

**FORMULAREA UNUI UNGUENT BIOACTIV CU ALOE VERA ȘI BACTERII LACTICE****TOPICAL FORMULATION WITH BIOACTIVE COMPONENTS FROM ALOE VERA AND LACTIC ACID BACTERIA**

Găureanu (Boev) Monica<sup>1,2\*</sup>, Maftai Nicoleta-Maricica<sup>1</sup>, Bahrim Gabriela-Elena<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea „Dunărea de Jos”,

<sup>2</sup> Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor, Universitatea „Dunărea de Jos”, Galați,

Autor corespondent: Găureanu (Boev) Monica, email boevmonica@yahoo.com

**Abstract:**

The Aloe Vera (*barbadensis* Miller) is well known as a multibeneficial treatment plant, which provides many therapeutical activities to skin disease. This study intends to reveal original pharmaceutical products based on Aloe Vera extract and two probiotic strains, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*, formulated as a topical hydrophilic ointment with polyethylenglycol 4000 and glycerol. The original pharmaceutical product contained 107 log cfu/g of *L. casei* and *L. plantarum* strains inoculus, after 48 hours of fermentation into an experimental culture media based on electrolytes and Aloe Vera alcoholic extract. The new formula of ointment was preserved at 2-8°C, at the refrigerator, for 28 days. Counts of cfu/g reduced after 72 hours, from 107 to 106, and after 7 days, to 105. The ointment remain organoleptic homogenous, with a pearl-white color and a sweet smell, no microbiological contamination was observed.

**Key-words:** *topic use, ointment, aloe vera extract, probiotics*

**Introducere**

Planta Aloe Vera a demonstrat multiplele beneficii pentru sănătate aduse de consumul său intern, dar este recunoscută ca panaceu pentru multiple boli cutanate: xeroză cutanată, psoriazis (factor inflamator al pielii), dermatită seboreică, scuame, arsuri ale pielii (gradul I și II), răni și iritații. Aloe Vera prezintă diferite acțiuni terapeutice precum „antioxidantă, antimicrobiană, antiinflamatoare, antitumorală, hipoglicemică, hipolipemiantă, antidiabetică, cicatrizantă și reparatoare”. Este benefică, de asemenea, în tratarea ridurilor, vergeturilor și hiperpigmentării [11]. Vindecarea rănilor cutanate este grăbită de stimularea circulației sanguine în zona lezată și de prevenirea necrozei celulare în jurul răni. Un studiu realizat pe cobai pentru investigarea efectelor gelului de Aloe Vera (AV) asupra leziunilor cutanate din dermatita atopică spontană (DA) a demonstrat capacitatea a 0,8 mg/kg administrat per oral de a reduce manifestările epiteliale, datorită scăderii nivelurilor de IL-5 și IL-10 [6].

Gelul de AV prezintă proprietăți antimicrobiene pentru anumite tipuri de bacterii și fungi. O cremă cu 0,5% aloe, administrată cutanat 4 săptămâni, a generat reducerea „placardelor” asociate cu psoriazis [13]. Aplicarea pe piele a gelului de AV are

capacitatea de a reduce vizibil arsurile [5]. Aplicat pe piele, gelul ameliorează gradul de vindecare a pielii cu leziuni cauzate de degerături [9]. Utilizarea săpunului de AV, care este aloe extras în ulei (de obicei ulei de cocos), poate întârzia deteriorarea pielii în timpul și după expunerea acesteia la radioterapie [10].

În ultimii ani, probioticele – comercializate sub formă de alimente, suplimente alimentare cu bacterii vii sau produse farmaceutice – au atras tot mai mult interesul atât al cercetătorilor cât și al consumatorilor. Interesul public general de descoperire a unui stil de viață sănătos, împreună cu preocuparea medicilor de a descoperi terapii neinvazive și lipsite de reacții adverse, au reorientat atenția spre rolul potențial benefic al microbiotei umane în prevenirea și tratarea diferitelor boli [4]. Bacteriile din genurile *Lactobacillus* spp. și *Bifidobacterium* spp. sunt cele mai utilizate ca tulpini probiotice, deoarece și-au dovedit în timp siguranța și eficacitatea terapeutică. Diferitele specii din genuri *Lactobacillus* spp. și *Bifidobacterium* spp. pot include numeroase specii cu potențial probiotic, dar numai câteva din acestea sunt considerate importante și utilizate în prepararea suplimentelor alimentare, a produselor farmaceutice, cosmetice etc. *L. plantarum*

