

Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto foliar de zabila (*Aloe vera* L.) en microorganismos de interés clínico.

Doris Reyes de Fuentes, Rafael Fernández Da Silva

RESUMEN

La zabila es una planta de gran interés médico-farmacéutico, por las diversas y numerosas propiedades medicinales en enfermedades de distinto origen, corroborándose el efecto de sus extractos en estudios *in vitro* e *in vivo*. Se evaluó mediante el método de macro dilución, la actividad antimicrobiana del extracto etanólico foliar del *Aloe vera* L. (5% a 80%), cualitativamente por la turbidez del cultivo en medio líquido y cuantitativamente en unidades formadoras de colonia (UFC) en medio sólido. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), bactericida (CMB) y fungicida (CMF) en 50 µL del inóculo de microorganismos de interés clínico, tales como: complejo *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* a 37°C a 24 y 48 h. A las 24 horas, la CMI fue 35, 40 y 55% y la CMB fue 40, 45 y 60%, para *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* respectivamente, mientras que en *C. albicans*, la CMI y CMF fueron 55 y 60% respectivamente. A las 48 horas de cultivo la CMI fue 30, 35 y 25% y la CMB fue 35, 40 y 30%, para *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, respectivamente, mientras que en *C. albicans*, la CMI y CMF fueron 40 y 45% respectivamente. Los resultados encontrados con la exposición a 48 h al extracto foliar de *Aloe vera* L. de estos microorganismos, permite concluir que los mismos son erradicados, planteándose a futuro como una eficaz y económica alternativa natural para el tratamiento de las afecciones causadas por estos organismos tan importantes clínicamente, luego que se realicen las validaciones legales *in vivo*, que permitan su definitivo uso comercial.

Palabras clave: Bactericida, fungicida, extracto etanólico, zabila.

ABSTRACT

Antimicrobial activity of leaf extract of zabila (*Aloe vera* L.) in growth of clinical microbes

The zabila is a plant of great medical and pharmaceutical interest, for its various and numerous medicinal properties in diseases of different origin, corroborating the effect *in vitro* and *in vivo* of extracts. This study evaluated the antimicrobial activity with macro dilution method, in the ethanol extract of *Aloe vera* leaf (5-80%), qualitatively by the turbidity of the culture in liquid medium and quantitatively in colony forming units (CFU) on solid medium. Determined the minimum inhibitory concentration (MIC), bactericidal (BIC) and fungicidal (FIC), in 50 µL of the inoculum of microorganisms of clinical interest such as *Candida albicans* complex, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* at 37°C for 24 and 48 h. Found that at 24 hours, MIC was 35, 40 and 55% and BIC was 40, 45 and 60% for *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*, respectively, whereas *C. albicans*, the MIC and MFC were 55 and 60% respectively. After 48 hours of culture MIC was 30, 35 and 25% and BIC was 35, 40 and 30% for *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*, respectively, whereas *C. albicans*, the MIC and MFC were 40 and 45% respectively. The 48 h exposure to the leaf extract of *Aloe vera* L has great potential biocide for these clinically important microorganisms, can be effectively used in the production of generic drugs of low economic value to treat conditions caused by them in the future, once the legal validation *in vivo*, allowing their final commercial use are made.

Key words: Bactericidal, fungicidal, ethanol extract, zabila.

INTRODUCCIÓN

El *Aloe vera* L. (sinonimia con *Aloe barbadensis* Miller) es la especie herbácea, xerófila y suculenta más popular e importante de la familia Asphodelaceae, originaria de las regiones secas y calientes del norte y este de África, debiendo su nombre Aloe al árabe "alloe" o hebreo "halal" que significa sustancia amarga brillante (1), mientras que vera es verdad en latín (2); conocida entre muchas denominaciones comunes, como lirio del desierto en África, doctor Aloe en América y elixir de vida en Rusia (2). Esta planta de rápida multiplicación vegetativa, con una altura promedio de 50 a 70 cm en su madurez (de cuatro a cinco años), de tallo corto y hojas suculentas dispuestas en forma de roseta, presenta múltiples propiedades médico-farmacéuticas tanto de uso veterinario como humano (1, 3). En este sentido, es usada desde hace milenios por diferentes civilizaciones antiguas, tales como Egipto, Babilonia, India, Grecia, Japón y China

Universidad de Carabobo. Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología (FACYT). Departamento de Biología, Unidad de Biotecnología Aplicada. Campus Bárbula. Venezuela. (UBA).

