

Perfil fitoquímico y actividad antimicrobiana de extractos de *Mangifera indica* frente a *Enterococcus faecalis*.

Phytochemical profile and antimicrobial activity of *Mangifera indica* extracts against *Enterococci faecalis*.

Galiana MB¹

Lozina LA²

Ortega SM¹

Gualdoni GM¹

Montiel NB¹

Lugo CD¹

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

² Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes. Argentina.

RESUMEN

Los fracasos endodónticos en un gran porcentaje de casos están relacionados con causas microbianas. La flora primaria tiene un predominio de bacterias Gram negativas, anaerobias estrictas, en número y diversidad elevadas y la flora relacionada a los fracasos endodónticos presenta bacterias Gram positivas, anaerobias facultativas y el número se reduce de 1 a 6 especies. Entre ellas se encuentra *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), coco, Gram positivo, anaerobio facultativo. Su resistencia a los antibióticos y a la medicación del canal justifica la búsqueda de productos naturales, que por sus principios activos buscan potenciar la acción de la medicación utilizada. El uso popular de extractos de corteza de *Mangifera indica* (*M. indica*) en infecciones, como antibiótico, propiedades analgésicas, entre otras, por contenido de metabolitos activos como fenoles, taninos, alcaloides, justifica su uso. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar la eficacia antibacteriana de extractos de *M. indica* frente al *E. faecalis*. Se formularon y utilizaron extractos acuosos, etanólicos, hexánicos y a los cuales se le realizaron estudios de caracterización por métodos cromatográficos y marchas fitoquímicas. En cuanto a la actividad antimicrobiana, fueron enfrentadas a cepas de *E. faecalis* (ATCC 29212) para evaluar la susceptibilidad por el método de difusión y diluciones seriadas en agar. El estudio cromatográfico de la corteza de *M. Indica* evidenciaron la presencia de taninos, fenoles, alcaloides. Los extractos etanólicos y acuosos de corteza de *M. indica* presentaron eficacia antibacteriana frente al *E. faecalis*.

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

SUMMARY

Endodontic failures in a large percentage of cases are related to microbial causes. The primary flora has a predominance of gram-negative, strict anaerobic bacteria, in high number and diversity, and the flora related to endodontic failures presents Gram-positive, facultative anaerobic bacteria, and the number is reduced from 1 to 6 species. Among which is *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), coconut, Gram positive, facultative anaerobic. Its resistance to antibiotics and intra-canal medication justifies the search for natural products that, due to their active principles, seek to enhance the action of intra-canal medication. The popular use of *Mangifera indica* (*M. indica*) bark extracts in infections, as an antibiotic, analgesic properties among others due to the content of active metabolites such as phenols, tannins, alkaloids justifies its use. Therefore, the objective of this work was to determine the antibacterial efficacy of *M. indica* extracts against *E. faecalis*. Aqueous, ethanolic and hexane extracts were formulated and used and characterization studies were carried out by chromatographic methods and phytochemical runs. Regarding the antimicrobial activity, they were confronted with strains of *E. faecalis* (ATCC 29212) to evaluate the susceptibility by the diffusion method and serial dilutions in agar. The chromatographic study of the bark of *M. Indica* showed the presence of tannins, phenols, alkaloids. The ethanolic and aqueous extracts of bark of *M. indica* showed antibacterial efficacy against *E. faecalis*.

Key words: antimicrobial, Aloe vera, *Enterococcus faecalis*, calcium hydroxide, microorganisms, pathology

INTRODUCCIÓN

Los procesos inflamatorios e infecciosos posteriores a tratamientos endodónticos están asociados a causas microbianas en su mayor porcentaje (1,2). El fracaso endodóntico persiste aún con el desarrollo tecnológico y la investigación clínica existente en la actualidad (3,4). Diversas situaciones clínicas influyen en el éxito o fracaso del tratamiento endodóntico (5).

Fracaso endodóntico. Causa microbiana

Es considerado un fracaso endodóntico a la situación en la que no se logra restaurar la función normal de la pieza dentaria, y se manifiesta clínicamente con signos y síntomas, aunque radiográficamente no exista rarefacción ósea (6). Su etiología es infecciosa; además de errores de procedimiento, en los que no se respetan los protocolos técnicos y clínicos de la preparación biomecánica del tratamiento endodóntico (6). En una infección endodóntica primaria, las bacterias que predominan son anaerobias estrictas (7,8,9).

En los casos de fracasos endodónticos, se encuentran de 1 a 6 especies con predominio anaerobio facultativo, Gram positivos, como *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), responsable del 80 a 90% de estos fracasos (7, 10,11) Dalmia et al. (2018), menciona que el 38% de los fracasos endodónticos fueron por la presencia de *E. faecalis* (12). Los casos de fracaso endodóntico tienen relación con la persistencia en el canal radicular de *E. faecalis* y su resistencia a los medios alcalinos y medicaciones intracanal utilizadas en la actualidad (11,12,13).

Mango “*Mangifera indica*”

El uso de la corteza del árbol de mango como materia prima vegetal forma parte de la cultura popular en más de 30 países, según reportes documentados desde hace más de 200 años. El árbol del mango es perenne y alcanza de 15-30 m de altura, puede vivir por más de 100 años y desarrollar un tronco con más de 4 m de diámetro. El origen del mango ha sido establecido en Asia, particularmente en la región Indo-Burmese, en las laderas del Himalaya (14). Entre los miembros de la familia Anacardiaceae, el mango (*Mangifera indica* L.) es de gran importancia, ampliamente adoptado en zonas tropicales y subtropicales con diversas condiciones climáticas y de suelo (15).

El extracto del árbol de mango se obtiene a partir de su corteza fresca, con un impacto ambiental muy bajo. Los árboles no resultan dañados por la recolección de la corteza y esto se puede repetir cada 2 o 4 años. La composición química, tanto orgánica como inorgánica, muestra que su componente mayoritario es la mangiferina (MF), una xantona glicosilada, que tiene una concentración de calcio y selenio adecuada a las dosis diarias recomendadas como alimento (16,17). Se han identificado también polifenoles, flavonoles, terpenoides biológicamente activos, fitoesteroles y azúcares libres (galactosa,

glucosa, arabinosa y fructosa), polialcoholes (sorbitol, xilitol, inositol) y ácidos grasos, de los cuales más del 60 % son poliinsaturados (oleico y linoleico) (18). Ha sido utilizado tradicionalmente en la medicina natural en muchos países para el tratamiento de la menopausia, diarrea, sífilis, diabetes, escabiosis, infecciones cutáneas, anemia, entre otras, según se registra en la Base de Datos de Productos Naturales Napralert (Univ. Illinois, EE.UU.), además de propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antidiabéticas, antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antihelmínticas, gastroprotectoras, hepatoprotectoras, inmunomoduladoras, antiplasmodiales, antihiperlipémicas, inmunoestimulantes y antihiperalgésicas(19,16).