este o bacterie Gram+, bacil scurt, micro-aerofilic, tolerant la pH acid, din clasa Lactobacililor heterofermentativi, cu largă utilizare în industria alimentară, dar și medicală [1]. Proprietățile sale antibacteriene, antifungice și probiotice au fost studiate în detaliu [12]. Spre deosebire de acesta, *L. casei* este un lactobacil facultativ heterofermentativ, care prezintă numeroase utilizări în industria alimentară, însă în industria farmaceutică a fost administrat doar sistemic, raportându-se numeroase beneficii [7]. Produsele dermatologice topice care pot preveni sau trata anumite afecțiuni ale pielii se administrează extern, local, și se prezintă sub numeroase forme farmaceutice precum: unguente, creme, geluri, emulsii, suspensii, loțiuni, spume și șampoane. Cele mai utilizate forme farmaceutice sunt preparatele semisolide, în care includem unguentele, cremele și gelurile. Aplicarea unui produs farmaceutic pe suprafața pielii are ca scop tratarea sau îngrijirea acesteia, cu ajutorul unui preparat terapeutic sau cosmetic, cu acțiune asupra bacteriilor sau fungilor sau pentru redobândirea funcțiilor normale ale pielii.

Scopul prezentului studiu este de a propune formula unui unguent bioactiv conținând extract de Aloe vera și un produs fermentat cu bacterii lactice vii (*L. plantarum* și *L. casei*) și de a demonstra funcționalitatea produsului obținut, corelat cu viabilitatea bacteriilor lactice pe perioada conservării.

### Materiale și metode

Tulpinile de bacterii lactice, *Lactobacillus plantarum* și *Lactobacillus casei*, utilizate în experiment aparțin colecției de microorganisme cu acronimul MIUG, Centrul de cercetare, expertiză și transfer tehnologic (Bioaliment-TehIA), Universitatea "Dunărea de Jos" Galați. Culturile pure s-au menținut prin cultivare pe mediul MRS agar, iar culturile stoc s-au păstrat în 20% glicerol la temperatura de -70°C. Pulberea liofilizată de Aloe Vera a fost obținută din frunze de Aloe Vera, care au fost spălate, uscate și secționare, care s-au supus liofilizării, timp de 72 h, utilizând liofilizatorul Martin Christ Alpha 1-4 LD plus. Pulberea astfel obținută, înainte de utilizare, a fost sterilizată cu o lampă UV, timp de 30 minute.

Tulpinile de *Lactobacillus plantarum* și

*Lactobacillus casei* au fost cultivate în mediul selectiv De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) steril în sistem staționar, timp de 48 de ore, la temperatura de 30°C. Tulpinile reactivitate au servit ca inocul pentru probele de fermentație. După diluare în mediul MRS steril până la o densitate optică de 0,5 măsurată la lungimea de undă de 600 nm, cu spectrofotometrul Jenway UV-VIS 6505, suspensia diluată de celule s-a inoculat, în concentrație de 2%, în mediul de fermentație pe bază de electroliți, suplimentat cu 0,5% pulbere liofilizată de Aloe Vera. Mediul pe bază de electroliți, care a servit drept substrat nutritiv pe perioada fermentației, are următoarea compoziție (mmoli/L): clorură de sodiu 3,5; clorură de potasiu 1,5; citrat de sodiu 2,9; D(+) glucoză 20, pH = 6.2. S-au realizat 3 variante de lucru (Tabelul 1), iar tulpinile au fost cultivate pe mediu cu electroliți îmbogățit cu pulbere de 0,5% Aloe vera, individual dar și în co-cultura.

Varianta	Medii de cultură	Cultura starter
<b>PI</b>	a) Soluție electroliți – 50 mL b) Pulbere liofilizată de Aloe vera-0,25g c) Suspensie de <i>L. casei</i> – 2%	<i>Lactobacillus casei</i>
<b>PII</b>	a) Soluție electroliți – 50 mL b) Pulbere liofilizată de Aloe vera-0,25g c) Suspensie de <i>L. plantarum</i> – 2%	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<b>PIII</b>	a) Soluție de electroliți– 50 mL b) Pulbere liofilizată de Aloe vera-0,25g c) Suspensie de <i>L. casei</i> – 1% d) Suspensie de <i>L. plantarum</i> - 1%	<i>Lactobacillus casei</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i> (1:1)

**Tabelul 1.** Cultivarea bacteriilor lactice pentru obținerea produsului fermentat

Cultivarea a fost realizată la temperatura de 37°C, timp de 72 ore pentru toate variantele de lucru. Pe parcursul procesului fermentativ au fost monitorizați următorii parametri: pH-ul; viabilitatea bacteriilor lactice.

