



**EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO DE EXTRACTOS DE *Aloe vera* SOBRE
Streptococcus mutans.**

Martha Saavedra¹, María Salazar¹, José Manuel Jiménez², Belkis Quiñonez³ Elaysa J. Salas O.⁴ y Leonidas E. Urdaneta P⁴.

¹ Odontólogo egresada de la Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela

² Sección de Biotecnología, Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA, Mérida.

³ Cátedra de Farmacología y Terapéutica, Facultad de Odontología Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

⁴ Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Grupo de Investigaciones Biopatológicas de La Facultad de Odontología/Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular.

Correspondencia: Calle 23 entre avenidas 2 y 3, Edificio La Casona, Facultad de Odontología, Departamento de Biopatología, Cátedra de Microbiología, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. Teléfono: 0274-2402381, fax: 0274-2402383,

Email: lurdanet@ula.ve



RESUMEN

La creciente aparición de mecanismos de resistencia bacteriana a los agentes químicos selectivos de uso común, así como el incremento en la prevalencia de enfermedades infecciosas, ha propiciado el desarrollo de estudios destinados al descubrimiento de nuevos antimicrobianos obtenidos a partir de extractos vegetales y otras fuentes naturales, con la finalidad de utilizarlos en compuestos farmacéuticos y cosméticos que garanticen efectividad, accesibilidad para la población y minimizar efectos colaterales. La planta de *Aloe vera* se considera una de estas fuentes con diversas propiedades farmacológicas. Con la finalidad de evaluar la actividad antibacteriana de estos productos, múltiples métodos han sido reportados; siendo el método de dilución en agar el más aceptado, el cual fue empleado en la presente investigación, fundamentados en el efecto antiséptico de *Aloe vera* reportado en la literatura, con la finalidad de determinar el efecto de extractos de la cutícula y del acíbar de *Aloe vera* sobre *Streptococcus mutans* CVCM 656 (ATCC 25175), bacteria conocida como principal agente causal de la caries dental, un problema de salud pública mundial. Los extractos de *Aloe vera*, no demostraron actividad inhibitoria sobre la cepa ensayada, lo que indica la inexistencia de susceptibilidad en la misma ante estos extractos o la necesidad de evaluar concentraciones superiores a 512 µg/mL u otros mecanismos de obtención de los mismos.

PALABRAS CLAVE: dilución en agar, *Streptococcus mutans*, *Aloe vera* extractos, antibacterianos, anticariogénico.



**IN VITRO EVALUATION OF THE EFFECT OF ALOE VERA EXTRACTS ON
*Streptococcus mutans***

ABSTRACT

Because of the increasing appearance of resistance mechanisms to antibacterial of common use, as long as the rising in the prevalence of infectious diseases, several studies have directed efforts in discovering new antimicrobial agents from plants and other natural sources, for being used in pharmaceutical compounds and cosmetics, which assure effectiveness, approachability and minimal side effects on patients. *Aloe vera* is considered one of these sources with potential pharmacological properties. Many methods have been reported to evaluate antibacterial activity of those products and demonstrate the properties of these substances. The agar dilution is the most accepted one; this method was used in this research in order to evaluate the antiseptic effect reported on the literature and to determine the effect of extracts obtained from the cuticle of the leaves and the juice of *Aloe vera* on *Streptococcus mutans* CVCM 656 (ATCC 25175), causative of dental decay and public health issue. The extracts obtained did not show inhibitory effect on the strain assayed, which indicates the inexistence of susceptibility or the need of assay concentrations over 512 µg/mL.

KEYWORDS: agar dilution, *Streptococcus mutans*, *Aloe vera* extracts, antibacterial, anticariogenic.



INTRODUCCIÓN

Streptococcus mutans es un coco grampositivo, principal agente causal de la caries dental. Este microorganismo es acidófilo, acidógeno y acidúrico y su potencial cariogénico está bien descrito en modelos animales. Diferentes productos antibacteriales de origen sintético han sido desarrollados con el objetivo de prevenir la caries dental. Las desventajas de estos productos son sus altos costos y los posibles efectos colaterales, lo cual permite inferir un uso limitado en personas de bajos recursos económicos y en aquellas sensibles al producto (1-3).

