



Investigação *in vitro* da atividade antimicrobiana de *Mangifera indica* frente às bactérias associadas a lesão por pressão

In vitro investigation of the antimicrobial activity of *Mangifera indica* in front of bacteria associated with pressure injury

Giani Maria Cavalcante¹; Renata Soares da Silva²

¹ORCID: 0000-0002-0143-3364; Bióloga do Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP – Recife – PE, BRASIL. Email: gianime@icloud.com.

²ORCID: 0000-0003-0988-3148; Enfermeira do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – HC/UFPE. Recife-PE, BRASIL. Email: renatassilva@yahoo.com.br

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 21/03/2021; Aceito em: 31/03/2021; publicado em 01/08/2021. Copyright © Autor, 2021.

RESUMO: As lesões por pressão são feridas crônicas onde a infecção bacteriana é comum e representam um problema desafiador para a saúde pública. O objetivo deste estudo foi investigar a atividade antimicrobiana de *Mangifera indica* em bactérias associadas a lesão por pressão. Os testes *in vitro* foram realizados com extrato bruto e frações orgânicas contra cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) por meio de ensaio de difusão em ágar com poço. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram determinadas. O extrato etanólico foi o mais ativo, com diâmetro das zonas de inibição variando entre 19,0 e 22,0 mm contra as cepas bacterianas testadas. A CIM variou de 0,04 e 0,29 mg/ml contra todos do microrganismo testado. As frações orgânicas hexânica e metanólica mostrou atividade antimicrobiana contra todos do microrganismo testado. Estudo químico para a extração e o isolamento de compostos ativos é recomendado para realização de ensaios *in vitro* destes compostos para investigar a atividade antimicrobiana.

PALAVRAS-CHAVE: *Mangifera indica*. Lesão por pressão. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: Pressure injury they are chronic wounds where the is bacterial infection common and represent a challenging problem for public health. The aim of this study was investigating the antimicrobial activity of *Mangifera indica* on bacteria associated by pressure injury. *In vitro* tests were conducted with crude extract and fractions organics against strains *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) through in agar-well diffusion assay and the minimal inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) were determined. The extracts ethanolic was the most active, with diameter of inhibition zones ranging between 19,0 and 22,0 mm against the tested bacterial strains. The CIM varied from 0,04 and 0,29 mg/ml against all the tested microorganism also to the extract ethanolic. The fractions organics hexanic and methanolic showed antimicrobial activity against all the tested microorganisms. Chemical study to extraction and isolation of active compound is recommended to in vitro assays these compounds to investigate the antimicrobial activity.

KEYWORDS: *Mangifera indica*. Pressure injury. Antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

A partir do metabolismo secundário das plantas, são produzidas substâncias como alcaloides, flavonoides, terpenos, compostos fenólicos, entre outras, as quais constantemente têm suas propriedades farmacológicas e medicinais, tais como: antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante, antitumoral, antiparasitária e antioxidante; comprovadas (RAFIEIAN-KOPAEI, 2012).

Diante de todo arsenal terapêutico atribuído aos vegetais, a busca por antimicrobianos está sempre em destaque, uma vez que mesmo com todos os esforços da indústria farmacêutica em produzir novos e modificados antibióticos, a resistência a essas moléculas pelos micro-organismos tem aumentado consideravelmente (SAHOO et al., 2010). Com isso tem crescido o surgimento de linhagens bacterianas com novos perfis de resistência a esses medicamentos, tornando-os ineficazes na terapêutica das mais diferentes patologias decorrentes dessas bactérias (NIKAIDO, 2009).

Com uma estrutura química que difere daquela dos antibióticos derivados de micro-organismos, os antibióticos vegetais, destacam-se por terem a capacidade de regular o metabolismo intermediário de patógenos, ativando ou bloqueando reações e síntese enzimática ou mesmo alterando a estrutura de suas membranas (GOULART et al., 2018; HARVEY et al., 2015).

Dentre as principais infecções bacterianas merece destaque aquela associada às lesões por pressão (LP's). As LP'S são feridas crônicas formadas em decorrência da isquemia gerada pela compressão prolongada da pele, tecidos adjacentes e ossos, concomitantemente associada a infecção bacteriana, sendo prevalente as espécies *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Escherichia coli* (BOMFIM et al., 2014; SINGH et al., 2015).