Prelevarea și analiza fizico-chimică și microbiologică a probelor s-a efectuat în condiții aseptice după 24, 48 și 72 ore de

fermentare. De asemenea după încheierea procesului fermentativ, toate probele au fost depozitate la temperatura de 4°C, timp de 21 zile, iar pe parcursul perioadei de conservare s-a analizat de asemenea pH-ul și viabilitatea bacteriilor lactice.

Pentru determinarea numărului de celule vii din probele de fermentație și în unguent s-a utilizat metoda indirectă de numărare (metoda Koch) prin cultivare pe medii dense, conform protocolului expus de Davis, (2014) [3].

Probele de fermentație au fost diluate prin tehnica diluțiilor decimale în ser fiziologic steril, apoi din ultimele trei diluții succesive s-a inoculat câte 1 ml în câte două plăci Petri sterile, în paralel, pentru fiecare din cele trei diluții. Peste suspensia din placă s-a repartizat mediul MRS cu agar suplimentat cu 1% CaCO<sub>3</sub>, temperat la temperatura de 42°C și s-a omogenizat. Peste primul strat de mediu s-a repartizat apoi al doilea strat de MRS agar și s-a omogenizat pentru uniformizare.

Probele s-au termostatat apoi la temperatura de 37°C, timp de 48 de ore. S-au ales pentru numărare plăcile în care s-au dezvoltat între 15-150 de colonii, vizibile prin formarea de biomasă și apariția unei zone clare în jurul coloniilor, comparativ cu restul mediului, opac. S-au numărat coloniile crescute în fiecare placă și s-a calculat N<sub>ufc</sub>/mL după formula:

$$N_{ufc}/mL = \frac{(n_1 + n_2 + \dots + n_6)}{x_1 + 0,1 \cdot x_2} \cdot k$$

unde:

N<sub>ufc</sub>/mL - concentrația de celule viabile, exprimată în unități formatoare de colonii (ufc);

n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, ..., n<sub>6</sub> - numărul de colonii dezvoltate în cele 6 plăci Petri inoculate în paralel, pentru cele trei diluții din care s-a realizat inocularea numărarea;

x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub> - numărul de plăci Petri aferente pentru penultima și ultima diluție din care s-a făcut numărarea 0,1 este coeficient de ajustare;

k - coeficientul de diluție corespunzător primei diluții din care se face numărarea.

### Calculul parametrilor cinetici ce descriu înmulțirea și viabilitatea bacteriilor lactice

Pentru a urmări potențialul de multiplicare s-au analizat următorii parametri cinetici:

- **numărul de generații:**

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2},$$

unde:

N<sub>0</sub> - numărul de unități formatoare de colonii după inoculare;

N - numărul de unități formatoare de colonii după 24 h de cultivare.

- **viteza de multiplicare:**

$$v = \frac{n}{\tau} \left[ \frac{1}{h} \right],$$

unde:

n - numărul de generații;

τ - durata de cultivare.

- **timpul de generație:**

$$t = \frac{1}{v} [h]$$

Gradul de menținere a viabilității s-a determinat prin compararea numărului de celule viabile din probe la anumite intervale de timp și exprimarea procentuală.

### Măsurarea pH-ului

pH-ul a fost măsurat cu analizorul multiparametric SevenEasy tip F20K de la Mettler Toledo, Elveția.

### Prepararea unguentului bioactiv

Rp: Macrogol 4000 .....20 g  
Glicerol 40% .....5 mL  
Mediu fermentat .....7mL

În prepararea unguentului s-au respectat prevederile Farmacopeei Române, ediția a X-a (2017), privind normele aplicabile la prepararea acestor forme farmaceutice pentru uz extern, topic.

Într-o capsulă de porțelan s-a topit cantitatea specificată de PEG 4000 până la lichefiere. S-a transferat într-un mojar încălzit, apoi s-a adăugat glicerolul, având în vedere ca temperatura bazei lichefiate să nu depășească 70°C, temperatură critică pentru glicerol. Amestecul s-a triturat energic până la solidificare omogenă, prin menținere pe gheață.

Mediul fermentat obținut prin cultivare în sistem staționar, timp de 48 de ore, la temperatura de 37°C, s-a adăugat lent, sub triturare blândă pentru a asigura atât o bună încorporare a bacteriilor lactice în baza de unguent, cât și pentru a influența pozitiv

adaptarea și menținerea viabilității acestora în produsul farmaceutic.