Autor de correspondencia: Doris Reyes.

E-mail: dreyes@uc.edu.ve

Recibido: Junio 2014 **Aprobado:** Noviembre 2014

(3). En la actualidad distintas partes (raíces, tallo y hoja) de la planta son empleadas para el tratamiento de diferentes afecciones, pero en mayor grado es utilizado el gel o cristal de la hoja para la obtención de los más de 100 diversos compuestos bioactivos, tales como vitaminas (A, C, E, B1, B2, B6 B12, ácido fólico y colina), minerales (Ca, Cr, Cu, Se, Mg, Mn, Na, K, P, Zn, Al, Ba, Sr y Fe), azúcares (glucosa, fructosa, acemanano, entre otros) enzimas (amilasa, lipasa, bradiquinasa, catalasa, peroxidasa y superóxido-dismutasa), aminoácidos (20 de los 22 aminoácidos del ser humano y 7 de los 8 aminoácidos esenciales), esteroides (colesterol, campesterol, β -sisterol y lupeol) y antroquinonas (ácido aloético), que son empleados en enfermedades, tales como diabetes, diferentes problemas gástricos, tumores, así como por su actividad inmunológica, ansiolítica, hipoglucémica, antioxidante, antiinflamatoria, cicatrizante, antiviral y antimicrobiana (2-7).

En la actualidad se está dando una verdadera revolución en medicina, volviendo al uso de las plantas ancestrales, como potenciales alternativas terapéuticas económicas y eficaces contra numerosas y diversas enfermedades, por ello el *Aloe vera*, una planta tropical perteneciente a la antigua familia *Liliaceae* (8) representa un icono en este sentido, ya que desde hace muchos años es utilizada en la elaboración de medicamentos destinados a tratar quemaduras (9, 10), úlceras pépticas (11), lesiones de la mucosa gástrica (12), así como antiinflamatorio y de proliferación celular (13-15), psoriasis, herpes, acné y pie de atleta (16). De igual manera en la fabricación de fármacos antimicóticos, antibacteriales y antivirales (17, 18).

En este orden de ideas, hoy en día se buscan medicamentos alternativos económicos, sencillos, versátiles y novedosos para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas, debido a la rápida aparición de nuevas cepas microbiales resistentes a los antibióticos convencionales. Por lo cual, muchos investigadores evalúan diferentes metabolitos vegetales, como potencial solución en el control del crecimiento de nuevas cepas de microorganismos. En este sentido, en función de los antecedentes ya descritos acerca del *Aloe vera* como antimicrobiano natural, el presente estudio evaluó el efecto biocida del extracto etanólico foliar del *Aloe*, sobre los microorganismos de interés clínico: complejo *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, con la finalidad de ofrecerle directamente a las comunidades un sencillo preparado terapéutico genérico que sea efectivo para uso externo, seguro al ambiente y a bajo costo, en aras de subsanar en atención primaria en las mismas, las diversas infecciones en heridas ocasionada por diversos microorganismos de interés clínico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal. Las pencas u hojas carnosas de zabila (*Aloe vera* L.) donadas del campus experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (UCV)

(Municipio Atanasio Girardot. Edo. Aragua), previamente lavadas con agua corriente, se cortaron para extraer el cristal o gel de la cubierta foliar externa que es descartada, posteriormente se secaron en estufa a 70°C durante 7 días, para luego molerlas hasta obtener 25 g del polvo foliar, el cual fue disuelto en 25mL de etanol al 80% en agitación continua por 24 horas, luego de las cuales se procedió a la evaporación del etanol, obteniéndose una solución a una concentración del 100%, a partir de la cual se prepararon una serie de diluciones para concentraciones inferiores (5-80%), empleando el método de dilución, usando como disolvente caldo infusión cerebro corazón (BHI) para realizar la evaluación de la actividad antimicrobiana (19).