Segundo Singh e colaboradores (2015) a infecção bacteriana de LP's é uma das complicações mais graves da patologia uma vez que o processo de exsudação da ferida torna-se meio de crescimento bacteriano, e as bactérias quando presentes na ferida podem se infiltrarem e colonizarem os tecidos subjacentes. O tratamento de LP's representa um dos principais problemas de saúde pública, com um custo anual em torno de US\$ 124000 por caso, ademais à medida que a prevalência de diabetes e obesidade aumenta na população mundial, espera-se um aumento diretamente proporcional de patologias associadas a feridas crônicas como LP's (KRUNGER et al., 2013).

Nesse tipo de patologia o uso recorrente de antibióticos e a demora em uma resposta de defesa efetiva do hospedeiro, inevitavelmente gera uma resistência à terapia antibiótica, prevalecendo o desenvolvimento de microrganismos multirresistentes, tornando-se, em geral, a razão pela qual as feridas crônicas não se curam (GAWANDE et al., 2014).

Neste contexto vislumbra-se a necessidade de buscar substâncias bioativas contra doenças de grande incidência e que envolve o surgimento de microrganismos resistente, destarte, partindo dessa necessidade foi investigada a atividade antimicrobiana de *Mangifera indica* frente a bactérias associadas as lesões por pressão.

M. indica é uma espécie da família Anacardiaceae, conhecida popularmente como manga, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, com registro de larga ocorrência na região nordeste do Brasil (RIBEIRO et al., 2008). Dentre os registros de atividades biológicas da espécie, podemos citar os seus efeitos analgésicos, anti-inflamatório e antioxidantes (GARRIDO et al., 2001), ação antimicrobiana de galataninos isolados de extratos de folhas (ENGELS et al., 2011), atividade antifúngica (KANWAL et al., 2010) e atividade antidiarreica de extratos de sementes (KASSI et al., 2014).

Apesar dos registros de exploração do arsenal fitoterápico de *M. indica*, muito há que se investigar sobre a ação dos seus extratos, frações e compostos, principalmente sobre bactérias de importância clínica, sendo assim este trabalho teve o escopo de avaliar o potencial antimicrobiano *in vitro* do extrato bruto de folhas e frações orgânicas de *Mangifera indica* sob o desenvolvimento de espécies bacterianas associadas a lesão por pressão.

PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

As folhas de *Mangifera indica* L. foram coletadas no Viveiro Florestal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e a confirmação da espécie foi feita por profissionais botânicos do Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, um depósito de exsicata foi realizado para registro junto ao herbário sob o n° HPVS-9848.

O extrato etanólico (EEtOH) e as frações orgânicas Hexânica (FrHex), Metanólica (FrMeOH) e acetato de etila (AcEOt), oriundos das folhas de *M. indica*, foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Fitofisiologia florestal da UFRPE. Para os ensaios de atividade antimicrobiana o extrato bruto e as frações orgânicas foram previamente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO), uma vez que este não interfere no crescimento bacteriano (OSTROSKY et al., 2008).

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados utilizando cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) obtidos junto ao laboratório Labornew®

Para investigar a atividade antimicrobiana do extrato bruto e das frações orgânicas de *M. indica* foi realizado o ensaio de difusão em ágar por meio de poço conforme a metodologia descrita por Nennaah (2013). Cepas bacterianas foram cultivadas em meio Mueller-Hinton a 37 °C por 24 horas. Após esse período as cepas foram suspensas em uma solução salina de NaCl a 0,85% e ajustada a uma turbidez de 0,5 da escala de MacFarland (10^8 CFU/mL⁻¹). Separadamente, com auxílio de um *swab* estéril, as cepas foram inoculadas em placas de Petri. Em seguida quatro cavidades (6 mm de diâmetro) foram feitas usando pipetas de Pasteur estéreis. 20 µL do extrato bruto e de cada fração orgânica (2000 µg/mL) foram adicionados, separadamente, em cada poço. Como controle negativo foi usado DMSO e como controles positivos foram usados discos de Ciprofloxacina e Gentamicida (20 µL/mL). As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 1 hora, para difusão dos tratamentos e do DMSO, e em seguida foram incubadas a 37 °C por 24 horas. O experimento foi realizado em triplicatas.