En los últimos años el uso de agentes de origen natural se ha incrementado por ser más accesibles, beneficiosos y eficaces en numerosas patologías comunes en la cavidad bucal, tal es el caso de la planta de *Aloe* que es utilizado mayormente como agente antiinflamatorio (4, 5). Investigadores como Vega et al (6) le

atribuyen además efecto antimutágeno, inhibidor de la secreción gástrica ácida, analgésico, estimulante de la reparación tisular, antiviral y antibacterial; y afirman que debido a la preocupación actual de la población y el interés sobre las condiciones de salud y calidad de vida, la demanda de productos naturales ha aumentado, haciendo que las industrias farmacéuticas y de alimentos centren sus esfuerzos en investigaciones relacionadas con el uso de los mismos. Stevens (7) indica que la especie más utilizada es *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller), en la cual se han identificado más de 75 compuestos como vitaminas, minerales, enzimas y aminoácidos, además de otras sustancias de interés con acción emoliente, cicatrizante, coagulante, hidratante, antialérgica, antiinflamatoria, astringente, colerética, laxante y desinfectante.

Rosales (8) y Carrasco y Zapata (9), mencionan que la planta de *Aloe* se



cultiva en áreas cálidas, por lo que tolera muy bien las sequías prolongadas pero no puede sobrevivir a temperaturas bajo cero. Estas plantas, adaptadas a sobrevivir en zonas de ambiente seco, tienen una hoja formada por dos partes: la “capa verde externa” denominada “corteza” o “cutícula” de 2 mm de espesor de color verde claro; y la “capa clara interna” llamado tejido mucilaginoso, gel mucilaginoso, gelatina mucilaginosa, gel interno o pulpa. Además contiene un compuesto amargo y amarillento que se presenta como un látex y el cual se exuda entre la superficie de la cutícula de las hojas y el gel de la planta, denominado acíbar o aloína.

A lo largo de la historia se han realizado diversos estudios en los cuales se describen las propiedades y aplicaciones del gel de *Aloe* (parte interna), pero poco se conoce de las propiedades de la cutícula de su hoja (10).

Considerando la escasa literatura encontrada que refiera el uso de extractos de *Aloe vera* sobre *S. mutans*, la presente investigación busca aportar evidencia científica acerca de las posibles propiedades antibacterianas del extracto obtenido a partir de la cutícula de su hoja y del acíbar, específicamente sobre *S. mutans*; causante de una de las enfermedades más comunes en la cavidad bucal, como lo es la caries dental. Esto con el fin de proponer el uso de un producto natural con efecto antibacteriano, y accesible para la población general.

METODOLOGÍA

El siguiente trabajo de investigación es de tipo exploratorio con un diseño de investigación experimental pura (11).

El procedimiento fue realizado en dos fases. En un primer momento se realizó la clasificación taxonómica de la planta de *Aloe* comúnmente encontrada en Carora,



estado Lara, Venezuela; para lo cual se revisaron los parámetros etnobotánicos señalados por Villar del Fresno y De las Heras (10). Posteriormente se colectó la planta procedente de esta población y se procedió a obtener los extractos a partir de la cutícula y el acíbar de la planta. Fueron empleadas diferentes hojas de la planta con la finalidad de evitar la interferencia cruzada de los compuestos encontrados en cada una de las porciones a estudiar y siguiendo los protocolos empleados en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes.

Para obtener el extracto de la cutícula (Extracto A) se usó un bisturí separando el gel (cristal) de la cutícula. La hoja fue desecada a totalidad en una estufa a 45°C. El material obtenido se trituró y se introdujo en un embudo de decantación (percolador), añadiendo agua destilada estéril. Se dejó en maceración durante 24

horas y se procedió a la extracción hasta que el percolado saliera transparente procediendo a calcular la concentración final del extracto.

Para la obtención del extracto de acíbar (Extracto B) se escogieron 8 a 12 de las hojas más grandes las cuales fueron cortadas en sentido transversal en su base. Se procedió a realizar cortes superficiales que penetraron hasta el gel (cristal) con el objeto de que fluyera el acíbar por 24 horas, recibiendo el jugo en placas de Petri. El jugo amarillento obtenido fue desecado completamente en estufa a 40°C, pesado y transferido a un frasco ámbar. Se procedió a preparar una solución madre de 5000 µg/mL en agua destilada estéril.

