Evaluación *in vitro* de dos extractos de *Aloe vera* en bacterias patógenas.

In vitro evaluation of two extracts of *Aloe vera* in pathogenic bacteria.

Alarcón María^{1,2}, Fraile Silvia², Michelangeli Fabián², Contreras Mónica², Fernández Rafael³

RESUMEN

El incremento en los mecanismos de resistencia bacteriana, ha planteado a la comunidad científica la necesidad en la búsqueda de principios activos para producir nuevos antibióticos, donde el *Aloe vera* se proyecta como una fuente de obtención de los mismos. El objetivo de esta investigación fue evaluar el comportamiento de dos tipos de extractos; uno de gel fresco procesado con DMSO, y otro obtenido del mesófilo por un proceso de extracción con etanol que luego fue filtrado, concentrado y liofilizado. Ambos extractos fueron evaluados con la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en disco contra *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. El extracto etanólico del mesófilo liofilizado se ensayó en concentraciones de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 mg/mL, con cada una de las bacterias de referencia, evidenciándose ausencia de inhibición sobre el crecimiento bacteriano en todas las concentraciones. El extracto Gel-DMSO se ensayó con las cepas *H. pylori*, *E. coli* y *S. aureus*; obteniendo halos de inhibición de 14, 8,5 y 8,5 mm respectivamente. La evidencia científica de la actividad antibacteriana de esta planta suele ser contradictoria, donde el procesamiento del extracto, es un factor importante en esta variabilidad. Según nuestros resultados se puede concluir que *H. pylori*, fue la bacteria más sensible al extracto Gel-DMSO en comparación con *E. coli* y *S. aureus*; asimismo, para futuras investigaciones, se debería desestimar el uso de extractos liofilizados diluidos y considerar otros procesos de extracción.

Palabras clave: Sábila, antibacteriano, extracto etanólico, Gel-DMSO.

ABSTRACT

The increase of bacterial resistance mechanisms has created special interest in the scientific community to search for active principles for the production of new antibiotics, and the *Aloe Vera* plant has been considered as a potential source to obtain them. The objective of this research was to evaluate the behavior of two types of *Aloe Vera* extracts, one fresh gel processed with DMSO and other obtained by the mesophyll by ethanol extraction process that was filtered, concentrated and lyophilized. Both extracts were evaluated with antimicrobial susceptibility testing by disc diffusion against *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans*. The ethanolic extract of lyophilized mesophyll was tested in concentrations of 0.5 1.0 1.5 2.0 and 2.5 mg / ml, with each of the reference bacteria, showing no inhibition on bacterial growth in all concentrations tested. Gel-DMSO extract was tested with strains *H. pylori*, *E. coli* and *S. aureus*, obtaining inhibition halos of 14, 8.5 and 8.5 mm respectively. Scientific evidence of the antibacterial activity of this plant can be contradictory, and the processing of the extract is a determining factor in such variability. According to our results, we conclude that *H. pylori* was the bacteria most sensitive to Gel-DMSO extract compared with *E. coli* and *S. aureus* bacteria; also, we advise against the use of diluted and lyophilised extracts in future research; rather, other alternative extraction process should be considered.

Key words: *Aloe vera*, antibacterial, ethanol extract, Gel-DMSO.

INTRODUCCION

El incremento en la resistencia a los antimicrobianos, así como sus efectos colaterales adversos e interacciones farmacológicas, ha determinado la necesidad de buscar constantemente nuevos fármacos que sean efectivos y de baja toxicidad. En las últimas décadas, diversas plantas han sido motivo de investigación en la extracción y caracterización de principios activos terapéuticos (1-3), siendo el *Aloe vera* una de las de mayor proyección como fuente de obtención de novedosos y eficaces medicamentos (4-7).

El *Aloe vera*, es una planta originaria del norte de África utilizada desde la antigüedad (8); pertenece a la familia *Aloaceae*, género *Aloe*. Sus hojas alcanzan la madurez de los 4 a 5 años y están compuestas por una corteza externa, una capa interna llamada mesófilo o "filete" de consistencia mucilaginoso, incolora e insípida. Tiene 98-99% de agua y el 1-2% restante contiene los compuestos activos. Entre ambas capas circula el acíbar, savia amarilla de olor penetrante que drena al cortar las hojas. A esta planta se

¹ Facultad de Odontología, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela

² Laboratorio de Fisiología Gastrointestinal, Centro de Biofísica y Bioquímica, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Miranda, Venezuela

³ Centro de Biotecnología Aplicada (CBA), FACYT-Universidad de Carabobo.

