

Efecto bacteriostático y/o bactericida del extracto de gel de *Aloe vera* sobre cultivos de *Listeria monocytogenes*.

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Rosangela Catinella, Luis Castillo

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Tecnología (FACYT). Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Instituto de Investigaciones en Nutrición (INVESNUT). Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo, Sede Valencia. Venezuela

RESUMEN. *Listeria monocytogenes* es una bacteria responsable de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Para comprobar el efecto del extracto de gel de *Aloe vera*, como posible agente bacteriostático y/o bactericida sobre *Listeria monocytogenes*, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), el tiempo mínimo de inhibición (TMI) y la concentración bactericida mínima (CBM) de soluciones de extracto de gel de *Aloe vera* en diferentes concentraciones sobre cultivos de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635. Se aplicó el método de difusión en agar, utilizando soluciones del extracto de gel de *Aloe vera* en concentraciones de 0 a 100% para la CMI. El TMI se determinó por curvas de crecimiento en caldo Soya tripticasa con un inóculo inicial de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635 de 108 UFC por mL en cada solución. Se pudo determinar que la CMI fue del 10% de extracto de gel de *Aloe vera* y el TMI fue de 5 horas en las concentraciones de 10%, 20% y 30% de *Aloe vera*, mientras que a las concentraciones de 50, 80, 90 y 100%, el tiempo fue de 8 horas. Se comprobó que efectivamente el gel de *Aloe vera* tiene poder bacteriostático sobre *Listeria monocytogenes* ($p < 0.001$), mas sin embargo, no se obtuvo un efecto bactericida en los ensayos realizados. **Palabras clave:** *Listeria monocytogenes*, *Aloe vera*, concentración mínima inhibitoria, tiempo mínimo de inhibición

SUMMARY. **Bacteriostatic and/or bactericidal extract of *Aloe vera* gel on cultures of *Listeria monocytogenes*.** *Listeria monocytogenes* is a bacteria responsible for food borne diseases (FBD). The effect of *Aloe vera* gel extract as a possible bacteriostatic and / or bactericidal against *Listeria monocytogenes*, was checked by determined the minimum inhibitory concentration (MIC), the time of minimum inhibition (TMI) and minimum bactericidal concentration (MBC) solutions extract of *Aloe vera* gel in different concentrations on cultures of *Listeria monocytogenes* ATCC 7635. We applied the agar diffusion method, using solutions of extract of *Aloe vera* gel at concentrations of 0 to 100% for the MIC. The TMI was determined by growth curves in trypticase soy broth with an initial inoculum of *Listeria monocytogenes* ATCC 7635 of 108 CFU/mL in each solution. It was determined that the MIC was 10% extract of *Aloe vera* gel and TMI was 5 hours at concentrations of 10%, 20% and 30% of *Aloe vera*, while concentrations of 50, 80, 90 and 100%, the time was 8 hours. It was found that indeed the *Aloe vera* gel is bacteriostatic power on *Listeria monocytogenes* ($p < 0.001$), but yet, no bactericidal effect was obtained in our study. **Key words:** *Listeria monocytogenes*, *Aloe vera*, minimum inhibitory concentration, time of minimum inhibition

INTRODUCCIÓN

La incidencia global de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) es difícil de estimar; sin embargo para el 2005, la Organización Mundial para la Salud (OMS), reportó cerca de 1,8 millones de personas que murieron por enfermedades diarreicas, con una considerable proporción de estos casos atribuidos a alimentos y aguas contaminadas. En los países industrializados, el porcentaje de la población afectada por ETA se estima en un 30%, mientras que en los países en vías de desarrollo su incidencia puede ser mayor (1).

Listeria monocytogenes, es responsable de ETA y agente etiológico de la listeriosis, infección gastrointestinal invasiva cuyas manifestaciones clínicas dependen del estado de la persona infectada: pacientes inmunosuprimidos, mujeres embarazadas, neonatos y personas de edad avanzada (2). El inóculo exacto y el periodo de incubación son desconocidos; se cree que se necesitan más de 10^3 microorganismos y entre 11 y 70 días para que se produzca la infección invasiva (3).