Toate operațiile s-au realizat manual, la nișa microbiologică, pentru a preveni contaminarea produsului final cu alte microorganisme, preparatul inovativ fiind obținut astfel în condiții aseptice.

Conservarea acestui produs s-a realizat în recipiente din sticlă, ermetic închise, etichetate și păstrate la temperatura 2-8°C.

### **Prelucrarea statistică a datelor experimentale**

Toate determinările au fost realizate în triplicat, iar datele prezentate reprezintă media celor trei determinări realizate în paralel. Pentru prelucrarea statistică a datelor experimentale s-a utilizat programul de calcul Microsoft, aferent programului Office Excel. S-au determinat deviația standard și eroarea medie pătratică.

### **Rezultate și discuții**

#### **Variația pH-ului în timpul fermentației și a conservării mediului fermentat**

Pentru toate variantele de lucru testate, în perioada de cultivare, s-a constatat o scădere a pH-ului corelat cu multiplicarea bacteriilor lactice (Fig.1 și 2). Aceste evoluții certifică buna funcționalitate a bacteriilor în mediile fermentative utilizate. Cea mai accentuată reducere a pH-ului s-a înregistrat în primele 48 de ore de cultivare. Pe perioada păstrării produsului fermentat, pH-ul se păstrează relativ constant.

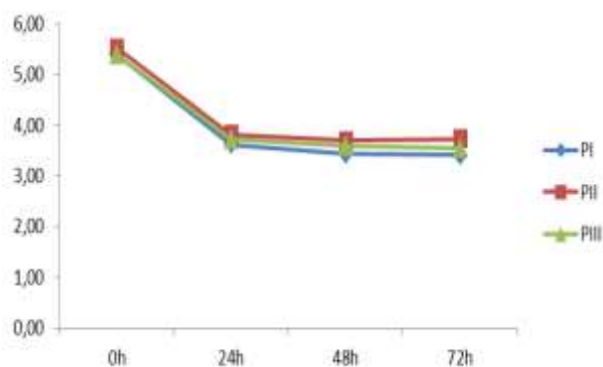


Figura 1. Variația pH-ului în perioada de fermentație

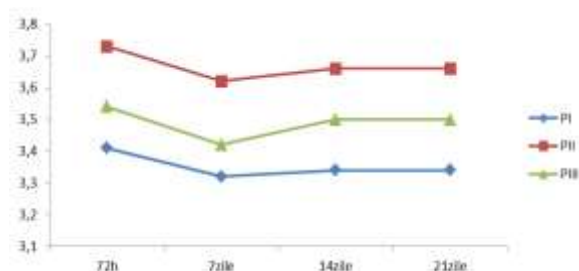


Figura 2. Variația pH-ului în perioada de conservare a mediului fermentat

#### **Dinamica de multiplicare și stabilitatea bacteriilor lactice în mediul fermentat**

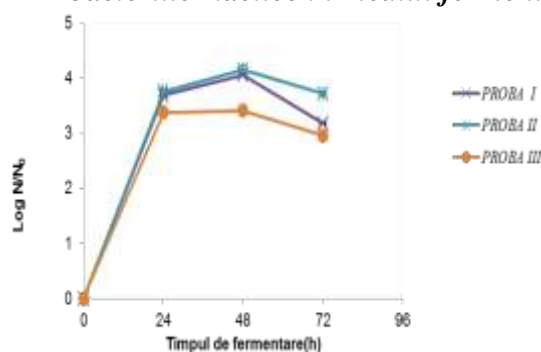


Figura 3. Dinamica de multiplicare a bacteriilor lactice în perioada de fermentare

În ceea ce privește dinamica de multiplicare a bacteriilor lactice în mediul pe bază de soluție de electroliți, suplimentat cu 0,5% pulbere liofilizată de Aloe Vera, din figura 3 se poate observa pentru toate probele o multiplicare accentuată în primele 24 h, cu o ușoară creștere până la 48 h, urmată de etapă staționară până la 72 h de cultivare. Deși au înregistrat o viteză de multiplicare mai scăzută, în proba care conține cele două specii cultivate împreună, bacteriile sunt mai stabile din punctul de vedere al viabilității.

#### **Parametrii cinetici de multiplicare ai bacteriilor lactice**

În tabelul 2 sunt prezentați parametrii cinetici în timpul multiplicării și gradul de menținere a viabilității bacteriilor lactice, pentru a aprecia stabilitatea acestora și capacitatea de păstrare a unei viabilități  $\geq 10^6$  ufc/mL, necesară pentru manifestarea unor efecte benefice pentru sănătate [14].