La actividad antimicrobiana de los extractos de origen vegetal proviene de la actividad de sus componentes, principalmente los fenólicos, mangiferina, agliconas, taninos con efectos sinérgicos, formando un fitocomplejo activo en la inhibición microbiana (20). Estos compuestos, dependiendo de su estructura química y concentración. inhiben la síntesis proteica de las células, interfieren en la captación de oxígeno, forman complejos irreversibles con PRP (proteínas ricas en prolina) que inhiben la síntesis de proteínas celulares, logrando la acción antibacteriana (21,22).

Guerra Guamán reporta que en estudios realizados en Ecuador se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Mangifera indica* frente a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, y tuvo como resultado que el extracto hidroalcohólico al 90% presentó mayor inhibición frente a *S. aureus*, basándose en el método de difusión en agar de Kirby-Bauer modificado y dilución en caldo para determinar la concentración inhibitoria mínima (23). Sotelo et al. determinaron que la actividad antimicrobiana de extractos de origen vegetal tiene relación directa con su composición de principios activos, principalmente los de carácter fenólico, que ejercen una inhibición bacteriana por formar complejos sinérgicos (24). Se ha reportado además que la presencia de triterpenoides, flavonoides y taninos pueden ser responsables de la actividad antimicrobiana. Y en el caso del mango, se agrega la presencia de la mangiferina, como factor determinante de su actividad antimicrobiana (22). Ortiz Choez reporta que el extracto hidroalcohólico de mango presentó actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, frente a las bacterias *Salmonella typhimurium* 14028 ATCC, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 15923, y *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, mostrando acción inhibitoria frente a ellos, siendo mayor esta acción frente al *S. aureus*. Y que a medida que el extracto es diluido, disminuye la sensibilidad y por tanto existirá un efecto de la concentración (22). Chidozie et al. determinó que la corteza de *M. indica* tiene actividad antibacteriana y que esta depende de su concentración y es más efectiva a dosis más altas(25). El-Mahmood et al., reportó que el extracto acuoso de corteza de tallo de *M. indica* es activo contra bacterias Gram positivas y negativas ensayadas y destacan la presencia de compues-

tos bioactivos como la mangiferina y además de los flavonoides y las resinas(21) El objetivo de este artículo de investigación es desarrollar pastas alcalinas adicionadas con bioactivos de origen natural como corteza de mango, estables y eficaces para el uso en endodoncia.

MATERIAL Y MÉTODO

Tipo de Diseño Experimental: se desarrolló una investigación básica, que implicó el diseño experimental para la obtención y estandarización de bioactivos de origen natural, determinación de la actividad antimicrobiana y desarrollo de una formulación de pastas alcalinas para el uso en endodoncia.

Material botánico:

El material botánico se procesó en el laboratorio de Fitodontología de la FOUNNE y en el laboratorio de Productos Naturales "Prof. Armando Ricciardi" (Facena-UNNE). Se utilizaron muestras de Mangifera Indica, ambas fueron colectadas en la ciudad de Corrientes, República Argentina. En la figura 1 se observa el flujograma de trabajo de esta investigación.



Figura 1. Organigrama de obtención de la muestra de *M. indica*.

Para la obtención de extractos de corteza de *M. indica* se empleó como materia prima vegetal la corteza externa y la corteza interna del mango. Secado, pesaje y molienda(24,000 rpm) (Fig.2), obteniéndose un polvo de ambas cortezas, la externa e interna.



Figura 2. Polvo de corteza interna y corteza externa de *M. indica*.

Para obtener el extracto acuoso, etanólico y hexánico se utilizaron la materia prima de corteza externa e interna con agua destilada, etanol y hexano respectivamente en cantidad suficiente y se dejó en contacto ambas fases por un período de 24 h para el acuoso, 48 h para el etanólico y hexánico con periódicas remociones a fin de facilitar el contacto entre fases. Se rotularon estos extractos de *M. indica* como Extractos acuosos de corteza interna (EACI) y externa (EACE) respectivamente, y Extractos etanólicos de corteza interna (EECI) y externa (EECE) (Fig. 3 a). y Extractos hexánicos de corteza interna(EHCI) y de corteza externa(EHCE) (Fig. 3b).



Figuras 3 a y b: a) Extractos acuosos de corteza externa e interna; b) Extractos hexánicos y etanólicos de corteza externa e interna de *M. indica*.

Luego se procedió a un doble filtrado al vacío, primero al vacío con embudo con papel de filtro y luego mediante un filtro con vidrio sinterizado. Finalmente, los extractos obtenidos fueron rotaevaporados y conservados a -20°C . El rendimiento de extracto (p / p) se estimó como peso de extracto seco / seco peso del material $\times 100$ según la metodología de Parekh y Chanda, 2007. Los extractos rotaevaporados de *M. indica* (Fig. 4) fueron almacenados convenientemente, hasta el inicio de la marcha fitoquímica, cromatografía y antibiogramas. Para la preparación de diluciones para el ensayo antibacteriano, se disolverán en el mismo solvente en distintas concentraciones del producto vegetal. (Fig. 5). Los extractos acuosos, etanólicos y hexánicos de la corteza externa e interna de *M. indica* se utilizaron a una concentración 15, 20, 25, 30 y 35 mg de material vegetal rotaevaporado diluido en 1 ml de solvente de acuerdo al que fue utilizado para obtener el extracto y los extractos fueron almacenados para los antibiogramas.



Figura 4: Extractos rotaevaporados de *M. indica*.



Figura 5: Extractos de corteza externa e interna de *M.indica*.