Microorganismos. Cepas liofilizadas ATCC (American Type Culture Collection) de complejo *Candida albicans* (CVCM1363), *Pseudomonas aeruginosa* (CVCM43) y *Staphylococcus aureus* (CVCM691) suministradas por el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM) del Instituto de Biología Experimental (IBE) de la Universidad Central de Venezuela (UCV), así como *Escherichia coli* (U9-41) donada por la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo.

Preparación de las suspensiones microbianas. Las cepas liofilizadas se hidrataron en caldo BHI, para luego incubarse por 24 horas a 37°C para su reproducción en condiciones normales de gases. Luego se sembraron en agares selectivos (MacConkey, Manitol salado, Cetrímide y Sabouraud con clorafenicol) dependiendo del microorganismo, incubándose por 24 horas a 37°C. Posteriormente, se seleccionaron colonias aisladas suspendiéndolas en Caldo BHI, incubándose nuevamente por 24 h a 37°C, después de ajustar la turbidez de las mismas al patrón de 0,5% Mc. Farland (medida a 540 nm), equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Preparación de las diluciones. A partir del extracto concentrado obtenido, se realizaron diluciones puntuales (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 y 80%) con Caldo BHI estéril en tubos 13x100 mm.

Determinación de la CMI, CMB y CMF. Se tomó una alícuota de 750 μ L de la suspensión microbiana, ya ajustada (Mc. Farland), la cual se adicionó en 2.250 μ L de caldo BHI, para que interactúe con la dilución del extracto respectiva durante 24 y 48 h a 37°C. Transcurrido el tiempo de exposición de los microorganismos ya descritos, se procedió a inocular 50 μ L de la suspensión microbiana con el extracto a diferentes concentraciones en Agar BHI en placas de Petri, utilizando la técnica de siembra en superficie con espátula de Drigalski, además de inocular en tubos con caldo BHI, empleando asa de platino calibrada de 10 μ L (19). Se evaluó cuantitativamente el primero a través del número de unidades formadoras de colonias (UFC) y cualitativamente el segundo mediante la turbidez del medio (20), estableciéndose para las tres cepas bacterianas la concentración mínima inhibitoria (CMI) que determina el

efecto bacteriostático y la concentración mínima bactericida (CMB), así como la CMI y CMF para la levadura, que establece respectivamente el efecto fungistático y fungicida.

Controles. Se utilizó un control negativo (medio de cultivo con solo extracto), para verificar la presencia de contaminantes microbianos y un control positivo (medio de cultivo con la cepa pura sin extracto), para verificar la viabilidad celular. Adicionalmente, se realizaron evaluaciones microscópicas (tinción Gram) y pruebas bioquímicas convencionales para constatar la pureza de los cultivos. Por último, se verificó que posibles remanentes del etanol en la solución concentrada final, no tuviera efecto antimicrobiano, asegurando que dicho solvente se había evaporado por completo durante el proceso de obtención del extracto al 100%, realizando para ello los ensayos con diluciones de una solución sin polvo foliar de *Aloe vera*, evidenciándose crecimiento microbiano de todas las cepas en todas las concentraciones.

Análisis de los resultados. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado obteniendo reproducibilidad de los resultados, que se analizaron mediante el programa

estadístico: Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 18, empleando como estadísticos clásicos las medias y desviaciones estándar.

RESULTADOS

La evaluación del extracto etanólico foliar de *Aloe vera* en el crecimiento de microorganismos de interés clínico, mostró una respuesta diferencial significativa ($P < 0,05$) en el tiempo de cultivo (24 y 48 horas) y la especie microbiana. Evidenciándose tanto en el medio líquido como en el sólido, un crecimiento similar en función a la concentración del extracto, en el efecto bacteriostático y bactericida en *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, así como el efecto fungistático y fungicida en el complejo *C. albicans*. En este sentido, se encontró que a las 24 horas la CMI fue 35, 40 y 55% y la CMB fue 40, 45 y 60%, para *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, respectivamente, mientras que en *C. albicans*, la CMI y CMF fueron 55 y 60%, respectivamente. A las 48 horas de cultivo la CMI fue 30, 35 y 25% y la CMB fue 35, 40 y 30%, para *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, respectivamente, mientras que en *C. albicans*, la CMI y CMF fueron 40 y 45%, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto foliar de zabila (*Aloe vera* L.) en microorganismos de interés clínico.

