro, descriptivo, transversal.

A-Obtención de los extractos: Se recolectaron hojas de Aloe vera de plantas de por lo menos 4 años de crecimiento, provistas por la empresa Bio-Aloe Utte Corrientes Argentina. Para la recolección del gel de Aloe vera se realizó un corte transversal de la parte inferior de las hojas. Se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio 1:100 (Tedequim.Córdoba. Argentina)(Fig 1). Posteriormente se cortaron los bordes espinosos y se separó la corteza.



Fig. 1. Obtención de gel de Aloe vera y almacenamiento en frascos estériles

Se extrajo el gel que fue doblemente filtrado y así obtenido se colocó en frascos estériles, se realizaron diluciones al 100%, 80% 50% con Propilenglicol Proanálisis (Cicarelli de Reagents SA. Santa Fé. Argentina) y Polietilenglicol 400 purísimo Proanálisis (Cicarelli de Reagents SA. Santa Fé. Argentina) obteniéndose extractos glicólicos. Estos extractos se utilizaron como vehículos de las pastas alcalinas en las pruebas in vitro (Fig N°2). Se realizó la homogeneización de los extractos mediante la agitación en vortex mezclando el Aloe vera con el solvente (propilenglicol, polietilenglicol); se almacenaron en frascos estériles.



Fig. 2. Extractos glicólicos de Aloe vera.

B-Pastas alcalinas para la preparación de pastas alcalinas se pesaron los componentes del polvo: Hidróxido de calcio 2,5 g, Oxido de Zinc 0,5g, Colofonia 0,05 g y se tomaron los extractos preparados de Aloe vera al 100% y al 80 y 50% con propilenglicol y polietilenglicol. Se utilizó como modelo a la Pasta de Leonardo (PL:1), cuya formulación original es Hidróxido de calcio 2,5 g, Oxido de Zinc 0,5g Colofonia 0,05 g y 1,75 ml de polietilenglicol. El vehículo polietilenglicol se reemplazó por propilenglicol y extractos de Aloe vera en diferentes concentraciones, dando como producto a las siguientes pastas alcalinas (Tabla 1).

Pasta 1: Pasta de Leonardo
Pasta 2: PL + propilenglicol 1,75
Pasta 3: PL+ 100% de Aloe vera
Pasta 4: PL + 50% de Aloe vera y 50% de polietilenglicol
Pasta 5: PL+50% de Aloe vera y 50% de propilenglicol
Pasta 6: PL+ 80% de aloe 20% de polietilenglicol
Pasta 7: PL +80%de Aloe vera+ 20 % propilenglicol

Tabla N° 1: Formulaciones alcalinas adicionadas con extractos glicólicos y Aloe vera

El volumen de los vehículos que contenían Aloe vera utilizados en las pastas magistrales aumentó en comparación al vehículo utilizado en la pasta de Leonardo empleada como control.

A todas las formulaciones que incluían Aloe Vera como vehículo se le debió agregar el doble de volumen para lograr la consistencia de la Pasta de Leonardo. Se colocan en morteros y se logró una mezcla homogénea y se almacenaron en jeringas estériles rotuladas con el número de cada pasta.



Fig. 3. Preparación de pastas alcalinas y almacenamiento en jeringas esteriles rotuladas con el número correspondiente a cada formulación.

C-Cultivos de Enterococcus faecalis. En las pruebas de sensibilidad se utilizó la cepa de colección American Type Culture Collection (ATCC) de E. Faecalis (Ef) ATCC 29212, cedidas por el Instituto de Medicina Regional (Unne. Resistencia. Argentina). Procedimiento: Se propagó la cepa del E. faecalis en Agar Infusion cerebro corazón (BHI) (Laboratorios Britania S.A.) (Fig N°4). Las placas fueron incubadas en una estufa de cultivo San Jor-Modelo SL70CDB-Argentina 48 hs a 37 °C, la cepa se almacenó a -20 C en medio BHI semisólido con 10% glicerol al 85% Emsure (Merck) (Fig N°5). Para las pruebas de sensibilidad se utilizó un crecimiento de la cepa de 24 hs en BHI. Se trabajó en con discos de papel en placa de petri con la técnica de difusión en agar (método de Kirby Bawer).