Caracterización fitoquímica. Separación e identificación de los componentes químicos por cromatografía en capa fina (CCF)

Para el análisis fitoquímico de los extractos obtenidos se realizó una caracterización por cromatografía en placa fina donde se emplearon placas de sílica gel 60 F254, como solvente de corrida se utilizó acetato de etilo:metanol:agua (100:17:13). Una vez corrida la cromatoplaqueta se observaron a la luz ultravioleta a 365 nm (lámpara UV Original Hanau Fluotest) y posteriormente se revelaron con vapores de amoníaco y KOH al 5 % en metanol 60 y también fueron observadas a 254 nm. Para los extractos acuosos y etanólicos se utilizó como solventes de corrida acetato de etilo: metanol (9:1). Para el caso de los extractos hexánicos se utilizó hexano: acetato de etilo (5:5). También se utilizó el Revelador Universal: se asperja la placa con una solución de 100 ml. Acético Glacial (AcH glacial) ,1 ml de para-aminoisalaldehído, 2 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄).Se asperjó con golpes suaves de algodón embebido con dicho reactivo y luego se lo llevó a la estufa a 80° por 10 min.

Marcha fitoquímica

Se realizaron marchas fitoquímicas para detectar los componentes químicos de la muestra, utilizando las metodologías recomendadas para la búsqueda de antraquinonas, taninos, esteroides, triterpenos, cumarinas, saponinas, fenoles, flavonoides, alcaloides, aminoácidos.

Actividad antimicrobiana: Cepas de *Enterococcus faecalis*

En las pruebas de susceptibilidad 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). Se reactivaron las cepas del *E. faecalis* en Agar Infusión cerebro corazón (BHI) (Laboratorios Britania S.A.) (Fig. 6). Las placas fueron incubadas durante 48 h a 37 °C. A fin de obtener un stock disponible, la cepa se almacenó a -20 C° en medio BHI semisólido con la adición de 10% glicerol al 85%.

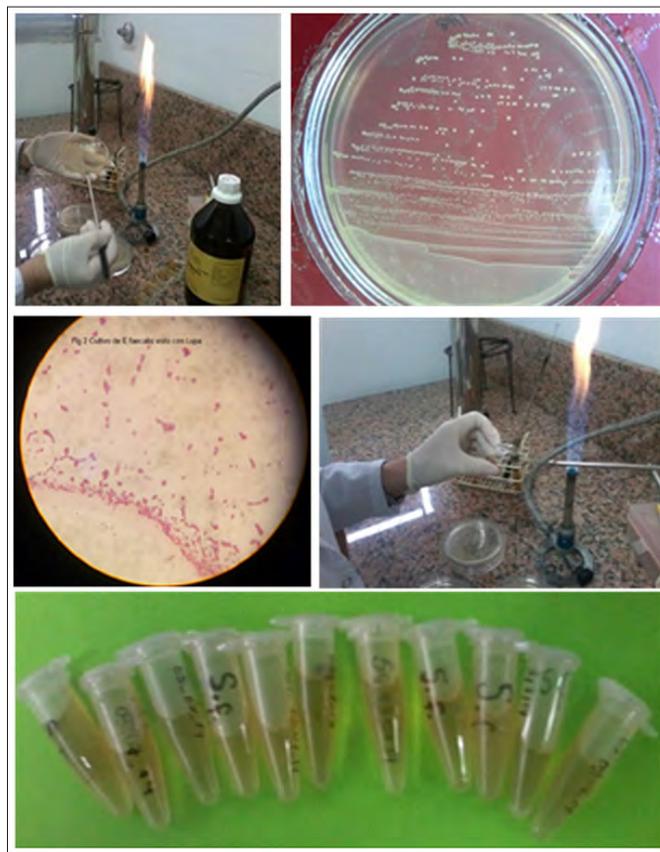


Figura 6: a. Reactivación de la cepa de *E. faecalis* en BHI. b. Cultivo de *E. faecalis* en BHI. c. Observación del cultivo de *E. faecalis* con lupa. d. Siembra de *E. faecalis* en glicerol. e. Almacenamiento en glicerol de las cepas de *E. faecalis*.

Técnicas de Difusión en agar

Las pruebas de sensibilidad fueron efectuadas con una suspensión bacteriana de 0,5 Mc Farland (1,5 x 10⁹ UFC/ml) a partir de un crecimiento de 24 h. Se sembró 50 µl de la suspensión bacteriana con un hisopo estéril en una placa de Agar Muller Hinton (L. Britania S.A.) (Fig. 7), luego se realizaron en el agar 6 pocillos de 0,6 mm de diámetro con un sacabocado. Cada ensayo se realizó por triplicado con dos repeticiones por grupo; se colocaron 500 µl de extractos de *M. indica* en concentraciones de 15,20, 25,30 y 35 mg (Fig. 8).

Posteriormente, se realiza el ensayo colocando en cada pocillo 500 µl de cada formulación a evaluar según. Se utilizó vancomicina 0,6 % como control positivo y como control negativo se utilizó agua destilada. Se lo incubó a 37°C por 24 h. Luego de este tiempo, se leyeron los diámetros de los halos de inhibición. Luego los extractos que tuvieron actividad antibacteriana fueron utilizados como vehículos de las pastas alcalinas. Las lecturas se realizaron con una regla milimetrada, determinando la presencia o ausencia de halos de inhibición que indicaran la sensibilidad o resistencia del *E. faecalis* a las pastas citadas.



Figura 7: Técnica de difusión en agar

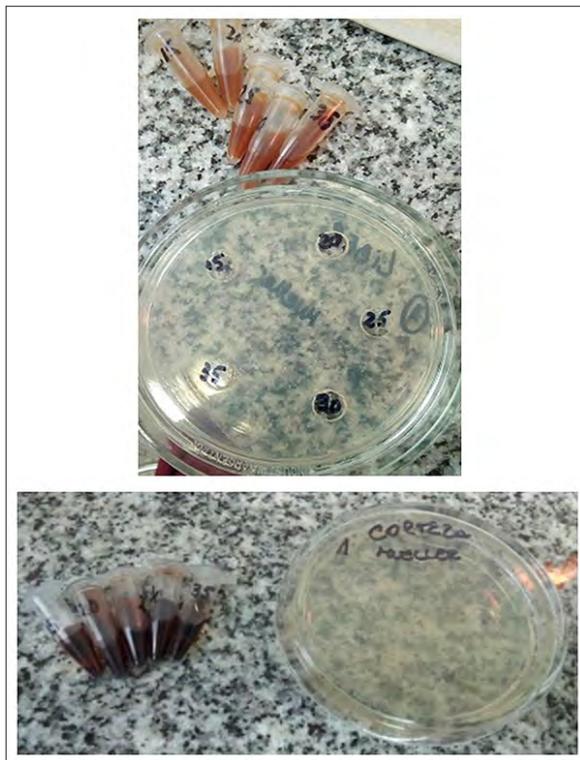


Figura 8: Actividad antimicrobiana de los extractos de corteza externa e interna de *M. indica*