Autor de Correspondencia: María Alarcón

E-mail: mealarcon@hotmail.com

Recibido: 19/07/2016 **Aprobado:** 04/11/2016

le han identificado más de 75 compuestos bioactivos como enzimas, ligninas, mucopolisacáridos, antraquinonas, hormonas, ácidos grasos, aminoácidos, vitaminas y minerales, los que actuando de manera individual o sinérgica son responsables de sus acciones medicinales (9-11).

El *Aloe vera* se usa de manera empírica como emoliente, antiséptica, cicatrizante, hidratante, antialérgico, antiinflamatoria, astringente, laxante y protector gástrico entre otras funciones (12). Actualmente el mesófilo es utilizado por la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica; donde el contenido de compuestos fenólicos (las antraquinonas) debe ser inferior a 10 ppm, debido a la citotoxicidad, mutagenicidad y carcinogénesis que producen estos compuestos (13). En Venezuela, el mesófilo es conocido como cristal de sábila y la población lo emplea de manera empírica en el tratamiento de quemaduras, hemorroides, asma y tos (14).

Estudios previos con *Aloe vera* han verificado su efectividad contra bacterias Gram positivas (*Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella Typhi*, *Proteus mirabilis*, *Helicobacter pylori*) (15-17), identificándose como componentes de acción antimicrobiana a: taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, glicósidos cardiacos (18), ácido cinámico, ácido *p*-cumárico, ácido ascórbico y pirocatecol (16).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antibacteriana del *Aloe vera* utilizando dos tipos de extractos: uno a base de Gel-DMSO (Dimetil Sulfoxido) y otro etanólico del mesófilo liofilizado, en las bacterias: *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*, microorganismos de relación comensal, pero que ocasionan diversas enfermedades cuando se rompe el equilibrio, haciéndose resistentes a múltiples antibióticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los extractos: La identificación taxonómica de la planta fue realizada en el Herbario Nacional de Venezuela por la Dra. Leyda Rodríguez y el Dr. Shingo Nozawa como *Aloe vera* (*Aloaceae*) y el espécimen fue registrado en la colección del Herbario con el Nro. 43505. La planta procede del jardín de la Prof. Alarcón en la ciudad de Guacara (Municipio Guacara-Edo. Carabobo).

En el mes de enero se cosecharon las hojas maduras de cinco plantas de *Aloe vera* y se trasladaron bajo refrigeración al sitio de trabajo, donde se procesaron en frío con material e instrumental estéril. Se desinfectaron con una solución de cloro al 0,3% por 15 minutos, lavándose con agua destilada, obteniéndose el mesófilo por fileteado a mano (19). A una parte de esta muestra se le hicieron

cortes transversales, obteniendo el Gel de *Aloe vera* por escurrimiento. Fue procesado con DMSO, obteniéndose el extracto Gel-DMSO que se conservó en frasco ámbar a 4°C y fue utilizado inmediatamente. La otra parte de la muestra fue homogeneizada en licuadora Oster® con etanol al 95%; dejándose en oscuridad por 48 horas para luego filtrarse al vacío con papel Watman Nro. 52. Seguidamente se concentró en Rotavapor (R-3000, Buchi, Switzerland®) para luego liofilizarse (Labconco City Kansas Missouri 641329®), obteniéndose de este proceso el extracto etanólico del mesófilo liofilizado, polvo que se conservó a 4°C en frasco ámbar.

Cepario de Bacterias. Las cepas *Helicobacter pylori* ATCC 43504, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y ATCC 51299, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y ATCC 25923 fueron adquiridas de la Colección de Cultivo Tipo Americano ATCC (American Type Culture Collection), mientras que la de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se adquirió en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM), del Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central de Venezuela (IBE-UCV).

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en disco. Se prepararon caldos y agares selectivos para las cepas de referencia según especificaciones del fabricante: Agar Mueller Hinton (MHA) (Flukas Analytical, Biochemika, Spain®); Agar chocolate con Blood Agar Base (Becton BBL, Dickinson and Company, France®) y sangre de cordero (Bioterio del IVIC); Caldo Tripticasa Soya (TSB), (Sigma USA®); caldo Brusella con Brusella Broth Base (BBB, Himedia Lab. Pvt-Ltd, India®) y caldo Mueller Hinton (MHB), (Fluka Analytical Sigma Aldrich, India®). Como control positivo se usó Estreptomina de 50 mg/mL (Sigma USA®) preparada a una concentración de 1000 µg/mL, mientras que el control negativo correspondió al solvente usado en la preparación de las diluciones del extracto de los respectivos ensayos.