Para a determinação da CIM (concentração inibitória mínima), foi realizado o método de micro diluição conforme as normativas estabelecidas pelo CLSI (2019). As cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *E. Coli* foram previamente normalizadas para uma concentração com base no padrão 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU.mL⁻¹) e inoculadas em meio de cultura Mueller-Hinton para o crescimento bacteriano. Em placas de 96 poços foram adicionados um volume de 5 µL de inóculo bacteriano em cada poço para cada espécie bacteriana testadas e 100 µL do extrato bruto e frações orgânicas de *M. indica*, previamente diluídas em DMSO, numa

concentração de 5 mg/mL. O controle negativo foi o DMSO e o controle positivo foram os antibióticos Cirpofloxacina e Gentamicina. Em seguida as placas foram colocadas numa incubadora bacteriológica a 37 ° C, durante 24 horas. O experimento foi realizado em triplicatas. Após esse período, foram adicionados 30 µL da solução resazurina 0,02%. De acordo Zeni et al. (2008), o sistema de resazurina mede a atividade metabólica das células vivas através da redução a resorufina pela atividade celular no meio, e existe uma correlação direta entre a diminuição da resazurina no meio de crescimento e a atividade metabólica das células vivas. Depois de duas horas, as placas de 96 poços foram lidas por interpretação visual da cor em cada poço. A cor azul indicou a ausência de crescimento bacteriano e a cor rosa/vermelho indicou o crescimento bacteriano (NENNAAH, 2013).

Outro teste realizado foi o CBM (concentração bactericida mínima). De acordo Holla e colaboradores (2012), o teste de CBM determina a concentração mais baixa à qual um agente antimicrobiano irá matar um microrganismo. A CBM é realizada depois do teste de CIM. Para a realização da CBM as culturas de CIM sem crescimento bacteriano foram inoculadas em meio Agar Muller-Hinton, em seguida as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período as placas foram avaliadas quanto à presença ou ausência de crescimento bacteriano.

Os dados obtidos no ensaio de difusão em ágar por meio de poço (diâmetro de inibição) foram expressos como $\text{media} \pm \text{desvio padrão}$ ($X \pm DP$) e as médias foram analisadas estatisticamente usando análise de variância (ANOVA), comparadas pelo teste de Tukey usando o software Bioestat 5.0. As Diferenças foram consideradas significadas quando $p > 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da tabela 1 indicam que EEtOH apresentou considerável atividade antimicrobiana frente a todas as cepas bacterianas testadas. Entre as frações orgânicas elas diferiram significativamente na sua ação de acordo com a cepa testada, com diâmetro das zonas de inibição variando entre 9,5 e 26,0 mm.

A análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *M. indica* realizada por Rakholiya e Ghanda (2012) aponta a presença de alcaloides, flavonoides, taninos

triterpenos e saponinas em quantidades que variam de moderada a alta. Segundo Gyawali e Ibrahim (2014), são fontes de compostos que apresentam atividades biológicas diversas, em virtude da sua diversidade estrutural.

Neste trabalho o extrato etanólico das folhas de *M. indica* apresentou os melhores resultados para atividade antimicrobiana e os menores valores de concentração inibitória para espécies bacterianas ocorrentes em LP's, o que candidata o extrato a estudos químicos detalhados que objetivem a extração, isolamento e identificação de compostos para testes de susceptibilidade antimicrobiana frente a essas espécies. As frações orgânicas FrAcEOt e FrMeOH por também apresentarem atividade antimicrobiana para as espécies bacterianas *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli*, são candidatas a estudos químicos detalhados para submissão de seu uso no tratamento de LP's.

Tabela 1 – Atividade antimicrobiana do extrato bruto e das frações orgânicas de *Mangifera indica* frente às bactérias associadas a lesões por pressão usando o método de difusão em ágar com poço.