Técnicas de Diluciones seriadas en agar

La medición cuantitativa es la Concentración inhibitoria mínima (CIM) y la Concentración bactericida mínima (CBM) de la actividad antibacteriana de productos con capacidad antibacteriana. Se obtuvieron estos resultados en el antibiograma por diluciones sucesivas que fueron realizados solamente en los dos extractos que tuvieron mayor actividad antibacteriana en la Técnica de Kirby-Bauer de pocillos con difusión en agar.

Se tomaron 10 tubos Khan con 2 ml de caldo nutritivo en cada uno; al primero de ellos se añade 2 ml de cada uno de los extractos y se realizaron diluciones seriadas en base dos. De esta manera se consiguen concentraciones de 15 y 0.02 mg/ml de cada extracto. Posteriormente, se adicionaron 0.1ml de suspensión bacteriana a una turbidez equivalente al 0,5 de la escala de Mc. Farland en cada uno de los diez tubos. Para este estudio se incluyó un control con alcohol etílico y agua destilada.

Luego de este proceso, se incubó por 24 h a 37°C. Pasado este lapso de tiempo, se sembró 10 µl y se distribuyó con espátula de Drigalski en Agar Mueller Hinton y se llevó nuevamente a incubación bajo las mismas condiciones. Este proceso se repitió luego de 48 h de exposición de los microorganismos a los extractos. Se tomó como CBM (Concentración Bactericida Mínima) la menor concentración donde no hay desarrollo microbiano en la placa.

Obtención de pastas alcalinas con *Mangifera indica*

Se utilizaron los extractos etanólicos de corteza externa e interna de *M. indica* para la obtención de pastas alcalinas debido a que presentaron mayor actividad antimicrobiana frente a *E. faecalis* en los antibiogramas de los extractos. Para la preparación de las pastas alcalinas se utilizó 2,5 g de hidróxido de calcio, 0,5 g óxido de zinc, 0,05 g colofonia. Se realizaron dos pastas, una utilizando como vehículo propilenglicol: extracto etanólico de corteza externa (1: 0,75) y propilenglicol con extracto etanólico de corteza interna (1:0,75).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizadas utilizando el programa Infostat 2006, se realizó una estadística descriptiva y Anova.

RESULTADOS

Caracterización de los extractos de *Mangifera indica*

La marcha fitoquímica de la *M. indica* evidenció la presencia de compuestos orgánicos que están expuestos en la Tabla 1. Estos compuestos, dependiendo de su estructura química y concentración, inhiben la síntesis proteica de las células, asociado esto con su acción antibacteriana, por lo que se infiere que fenoles, taninos y alcaloides hallados en la marcha fitoquímica en el marco de este trabajo tendrían relación directa con su efecto antibacteriano.

El rendimiento de extracto (p / p) se estimó como peso de extracto seco / seco peso del material x 100. Los resultados de ese rendimiento para los diferentes solventes fueron etanol 20%, agua 18% y hexano 10%. El estudio cromatográfico evidenció la presencia de compuestos polares y muy polares en las partes vegetales utilizadas de *M. Indica* (corteza). La composición de ambos extractos tendrían la misma composición, según lo observado en la figura 9, con mayor intensidad de componentes no polares en la corteza externa como en la interna, fluorescencia con la luz de 234 nm y luego se observó con luz a 365 nm.

Metabolitos Secundarios	<i>Mangifera indica</i>					
	EACE	EACI	EECE	EECI	EHCE	EHCI
Antraquinonas	----	----	----	----	----	----
Azúcares	--	--	--	--	--	--
Esteroides	-	-	+	-	++	+
Cumarinas	-	-	++	+	+++	+
Taninos	++	++	+++	+++	---	++
Saponinas	---	---	++	++	---	---
Fenoles	+++	++	++	++	---	---
Flavonoides	---	---	---	---	---	---
Alcaloides	+++	++	++	+++	---	---
Aminoácido	---	---	---	++	---	---

Tabla 1: Resultados de la marcha fitoquímica para los extractos de *M. indica*.

EACE: Extractos acuosos de corteza externa, EACI: Extractos acuosos de corteza interna, EECE: Extractos etanólicos de corteza externa, EECI: Extractos etanólicos de corteza interna, EHCE: Extractos hexánico de corteza externa, EHCI: Extractos hexánico de corteza interna

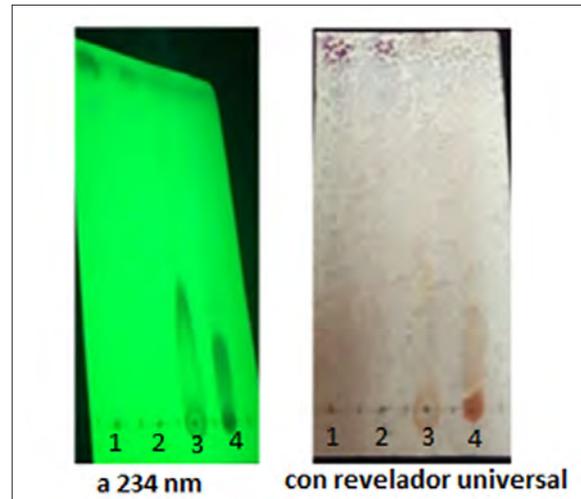


Figura 9: Estudio cromatográfico en placa fina de EACE (3) EACI (4) observadas a dos longitudes de onda con UV.