Preparación de los inóculos. Las cepas liofilizadas se hidrataron; *H. pylori* en caldo Brusella al 20% de glicerol, *E. faecalis* y *S. mutans* en TSB al 20% de glicerol y se preservaron a -80 °C. Mientras que *E. coli* y *S.aureus* se preservaron en una mezcla de MHA al 5,4% más MHB al 2,7% a temperatura ambiente. Posteriormente, las mismas se sembraron en agares selectivos y se incubaron en las condiciones de gases necesarias para su reproducción. *E. faecalis*, *H. pylori* y *E. mutans* fueron sembradas en agar chocolate incubándose a 37 °C por 48 horas; en microaerofilia *H. pylori* (Gas Pak EZ Campy Container Sistem®) y en anaerobiosis *E. faecalis* y *S. mutans* (Gas Pak EZ Anaerobe Container System Sachets®). *S. aureus* y *E.coli* se sembraron en MHA y se incubaron en aerobiosis a 37 °C por 24 horas.

Determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico del mesófilo liofilizado. Después de verificar la

pureza de los cultivos (mediante el test de ureasa para *H. pylori*), se seleccionaron colonias aisladas de cada cepa de referencia y se resuspendieron en caldos selectivos, ajustando la turbidez de las mismas al patrón 0,5% de Mc. Farland (medida 600 nm en el Espectrofotómetro Genesys 20 Thermo Scientific®). Para *E. coli* y *S. aureus* se utilizó solución fisiológica; caldo Brusella para *H. pylori*; TBS para *E. mutans* y *E. faecalis*.

Con el extracto etanólico del mesófilo liofilizado, se preparó una solución madre a una concentración de 200 mg/mL usando como solvente DMSO al 2,5% y posteriormente fue filtrada (GD/x 02 µm CA Filter Media 25 mm®). A partir de esta solución, se prepararon diluciones a concentraciones de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 mg/mL usando como solvente caldo Brusella con DMSO al 2,5% para el ensayo con *H. pylori*; caldo MHB con DMSO 2,5% para el ensayo con *E. coli* y *S. aureus* y TSB con DMSO 2,5% para el ensayo con *E. faecalis* y *S. mutans*.

En placas con agares selectivos (MHA y Agar chocolate, según la bacteria) se colocaron 100 µL del respectivo inóculo que fue esparcido uniformemente con hisopo. Seguidamente se pusieron los discos de papel de 6 mm de diámetro distribuidos a distancias equidistantes, donde se depositaron 30 µL de las respectivas diluciones del extracto y de los controles. Las placas fueron incubadas a 37°C, de acuerdo a las condiciones de gases para el crecimiento de cada cepa y se observaron a las 24 y 48 horas de incubación. Se trabajó por duplicado y los halos de inhibición para los extractos y los controles fueron medidos y promediados.

Determinación de la actividad antibacteriana del extracto Gel-DMSO: Se utilizó la prueba cualitativa de difusión en agar con disco con las cepas *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* y *H. pylori*, utilizando como control positivo Estreptomicina preparada a 1000 µg/mL y como control negativo DMSO al 2,5%. Los inóculos de las cepas aeróbicas fueron preparados resuspendiendo en solución fisiológica algunas colonias y ajustando la turbidez al patrón 0,5 de Mc. Farland (medida 600 nm en el Espectrofotómetro Genesys 20 Thermo Scientific®). Luego se colocaron 100 µL del respectivo inóculo en placas de MHA distribuyéndolo uniformemente con hisopo. La cepa *H. pylori* se sembró directamente en placas de agar chocolate. Seguidamente, se ubicaron los discos previamente impregnados con el extracto, los controles y un solo disco como control. Por último se colocaron en la incubadora a 37 °C, y en microaerofilia por 48 horas (Gas Pak, EZ Campy Container Sistem®) y por 24 horas las cepas aeróbicas. Se trabajó por duplicado y los halos de inhibición para los extractos y los controles fueron medidos y promediados.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos de la actividad antibacteriana con el extracto Gel-DMSO. Se