La listeriosis no ocurre muy a menudo; para el 2001 la incidencia osciló entre 0,3 a 7,5 casos por millón de personas en Europa (4); en Australia fue de 3 casos por millón de personas para el 2003 (5). En

Venezuela no se han confirmado casos de listeriosis, sin embargo, entre los datos disponibles de ETA, se reportaron 37 brotes entre 950 personas afectadas para el 2003 (6).

Si bien es cierto que la incidencia anual de listeriosis puede parecer relativamente baja en comparación con otras ETA, hay que considerar que esta patología se ha posicionado como una de las enfermedades transmitidas por alimentos más importante, debido al aumento de la población susceptible, las implicaciones a nivel clínico y su alta tasa de letalidad, así como la ubicuidad de *Listeria monocytogenes*.

Se ha evidenciado que los ácidos orgánicos como el ácido láctico y el ácido acético, generalmente usados en los alimentos para el control de microorganismos, provocan una tolerancia en *Listeria monocytogenes*; de allí que esta bacteria sea de interés, por su gran resistencia y capacidad de adaptación a diferentes medios (7-9). Aunado a la capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles, *Listeria monocytogenes* posee rasgos fenotípicos que actúan como factores de virulencia.

Listeria monocytogenes, emerge hoy en día, como uno de los microorganismos de mayor riesgo para las poblaciones susceptibles y responsable de brotes en diversas partes del mundo. En este sentido y con la intención de aportar medios sencillos y eficaces que permitan reducir al mínimo la cantidad de *Listeria monocytogenes* en los alimentos, se propone la utilización de soluciones de extracto de gel de *Aloe vera* como sustancia no tóxica y con un potencial bacteriostático y/o bactericida sobre *Listeria monocytogenes* (10).

Aloe vera, posee hojas que contienen una pulpa o parénquima incoloro que forma el gel/cristal del *Aloe*, el cual representa aproximadamente el 65 a 80% del peso de la planta. Este gel está conformado por carbohidratos que son sintetizados en exceso, agua, minerales y ácido málico almacenado. Los polisacáridos mucilaginosos son los principios activos responsables de la actividad biológica del gel (11-13); en tal sentido, se ha demostrado una cierta actividad antimicrobiana del gel frente a diferentes microorganismos como *Trichophyton mentagrophytes*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (14,15).

Considerando el comprobado efecto inhibitorio que posee el gel de *Aloe vera* sobre los microorganismos, se propuso evaluar el efecto bacteriostático y/o bactericida que pudiese tener el extracto de gel de *Aloe vera* frente a *Listeria monocytogenes*, ya que el gel/cristal

de *Aloe vera* es de naturaleza comestible y no altera considerablemente las propiedades organolépticas de los alimentos, por lo que, demostrar que posee un efecto bacteriostático y/o bactericida frente a *Listeria monocytogenes* podría dar paso a su utilización como biopreservante, proporcionando medios alternativos en pro de mejorar la calidad microbiológica de los alimentos. De igual forma, serían excelentes alternativas naturales y económicas frente a los biopreservantes químicos usados en la actualidad.

MATERIALES Y METODOS

Investigación de campo, donde se evaluó el efecto bacteriostático y/o bactericida de soluciones del extracto de gel de *Aloe vera*, que actuaron sobre cultivos de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635, cepas donadas por el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias y Tecnologías FACYT, de la Universidad de Carabobo.