Actividad antimicrobiana

Antibiograma *Mangifera indica*

Los extractos hexánicos de la corteza externa de mango no presentaron actividad antibacteriana en ninguna de las concentraciones utilizadas. Del mismo modo, los extractos acuosos y etanólicos de la corteza externa de mango, no presentaron actividad antibacteriana en las concentraciones más bajas ensayadas (15 mg). En los extractos acuosos se evidenció actividad antibacteriana a partir de 25 mg, con una media en los halos de inhibición de $10,33 \pm 0,58$ mm y en los extractos etanólicos en concentraciones de 20 mg presentaron actividad antibacteriana con una media en los halos de inhibición de $12,33 \pm 1$ mm. (figura10). Los extractos etanólicos de corteza externa presentaron actividad antibacteriana a partir de 20 mgm manteniéndose constante los diámetros de inhibición, independientemente del aumento de la concentración del producto vegetal. Al igual que el extracto acuoso de corteza, el cual presentó actividad antibacteriana a partir de 25 mg.

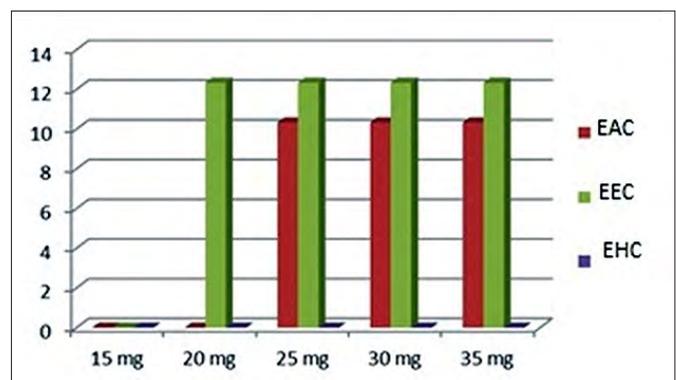


Figura 10: Halos de inhibición de Extractos de Corteza externa de *M.indica* EACE (Extractos Acuosos de Corteza externa) EECE(Extractos Etanólicos de Corteza externa) EHCE(Extractos Hexánicos de Corteza externa)

En la Corteza interna de *M. indica*, en el extracto acuoso presentó una media de halos de inhibición de $9,67 \pm 0.8$ mm en halos de inhibición, no modificándose el diámetro de los mismos a pesar de elevarse la concentración del producto natural. El extracto etanólico de la corteza interna de *M. indica* determina un aumento de la actividad antibacteriana al elevar la concentración del producto vegetal, con una media de 15 ± 1 mm y a partir de 30 mg se mantiene constante con una media de 19 ± 1.8 mm. El extracto hexánico de la corteza interna de *M. indica* no presentó actividad antibacteriana en ninguna de las concentraciones ensayadas. A partir de 20 mg, los extractos etanólicos de la corteza interna presentaron acción antibacteriana, aumentando los halos de inhibición en mm en la medida del aumento de la concentración del producto vegetal. (figura 11) En las pruebas antibacterianas de los solventes no presentaron actividad antibacteriana, dando la vancomicina un halo de 22 ± 0.8 mm como control positivo.

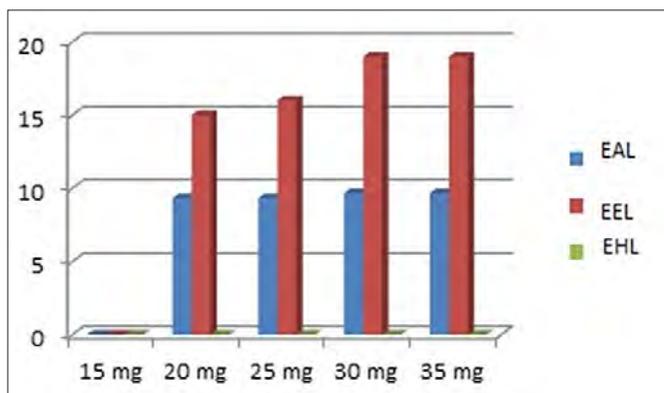


Figura 11: Halos Inhibición de Extractos de Corteza interna de *Mangifera Indica* EACI(Acuosos)EECI(Etanólicos) EHCI(Hexánicos)

El test de Anova determinó una diferencia estadísticamente significativa entre los tres extractos, así mismo el extracto acuoso no tuvo diferencia estadísticamente significativa en las diferentes dosificaciones. El extracto etanólico, sin embargo, tuvo diferencia significativa con el extracto acuoso y hexánico, y también hubo diferencia en las dosificaciones etanólicas, de lo que se infiere que aumentando la concentración del producto vegetal aumentaba su eficacia antibacteriana.

Actividad antimicrobiana por técnicas de diluciones seriadas

Teniendo en cuenta los resultados de los ensayos de difusión en agar para los extractos acuosos y etanólicos de corteza externa e interna de *M. indica*, se realizaron las técnicas de diluciones seriadas en tubos. Obteniéndose la concentración inhibitoria mínima, arrojando un valor de 10 mg/ml en EECE y de 5mg/ml en EECL, la concentración bactericida mínima fue de 20 mg/ml para el EECE y 10 mg/ml para el EECL.

Técnica de Difusión en agar de pastas alcalinas adicionadas con *M. indica*.

Se realizaron los ensayos utilizando los dos extractos que obtuvieron mayor performance. Estos fueron probados como vehículos con la formulación alcalina (polvo de la Pasta de Leonardo, hidróxido de calcio, óxido de zinc y colofonia) en la misma concentración de la Pasta de Leonardo, dando los siguientes resultados. (Tabla 2)

Pasta de Leonardo	<i>E. faecalis</i>	15 mm***
Pasta de Leonardo + 0,75 del E. etanólico de corteza interna de <i>M. indica</i>	ATCC 29212	19 mm***
Pasta de Leonardo + 0,75 del E. etanólico de corteza externa de <i>M. indica</i>	ATCC 29212	16,66 mm***

Tabla 2: Resultados de la marcha fitoquímica para los extractos de *M. indica*.

Antibiograma Técnica de Kirby-Bauer por triplicado *EECI (Extracto etanólico de corteza interna *mangifera indica*) ** EECE (Extracto de corteza externa de *mangifera indica*) ***Promedio

CONCLUSIONES

Los productos naturales fueron estudiados desde la antigüedad, buscando diferentes propiedades, entre estas el efecto antimicrobiano por acción de sus principios activos. La marcha fitoquímica de *M. indica* evidenció la presencia de compuestos orgánicos, como antraquinonas, esteroides, cumarinas, taninos, fenoles, alcaloides y aminoácidos, tanto en la corteza externa como en la interna de *M. Indica*.