evidenció inhibición sobre el crecimiento de las bacterias del ensayo, con halos de inhibición de tamaño variable según la cepa ensayada donde *H. pylori* fue la bacteria más sensible con un halo de inhibición bactericida de 14 mm. El *S. aureus* y *E. coli* mostraron halos de inhibición bacteriostáticos de 8,5 mm respectivamente. Tomando en cuenta los resultados proporcionados por los controles. Por otra parte, al evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico del mesófilo liofilizado, se evidenció ausencia del efecto inhibitorio del mismo sobre el crecimiento de las cepas de *H. pylori* ATCC 4350, *E. coli* ATCC 35218, *S. aureus* ATCC 29213 y ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 y ATCC 51299 y *S. mutans* ATCC 25175 en las concentraciones ensayadas, en tanto que los controles dieron los resultados esperados (Tabla 2).

Tabla 1 Susceptibilidad de las bacterias de referencias con el Extracto Gel-DMSO.

Bacterias de referencias	Halo de Inhibición (mm)	
	Extracto	Estreptomicina
<i>H. pylori</i> ATCC 4350	14	14
<i>E. coli</i> ATCC 35218	8,5	21
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	8,5	19

Estreptomicina = Control positivo

Tabla 2. Susceptibilidad de las bacterias de referencia con el extracto etanólico de mesófilo liofilizado.

Cepas de referencia	Concentración (mg/mL)				
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
<i>H. pylori</i> ATCC 4350	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 35218	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	-	-	-	-	-
Estreptomicina (control positivo)	+	+	+	+	+

Susceptibilidad bacteriana= (+) Resistencia bacteriana= (-)

DISCUSIÓN

Investigaciones realizadas *in vitro* e *in vivo* han validado algunos de los efectos farmacológicos del *Aloe vera*, planta que se viene aplicando en forma empírica desde hace milenios. Su acción antimicrobiana ha sido demostrada en bacterias, hongos y virus (20,21). Sin embargo, la evidencia científica a menudo suele ser inconsistente y contradictoria, debido principalmente al tratamiento pre experimental de la planta, tales como los métodos de extracción, condiciones de almacenamiento, uso de componentes frescos o secos, así como las condiciones de crecimiento, riego, y edad al momento de la cosecha, todo lo cual incide en la variabilidad del contenido de sus componentes (19, 22). Las bacterias utilizadas en este trabajo fueron seleccionadas por su relevancia en el ámbito de la salud pública al causar patologías que afectan a amplios sectores de la población.

Además presentan el potencial de desarrollar resistencia a múltiples antibióticos, tal es, el caso del *Staphylococcus aureus*, que coloniza la piel, nariz, faringe, boca, tracto gastrointestinal y vagina, causando infecciones de benignas a graves, considerándose, en la actualidad, como la principal causante de infecciones nosocomiales (23). Esta bacteria, en un ensayo de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar con pocillos, fue reportada por Yebpella y col. como sensible a los extractos metanólico de hoja completa y de corteza, acuoso de corteza y al Gel-DMSO, mientras que no mostró inhibición con el extracto acuoso de hoja completa (15). Estos resultados coinciden con los obtenidos en este trabajo con el extracto Gel-DMSO, donde, si bien difiere en la metodología, se obtuvieron halos de inhibición bacteriostático.

De los extractos investigados por Yebpella y col, el metanólico de corteza y el Gel-DMSO fueron los más efectivos y en cuanto a los microorganismos (*S. aureus*, *B. subtilis*, *P. mirabilis*, *C. albicans* y *B. subtilis*) fueron sensibles a todos los extractos, mientras que *P. mirabilis* solo fue inhibido por el extracto metanólico de corteza.

Por otra parte, Lorenzetti y col, obtuvieron una marcada zona de inhibición con un extracto de acíbar fresco sobre el *S. aureus* 209; pero este efecto se perdió al poco tiempo. El liofilizado del acíbar previamente calentado por 15 min a 80°C resultó estable; y al ser ensayado a una concentración de 20 mg/mL mediante la técnica de difusión en agar, resultó con actividad bacteriostática sobre: *Staphylococcus aureus* 209, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium xerose* y *Salmonella paratyphi*. Estas mismas bacterias, al ser ensayadas con el extracto liofilizado de la hoja completa (sin el acíbar), del mesófilo y de la epidermis, a los cuales se les hizo un proceso de extracción previo con éter, cloroformo, etanol y agua, no mostraron actividad antimicrobiana (24), resultado que coincide con el ensayo del extracto etanólico de mesófilo liofilizado de este trabajo.