| Porcentaje de extracto (%) | Crecimiento microbiano <i>Complejo Candida albicans</i> | | | | Crecimiento microbiano <i>Escherichia coli</i> | | | | Crecimiento microbiano <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | Crecimiento microbiano <i>Staphylococcus aureus</i> | | | |
|----------------------------|---|----------|-----------|----------|--|----------|-----------|----------|--|----------|-----------|----------|---|----------|-----------|----------|
| | 24 Horas | | *48 Horas | | 24 Horas | | *48 Horas | | 24 Horas | | *48 Horas | | 24 Horas | | *48 Horas | |
| | ML | MS (UFC) | ML | MS (UFC) | ML | MS (UFC) | ML | MS (UFC) | ML | MS (UFC) | ML | MS (UFC) | ML | MS (UFC) | ML | MS (UFC) |
| 0 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 |
| 5 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 |
| 10 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 |
| 15 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | 140±27 |
| 20 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | 215±9 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | 32±3 |
| 25 | + | >1000 | + | >1000 | + | 446±21 | + | 60±3 | + | >1000 | + | 590±32 | + | >1000 | + | - |
| 30 | + | >1000 | + | 415±13 | + | 31±5 | + | - | + | 631±15 | + | 55±9 | + | >1000 | - | - |
| 35 | + | >1000 | + | 32±8 | + | - | - | - | + | 38±6 | + | - | + | >1000 | - | - |
| 40 | + | >1000 | + | - | - | - | - | - | + | - | - | - | + | 932±52 | - | - |
| 45 | + | 320±13 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | 151±35 | - | - |
| 50 | + | 40±2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | 17±3 | - | - |
| 55 | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 60 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 65 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 70 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 75 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 80 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Control - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Control + | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 | + | >1000 |

ML: Medio Líquido; MS: Medio sólido; +: con turbidez o crecimiento; -: Sin turbidez o crecimiento; UFC: Unidades formadoras de colonias; >1000: número incontable; *: diferencias significativas a $P < 0,05$. Control (-): sin crecimiento; Control (+): con crecimiento

DISCUSIÓN

La actividad antimicrobiana, utilizando extractos (de diversos solventes), obtenidos fundamentalmente del gel o cristal de la hoja; es una de las propiedades más importantes del *Aloe vera*, tal como lo han evidenciado numerosos estudios, tanto *in vitro* (método de difusión en agar) como *in vivo* en diferentes especies de microorganismos Gram positivos (*Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus bovis*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*) y Gram negativos (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri*) (2; 20).

La CMI es la menor concentración de una sustancia que inhibe total o parcialmente el desarrollo microbioal en medio sólido, mas no en el medio líquido, ya que en el medio sólido por el método de difusión en agar, no hay una dilución como tal, por tanto en ciertas circunstancias los microorganismos que vienen estresados por la presencia de alguna sustancia inhibidora pueden no crecer en el agar, observándose así el efecto bacteriostático o fungistático, mientras que en el medio líquido el factor de dilución es mayor, de tal forma, que los microorganismos que vengan estresados, en el caldo se elimina por completo la sustancia inhibidora y por ello crecen, por lo cual, la CMB o CMF es la concentración mínima, en la que no se observa el crecimiento en medio sólido y líquido de bacterias y hongos, corroborándose el efecto bactericida y fungicida respectivamente (21).

En este sentido, con el método de macro dilución utilizado en este estudio, se obtuvieron resultados promisorios en comparación a los resultados indicados en trabajos que emplean el método de difusión en agar. Así se muestra que el extracto etanólico foliar de zabila empleado, es de alta efectividad, ya que posee actividad bacteriostática y bactericida en las bacterias Gram positiva *S. aureus* y Gram negativas *E. coli* y *P. aeruginosa*, así como el efecto fungistático y fungicida en el complejo *C. albicans*, tal como se ha evidenciado en diversos trabajos publicados con extractos acuosos, etanólicos, metanólicos y acetónicos de distintos órganos vegetales de esta planta (22). Asimismo, a mayor tiempo de exposición (48 h) al extracto se obtuvo una actividad superior, ya que el crecimiento de todas las cepas de microorganismos estudiadas fue erradicado a bajas concentraciones del mismo (19), lo que podría ser debido a lo lento del proceso de desacople o inhibición de los sistemas estructurales o funcionales de la célula microbioal, por parte de los metabolitos secundarios presentes en el extracto (23, 24). Por lo cual, en este estudio se logró visualizar la actividad antimicrobiana con las cuatro cepas microbiales empleadas, utilizando el extracto etanólico a una concentración inferior al 60% a ambos tiempos de exposición (24 y 48 h), respuesta por debajo a la reportada por otros investigadores (25) con los mismos microorganismos, evaluando extractos acuosos y etanólicos, indicando la inhibición del crecimiento de los mismos a concentraciones del 70% a 24 h de exposición.