Benítez et al. refieren la presencia en la corteza de polifenoles, coincidiendo con esta investigación(26). Así mismo, El-Mahmood et al, Doughari et al, Ortiz Choez reportan la presencia de taninos, fenoles, alcaloides, polifenoles, flavonoides, terpenoides, fitoesteroles en extractos de *M. indica*, coincidiendo con el presente trabajo (21,22,27). Al realizarse un cribado fitoquímico, determinaron la presencia de taninos, saponinas, carbohidratos, fenoles en igual proporción para los extractos acuosos, etanólicos y hexánicos (21). Los extractos alcohólicos lograron mayor extracción de principios activos coincidiendo con Garrido et al., quienes reportan que, de la corteza de *M. indica* han reportado que la mejor extracción se logra con metanol y en menor medida con agua y cloroformo. La extracción con hexano fue casi nula, coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación (14).

Los extractos etanólicos de *M. indica* presentaron mayor actividad antibacteriana frente al *E. faecalis*, coincidiendo con Benítez et al. quienes estudiaron la actividad antibacteriana y analgésica de siete variedades de *M. indica*, en donde estos presentaron mayor actividad antibacteriana: frente a *E. coli*, *B. subtilis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis* y *S. san-*

guis y otras bacterias de la familia enterobacteriáceas que los extractos acuosos (26). Del mismo modo, se comparó la eficacia antibacteriana de los extractos de *Mangifera indica*, *L. kernel* y *Ocimum sanctum L.*, con los irrigantes NaOCl y CHX sobre biopelícula de *E. faecalis*. Se utilizaron cepas de *E. faecalis* ATCC 29212 y cepas extraídas de conductos radiculares con fracaso endodóntico. La *M. indica* presentó mayor sensibilidad frente a la cepa ATCC que a las cepas obtenidas del conducto radicular y frente a biopelículas con *E. faecalis* con 3 semanas de formación, donde también el mango obtuvo mejores resultados (28). Coincidiendo además con El-Mahmood et al., quien determinó que los extractos etanólicos de *M. indica L.*, demostraron mejor actividad antibacteriana que los extractos acuosos y hexánicos, coincidiendo con este trabajo de investigación (21). Al igual que Doughari et al. quienes determinaron que la actividad antibacteriana de los extractos ensayados, los de acetona ejercen actividad más alta en agentes bacterianos *S.aureus* y *S. pneumoniae*; los extractos de metanol de *M. indica* presentaron actividad antibacteriana sobre el *E. faecalis* y una menor actividad para los acuosos y sin actividad para los hexánicos, coincidiendo con este trabajo de investigación en el cual los etanólicos tuvieron mayor efectividad(27).

La variabilidad de su acción antibacteriana puesta de manifiesto en la etapa experimental podría ser debida a la menor solubilidad de los constituyentes de la corteza externa e interna del mango, en el solvente hexano, coincidiendo con El-Muhmood et al. quienes han reportado que las diferencias de polaridad entre los solventes son directamente proporcionales a la solubilidad de los principios activos. Del mismo modo, otros autores determinaron que el hexano no resulta ser un buen extractor de este tipo de principios activos. Se ha documentado que los diferentes solventes presentan una solubilidad distinta para los fitoconstituyentes (21,28). Los compuestos polares de la corteza externa e interna del mango, sumado a la concentración alcohólica de los extractos etanólicos que presentaron mejor actividad antimicrobiana, coinciden con las experiencias realizadas en la tesis de Guerra Guamán, quien determinó la actividad antimicrobiana de extractos de hojas de *M. indica* frente a 5 especies diferentes con extractos alcohólicos al 90 y 50% y diferentes métodos de extracción (23).

La actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y acuosos frente al *E. faecalis* coinciden con Stoilova et al, quienes realizaron estudios de la corteza de los extractos acuosos y etanólicos de *M. indica L.*, encontrando que poseen actividad antibacteriana frente a *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella typhimurium*. Y efecto antimicrobiano de los polifenoles de mangiferina obtenido de las hojas de mango. Las soluciones de mangiferina con polietilenglicol-400 mostraron actividad antimicrobiana con respecto a siete especies bacterianas y cinco fúngicas (29). Se ha utilizado al *E. faecalis* para probar la actividad antibacteriana de la *M. indica* con sus extractos etanólico y acuoso, coincidiendo con Prakah et al., quienes estudiaron extractos metanólicos de corteza del tallo crudo

y observaron la inhibición del crecimiento de *E. coli* y *P. aeruginosa* y *S. aureus*(30). Coincidiendo con los resultados de la actividad antibacteriana obtenida, Guerra Guzmán reportó sobre la actividad antimicrobiana de la corteza del árbol de *M. indica* y quitosano, frente a microorganismos de interés sanitario como *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus* y *Listeria monocytogenes*. En coincidencia con este trabajo, determinó la actividad antibacteriana de la corteza externa e interna de *M. indica*, en otra investigación también el extracto acuoso de la hoja de *M. indica* evidenció efecto antibacteriano frente a microorganismos productores de periodontopatías. El extracto etanólico al 80% de la corteza de mango no demostró esta actividad frente a *E. coli*, *P. aeruginosa* y *B. subtilis*, mientras que frente a *S. aureus* presentó actividad débil. El extracto etanólico de la semilla presentó actividad inhibitoria mayor en bacterias Gram positivas en relación a las Gram negativas (29).

Ediriwera et al. demostró efectos antibacterianos de la corteza de una variedad de mango encontrada en la India. Los extractos de hexano y metanol obtenidos de la extracción Soxhlet de la corteza han ejercido efectos antibacterianos prometedores contra *B. subtilis*, *S. typhi*, *P. aeruginosa*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *E. faecalis*, *S. typhi* y *Shigella*, coincidiendo con esta investigación en que los extractos etanólicos eran activos frente al *E.faecalis*. Reportaron además que el extracto acuoso de corteza de mango era inhibitorio para todas las especies bacterianas analizadas, excepto *E. faecalis*; en contraposición a esta investigación, en el extracto acuoso presentó actividad antibacteriana relativa frente al *E. faecalis*. Los resultados de los ensayos antibacterianos han demostrado que el extracto hexánico fue más activo contra las especies bacterianas probadas en contraposición con esta investigación debido a que los extractos hexánicos no presentaron acción antibacteriana (20).