Ambos extractos fueron filtrados a través de un filtro Minisart estéril-EO no pirogénico hidrofílico para uso único en jeringa con poro de 0,20 micrometros (Sartorius®) para garantizar su esterilidad y evitar las partículas residuales.



Se prepararon por duplicado placas de agar Müeller Hinton con 5% de sangre de carnero y las diferentes concentraciones a evaluar de los extractos (0,06 µg/mL; 0,125 µg/mL; 0,25 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1 µg/mL; 2 µg/mL; 4 µg/mL; 8 µg/mL; 16 µg/mL; 32 µg/mL; 64 µg/mL; 128 µg/mL, 256 µg/mL y 512 µg/mL), siguiendo dos técnicas de preparación con la finalidad de descartar el posible efecto de inactivación de los extractos en el autoclave. Para la primera técnica (Técnica 1) se esterilizó a 121°C, 15 libras de presión por 15 minutos el medio de cultivo con cada extracto incluido en el agar previo a agregar la sangre de carnero. En cuanto a la segunda técnica (Técnica 2), se esterilizó solo el medio de cultivo previo a la inclusión de los extractos y de la sangre de carnero.

La segunda fase incluyó la reactivación de la cepa control de *S. mutans* 656, del Centro Venezolano de Colección de Microorganismos (CVCM) (ATCC

25175) preservada en caldo BHI con 10% de glicerol a -60°C en el Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular de la Facultad de Odontología (LIBCEM-FOULA). La misma fue descongelada lenta y progresivamente hasta temperatura de incubación y luego fue resuspendida en 5 mL de caldo BHI, incubado a 35°C por 48 horas en microaerofilia, se subcultivó en placas de agar BHI verificando la pureza con la realización de la tinción de Gram y se elaboró una suspensión bacteriana en agua destilada estéril a una turbidez semejante al patrón 0,5 de McFarland. Este inóculo se diluyó 1:10 para realizar la prueba de susceptibilidad por el método de dilución en Agar Müeller Hinton con 5% de sangre de carnero ante cada concentración de ambos extractos, según los parámetros del manual del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. Inoculando la superficie de



cada placa de agar con 8 μ L de la suspensión bacteriana (12).

Una placa de agar fue incluida para el control de viabilidad de la cepa a evaluar, sin agente inhibidor, y dos placas control de inhibición con Amoxicilina (AMX) a 0,06 μ g/mL y 512 μ g/mL.

Los datos fueron recolectados usando la técnica de observación directa.

RESULTADOS

El presente estudio permitió evaluar de manera preliminar el posible efecto antibacteriano de dos extractos de la especie de *Aloe* más comúnmente encontrada en el estado Lara, sobre la cepa cariogénica de *S. mutans* CVCM 656 haciendo uso del método de evaluación de susceptibilidad por dilución en agar.

Siguiendo los parámetros etnobotánicos descritos en la literatura (10), se reconoce

que la especie de *Aloe* más común en el estado Lara es *Aloe vera*. Resultado esperado considerando las condiciones climatológicas de esta área geográfica de Venezuela, que contribuyen al buen crecimiento y desarrollo de dicha planta. Ante la evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Aloe vera* sobre *Streptococcus mutans* CVCM 656, utilizando el método de dilución en agar, y considerando las dos técnicas de esterilización de los medios de cultivo para los ensayos, se evidenció ausencia de efecto inhibitorio sobre la cepa ensayada por la presencia de los extractos obtenidos de la tintura de hoja y el acíbar de *Aloe vera*. No se logró determinar la CIM. Sin embargo, tampoco se observó promoción del crecimiento bacteriano. Las placas control demostraron los resultados esperados (Tabla 1).

Tabla 1. Susceptibilidad de *S. mutans* CVCVM 656 ante los extractos de *Aloe vera*

Concentración (µg/mL)	0,06	0,12 5	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Compuesto														
Extracto A Técnica 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extracto A Técnica 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extracto B Técnica 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extracto B Técnica 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control de inhibición (AMX)	-													+

(+): Susceptibilidad bacteriana, (-): Resistencia bacteriana, (A): Extracto acuoso de la cutícula (B): Extracto del acibar, (1): Esterilización con autoclave de extracto incluido en el medio de cultivo (2): Esterilización con autoclave del medio de cultivo previo a incluir el extracto.