En este orden de ideas, para el complejo *C. albicans*, se observa el efecto fungicida a las 24 h de exposición con 60% del extracto, disminuyendo a 45% el CMF al tiempo de 48 h, concentración inferior a la indicada por otro investigador (9) que señala la acción fungicida a 90% del extracto etanólico a las 24 h, utilizando el método de difusión en agar. Asimismo, con este extracto se logró una mejor respuesta bactericida que la indicada con extractos acuosos o metanólicos al 50% (26). No obstante, otros autores (27), plantean una mejor acción fungicida a las 24 h, con el extracto acuoso (12,5%) y etanólico (6,25%), pudiendo deberse dicha respuesta al empleo de una cepa distinta a la utilizada en este trabajo.

En el caso de *E. coli*, se encontró una tendencia similar, donde un incremento en el tiempo de exposición determina un mayor efecto bactericida, no encontrando crecimiento bacteriano con el extracto al 35%, concentración inferior a la indicada por otros investigadores, donde reportan una acción bactericida a 40% (28), 50% (27), 90 % (9) y 100% (29; 30) del extracto etanólico a las 24 h utilizando el método de difusión en agar.

Para *S. aureus* se encontró una respuesta marcadamente superior al aumentar el tiempo de exposición, pasando la acción bactericida de 60% a las 24 h a 30% a las 48 h, concentración inferior a la indicada por otros investigadores (28), donde reportan una acción bactericida a 40% (28), 95% (9) y 100% (29 - 32), del extracto etanólico a las 24 h utilizando el método de difusión en agar. Es importante resaltar, que con este extracto se obtuvo una mayor respuesta bactericida que la señalada por otros investigadores al emplear extractos acuosos o metanólicos al 50% (26). No obstante, otros autores (27), describen una mejor acción bactericida a las 24 h con el extracto etanólico (6,25%), pudiendo deberse dicha respuesta al empleo de una cepa diferente.

Por último, con *P. aeruginosa*, se obtuvo una respuesta similar a las indicadas en las dos cepas bacterianas anteriores, donde un incremento en el tiempo de exposición influyo en un mayor efecto bactericida a 35%, no encontrando crecimiento bacteriano con un extracto al 40% a las 48 horas, concentración similar (28) o inferior 90% (9); 100% (29; 30; 32) a la reportada por otros investigadores a las 24 h utilizando el método de difusión en agar. Es importante resaltar que solo con extracto acuoso o etanólico de hoja se presenta la inhibición del crecimiento de este microorganismo, tal como lo señalaron algunos autores al ensayar extractos a base de raíces, tallo y hojas (33), siendo mayor al emplear el extracto a base de etanol, ya que es un solvente que permite la extracción de más de 21 compuestos químicos con potencial biocida, principalmente taninos, flavonoides y antroquinonas (34), que actúan sobre los distintos componentes de la membrana plasmática y pared celular, particularmente lípidos, adhesinas y proteínas de transporte (35-38), así como ocasionando la pérdida de sus funciones e incrementando la permeabilidad de los protones e iones de la misma (22).