Las pruebas experimentales se hicieron en la corteza externa e interna de *M. indica* y la mayoría de las investigaciones hacen referencia solo a la corteza del mango. La composición de los extractos varía cualitativa-cuantitativamente en función del método de extracción, el solvente y la polaridad que presenta cada uno de ellos (24,21).

En relación a concentraciones de extractos de corteza realizados con agua destilada, etanol y hexano, El Mohamed (2012) reportan que a 50 mg/ml inhibía la mayoría de microorganismos probados en su estudio (fueron aislados de pacientes con diagnóstico de infecciones respiratorias *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella spp.* y *Streptococcus spp.*), dependiendo de la bacteria y la extracción del disolvente (20). Los valores de la CMI de EECE fue de 10 mg/ml y para EECL con 5 mg/ml de la CBM fue de 20 mg/ml en el EECE y de 10 mg en EECL y la concentración. Coincidiendo parcialmente con lo reportado por EL Mahomed, cuyos valores de CIM variaron de 12, 5 a 200 mg/ml, mientras que los valores de MBC variaron de 50 a 400 mg/ml de acuerdo a la bacteria y al extracto utilizado (21).

CONCLUSIÓN

La medición de estos valores se diferenciaron en cuanto a concentración y especie bacteriana pero si bien en su investigación trabajaron con concentraciones más elevadas que en esta investigación, los valores que corresponden a los extractos etanólicos de corteza de *M. indica* son de 100 mg y 50 mg/ml para diferentes especies y en los extractos acuosos de corteza de *M. indica* los valores eran de 100 y 200 mg/ml de acuerdo a las especies probadas, lo que coincide con esta investigación en que los extractos etanólicos con menor concentración se obtuvo la CIM y CBM respecto a los acuosos(21).

Subiyya et al. al probar la actividad antibacteriana de extractos alcohólicos de semillas de mango, reportaron los siguientes resultados frente al *E. faecalis* de 24mm de halos de inhibición y una concentración para la cepa de *E. faecalis* de 6,25 mg/mL en la CBM y para las cepas obtenidas de los conductos radiculares, el mismo diámetro de halos de inhibición y una concentración de 12,5 mg /mL en la CBM para el producto vegetal, quedando el mango tercero en orden, luego el NaOCl al 5% y CHX al 2% con diámetros de 29 y 30 mm respectivamente, coincidiendo con el rango de concentración utilizado en esta investigación que la concentración de EECE estaba en el rango de 10 a 20 mg/mL de CIM y CBM respectivamente y EECl en un rango de 5 a 10 mg/mL. Respecto al rendimiento de los diferentes extractos, se obtuvo el mayor rendimiento del producto vegetal en los extractos etanólicos en un 20%, mientras que se obtuvo un 18% para los acuosos y un 10% para los hexánicos, coincidiendo parcialmente con lo reportado, El Mahamoot, 2012, quien reportó un rendimiento similar. Por su parte, ellos obtuvieron los siguientes resultados: el rendimiento para agua, 17,6%; etanol al 19,6% y hexano al 14,9%. El porcentaje del rendimiento de extracto (p / p) se estimó como peso de extracto seco / seco peso del material x 100 (Parekh y Chanda, 2007). Este es un indicio que el sistema solvente, la solubilidad de los principios activos influye en la actividad antibacteriana (21).

En esta investigación se trabajó con una concentración máxima de 35 mg /ml, en contraposición con El Mahoomed, quienes utilizaron mayores concentraciones en mg y que estos se redisolvieron en los respectivos disolventes y luego diluidos para obtener concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,085 y 1,03 mg / ml, además reportaron mejor actividad cuando la extracción de los principios activos se realizaba en condiciones de acidez y elevada temperatura (21).

En contraposición con este trabajo que encontró efectivo al extracto etanólico y acuoso de *M. indica*, en una investigación desarrollada por Chidozie et al. se realizaron antibiogramas frente a *Salmonella typhi* y otras seis bacterias. El extracto se encontró activo contra todas las bacterias de prueba, excepto el *E. faecalis*, lo que no coincide con esta investigación. La investigación llevada a cabo en plantas medicinales ha tenido el doble propósito de crear nuevos agentes terapéuticos y proporcionar posibilidades para estudios dirigidos hacia la síntesis de fármacos sobre la base de las estructuras químicas de los productos naturales (25).

La resistencia de los microorganismos a la medicación intraconducto justifica la búsqueda en productos naturales de principios activos con actividad antimicrobiana, con el objeto de potenciar la acción del hidróxido de calcio. La corteza de mango presenta actividad antibacteriana frente al *E. faecalis* en sus extractos etanólicos y acuosos. La marcha fitoquímica evidenció la presencia de taninos, fenoles y alcaloides que justificaron, por sus propiedades el uso como antimicrobiano. Los principios activos se extrajeron en mayor magnitud con el etanol, siguiendo en orden el agua y el hexano, la elección del solvente también está relacionado con el mayor efecto antibacteriano. Los principios activos de extractos vegetales de *Mangifera indica* tienen propiedades antibacterianas. Los extractos utilizados como vehículo de pastas endodónticas presentaron actividad contra *E. faecalis* y son una alternativa terapéutica para el tratamiento antibacteriano utilizado en endodoncia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chércoles-Ruiz A, Sánchez-Torres A, Gay Escoda C. Endodontic Retreatment, and Apical Surgery Versus Tooth Extraction and Implant Placement: A Systematic Review. *J Endod.* 2017; 43 (5): 679-686
2. Marroquín Peñaloza T, García Guerrero C. Guidelines for clinical diagnosis of pulp and periapical pathologies. *Rev Fac Odontol Univ Antioq.* 2015; 26 (2): 398-424.
- 3-Sánchez Alemán JA, Carmiña García-Guerrero C. Categorización del fracaso para el tratamiento endodóntico primario. *Acta Odontológica Colombiana.* 2019;9(2):10-23.
- 4-Maldonado-Sanhueza, F.; Gímez-Inzunza, V.; Rosas-Mendez, C. & Hernández-Vigueras, S. Evaluación del éxito de tratamientos endodónticos realizados por estudiantes de pregrado en una Universidad chilena. *Int. J. Odontostomat.*, 14(2):154-159, 2020.
5. Labrada M, Maya Cerón C. Influencia de la calidad de restauración coronal en el pronóstico de dientes tratados endodónticamente. *Rev Cub de Estomatología.* 2015; 52 (1): 47-62
- 6-Galiana MB, Gualdoni GM, Langhe C. Lugo de, Montiel NB, Peláez A. Revisión de desobturación de gutapercha con limas manuales, Xilol y Recipro. *Odontoestomatología* 2018;20(32):12-23.
- 7-Prasanna Neelakantan , Monica Romero , Jorge Vera , Umer Daood , Asad U. Khan Aixin Yan and Gary Shun Pan Cheung Review Biofilms in Endodontics—Current Status and Future Directions *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 1748.
- 8- Batra M, Bal C, Devi P, Kaur K. Role of intraradicular and periradicular microflora in endodontic failure cases, requiring endodontic retreatment in-vivo study. *Indian Journal Of Comprehensive Dental Care.* 2014;4(2): 428-433.
- 9- Siqueira J, Rôças I. Present status and future directions in endodontic microbiology. *Endodontic Topics [serial on the Internet].* 2014; 30(1): 3-22.
- 10-Deng DM, Hoogenkamp MA, Exterkate RAM et al. Influence of *Streptococcus mutans* on *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *J Endod* 2009; 35: 1249-52
- 11-Prisinda D, Setiawan AS, Fatriadi F. Antibacterial potential of *Ocimum sanctum* oils in relation to *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi.* 2018; 51(3):104-107.