Otra de las bacterias de referencia ensayadas es *Helicobacter pylori* que produce entre otros, gastritis y ulcera péptica a un gran sector de la población y, con el devenir del tiempo, se ha hecho resistente a varios de los antibióticos, razón por la cual los protocolos de tratamiento actual utilizan simultáneamente dos o tres antimicrobianos.

Las publicaciones que estudian los comportamientos de esta bacteria con el *Aloe vera* son escasas. Sin embargo, Cellini y col, trabajando con el método de microdilución en caldo con un extracto de gel fresco homogeneizado con DMSO, obtuvo inhibición del 50% de las cepas del *H. pylori* del ensayo (40). Si bien hay diferencias metodológicas sus resultados concuerdan con el obtenido con el extracto Gel-DMSO de esta investigación.

Escherichia coli, es una enterobacteria que cuando, adquiere elementos genéticos, que codifican factores virulentos: puede causar infecciones intestinales y extra intestinales

generalmente graves. En un ensayo con el método de difusión en agar con pocillos, esta bacteria resultó inhibida con los extractos de gel fresco de *Aloe vera* homogeneizado con metanol, etanol y agua (25). Igualmente, Laurence y col, utilizando el método de difusión en agar en pocillos con extractos de etanol, metanol y acetona del gel de *Aloe vera*; obtuvieron inhibición en el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*. Estos investigadores destacan que la mayor sensibilidad de las bacterias Gram-positivas podría explicarse por la capa adicional de lipopolisacáridos que presentan las bacterias Gram negativas (6).

En cuanto a los extractos, Cowan señala que casi todos los componentes de acción antimicrobiana identificados son compuestos orgánicos aromáticos o saturados, obtenidos a menudo por extracción con metanol y etanol, hecho que explicaría la mayor actividad antimicrobiana de estos (26). Shilpakala y col, destacan la mayor sensibilidad del *S. aureus* comparado con *E. coli* con un extracto liofilizado del mesófilo. Ensayado con el método de difusión en agar con pocillo estas mismas bacterias no fueron inhibidas en su crecimiento con un extracto de mesófilo crudo, debido posiblemente a la dificultad del extracto en difundir a través del agar (27). Asimismo, Prashar y col, con la técnica de difusión en agar con pocillos con un extracto etanólico de hoja completa de *Aloe vera*, obtuvieron inhibición del crecimiento de *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Aspergillus niger* ausencia de inhibición del *B. subtilis* (20). Los resultados de estas publicaciones con extractos etanólicos de *Aloe vera*, no coinciden con el ensayo del extracto etanólico del mesófilo liofilizado de este trabajo. Aquí la diferencia metodológica y de concentración del extracto podrían haber incidido en el resultado obtenido. Asimismo, el extracto de Gel-DMSO de esta investigación, inhibió el crecimiento de la *E. coli*, con un halo de inhibición bacteriostático.

Otra de las bacterias de esta investigación fue *Enterococcus faecalis*, microorganismo que habita el tracto gastrointestinal y que ha tenido la habilidad de adquirir resistencia a prácticamente todos los antibióticos en uso, siendo agente causal entre otros, de infecciones intrahospitalarias y del fracaso de los tratamientos de endodoncia (28,29). Esta bacteria es inhibida en su crecimiento por el *Aloe vera*, lo que ha sido confirmado, entre otros, por Athiban y col, quienes evaluaron la eficacia antimicrobiana de un extracto etanólico de gel desecado, por la técnica de difusión en agar con pocillos, contra *E. faecalis*, *E. coli*, y *S. aureus*. Estos son contaminantes comunes en la terapia endodóntica. Además, ensayaron el efecto de una solución de *Aloe vera* al 90% en la descontaminación de conos de gutapercha, sumergiendo los mismos por un minuto en esta solución para luego incubarlos en caldo de tioglicolato. El caldo se mantuvo claro después de 48 horas de incubación, mientras que los conos de gutapercha sin descontaminar incubados en las mismas condiciones, presentaron turbidez.

E. faecalis es señalado como el principal agente causal del fallo de endodoncia, la solución de *Aloe vera* al 90%

podría ser una alternativa eficaz para la desinfección y conservación de los conos de gutapercha (30).