Procedimiento Metodológico

Obtención del extracto de gel de *Aloe vera*. Las muestras (pencas) fueron donadas por la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (núcleo Maracay, Edo. Aragua). Las pencas fueron cortadas de la base de la planta *Aloe vera* de aproximadamente dos (2) años de edad; se lavaron con agua y un agente tensoactivo, y se enjuagaron con una solución yodada al 2%; luego se procedió al despunte y descortezado de las mismas para la extracción del gel/cristal. El gel/cristal fue lavado por aspersion de agua y escurrimiento, para eliminar el acíbar secretado por la corteza al ser excluida. Luego, el gel/cristal fue comprimido para obtener el jugo o mucílago, el cual se filtró mediante el empleo de un filtro a presión manual y 25 °C de temperatura; el filtrado se centrifugó a 15000 rpm, en una centrifuga Avanti Centrifuge J-26 XP, a 37°C con la intención de eliminar sólidos en suspensión y disminuir la viscosidad; una vez clarificado el mucílago, se procedió a pasteurizarlo a 50°C durante 2 horas, y se concentró hasta 50% de su volumen inicial. Para ello se utilizó un concentrador al vacío Eppendorf 5301, manteniendo una temperatura de 45°C durante 90 min. Con el extracto concentrado de gel de *Aloe vera* se prepararon soluciones de concentración del 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100%, respectivamente, con agua estéril, para los ensayos posteriores.

Preparación del inóculo. A partir de un cultivo original de *L. monocytogenes* ATCC 7635 de 24 h/overnight, se tomó con una asa de platino y se sembró en placas de agar nutritivo, incubándose a 35°C por un período de 4 a 6 horas, para lograr la fase logarítmica. Posteriormente y a partir de una colonia aislada se tomó con el asa y se preparó una suspensión con agua estéril, ajustando la densidad de la suspensión del cultivo por comparación de su turbidez con un estándar de 0,5 de Mc Farland de BaSO₄, mediante este procedimiento se garantizó un inóculo inicial de 10⁸ UFC/mL de *Listeria monocytogenes*.

Método de difusión en Agar según Kirby Bauer. Para esta prueba se prepararon placas de Petri con agar PALCAM con un grosor de 6 mm en cada placa. Una vez solidificado el agar, se impregnaron hisopos estériles con la solución de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635 y se procedió a inocular cada una de las placas, cubriendo todo el espacio disponible, hasta obtener una distribución uniforme de las colonias. Por otro lado, discos de papel de filtro Watman N° 54, con diámetro de 6 mm, y estériles, fueron impregnados con las soluciones de concentraciones específicas de extracto de gel de *Aloe vera*, previamente preparadas, y se colocaron en las placas inoculadas anteriormente; se colocaron cinco (5) discos de concentraciones diferentes de extracto de *Aloe vera* por placa inoculada. Las placas fueron incubadas a 37°C, se observaron a las 24 y 48 horas de incubación. Los halos de inhibición alrededor de los discos, fueron medidos con un vernier tomando dos medidas por cada disco promediándose; los ensayos se llevaron a cabo por duplicado. Como patrón de referencia, de los antibiogramas, se utilizaron discos de Ampicilina y Gentamicina específicos para la inhibición de *Listeria* en concentraciones de 10 µg respectivamente.

Determinación del tiempo mínimo de inhibición. La determinación del tiempo mínimo de inhibición se realizó midiendo el crecimiento bacteriano, para ello se prepararon 7 frascos Erlenmeyer de 50 mL, identificados del 1 al 7, a cada una se les vertió 10 mL de caldo nutritivo estéril; seguidamente al frasco N° 1 se le agregaron 10 mL de extracto de *Aloe vera* al 10%; al frasco N° 2, 10 mL de extracto de *Aloe vera* al 20%, y realizando el mismo procedimiento para las concentraciones 30%, 50%, 80%, 90%, 100% respectivamente; se preparó un frasco control con 10 mL de caldo nutritivo. Cada uno de los frascos fueron inocu-

lados con 0,1 mL de suspensión de 10⁷ UFC/mL de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635; inmediatamente se procedió a medir la absorbancia con un espectrofotómetro Thermo Spectronic Génesys UV, a 540 nm (tiempo 0). Posteriormente los frascos inoculados se incubaron a 37°C midiendo la absorbancia a intervalos de una hora hasta transcurridas 12 horas desde la primera medición. Los datos obtenidos fueron graficados para obtener las curvas de crecimiento respectivas.