DISCUSIÓN

Al observar que la planta de *Aloe vera* es la especie más común del estado Lara, se coincide con lo referido por Vega et al. (6) quienes la señalan como la especie más utilizada en medicina curativa y la más popular en el mundo entero.

Los estudios reportados en la literatura respecto a los efectos de *Aloe vera* sobre *S. mutans* son muy limitados y la mayoría

de los ensayos conducidos presentan divergencias en la técnica usada para su evaluación y descrita por el CLSI, lo cual resalta la importancia del presente trabajo. En tal sentido podemos señalar que los resultados obtenidos en esta investigación referentes a la ausencia de actividad antibacteriana de los extractos de *Aloe vera* estudiados sobre *Streptococcus mutans*, no concuerdan con lo reportado



por Gala-García (13) quien evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* y la respuesta de la pulpa y la dentina en complejos *in vivo* después del recubrimiento directo con *Aloe vera* liofilizado. Los resultados de la evaluación microbiológica demostraron que el liofilizado de *Aloe vera* fue eficaz contra diferentes microorganismos, entre ellos la cepa UFRJ de *S. mutans* y esta acción fue efectiva hasta 24 horas. Tal diferencia con nuestra investigación pudiera atribuirse a que el efecto antibacteriano descrito por Gala-García se debió al uso de toda la planta para elaborar el liofilizado de *Aloe vera*, lo cual puede garantizar una mayor concentración y la combinación de componentes con actividad antibacteriana presentes en diferentes estructuras de la misma. Por otra parte, el estudio de Gala-García fue restringido a 24 horas sin demostrar que el efecto se mantenga por

tiempos más prolongados lo cual podría incluir limitaciones en tal evaluación.

Wolfe (14), evaluó diferentes concentraciones del cristal de *Aloe vera* contra microorganismos habitualmente encontrados en cavidad bucal involucrados en la producción de placa dental, entre los cuales se encuentra *S. mutans*, logrando demostrar según el autor efectos dramáticos del gel a concentraciones no menores del 70%. Es necesario señalar que, con la finalidad de estabilizar el gel de *Aloe vera* fueron utilizados antioxidantes y preservantes. La diferencia presentada con respecto a lo observado en la presente investigación podría no solo deberse a las altas concentraciones utilizadas en el estudio antes mencionado, sino también a la presencia de otros componentes químicos en dicha preparación.

En un estudio *in vitro* realizado por Dilip et al. (15) compararon la eficacia antimicrobiana de un gel dentífrico de



Aloe vera con dos dentífricos populares disponibles en el mercado. Los resultados preliminares mostraron que el gel de *Aloe vera* y los dentífricos fueron igualmente efectivos contra *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Prevotella intermedia* y *Peptostreptococcus* sp; y presentaron mayor efecto antibacteriano contra *S. mitis*, lo cual permite inferir que la actividad sobre *S. mutans*, fue menor en comparación de la observada para *S. mitis*, para todos los dentífricos evaluados en este estudio. En la presente investigación solo se estudió la actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* y con el producto de los extractos provenientes de la hoja y el acíbar de la planta, sin incluir otras sustancias requeridas para la formulación de dentífricos que pudieran potenciar el efecto inhibitor. Por otra parte, Venkatrama (citado por Dilip et al. 2009)

señala que la eficacia de *Aloe barbadensis Miller* se incrementa cuando la planta es cosechada después de tres años de crecimiento pero su potencial nutritivo disminuye después de los 12 años. Esta variable de tiempo de crecimiento de la planta no fue considerada en el presente estudio.

Es resaltante considerar que Stevens (7) señala como componentes principales de *Aloe vera*, sustancias tales como lignina, saponinas y antraquinonas de los cuales se conoce que las saponinas son glucósidos que aportan su cualidad limpiadora y antiséptica. Las antraquinonas, por su parte, tienen amplio espectro de funciones como potentes antibióticos con propiedades bactericidas y antivíricas e incluso como analgésicos. Otros componentes de *Aloe vera*, descritos por este autor, con actividad bactericida son aloína, la emodina del aloe, la barbaloína, isobarbaloína, antraceno, antracénol, ácido aloético y