La capacidad antibacteriana de un Gel comercial fue ensayada con el método de difusión en agar con discos por Alemдар y col, obteniendo inhibición de *E. faecalis*, *C. albicans*, *M. smegmatis*, *K. pneumoniae*, *M. luteus* y *B. sphaericus* y ausencia de inhibición del *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. typhimurium* (31). En estos ensayos *E. faecalis* fue inhibido por extractos concentrados de *Aloe vera* por el método de difusión en agar con pocillos y con discos de papel, resultados que no coinciden con el de este trabajo, cuando utilizamos el extracto etanólico del mesófilo liofilizado.

La caries dental es una enfermedad de alta prevalencia mundial y *S. mutans* es su principal agente causal. Al evaluar el comportamiento de esta bacteria con un extracto de Gel-DMSO por el método de difusión en agar con disco, la misma resultó sensible en concentraciones de hasta 12,5 mg/mL (32). Subramaniam y col, destacan la mayor capacidad antibacteriana de un extracto de Granada (*Punicagranatum*) en relación a uno de *Aloe vera* frente a *S. mutans*; mostrando un efecto inhibitorio en concentración de hasta 5 mg/mL, mientras que *Aloe vera* solo fue efectivo en concentración del 100% (13).

Si bien la mayoría de las publicaciones dan cuenta de la actividad antimicrobiana con diferentes extractos de esta planta, el trabajo de Martínez y col. reportan ausencia de inhibición utilizando un extracto acuoso liofilizado de hoja de *Aloe vera* en *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* (34). Asimismo, Saavedra y Salazar, obtienen ausencia de inhibición de *S. mutans* con los extractos acuoso de corteza y acibar de *Aloe vera* (35). De igual forma, Manikandan y col, en un ensayo con extractos de etanol, agua destilada y cloroformo de hoja completa, utilizando la técnica de difusión en agar con disco, solo resultaron sensibles al extracto de etanol dos de las siete bacterias del ensayo (*Pseudomona solanacearum* y el *Xantomax citri*), mientras que con los demás extractos y bacterias (*Shigella sonnei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella Typhi* y *Pseudomona aeruginosa*) no hubo inhibición (36).

Se puede inferir cierta incongruencia y contradicción en los resultados reportados por diversas publicaciones en cuanto a la actividad antibacteriana de esta planta, donde el procesamiento de los extractos pudiera ser uno de los factores. Los trabajos de Manvitha y Chandegara expresan que los diferentes métodos de procesamiento del *Aloe vera* llegan a un producto final que contiene muy poco o virtualmente nada de los componentes bioactivos. Asimismo, hacen mención a varios aspectos que son críticos en el proceso de extracción, como el tiempo transcurrido entre la cosecha y el procesamiento (que debe ser menor a 36 horas), debiendo mantener las hojas en frío. El calentamiento prolongado y las altas temperaturas

(mayor a 65°C) destruyen los compuestos bioactivos (12,19). La preparación de los extractos de este trabajo se hizo considerando y respetando estos parámetros. En este mismo orden de ideas, Bozzi y col analizaron la calidad y autenticidad de nueve productos comerciales de gel en polvo de *Aloe vera*, comparándolo con gel fresco; donde solo tres tenían cantidades satisfactorias de acemanano (polisacárido mucilaginoso), en cuatro había degradación enzimática y fermentación bacteriana; uno contenía una alta concentración de glucosa y además se detectó trazas de aloína (37). Estos resultados podrían explicar la ausencia de actividad antibacteriana que obtuvo Alemдар y col, con un gel comercial, contra *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. typhimurium*; bacterias que han sido señaladas como sensibles a los extractos de esta planta en otras publicaciones (9,10,13,19). Igualmente, Lorenzetti obtuvo ausencia de actividad antibacteriana con extractos liofilizados del mesófilo, de la corteza y de la hoja completa en *S. aureus* 209, *S. pyogenes*, *C. xerose* y *S. paratyphi*; bacterias señaladas como sensibles al *Aloe vera* en diversas publicaciones posteriores al trabajo de estos investigadores (4, 5, 13). Otro aspecto que podría incidir en la incongruencia de los resultados sería la cepa empleada en los ensayos. En tal sentido llama la atención que *B. subtilis* no mostro inhibición al extracto etanólico en el trabajo de Prashar (20), mientras que en el de Yebpella esta bacteria fue sensible a todos los extractos (15).