Se comparó la curva resultante de cada concentración de la solución de *Aloe vera* con la curva de 0%, a fin de evidenciar diferencias significativas en el crecimiento de *Listeria monocytogenes*. Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

Concentración Mínima Bactericida. De los frascos preparados para la prueba de Tiempo Mínimo de Inhibición, se tomó una asada y se sembró en una placa de Petri con agar Palcam, se incubaron a 37°C durante 24h. Luego de las 24h se observaron las placas y se seleccionó aquella en la que no hubo crecimiento bacteriano. La concentración de la solución de *Aloe vera* en la que no hubo crecimiento bacteriano en la placa fue tomada como la concentración bactericida mínima.

Análisis de los Datos. Los datos relativos a la formación o no del halo de inhibición microbiológico, así como el diámetro del halo, fueron por duplicado y se promediaron. Se procesaron a través de un análisis descriptivo (media aritmética) y se construyeron diagramas de cajas y aristas (BOX & WHISKER PLOT) en relación a la media de los halos de inhibición obtenidos. Para determinar cambios en la dinámica de crecimiento en *Listeria monocytogenes*, de acuerdo a las concentraciones del extracto de gel de *Aloe vera* usadas en el estudio, se promediaron y se graficaron las densidades ópticas obtenidas, a fin de presentar las respectivas curvas de crecimiento microbiano, comparando cada uno de los tratamientos mediante la aplicación de la prueba de correlación de Spearman (prueba no paramétrica) que mide la diferencia entre una distribución observada y otra esperada). Los datos fueron procesados a través del programa estadístico STATISTIX 9.0.0.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante la realización de los ensayos propuestos para evaluar el efecto bacterios-

tático y/o bactericida del extracto de gel de Aloe vera en cultivos de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635, en comparación con los halos de inhibición de los patrones de referencia de antibióticos (0,5 mm), mostraron que los halos de inhibición promedio, obtenidos con las diferentes concentraciones del extracto de gel de Aloe vera, fueron de 1,5 mm para las concentraciones de 10 a 40% respectivamente, así como de igual magnitud para las concentraciones 60,70 y 100%, mientras que se pudo observar una tendencia inhibitoria superior en la concentración del 90%, según se evidencia en la figura de caja y aristas (Figura 1).

La Figura 2, muestra la curva de crecimiento de *Listeria monocytogenes* en condiciones normales de caldo nutritivo y curvas de crecimiento del micro-

organismo en soluciones de Aloe vera a diferentes porcentajes de concentración y medidas por densidad óptica. La curva normal de crecimiento sin Aloe vera (0%), muestra el comportamiento esperado: una fase de latencia o adaptación la cual se inicia luego de la inoculación del microorganismo culminando aproximadamente a las 4 horas; seguidamente una fase logarítmica o exponencial hasta alcanzar su pico máximo de multiplicación a las 8 horas de incubación para mantenerse en fase estacionaria hasta el final de las mediciones. Las curvas de crecimiento del microorganismo a las diferentes concentraciones del extracto de Aloe vera evidencian un patrón de crecimiento que sigue la tendencia de fase de latencia que, para las soluciones con concentraciones del ex-