Finalmente, se puede concluir que la mayor actividad antimicrobiana se logró a las 48 horas de exposición a bajas concentraciones del extracto etanólico foliar. A este tiempo de cultivo, a partir del extracto al 30%, la cepa más sensible fue *S. aureus*, a diferencia de las cepas *E. coli*, *P. aeruginosa* y complejo *C. albicans* que fueron más resistentes, dado que se requirieron mayores concentraciones del extracto (40-45%). De tal forma, que sustentándose en los resultados hallados con este extracto *in vitro*, se refuerza la potencialidad de la medicina natural de esta ancestral planta, sugiriéndose para un futuro no lejano la posibilidad de su empleo en la elaboración de formulaciones de uso tópico para el tratamiento de las afecciones causadas por estos microorganismos, previa evaluación farmacológica y toxicológica en modelos *in vivo* con animales y/o humanos, para asegurar su eficacia y seguridad, permitiendo así su uso en atención primaria en salud, como preparado popular en las comunidades.

Agradecimiento. Este trabajo fue subvencionado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH-UC) según oficio N° CDCH-156-2014 del 08/05/2014. Asimismo al personal asistente de la Unidad de Biotecnología Aplicada (UBA) del Departamento de Biología de la Universidad de Carabobo (Naguanagua-Edo. Carabobo) por el apoyo en la ejecución de esta investigación.

REFERENCIAS

- Manvitha K, Bidya B. Aloe vera: a wonder plant its history, cultivation and medicinal uses. J. Pharmacognosy & Phytochem 2014;2(5):85-88.
- Chinchilla N, Carrera C, Durán A, Macías M, Torres A, Macías F. *Aloe barbadensis*: how a miraculous plant becomes reality. Phytochem Rev 2013;12:581-602.
- Chatterjee P, Chakraborty B, Nandy S. *Aloe vera* plant: Review with significant pharmacological activities. Mintage J. Pharm. & Med. Sci. 2013;2 (3):21-24.
- Baby J, Raj J. A comparative study on various properties of five medicinally important plants. I. J. Pharmacology 2011;7(2):206-211.
- Adesuyi A, Awosanya O, Adaramola F, Omeonu A. Nutritional and phytochemical screening of *Aloe barbadensis*. Curr. Res. J. Biol. Sci. 2012;4 (1):4-9.
- Alarcón M, Fernandez R. Aplicación terapéutica del *Aloe vera* L. en Odontología. Salus 2013;17(3):42-50.
- Choche T, Shende S, Kadu P. Extraction and identification of bioactive components from *Aloe barbadensis* Miller. J. Pharmacognosy & Phytochem. 2014;2(1):14-23.
- Lindorf H, De Parisca L, Rodríguez P. Familia Asphodelacea. Botánica: Clasificación, estructura y reproducción. 2da Ed. Caracas: Editorial Ediciones de la Biblioteca UCV. 1999; pp 339.
- Campos M. Acción antimicrobiana *in vitro* del gel de *Aloe vera* sobre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*. Tesis de Grado para Médico cirujano. Universidad Francisco Marroquín. Guatemala. 1998; pp 230.
- Maenthaisong R, Chaiyakunapruk N, Niruntraporn S, Kongkaew C. The efficacy of *Aloe vera* used for burn wound healing: A systematic review. Burns. 2007;33:713-718.
- Stevens N. *Aloe vera*, 7ma Ed. Argentina: Soria; 2006; pp 400.
- Lujan M, Becerra L, Chávez M, Otiniano N, Benites S. Efecto del extracto acuoso del gel de *Aloe vera* "zabila" sobre la fagocitosis por macrófagos de *Mus musculus* BALB/c y la producción de anticuerpos por *Oryctolagus cuniculus*. Rev Med Vallejana. 2008;5(1):7-15.
- Rodríguez I, Santana O, Recio O, Fuentes M.. Beneficios del *Aloe vera* l. (zabila) en las afecciones de la piel. Rev Cubana Enfermer. 2006;22(3):1-5.
14. Khorasani G, Hosseinimehr S, Azadbakht M, Zamani A, Reza M. *Aloe* versus Silver Sulfadiazine Creams for Second-Degree Burns: A Randomized Controlled Study. Surg Today. 2009;39:587-591.
15. Mendoça F, Passarini J, Marretto M, Mendoça J, Franchini C, Tech G. Effects of the application of *Aloe vera* (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. Acta Cirúrgica Brasileira. 2009;24(2): 150-155.
- Saibuatong O, Phisalaphong M. Novo *Aloe vera* - bacterial cellulose composite film from biosynthesis. Carbohydrate Polymers. 2010;79:455-460.
- Hamman J. Composition and Applications of *Aloe vera* Leaf Gel. Molecules. 2008;13:1599-1616.
- Tereza A, Semenoff D, Ferreira W, Semenoff A, Biasoli, E. Efectividad *in vitro* de *Aloe vera* in natura, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina a 2% sobre *Enterococcus faecalis*. Revista Odontológica Científica 2008;23(3):283-286.
- Reyes D, Fernández R. Efecto biocida *in vitro* del extracto foliar de *Azadirachta indica* en *Staphylococcus sp* y *Pseudomonas sp*. Salus 2013; 17(3):34-41.
- Alemdar S, Agaoglu S. Investigation of *in vitro* Antimicrobial activity of *Aloe vera* juice. J Anim Vet Adv. 2009;8(1):99-102.
- Gil M, Perelli A, Alvarado R, Arias Y, Blumenthal E. Actividad bacteriostática y bactericida de la tintura de propóleos sobre bacterias enteropatógenas. Salus 2012;16(1):29-37.
- Lawrence R, Tripathi P, Jeyakumar E. Isolation, purification and evaluation of antibacterial agents from *Aloe vera*. Braz J Microbiol. 2009;40:906- 915.
- Soriano F. Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos para la lectura interpretada del antibiogramas. Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica 2010;28(7):461-466.
- Vives E, Medvedovsky D, Rothlin R. Farmacología General de las drogas antibacterianas. 2003. Pp:27 <http://www.dftc.ucr.ac.cr/index.php/farmacologia-clinica> [consulta 21/02/2013].
- Musmeci R, Lezcano M. Acción antimicrobiana del gel de *Aloe vera* sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Revista sobre estudios e investigaciones del saber académico 2013; 7:23-27.
- Yebpella G, Hassan A, Hammuel C, Magomya A, Agbaji A, Okonkwo E. Phytochemical screening and comparative study of antimicrobial activity of *Aloe vera* various extracts. African J. Microb. Res. 2011;5(10):1182-1187.