los resistanoles (derivados del ácido cinámico). Dichos componentes podrían variar su presencia y concentración dependiendo de las condiciones de cultivo de la planta y de la porción de la planta estudiada. Este mismo investigador señala la presencia de vitaminas, mono y polisacáridos que podrían contribuir en el desarrollo bacteriano; sin embargo, en el presente estudio dicho efecto tampoco fue evidenciado, por tanto podrían no estar en las concentraciones requeridas como factores de crecimiento bacteriano en las plantas empleadas o las porciones evaluadas. De hecho los trabajos de Ikawa y Niemann realizados a principios de la década de los 50 (citados por Stevens), planteaban que en gran parte el potencial curativo de la planta dependía de los polisacáridos mucilaginosos contenidos en la pulpa (gel o cristal). Observaron que muchos polisacáridos son más abundantes en el cristal junto a la corteza que en el centro de la hoja, lo cual

explicaría por qué la curación en las aplicaciones externas es más rápida cuando la pulpa es la que permanece unida a su corteza y en contacto con la zona afectada. En cuanto a la actividad antibacteriana y germicida en general, se indica que la planta es eficaz contra una muy amplia gama de microorganismos perniciosos, que a este respecto ninguna otra sustancia conocida se le puede comparar, actividad que no pudo ser demostrada en la presente investigación.

Fani y Kohanteb (16), destacan en su estudio que *S. mutans* resultó ser la bacteria más sensible al cristal de *Aloe vera* al ensayarlo por el método de difusión en disco, encontrando una CIM de 12,5 µmg/mL, resultados que se contraponen a lo observado en el presente estudio probablemente debido a los medios de cultivos empleados por estos investigadores para evaluar la susceptibilidad de esta bacteria. Es resaltante que el medio Müller Hinton



con 5% de sangre de carnero brinda las condiciones apropiadas para realizar este tipo de estudios según lo señala el CLSI, por tanto la inhibición observada por estos investigadores podría deberse a deficiencia de nutrientes en los medios empleados o el aislado clínico encontrado para la evaluación podría resultar susceptible al presentar características de resistencia diferentes a la cepa control empleada en el presente estudio.

Por otra parte Roesler et al. (17) evaluaron el uso de un dentífrico con gel de *Aloe vera* en la reducción de contaminación de cepillos dentales por la cepa control *S. mutans* ATCC 25175, observando que existía una disminución de la contaminación por esta bacteria semejante al uso de dentífrico fluorado, dentífrico con triclosán y gantréz, gluconato de clorhexidina en contraste a un grupo control de cepillos sin ningún dentífrico. Finalmente, contradice lo observado por Contreras et al. (18),

quienes evidenciaron mayor proliferación de bacterias acidogénicas y acidúricas del género *Lactobacillus* ante el empleo del acibar de *Aloe vera*; Dicho efecto tampoco fue observado en la cepa empleada en el presente estudio al comparar su crecimiento con el del control de viabilidad. Resulta importante resaltar que las características fisiológicas descritas para *Lactobacillus*, son compartidas por *Streptococcus mutans*, no obstante la diferencia observada podría deberse a los requerimientos nutricionales específicos de cada género.

Al considerar *Aloe vera* como la especie de *Aloe* más común del estado Lara, y comparando con los controles del ensayo, se puede concluir que los extractos obtenidos en este estudio no producen efecto inhibitorio sobre la cepa *S. mutans* CVCM 656 a las concentraciones ensayadas, por tanto no se logró determinar la (CIM) sugiriendo esto que la concentración inhibitoria mínima



podría ser mayor a 512 µg/mL. Además se demostró que el procedimiento de esterilización con autoclave sobre los extractos no modificó los resultados observados para ninguno de ellos. No se descarta que los extractos evaluados tengan poder inhibitorio contra esta bacteria solo por no tener un poder antibacterial directo sobre la misma, ya que es conocido que esta planta tiene efectos inmunomoduladores, tal como lo explican Lujan et al. (19), quienes determinaron que el extracto acuoso del gel de *Aloe* actúa incrementando la fagocitosis *in vivo* e *in vitro* por los macrófagos peritoneales de *Mus musculus* BALB/c. Lo cual podría agregar un efecto antibacteriano indirecto por involucrarse en fenómenos de potenciación de la respuesta inmune ante agentes infecciosos, efecto que no fue investigado en nuestro estudio.