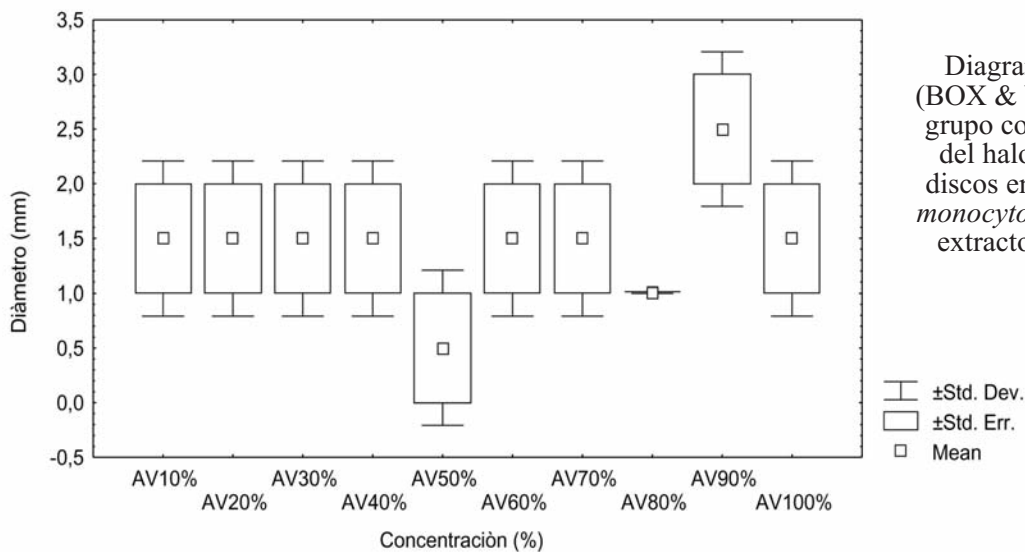


FIGURA 1
Diagrama de cajas y aristas (BOX & WHISKER PLOT) por grupo con relación al diámetro del halo de inhibición de los discos en el cultivo de *Listeria monocytogenes* en presencia del extracto de gel de Aloe vera.

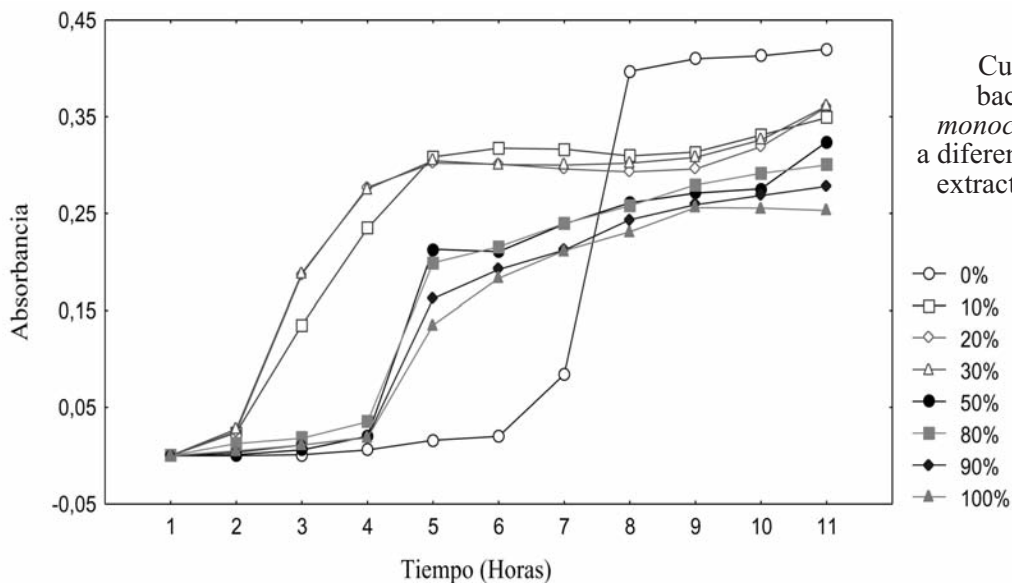


FIGURA 2
Curva de crecimiento bacteriano de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635, a diferentes concentraciones del extracto de gel de Aloe vera.