27. Stanley M, Ifeanyi O, Eziokwu O. Antimicrobial effects of *Aloe vera* on some human pathogens. I.J.Curr. Microb.App.Sci. 2014;3(3):1022-1028.
28. Malini M, Abirami G, Hemalatha V, Annadurai G. Antimicrobial activity of ethanolic and aqueous extracts of medicinal plants against waste water pathogens. I.J.Res.Pure & App. Microb. 2013;3(2):40-42.
29. Prashar P, Gulati S, Koul V, & Sehgal S. In vitro antimicrobial activity of ethanolic extract of *Aloe vera* against some bacterial and fungal species. Adv. Biotech. 2011;11(3):32-33.
30. Herman A, Herman A, Domagalska B, Mlynarczyk A. Essential oils and herbal extracts as antimicrobial agents in cosmetics emulsion. Indian J. Microbiol. 2013;53(2):232-237.
31. Agarry O, Olaleye M, Bello M. Comparative antimicrobial activities of *Aloe vera* gel and leaf. Afr J Biotechnol. 2005;4(12):1413-1414.
32. Nejatizadeh, F. Antibacterial activities and antioxidant capacity of *Aloe vera*. Organic & Medicinal Chem. Lett. 2013;3(5):1-8.
33. Etusim P, Okafor E, Nwachukwu N, Melariri P, Ogbonnaya C. A study on antibacterial activities of *Aloe vera* leaves, stems and roots on some selected organisms. J. Biol. Sci. Bioconservation 2013;5(1):52-59.
34. Manikandan V, Muhammad I.. Analylis of phytochemical constituents and antibacterial activities of *Aloe vera* L. Against some selected pathogens. I.J.B.P.A.S. 2014;3(1):56-62.
35. Sikkema J, Poolman B. Mechanisms of Membrane Toxicity of Hydrocarbons. Microbiol Rev. 1995; 59(2):201-222.
36. Cowan M. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999;12(4):564-582.
37. Karou D, Dicko M, Simporé J, Traore J. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. Afr J Biotechnol. 2005;4(8):823-828.
38. Araujo J, Salas R. Actividad antimicrobiana de plantas. Rev Cienc Univ. Cient Sur. 2008;6-18.