Además, se puede presumir que las concentraciones de sustancias bien sea

inhibidoras o potenciadoras de crecimiento bacteriano no eran las necesarias para ejercer el efecto descrito por otros investigadores; esto puede deberse a las condiciones del cultivo de la planta, tiempo de cosecha o a pérdida de los componentes durante el proceso de extracción, por lo que se recomienda en futuras investigaciones evaluar concentraciones de los extractos superiores a 512 µg/mL, siempre que se demuestre su inocuidad e incluir otras bacterias comunes en la cavidad bucal, tanto gram positivas como gram negativas. Así como evaluar otros mecanismos para la obtención de productos derivados de la planta de *Aloe vera* con actividad antibacteriana descrita.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Microbiológicas “Prof. Celina Araujo de Pérez”, Departamento



de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes.

REFERENCIAS

1. Camejo M. Sensibilidad *in vitro* de *Streptococcus mutans* a sanguinaria, compuesto fenólico y clorhexidina. Acta Odontol Venez. 1999; 37(2):1-9.
2. Liébana J. Microbiología Oral. 2º ed. McGraw Hill Interamericana. México-D.F. 2002.
3. Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Editorial Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 2009.
4. Agarry O, Olaleye M, Bello C. Comparative antimicrobial activities of *Aloe vera* gel and leaf. Afr. J. Biotechnol. 2005; 4 (12): 1413-1414.
5. Groppo, F C, Bergamaschi, C d C, Cogo, K, Franz-Montan, M., Motta, R H L, de Andrade E D, Use of phytotherapy in dentistry. Phytother. Res. 2008; 22: 993–998.
6. Vega A, Ampuero N, Díaz L y Lemus R. El *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. Rev Chil Nutr. 2005; 32 (3):208-214.
7. Stevens N. *Aloe Vera*. 7ª Ed. Editorial Sirios, España, pág. 16-18. 2006.
8. Rosales R. Difusión de iones hidroxilo y calcio de la pasta de hidróxido de calcio químicamente puro con el gel de *Aloe vera* como medicamento intraconducto. Trabajo especial de grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú. 2004.



9. Carrasco A E, Zapata J. Notas sobre el *Aloe vera*, trabajo de ascenso. Facultad de Biología, Universidad de Alcalá- España. 2005.
10. Villar del fresno A, De las Heras B. *Aloe vera* indicaciones terapéuticas. Farmacia Profesional. 2006; 20 (8):64-68.
11. Hernández R, Fernández C, y Baptista P.. Metodología de investigación. 3ª Ed. Mc Graw Hill Interamericana. México, D.F. 2003
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement. CLSI document M100-S23. 2013; 33(1):1-199.
13. Gala-García A. Avaliação antimicrobiana *in vitro* e da resposta do complexo dentinopulpar *in vivo* após capeamento direto com *Aloe vera* L. em ratos, Trabajo especial de grado, Presentado a La Universidad Federal de Minas Gerais Facultad de Odontología para el título de Máster. 2005.
14. Wolfe B.. *Aloe Vera* Scientific Studies. Documento electrónico disponible en: http://www.drwolfe.com/aloe_vera/studies-. 2012. consultado en marzo de 2012.
15. Dilip G, Sham S B, Beena A.. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of *Aloe vera* tooth gel and two popular commercial toothpastes: an *in vitro* study, Gen Dent. 2009; 57(3):238-241.
16. Fani M, Kohanteb, J. Inhibitory activity of *Aloe vera* gel on some clinically isolated cariogenic and



- periodontopathic bacteria. J Oral Sci. 2012; 51(1):15-21.
17. Roesler PF, Filho OB, Pomilio A, Pinheiro SL, Silva de C, M.. Antimicrobial capacity of *Aloe vera* and propolis dentifrice against *Streptococcus mutans* strains in toothbrushes: an in vitro study. J Appl Oral Sci. 2012; 20(1): 32-37.
18. Contreras M, Domínguez R, González A. Proceso de biotransformación láctica del jugo de *Aloe vera*. Tecnol. Ciencia Ed. 2007; 22 (1): 35-42.
19. Lujan M, Becerra L, Chávez M, Otiniano N, Benites S.. Efecto del extracto acuoso del gel de *Aloe vera* “sábila” 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