tracto de 10, 20 y 30% respectivamente finaliza a las 2 horas, mientras que para las concentraciones de 50, 80, 90 y 100% finaliza a las 4 horas; la fase logarítmica o exponencial se mantiene desde las 2 horas hasta las 5 horas para las concentraciones de 10, 20 y 30% y a partir de este momento se mantiene en fase estacionaria hasta el final de las mediciones realizadas. Por otro lado, para las concentraciones de 50, 80, 90 y 100% de extracto de *Aloe vera* la fase logarítmica o exponencial del crecimiento del microorganismo comienza después de 4 horas de incubación y se mantiene hasta las 8 horas, con una declinación leve del crecimiento, por lo que se puede considerar que entra en fase estacionaria, y luego continuar un crecimiento hasta las 11 horas.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la prueba de correlación de Spearman, evidenciaron que al comparar la curva de crecimiento normal respecto a las distintas soluciones de concentraciones de *Aloe vera*, existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$). En la gráfica de crecimiento microbiano, resultante de la aplicación de *Aloe vera*, se pueden observar que las tres fases de crecimiento se lograron en un menor tiempo, respecto a la curva control (0%). Este comportamiento pudiera deberse a la presencia de ciertas sustancias contenidas en el gel de *Aloe vera*, que pudieron favorecer el crecimiento de la bacteria, tales como: minerales, vitaminas, proteínas, iones y como principal carbohidrato, la glucosa (12). Sin embargo, a pesar de este favorecimiento, las curvas de crecimientos resultantes para cada una de las concentraciones de *Aloe vera* utilizadas, muestran picos de absorbancias muy por debajo al obtenido en la curva control, demostrando esto, que a pesar de que se alcanzó la fase exponencial rápidamente, las diferentes concentraciones de gel *Aloe vera*, interfirió en el crecimiento de *Listeria*, que pudo ser debido a la presencia de ciertos factores inhibidores presentes en el gel (14).

Agary y col. (14), demostraron que el gel del *Aloe vera* posee efectos inhibitorios sobre otros microorganismos, tales como *Staphylococcus aureus* y *Trichophyton mentagrophytes*, efecto que no lograron al aplicar extractos de la penca sobre los mismos cultivos, sugiriendo que existen constituyentes del gel de la penca que no están presentes en la corteza de la

misma y que tienen un potencial antimicrobiano importante, no sólo para cierto tipos de microorganismos, sino para diferentes bacterias e incluso hongos, de tal manera que a lo demostrado en trabajos precedentes, se une lo logrado en la presente investigación, al demostrarse la existencia de una acción bactericida sobre *Listeria monocytogenes*.

Adicional al efecto inhibitorio que el gel de *Aloe vera* tiene sobre algunos microorganismos, existen trabajos que reportan efectos positivos de ciertos componentes purificados de este gel, tal como es el caso del acemanano, uno de los principales componentes polisacáridos que están presentes en el gel de la planta y que según investigaciones, permite potenciar la actividad inmunomoduladora, al incrementar la sensibilidad de los macrófagos, aumentando la superficie de expresión molecular (16). Por otra parte, también se ha identificado que dicha sustancia, el acemanano, tiene la facultad de inhibir la adherencia de *Pseudomona aeruginosa* a las células epiteliales del pulmón en humanos (17), por lo que se amplían los descubrimientos sobre los efectos de este carbohidrato del que el gel de *Aloe vera* es tan rico. Si bien el gel de *Aloe vera* posee muchos otros componentes, no se debe dejar a un lado la posibilidad de que el acemanano sea responsable, entre otras cosas, del efecto bacteriostático sobre *Listeria monocytogenes*, reflejado en el presente trabajo.

Se pudo demostrar que el extracto del gel de *Aloe vera* posee cierto efecto bacteriostático sobre *Listeria monocytogenes*, requiriendo para ello una concentración mínima de 10% del mismo. Asimismo, se pudo observar en las curvas de crecimiento que no se logró un efecto bactericida, por cuanto en cada una de ellas la bacteria logró desarrollarse en mayor o menor medida.

El tiempo requerido para observar el efecto inhibitorio del gel de *Aloe vera* sobre *Listeria monocytogenes*, fue de 5 horas para las diferentes concentraciones del extracto de gel de *Aloe vera*, con un efecto bacteriostático estadísticamente significativo ($p < 0,01$), aunque el efecto no fue directamente proporcional al aumento de su concentración.