En cuanto a la metodología, la mayoría de las publicaciones que reportan inhibición del crecimiento bacteriano por acción de extractos de *Aloe vera* es con el método de difusión en agar con pocillos o bien con macro o micro dilución y con soluciones concentradas.

El extracto de Gel-DMSO de este trabajo, que inhibió el crecimiento de todas las bacterias ensayadas, se usó sin diluir. En relación a los extractos ensayados en este trabajo, el Gel-DMSO se utilizó al poco tiempo de su preparación, la que consistió solo en el agregado de DMSO; mientras que el extracto etanólico del mesófilo liofilizado fue obtenido por un largo proceso donde, en alguna de las fases del mismo, se podrían haber inactivado algunos de sus principios activos.

Se puede concluir que en el extracto etanólico del mesófilo liofilizado, los compuestos de acción inhibitoria del crecimiento bacteriano no estaban en la concentración necesaria, o bien los mismos se inactivaron en el proceso de extracción. Por lo tanto se recomienda considerar otros procesos de extracción, además de ensayar con soluciones concentradas del extracto. Mientras que el extracto de Gel-DMSO presentó actividad antibacteriana bacteriostática frente a las bacterias aeróbicas Gram positiva (*S. aureus*) y Gram negativa (*E. coli*) con halos de inhibición pequeños en relación al control; mientras que con la cepa microaerófila (*H. pylori*); el halo de inhibición fue bactericida y de igual tamaño al control positivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Choche T, Shende S, Kadu P. Extraction and identification of bioactive components from *Aloe barbadensis* Miller. RRJPP. 2014;2(1):14-23.
2. Khan R, Islam B, Akram M, Shakil S, Ahmad A, Manazir S, Siddiqui M, Khan A. Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. Molecules.2009;14:586-597.
3. Rashedul M, Ahamed R, Rahman O, Ahsanul M, Al-Amin M, Dedarul K, Lyzu L.I n vitro Antimicrobial activities of four medicinally important plants in Bangladesh. Eur J of Sci. 2010;38(2):199-206.
4. Cellini L, Di Bartolomeo S, Di Campli E, Genovese S, Locatelli M, Di Giulio M *In vitro* activity of *Aloe vera* inner gel against *Helicobacter pylori* strains. Letters in Applied Microbial. 2014;59:43-48.
5. Tippayawat P, Phromviyo N, Boueroy P, Chompoosor A. Green synthesis of silver nanoparticles in *aloe vera* plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity. Peer J. 2016; 4:e2589.
6. Alia K, Dwivedi S, Azam A, Saquib Q, Al-Said MS, Alkhedhairi AA, Musarrat J. *Aloe vera* extract functionalized zinc oxide nanoparticles as nanoantibiotics against multi-drug resistant clinical bacterial isolates. J of Colloid and Interface Sc. 2016;472:145-156.
7. Pereira A, Lima D, Leal J, Mello I, Soaresb V, Lima J, Rodrigues C. Antimicrobial action of an intracanal medication trialusing *Aloe vera*. Rev Odont Cienc2015;30(4):153-156.
8. Bassetti A, Sala S. The great Aloe book. Edition First: USA Trento. Zuccari Editions; 2005
9. Alarcón M, Fernández R. Aplicación terapéutica del *Aloe vera* L. en Odontología. Salus.2013;17(3):42-50.
10. Domínguez R, Arzate I, Chanona J, Welti J, Alvarado J, Calderón G, Garibay V, Gutiérrez G. El gel de *Aloe vera*: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. Rev Mexicana de Ingeniería Química. 2012;11(1):23-43.
11. Nia Y, Turnerb D, Yatesa KM, Tizardb I. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. Int Immunopharmacol. 2004;4:(14)1745-1755.
12. Manvitha K, Bida B. *Aloe vera*: a wonder plant its history, cultivation and medicinal uses. J Pharmacognosy & Phytochemistry. 2014;2(5):85-88.
13. Guo X, Mei N. *Aloe vera* – a review of toxicity and adverse clinical effects. J of Environ Sc and Health. Part C. 2016;34(2):77-96.
14. Bermúdez A, Velásquez D. Etnobotánica médica de una comunidad campesina del estado Trujillo, Venezuela: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas. ULA: RevFac. Farmacia. 2002;44:2-6.