Fig. 4. Cultivo de E. faecalis en agar nutritivo



Fig. 5. Almacenamiento de cepas de *E. faecalis* en BHI con glicerol

D- Prueba de sensibilidad. Las pruebas de sensibilidad fueron efectuadas con una suspensión bacteriana de 0,5 McFarland (1,5 x 10⁹ cel bacteriana/ml) a partir de un crecimiento de 24 hs. Se sembró 50 ul de la suspensión bacteriana con un hisopo estéril en una placa de Agar Muller Hinton (L.Britania S.A)(Fig 6), luego se realizaron en el agar 6 pocillos de 0,6 mm de diámetro con un sacabocado. Cada ensayo se realizo por triplicado con dos repeticiones por grupo.



Fig. 6. Siembra en superficie de *E. faecalis* en Mueller Hinton.

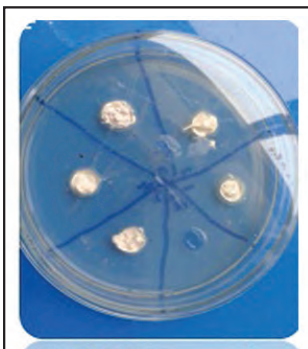


Fig. 7. Antibiograma de pastas alcalinas en Mueller Hinton

En cada pocillo se colocaron 1 ml de cada formulación a evaluar (Fig N°7). Se utilizó vancomicina Pfizer S.L.España 0,6 % como control positivo y como control negativo se utilizó agua destilada (Lab. de Microbiología de la UNNE)¹⁹. Se lo incubó a 37°C por 24 horas. A las 24 hs se leyeron los diametros de los halos de inhibición 20. Las lecturas

se realizaron con una regla milimetrada, determinando la presencia o ausencia de halos de inhibición que indicarán la sensibilidad o resistencia del *E.faecalis* a las pastas citadas. Habria que agregar tambien los ensayos con los vehiculos solos.

Los datos obtenidos fueron analizados con la prueba estadística de la varianza Anova y el Test de Fisher.

RESULTADOS

En las pruebas de sensibilidad y resistencia en los pocillos donde se utilizo agua como control negativo se observó crecimiento bacteriano con ausencia de halos de inhibición, en los que se utilizó vancomicina(0,6%) como control positivo se observó un halo de inhibición de 22 mm.

Se representan en la Tabla N°2 las comparaciones de los diámetros en mm de los halos de inhibición en el tiempo de crecimiento exponencial del *Enterococco faecalis*. Las pastas adicionadas con gel de Aloe vera al 100%, 80%, 50% con propilenglicol y polietilenglicol generaron halos que podrían indicar sensibilidad del *E. faecalis* hacia las formulaciones alcalinas. Los vehículos por si solos no presentan actividad antibacteriana. Los halos de inhibición de las formulaciones alcalinas presentaban 2 zonas: una zona de inhibición y una zona de difusión. Esta última se evidenciaba con una turbidez característica que se correspondería a la composición química del Hidróxido de calcio. Las formulaciones que contenían Aloe vera y propilenglicol aumentaban la difusión del hidróxido de calcio. La vancomicina (control positivo) mostró un halo de inhibición de 22 mm que está estandarizado en antibiogramas frente al *E. faecalis*.

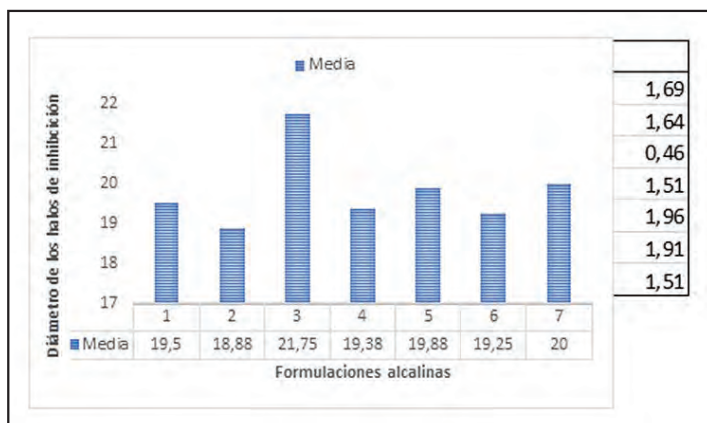


Figura N° 8: Medias de Diámetro de los halos de inhibición de las pastas alcalinas