Cepa bacteriana	Tratamentos	Médias da Zona de Inibição (mm±DP)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	EEtOH	20,0±0,50 ^c
	FrHex	10,0±1,0 ^d
	FrMeOH	26,0±0,7 ^b
	FrAcEOt	19,5±0,5 ^c
	Ciprofilaxina	32,5±0,2 ^a
	Gentamicina	20,5±0,2 ^c
<i>S. epidermidis</i> (ATCC 12228)	DMSO	NA
	EEtOH	22,0±0,7 ^b
	FrHex	16,5±1,0 ^c
	FrMeOH	20,5±1,0 ^b
	FrAcEOt	11,5±0,5 ^d
	Ciprofilaxina	30,0±0,7 ^a
	Gentamicina	22,5±0,5 ^b
	DMSO	NA

<i>S. saprophyticus</i> (ATCC 15305)	EEtOH	22,5±0,7 ^b
	FrHex	11,5±1,0 ^d
	FrMeOH	NA
	FrAcEOt	15,0±1,0 ^c
	Ciprofilaxina	29,0±0,5 ^a
	Gentamicina	22,0±0,7 ^b
	DMSO	NA
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	EEtOH	19,0±1,0 ^b
	FrHex	9,5±1,0 ^c
	FrMeOH	20,0±0,5 ^b
	FrAcEOt	NA
	Ciprofilaxina	30,5±0,7 ^a
	Gentamicina	21,5±0,5 ^b
	DMSO	NA

Fonte: Dados da pesquisa (2021).

NA = Não ativo

Na mesma linha, médias seguidas por letras iguais não apresentam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$).

Martinez e colaboradores (2000) registrou atividade antioxidante para os extratos de *M. indica*, além de um efeito inibidor significativo sobre a peroxidação de fosfolípidios e danos ao DNA em ensaios pré-clínicos. A pesquisa de Garrido et al. (2004) relata atividade anti-inflamatória *in vivo* de extratos brutos de *M. indica*, com registros de diminuição do edema de orelha ($ED_{50}=1,1$ mg/por orelha); inibição de $TNF\alpha$ em níveis séricos em dois modelos de inflamação, indução por ácido araquidônico ($ED_{50}=106,1$ mgkg⁻¹) e acetato miristato de forbol ($ED_{50}= 58,2$ mg kg⁻¹) e redução da atividade mieloperoxidase. Awad e colaboradores (2015) registraram atividade cicatrizante e antimicrobiana para *S. aureus* de uma formulação de pomada à base de extrato etanólico de folhas de *M. indica*. Esse conjunto de atividades biológicas atribuídas aos extratos de *M. indica* potencializa seu uso no tratamento de LP's, em

especial, quando ele apresenta atividade antimicrobiana frente aos principais microrganismos colonizadores dessa patologia, como os resultados obtidos nesse estudo.

Os dados do ensaio de concentração inibitória mínima (CIM), apontou uma variação de CIM entre 0,04 e 1,28 mg/mL, sendo os menores valores registrados para EEtOH (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentração inibitória mínima (CIM's) do extrato bruto e das frações orgânicas de *M. indica* frente a bactérias associadas a lesão por pressão usando o método de micro diluição em placas de 96 poços.

Cepa bacteriana	Tratamentos	MIC (mg/mL)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	EEtOH	0,16
	FrHex	0,64
	FrMeOH	0,32
	FrAcEOt	0,25
	Ciprofilaxina	0,130
	Gentamicina	0,50
	DMSO	NA
<i>S. epidermidis</i> (ATCC 12228)	EEtOH	0,28
	FrHex	0,32
	FrMeOH	0,16
	FrAcEOt	0,32
	Ciprofilaxina	0,50
	Gentamicina	0,125
	DMSO	NA
<i>S. saprophyticus</i> (ATCC 15305)	EEtOH	0,16
	FrHex	1,28
	FrMeOH	NA
	FrAcEOt	0,32
	Ciprofilaxina	0,75

	Gentamicina	0,50	
	DMSO	NA	
	EEtOH	0,04	
	FrHex	0,64	
<i>E. coli</i>	FrMeOH	0,16	
(ATCC 25922)	FrAcEOt	NA	
	Ciprofilaxina	0,50	
	Gentamicina	0,50	
	DMSO	NA	

Fonte: Dados da pesquisa (2021). NA = Não ativo

De acordo com Dana e Bauman (2015) a compreensão sobre a microbiota de LP's e seu tratamento baseado em infecção bacteriana é escassa, sendo necessários estudos que objetivem conhecer a composição bacteriana, bem como o desenvolvimento da infecção e seu tratamento. Neste contexto investigar alternativas que controlem a infecção bacteriana em LP's é de suma importância, uma vez que a presença de bactérias potencializa o retardo no processo de cicatrização (SINGH et al., 2015).