Se puede inferir que el gel de *Aloe vera* tiene potencial para ser sugerido como biopreservante en la industria alimenticia, evitando de esta manera la proliferación de *Listeria monocytogenes*, como un patógeno emergente, con capacidad de afectar a un seg-

mento importante de la población, principalmente los más susceptibles. Se recomienda la realización de estudios donde se lleve a cabo la correlación de los halos de inhibición obtenidos del extracto de gel de *Aloe vera* con otros compuestos con capacidad antibacteriana a diferentes concentraciones, en el que la bacteria en estudio resulte sensible, para de esta manera discernir mejor el efecto bacteriostático de *Aloe vera* y tener un marco de referencia comparativo. De igual forma se sugiere la utilización del extracto de gel de *Aloe vera* liofilizado, siendo esta una buena alternativa de concentración de esta sustancia que pudiera ofrecer mejores y mayores resultados sobre *Listeria monocytogenes* y demás patógenos alimentarios.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial para la Salud OMS. Food safety and foodborne illness 2007. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/> [Consulta: 2011, Febrero 24].
2. Vázquez-Boland J, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Dominguez-Bernal G, Goebel W, et al. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. *Clinical Microbiology Reviews* 2001; 4 (3): 584–640.
3. Salas, J. Listeriosis, una infección poco frecuente 2002 Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2002/01/15/629.php> [Consulta: 2010, Noviembre 25].
4. De Valk H, Jacquet C, Goulet V, Vaillant V, Perra A, Desenclos JC et al. Feasibility study for a collaborative surveillance of listeria infections in Europe. Informe presentado por el Institut de veille sanitaire e Institut Pasteur a la Comision Europea. Paris: European Commission, 2003.
5. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]/ Organización Mundial para la Salud [OMS]. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo 2004 [Documento en línea]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y5393s/y5393s00.pdf> [Consulta: 2010, Noviembre 25].
6. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]/ Organización Mundial para la Salud [OMS]. Situación actual del control de la inocuidad de alimentos en Venezuela: análisis de la situación 2005. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/010/af112s.pdf> [Consulta: 2010, Noviembre 25].
7. Adams M, Moss M. Microbiología de los Alimentos (1ª edición). Zaragoza: Editorial Acribia, 1995.
8. O'Driscoll B, Gahan CG, Hill C. Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Applied and environmental microbiology* 1996 Mayo; 62 (5):1693-1698.
9. Oteo J, Alós J. Listeria Y LISTERIOSIS 2004. Disponible en: http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/listeria.htm [Consulta: 2008, Septiembre 15].
10. García J, Picazo J. Microbiología médica (1ª edición., Vol. I). Madrid: Editorial Mosby, 1996.
11. Schweizer M. *Aloe vera*: la planta que cura (1ª edición). Paris: A P B, 1995.
12. Boudreau MD, Beland FA. An Evaluation of the Biological and Toxicological Properties of *Aloe Barbardensis* (Miller), Aloe Vera. *Journal of Environmental Science and Health* 2006; 24 (1): 103-154.
13. Tai-Nin Chow J, Williamson D, Yates K, Goux W. Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of *Aloe vera* L. *Carbohydrate research* 2005 Mayo; 340 (6): 1131-1142.
14. Agarry O, Olaleye M, Bello-Michael C. Comparative antimicrobial activities of *Aloe vera* gel and leaf. *African Journal of Biotechnology* 2005 Diciembre; 4 (12): 1413-1414.
15. Ferro VA, Bradbury F, Cameron P, Shakir E, Rahman SR, Stimson WH. In vitro susceptibilities of *Shigella flexneri* and *Streptococcus pyogenes* to inner gel of *Aloe barbadensis* Millier. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003 Marzo; 47 (3):1137-1139.
16. Zhang L, Tizard I. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. *Journal of Immunopharmacology* 1996 Noviembre; 35(2):119-28.
17. Azghani A, Williams I, Holiday D, Johnson A. A beta-linked mannan inhibits adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to human lung epithelial cells. *Glycobiology* 1995 Septiembre; 5 (1): 39-44.

Recibido: 22-01-2012

Aceptado: 15-05-2012