Los resultados de las medias de los halos de inhibición obtenidos de cada una de las formulaciones están representados en la Fig. 8. La pasta N° 3 (Aloe Vera al 100%) reflejó el mayor diámetro de halo de inhibición con diferencia estadísticamente significativa (p valor 0,0214-Anova) (Fig. N°9) respecto a las demás pastas analizadas. La presencia del compuesto natural, gel de Aloe Vera, demostró un aumento en la difusión de la pasta y la actividad antibacteriana. El pro-

propilenglicol aumenta la difusión del Aloe vera e Hidróxido de calcio. Según la prueba de Fisher, la pasta N° 3 tiene una diferencia estadísticamente significativa que se manifiesta con una letra diferente a las demás formulaciones respecto a las demás pastas probadas, coincidiendo además con la desviación estándar (Tabla N° 2) que la mínima diferencia está dada por la pasta 3 en 0,46 siguiendo en orden la pasta 4 y 7 en 1,51, la pasta 2 y 1 con 1,64 y 1,69 de DS y 5 y 6 con 1,91 y 1,96 de DS, respectivamente.



Fig. 9. Halo de inhibición de la Pasta alcalina N° 3 frente al *Enterococcus faecalis*.

DISCUSIÓN

La terapéutica endodóntica mediata requiere la medicación intraconducto, entre sesiones, con el objeto de ser coadyudante de la preparación biomecánica del conducto radicular. El componente principal de la medicación intraconducto es el Hidróxido de calcio en sus múltiples presentaciones y asociaciones con diferentes vehículos que potencian su acción. En este estudio se incorporó al Aloe vera y extractos glicólicos de Aloe vera como vehículos de pastas alcalinas para determinar la eficacia antibacteriana frente al *E. faecalis*. La presencia de un halo de inhibición mayor en las formulaciones con un alto porcentaje de Aloe vera y la mayor difusión de las pastas alcalinas coinciden con otro estudio que así lo han determinado²³. Existe una relación directa entre el fracaso endodóntico, la falta de eliminación de toda vida microbiana y la prevalencia de *E. faecalis* en la flora persistente de las reinfecciones endodónticas⁵. El hidróxido de calcio es utilizado en trabajos de investigación frente al *E. faecalis* solo o en combinación con diferentes químicos. En este trabajo se agregó óxido de zinc y colofonia al Hidróxido de calcio, según la fórmula del Dr. Leonardo; los vehículos utilizados son polietilenglicol, propilenglicol y Aloe vera, no habiendo exactamente trabajos de investigación que coincidan con esta formulación. El Aloe vera es un producto natural cuyo gel presenta numerosos principios activos entre los cuales podemos destacar la presencia de antraquinonas, que son derivados fenólicos, cromonas y fenoles con actividad antibacteriana. Según Sureshchandra et. al., el extracto de Aloe

Vera es eficaz frente a *E. faecalis* actúa como un agente antimicrobiano. El gel de Aloe Vera podría provocar un flujo limitado de la sustancia a través de las irregularidades del sistema de conductos radiculares. Se ha optado por el Aloe vera como producto natural para comprobar su efecto antibacteriano ante diferentes microorganismos como *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bacteroides fragilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, Herpes simple, Cytomegalovirus, virus de la varicela-zoster, virus de la influenza^{13,21,22,23}