O potencial antimicrobiano de *M. indica* frente às cepas bacterianas testadas neste estudo, foi anteriormente testado por Sinhg et al. (2009) frente à *S. aureus* através de teste de difusão em disco, relatando uma atividade antimicrobiana intermediária, entretanto não houve determinação de concentração inibitória mínima. Engels e colaboradores testaram o potencial de *M. indica* frente a *E. coli*, registrando CIM= $0,7 \pm 0,1$, valor que segundo os autores, não diferenciou estatisticamente do controle positivo. Não foram encontrados relatos de investigação da atividade antimicrobiana de *M. indica* frente às espécies *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*.

O confronto dessas informações com os resultados obtidos nesse estudo ratifica o potencial antimicrobiano de *M. indica* frente às espécies bacterianas associadas à UP's e incrementa a necessidade de estudos químicos detalhados das espécies para avançar nas pesquisas de atividade antimicrobiana *in vitro* frente a esses microrganismos.

Segundo Ostrosky et al. (2008) a concentração inibitória mínima é a menor quantidade de substância necessária para inibir o crescimento do microrganismo. Neste estudo o extrato EEtOH apresentou a menor CIM para todas as espécies testadas e

apresentou a melhor CBM, entretanto, também foi registrado para a fração orgânica FrMeOH os menores valores de CIM e CBM frente às espécies bacterianas *S. epidermidis* e *E. Coli*.

Diante dos resultados de atividade antimicrobiana obtidos com extrato etanólico e frações orgânicas de *M. indica* sugere-se a investigação fitoquímica detalhada destes, para extração e isolamento de compostos que viabilizem estudos *in vitro* da atividade antimicrobiana desses frente às espécies bactérias associadas a LP's.

CONCLUSÃO

Através desse estudo foi possível concluir que o extrato o etanólico das folhas e as frações orgânicas metanólica e acetato de etila de *Mangifera indica* demonstrou atividade antimicrobiana frente às espécies bacterianas associadas a lesão por pressão, confirmando, portanto, o potencial dessa espécie para uma possível indicação terapêutica. Em virtude dos resultados promissores, sugere-se estudos químicos detalhados para obtenção de compostos isolados da espécie para estudos *in vitro* frente às bactérias associadas a LP's.

REFERÊNCIAS

1. AWAD, E. G. A. A.; ABDELKAREEM, A. M.; HAMEDELNIEL, E. L. Investigation of cream and ointment on antimicrobial activity of *Mangifera indica* extract. **Journal Advanced Pharmacology Technology Research**, v.6, n.2, p.53-57, 2015.
2. BOMFIM, E. O.; CABRAL, D. B.; LOPES-JUNIOR, L. C.; FLORIA-SANTOS, M. CAVALCANTE, G. M. Pressure ulcers in patients with traumatic spinal cord injury: subsidies in microbiological identification. **Journal of Research Fundamental Care Online**, v.6, n.2, p.174-180, 2014.
3. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) **Performace standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard**. Wayne, Pennsylvania, 2019 (CLSI document M2-A28 – ISBN 1-56238-485-6).