15. Yebpella GG, Adeyemi Hassan MM, Hammuel C, Magomya AM, Agbaji AS, Okonkwo EM. Phytochemical screening and comparative study of antimicrobial activity of *Aloe vera* various extracts. Afr J Microbiol Res. 2015;5(10):1182-1187.
16. Lawrence R, Priyanka T, Ebenezer J. Isolation, purification and evaluation of antibacterial agents from *Aloe vera*. Braz J Microbiol. 2009;40(4):906-915.
17. Reyes D, Fernández R. Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto foliar de zabila (*Aloe vera* L.) en microorganismos de interés clínico. Salus.2014;18(3):27-32.
18. Arunkumar S, Muthuselvam M, Rajasekaran R. Analysis of phytochemical constituents and antimicrobial activity of some Southern India medicinal plants. J Pharm Res.2010;3(8):1841-1818.
19. Chandegara VK, Varshney AK. *Aloe vera* L. processing and products: A Review. Int J Med Arom.Plants.2013; 3(4):492-506.
20. Prashar P, Gulati S, Koul V, Sehgal G, Sehgal S. *In vitro* antimicrobial activity of ethanolic extract of *Aloe vera* against same bacterial and fungal species. Adv Bio Tech. 2011;11(3):32-33.
21. Rezazadeh F, Mohammad M, Motamedifar M, Alyaseri M. Assessment of anti HSV-1 activity of *Aloe vera* gel extract: an *in vitro* study. J Dent(Shiraz).2016; 17(1):49-54.
22. Yaron A. Characterization of *Aloe vera* gel before and after autodegradation, and stabilization of the natural fresh gel. Phytother Res.1993; 7:11-13.
23. Velazco E, Nieves B, Araque M, Calderas Z. Epidemiología de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en una unidad de alto riesgo neonatal. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2002;20(7):321-325.
24. Lorenzetti LJ, Salisbury R, Beal JL, Baldwin JN. Bacteriostatic property of *Aloe vera*. J Pharm Sci. 1964;53:1287-1290.
25. Stanley MCh, Ifeanyi OE, Eziokwu OG. Antimicrobial effects of *Aloe vera* on some human pathogens. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2014;3(3):1022-1028.
26. Cowan M. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev.1999;12(4):564-582.
27. Shilpakala SR, Prathiba J, Malathi R. Susceptibilities of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* to *Aloe barbadensis*. Eur Rev for Med Pharmacol Sci.2009; 13:461-464.
28. Tripathi A, Shukla SK, Singh A, Prasad KN. Prevalence, outcome and risk factor associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* at a Tertiary Care Hospital in Northern India. Indian J Med Microbiol. 2016;34(1):38-45.
29. Padi G, Guilarte C, Cardozo E, Briceño E. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Acta Odontol Venezolana. 2009;47(1):1-11.
30. Athiban PP, Borthakur BJ, Ganesan S, Swathika B. Evaluation of antimicrobial efficacy of *Aloe vera* and its effectiveness in decontaminating guttapercha cones. J Conserv Dent. 2012;15:246-248.
31. Alemdar S, Agaoglu S. Investigation of *In vitro* antimicrobial activity of *Aloe vera* juice. J. Anim. Vet. Adv.2009;8(1):99-102.
32. Fani M, Kohanteb J. Inhibitory activity of *Aloe vera* gel on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. J Oral Sci.2012;54(1):15-21.
33. Subramaniam P, Dwivedi S, Uma E, GirishBabu KL. Effect of pomegranate and *Aloe vera* extract on *Streptococcus mutans*: An *in vitro* study. Dent Hypotheses. 2012;3:99-105.
34. Martínez M, Betancourt J, Alonso N. Ausencia de actividad antimicrobiana de un extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* (sábila). Rev Cubana Plant Med. 1996 1(3):18-20.
35. Saavedra M, Salazar M, Jiménez J, Quiñones B, Salas E, Urdaneta L. Evaluación *in vitro* del efecto de extractos de *Aloe vera* sobre *Streptococcus mutans*. Acta Bioclinica.2014;4(8):3-19.
36. Manikandan VG, Muhammad MH. Analysis of phytochemical constituents and antibacterial activities of *Aloe vera* L. against some selected pathogens. JBPAS. 2014;3(1):56-62.
37. Bozzi A, Perrin C, Austin S, Arce F. Quality and authenticity of commercial *Aloe vera* gel powders. Food Chem. 2007;103: 22-30.