Así mismo Bhardwaj y cols realizaron una evaluación comparativa de la actividad antimicrobiana de extractos naturales de *Morinda citrifolia*, papáina, y Aloe vera (gel), 2% de gel de clorhexidina e hidróxido de calcio, frente a *E. faecalis* in vitro. El porcentaje de inhibición global en las dos profundidades fueron del 100% con gel de clorhexidina, este fue seguido por *M. citrifolia* gel (86,02), Aloe vera (78,9%), Gel de papáina (67,3%), e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (64,3%) este trabajo se probó la combinación de Hidróxido de calcio y Aloe vera y propilenglicol²¹. En tanto Delle Vedove Semenoff y cols. compararon el efecto antimicrobiano del gel de Aloe vera, gel de clorhexidina al 0,12% y 2% de gel de clorhexidina frente a *E. faecalis*, quedando el Aloe Vera posterior al efecto de la clorhexidina²². El Aloe vera, al mezclarse con el hidróxido de calcio, potenciaría su acción, prolongando la liberación de los iones hidroxilo, no interfiriendo con el pH de la preparación y esto potenciaría la acción antibacteriana del Hidróxido de calcio²³. El presente trabajo coincide con Bazvand y cols, quienes estudiaron el efecto antibacteriano de la pasta triantibiótica conteniendo ciprofloxacina/minociclina/metronidazol (TAM), clorhexidina, Propóleos y Aloe vera frente al *E. faecalis*; se utilizaron 90 dientes unirradiculares, los cuales fueron divididos en 4 grupos experimentales, a los que se les incorporó una suspensión con *E. faecalis* intracanal. Los resultados indicaron que no existió diferencia significativa en la inhibición del microorganismo de TAM, clorhexidina y propóleos. Asimismo, el Aloe vera presentó una reducción considerable de las colonias respecto del control positivo²⁴. En este trabajo se obtiene uno de los mejores comportamientos en la asociación de Aloe vera + propilenglicol, asimismo Silva Herzog lo utilizó como uno de los vehículos asociados al hidróxido de calcio, en el que evidenció mayor liberación de iones calcio, lo que suma un aspecto positivo en la elección del propilenglicol como vehículo adecuado para combinarlo con el Hidróxido de calcio²⁵. En el trabajo de Oliveira y cols. se trabajó con cuatro formulaciones de Hidróxido de Calcio (calen, hydrocalen), comprobando la acción antibacteriana frente a *E. faecalis*, coincidiendo con este trabajo en el que la media de los halos de inhibición de la pasta 1 y 3 fueron similares al diámetro reportado en el trabajo citado, a pesar del agregado de Aloe vera y propilenglicol, aclarando que en este trabajo se distinguen halos de inhibición y difusión. Los halos de inhibición tienen un promedio de

10 a 13 mm y los halos de difusión blanquecinos aproximadamente de 21mm a 26. El hidróxido de calcio produce la muerte de bacterias por hidróxido de calcio y dependerá de la disponibilidad de iones hidroxilo en solución, porque los iones hidroxilo inducen la peroxidación de lípidos, resultando en la destrucción de fosfolípidos, componentes estructurales de la membrana de la célula 27. El hidróxido de calcio [Ca(OH)₂] es un compuesto químico utilizado ampliamente en el tratamiento endodóntico como medicamento intracanal, y trata de identificar y utilizar el vehículo idóneo para combinarlo, de ello depende la optimización de sus propiedades, entre otras: capacidad para inducir la formación de tejido duro, incidencia para causar oclusión intratubular, acción antibacteriana y capacidad de disolución tisular6.

CONCLUSIÓN

Las pastas alcalinas actúan como coadyuvantes en los procedimientos biomecánicos con el objetivo de eliminar el contenido microbiano de los canales radiculares. En este estudio se determinó la eficacia antibacteriana de pastas alcalinas adicionadas con Aloe vera frente al *E. faecalis*, obteniéndose una diferencia significativa con la pasta N° 3 que utilizó como vehículo el Aloe vera al100%.

Autor de correspondencia:

Galiana MB

Recibido : 11/11/2018

Aceptado: 18/03/2019

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Fidalgo, Tatiana Kelly da Silva, Barcelos, Roberta, Portela, Maristela Barbosa, Soares, Rosângela Maria de Araújo, Gleiser, Rogério, & Silva-Filho, Fernando Costa e. Inhibitory activity of root canal irrigants against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Oral Research* 2010; 24(4), 406-412.
- 2- Bhardwaj A, Ballal S, Velmurugan N. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of *Morinda citrifolia*, papain and Aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2012; 15:293-7.
- 3- Pardi Germán, Guilarte Carolina; Cardozo Elba I.; Briceño Natalí. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta Odontológica Venezolana*. 2009; 47(1):110-121
- 4- Estrela C, Decurcio D, de Alencar A, Sydney G, Silva J. Efficacy of calcium hydroxide dressing in endodontic infection treatment: a systematic review. *Revista Odonto Ciencia* 2008;23(1):82-86
- 5- Silva-Herzog D, Andrade L, Lainfiesta J. Comparación del Hidróxido de calcio como medicamento intraconducto, utilizando vehículos viscosos y acuosos. *Estudio in vitro*. *Revista ADM* 2003; LX,14-18.
- 6- Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J* 2003; 36: 75-85
- 7- Champa C, Panchajanya S. An In-vitro Evaluation Of Antibacterial Activity Of Medicinal Plants And Calcium Hydroxide Against *Enterococcus Faecalis* By Modified Direct Contact Test. *Indian Journal of Dental Sciences*. 2014;6 (2):018-021
- 8- Vega G Antonio, Ampuero C Nevenka, Díaz N Luis, Lemus M Roberto. Aloe Vera (Aloe Barbadensis Miller) As A Component Of Functional Foods. *Rev. chil. nutr.* 2005; 32(3):208-214.
- 9- Dagne E, Bisrat D, Viljoen A, Van Wyk B-E. Chemistry of Aloe Species. *Curr Organic Chem* 2000; 4: 1055-1078.
- 10- Atherton, P. Aloe vera: magic or medicine? *Nurs. Stand.* 1998. 41:49-54
- 11- Reynolds, T., and A. C. Dweck. Aloe vera leaf gel: a review update. *J. Ethnopharmacol.* 1999; 68:3-37.
- 12- Urch, D. Aloe vera the plant, 1999. p. 8-17. In *Aloe vera nature's gift*. Blackdown Publications, Bristol, United Kingdom.
- 13- Fani M, Kohanteb J. Inhibitory activity of Aloe vera gel on some clinically isolated cariogenic and periodonto pathic bacteria. *Journal Of Oral Science* 2012; 54(1):15.
- 14- Jasso de Rodríguez D, Hernández-Castillo D, Rodríguez-García R, Angulo Sánchez J. Antifungal activity in vitro of Aloe vera pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. *Industrial Crops & Products*. 2005, 21(1):81-87
- 15- Zapata P, Navarro D, Guillén F, Castillo S, Martínez-Romero D, Serrano M. Characterisation of gel from different Aloe spp. As antifungal treatment. Potential crops for industrial application. *Industrial Crops & Products* 2013;42:223-230.
- 16- Ramachandran S, Aloe vera in Dentistry, *Indian J Stomatol* 2013,4(1):45 47
- 17- Das S, Mishra B, Gill K, Ashraf M, Singh A, Dey S. Al. Isolation and characterization of novel protein with anti-fungal and anti-inflammatory properties from Aloe vera leaf gel. *International Journal Of Biological macromoleculas*. 2011;48(1):38-43.
- 18- Renuka R, Nancy D, Ranandkumar S, Reyaz A, Sathya K, Indra Arulselvi P. Assessment of antibiotic, antioxidant activity and aloin content in Aloe barbadensis Miller gel extract. *Journal Of Pharmacy Research*. 2012;5(1):2481-2484
- 19- Servicio Enterobacterias Departamento de bacteriología Inei – Anlis “Dr. Carlos G. Malbrán” Ministerio de Salud y Ambiente Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias “Dr. Carlos G. Malbrán” Buenos Aires – Argentina 2007
- 20- Maye Bernal R. Miguel Guzmán U. *Antibiograma de Discos. Técnica de Kirby-Bauer Blomedia* 1984; Vol. 4, No. 3 y 4
- 21- Bhardwaj A., Ballal S., Velmurugan N Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of *Morinda citrifolia*, papain and aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study *Journal of Conservative Dentistry*. 2012; 15(3):293-297.
- 22- Delle Vedove Semenoff T; Rayder W. Ferreira S., Semenoff A-, Eder S BIASO R Efetividade in vitro de Aloe Vera in natura, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina 2% sobre *Enterococcus faecalis*. *Rev. odontociênc.* 2008; 23(3): 283-286
- 23- Bazvand L, et al. Antibacterial effect of triantibiotic mixture, chlorhexidine gel, and two natural materials Propolis and Aloe vera against *Enterococcus faecalis*: An ex vivo study *Dent Res J*. 2014; 11(4):469-474.
- 24- Montiel NB, Finten SB, Avalos Llano K, Rocha MT. Comparación in vitro de la difusión iónica de pastas de hidróxido de calcio usadas como medicación intraconducto con diferentes vehículos. *Revista de la Sociedad Española de Endodoncia*. [cited 2015 June 30]; 33 (1). Enero-Marzo 2015. Pags.17-21 Available from <http://www.revistaendo.com/>
- 25- Silva-Herzog D, Velasquez A, Rímola L. Comparación del hidróxido de calcio como medicamento intraconducto, utilizando vehículos viscosos y acuosos. *Estudio in vitro*. *Revista ADM*. 2008;65(4):137-141
- 26- Oliveira E, Irala L, Santos A, Melo T. Avaliação da ação antimicrobiana de quatro formulações a base de hidróxido de cálcio utilizadas como medicação intracanal. *RFO UPF*. 2010;15(1): 35-39.
- 27- Siqueira Júnior JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J* 1999;32:361-9.