4. DANA, A. N.; BAUMAN, W. A. Bacteriology of pressure ulcers in individuals with spinal cord injury: what we know and what we should know. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v.38, n.2, p.146-160, 2015.
5. ENGELS, C.; SCHIEBER, A.; GANZLE, M. G. Inhibitory spectra and modes of antimicrobial of gallotannins from mango kernels (*Mangifera indica* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.7, p.2215-2223, 2011.
6. GARRIDO, G.; GONZALEZ, D.; DELPORTE, C.; BACKHOUSE, N.; QUINTERO, G.; NUNEZ, A. J.; MORALES, M. A.; Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* extract. **Phytotherapy Research**, v.15, n.1, p. 18-21, 2001.
7. GAWANDE, P. V.; LEUNG, K. P.; MADHYASTHA, S. Antibiofilm and antimicrobial efficacy of Dispersin B-KSL-W peptide-Based wound gel against chronic wound infection associated bacteria. **Current Microbiology**, v. 68, n.1, p.635-641, 2014.
8. GOULART, A. L.R. M.; VIEIRA, H. G.; MAGALHÃES, J. C.; LIMA, I. P.; CRETON, J. R. G. Atividade antibacteriana do óleo essencial extraído da casca da laranja pêra frente a bactérias da família Enterobacteriaceae. **Acta Biomedica Brasileira**, v.9, n.2, p.117-123, 2018.
9. GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A.; Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v.46, n.2, p.412-429, 2014.
10. HARVEY, A.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. The re-emergence of natural products for drug Discovery in the genomics era. **Nature Reviews Drug Discovery**, 2015. doi:10.1038/nrd4510
11. HOLLA, G.; YELURIM R.; MUNSHI, A. Evaluation of minimum inhibitory and minimum bactericidal concentration of nano-silver base inorganic antimicrobial agent (Novaron^[R]) against *Streptococcus mutans*. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 3, n.3, p.288-296, 2012.
12. KANWAL, Q.; HUSSAIN, I.; SIDDIQUI, H. L.; JAVAID, A. Antifungal activity of flavonoids isolated from mango (*Mangifera indica* L.) leaves. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v.24, n.10, p. 1907-1914, 2010.
13. KASSI, A. B. B.; SORO, Y.; FANTE, B.; GOLLY, K. J.; SORHO, S.; TOURE, A. S.; COUSTARD, J. M. Isolation and identification of bioactive compounds from

- kernel seed cake of the mango (*Mangifera indica*). **International Journal Biological and Chemistry Science**, v.8, n.4, p.1885-1895, 2014.
14. KRUGER, E. A.; PIRES, M.; NGANN, Y.; STERLING, M. RUBAYI, S. Comprehensive management of pressure ulcers in spinal cord injury: current concepts and future trends. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v.36, n.6, p.572-585, 2013.
15. MARTINEZ, G.; DELGADO, R.; PEREZ, G.; GARRIDO, G.; NUNEZ, A. J.; LEON, O. S. Evaluation of the *in vitro* antioxidant activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). **Phytotherapy Research**, v.14, n.3, p.423-427, 2000.
16. NENAAH, G. Antimicrobial activity of *Calotropis procera* Ait (Asclepiadaceae) and isolation of four flavonoid glycosides as the active constituents. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.29, n.1, p. 1255-1262, 2013.
17. NIKAIDO, H. Multidrug resistance in Bacteria. **Review Biochemistry**, v.78, n.2, p.119-146, 2009.
18. OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, n.2, p.301-307, 2008.
19. RAFIEIAN-KOPAEI, M. Medicinal plants and the human needs. **Journal of HerMed Pharmacology**, v.1, n.1, p.1-2, 2012.
20. RAKHOLIYA, K.; CHANDA, S. Pharmacognostic, physicochemical and phytochemical investigation of *Mangifera indica* L. var Kesar leaf. **Asian Pacific of Tropical Medicine**, v.12, n.3, p.680-684, 2012.
21. RIBEIRO, S. M. R.; BARBOSA, L. C. A.; QUEIROZ, J. H.; KNODLER, M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. **Food Chemistry**, v.110, n.3, p.620-626, 2008.
22. SAHOO, K. C.; TAMHANKAR, A. J.; JOHANSSON, E.; LUNDBORG, C. S. Antibiotic use, resistance development and environmental factors: a quantitative study among healthcare professionals in Orissa, India. **BMC Public Health**, v. 10, n.629, p.1-10, 2010.

23. SINGH, R.; DHAYAL, R. K.; SEHGAL, P. K.; ROHILLA, R. K. To evaluate antimicrobial properties of platelet rich plasma and source of colonization in pressure ulcers in spinal injury patients. **Ulcers**, 2015. doi:10.1038/ID749585.
24. SINGH, S. K.; KUMAR, Y.; KUMAR, S. S.; SHAMA, V. K.; DUA, K.; SAMAD, A. Antimicrobial evaluation of *Mangifera indica*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.71, n.3, p.328-331, 2009.
25. ZENI, O.; PALUMBO, R.; BERNINI, R.; ZENI, L.; SARTI, M.; SCARFI, M. R. Cytotoxicity investigation on cultured human blood cells treated with single-wall carbon nanotubes. **Sensors**, v.8, n.1, p.488-499, 2008.