- 12-Dalmia S, Gaikwad A, Samuel R, y otros eficacia antimicrobiana de diversos selladores endodóncicos contra *Enterococcus faecalis*: Un estudio In vitro. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. 2018 Mar-Abr;8(2):104-109.
- 13-Arsyada IF, Rianti D, Munadzirah E. Antibacterial activity of mixed pineapple peel (*Ananas comosus*) extract and calcium hydroxide paste against *Enterococcus faecalis*. *Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi* 2018;51(1):20-24.
- 14-Garrido G, Valdés M. Avances en las Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas con el Extracto Acuoso de la Corteza del Árbol de Mango (*Mangifera indica* L.). *Rev. Farmacol. Chile* 2012;5(2):63-93
- 15-Azam, M; Chen J Efeitos de diferentes combinações de N, P e K em diferentes intervalos nas características vegetativas, reprodutivas, produtivas e de qualidade da manga (*Mangifera indica*. L) cv. Dusehri; Braz. J. Biol. 2022; 82: e235612
- 16- Zambrano, R.; Velasco-Carrillo, J.; Paredes-Uzategui, R. And Rojas F L. Caracterización química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Mangifera indica* L. de tres regiones de Venezuela. *Rev.Colomb.Quim.* [online]. 2019; 48:3 13-18.
- 17-García Bacallao, L.; Vicente García Gómez V., Luis; Rojo Domínguez, D. y Sánchez García, E. Plantas con propiedades antioxidantes. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2001;20:3 231-235.
- 18-JJ Jacinto-Fernández, JB Reyes De la Vega, HJ Zavaleta-Cruz et al. Chemical composition by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS: Estrogenic and antioxidant effects of *Mangifera indica* L. cv. "Kent" leave extracts on ovariectomized rats. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 2019;18(3): 336 – 346
- 19-De Araujo Sena Ia, De Souza Araújo Ij, Dos Santos Mm, Lima Ipc. Antibacterial effectiveness in vitro of different formulations of calcium hydroxide paste. *RGO: Revista Gaúcha de Odontologia*. 2017;65(4):293-298
- 20- Ediriweera, Meran Keshawa et al. "A Review on Ethnopharmacological Applications, Pharmacological Activities, and Bioactive Compounds of *Mangifera indica* (Mango)." *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM* vol. 2017 (2017): 6949835.
- 21-El-Mahmood Muhammad Abubakar. Antibacterial efficacy of stem bark extracts of *Mangifera indica* against some bacteria associated with respiratory tract infections. *Scientific Research and Essay*. 2009; 4:1031-1037.
- 22- Ortiz Choez Tesis Doctoral 2015 Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/9037/1/BCIEQ-T_0141%20Ortiz%20Choez%20Cristhian%20Adolfo.pdf
- 23-Guerra Guamán KJ, Román Salmerón AJ. Tesis [Internet]. 2017. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/19439>
- 24-Sotelo D Indira, Casas F Nidia, Camelo M Gustavo. Borojó (*Borojoa patinoi*): Fuente de polifenoles con actividad antimicrobiana. *Vitae* 2010;17(3): 329-336.
- 25-Chidozie VN, Adoga GI, Chukwu OC, Chukwu ID, Adekeye AM. Efectos antibacterianos y toxicológicos del extracto acuoso de la corteza del tallo de *mangifera indica* en ratas albinas. *Revista Global de Biología, Agricultura y Ciencias de la Salud*. 2014; 3: 237-245
- 26-Benites Vilchez, Julio et al. Actividad antioxidante, antibacteriana y analgésica de extractos de *Mangifera indica* L. *BIOFARBO*.2010;18:2 10-19
- 27-Doughari, J. H. and Manzara, S. In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. *African Journal of Microbiology Research* 2008; 2:067-072.
- 28- Subbiya A, Mahalakshmi K, Pushpangadan S, Padmavathy K, Vivekanandan P, Sukumaran VG. Eficacia antibacteriana de las hojas de *Mangifera indica* L. kernel y *Ocimum sanctum* L. contra el biofilm dental de *Enterococcus faecalis*. *J Conserv Dent* 2013; 16: 454-7
- 29- Stoilova I, Gargova S, Stoyanova A, Ho L. Antimicrobial and antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. *Herb Polonica*. 2005; 51: 37-44.
- 30-Prakash A, Kumar CH, kumar R and Kalaichelvan CH. Antibacterial activity of *Mangifera indica* kernel extracts VIT University, India. *J Food Process Technol* 2012, 3:10 Volume 3 Issue 10 Page 167.

Autor de correspondencia:

Mariel Beatriz Galiana

e-mail: marielgaliana@hotmail.com.ar

Los autores declaran no presentar conflicto de interés.

Recibido: 21/3/2021

Aceptado 23/08/2021

AGRADECIMIENTOS

A las Dras. Gabriela Ana Leticia Ricciardi y Ana María Torres. Pasantía en el Laboratorio de Productos Naturales "Prof.Armando Ricciardi" Facultad de Ciencias Exactas y Agrimensura. UNNE.

Fitodontología. FOUNNE

Laboratorio de Productos Naturales. FACENA