Probe	Numărul de generații	Viteza de multiplicare (h <sup>-1</sup> )	Timpul de generație (h)	Gradul de menținere a viabilității (%)
<b>Proba I</b>	12,19	0,43	1,972	91,73
<b>Proba II</b>	13,32	0,38	1,801	95,36
<b>Proba III</b>	11,255	0,32	2,136	95,21

Tabelul 2. Parametrii cinetici de multiplicare a bacteriilor lactice în mediul pe bază de soluție de electroliți, suplimentat cu 0,5% pulbere liofilizată de *Aloe vera*

Se observă o multiplicarea încetinită a bacteriilor lactice în mediul minimal, specia *L. casei* fiind mai adaptată. În co-cultură amestec 1:1 a celor două specii, viteza de multiplicare și timpul de generație demonstrează o înmulțire ușor încetinită, însă gradul de viabilitate este comparabil cu al probei cu cultura *L. casei* singulară.

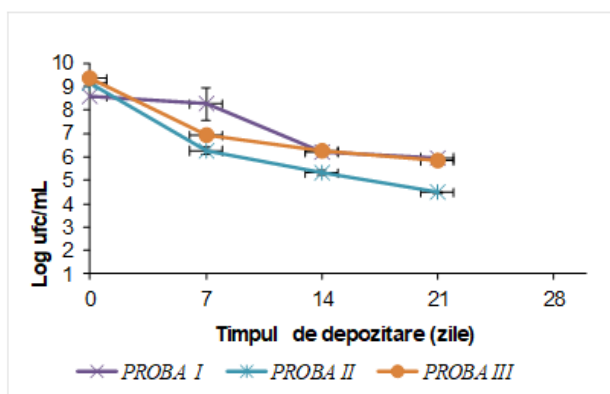


Figura 4. Menținerea viabilității culturilor de bacterii lactice în perioada de conservare a mediului fermentat

Din figura 4 se poate observa o menținere constantă a viabilității bacteriilor lactice din proba III, de  $10^6$  ufc/mL, comparativ cu probele I și II, care, fie au o dinamică discontinuă, cu scăderi bruște, fie se află într-o scădere continuă pe toată perioada de conservare, atingând valori de  $10^4$  ufc/mL. Aceste rezultate sunt în concordanță cu alte date raportate în literatura de specialitate, care au demonstrat că *L. casei* și *L. plantarum* pot atinge și menține o viabilitate  $\geq 10^6$  ufc/mL, timp de 3-4 săptămâni de depozitare la temperaturi scăzute, 2-8°C [14].

### Studiul viabilității bacteriilor lactice în unguente

Unguentul bioactiv formulat prezintă ca element de noutate utilizarea unui mediu fermentat obținut cu două tulpini de bacterii lactice (*Lactobacillus casei* și *Lactobacillus plantarum*; inocul 1:1), timp de 48 de ore, la temperatura de 37°C, prin cultivare într-un mediu de cultură pe bază de electroliți (ME), prezentând un pH =  $6,7 \pm 0,2$ .

Noutatea și originalitatea studiului a constat nu doar în co-cultivarea a două tulpini de bacterii lactice într-un mediu de cultură neconvențional pentru acestea, ci și în îmbogățirea mediilor de cultura cu 0,5% pulbere liofilizată din frunze de *Aloe Vera*, adaos benefic atât pentru creșterea capacității nutritive a substratului, cât și pentru valorificarea proprietăților terapeutice benefice ale acestei plante, cunoscute încă din antichitate.

Mediul fermentat timp de 48 de ore, la temperatura de 37°C a conținut o concentrație de celule de  $1,5 \cdot 10^7$  ufc/mL, echivalent log ufc/mL = 7,18.

Pentru a demonstra funcționalitatea unguentelor formulate s-a analizat viabilitatea bacteriilor lactice în unguente pe o perioadă de 28 de zile de păstrare în condiții de refrigerare (2-8°C).

Utilizarea unei baze hidrofile pe bază de polietilenglicol 4000 și glicerol în formularea unguentelor a prezentat avantajul dispersării omogene în soluție de ser fiziologic a 1 g de probă din unguentul experimental, pentru a realiza diluții decimale succesive.

S-a determinat numărul de unități formatoare de colonii imediat după preparare, apoi la intervale de 24 de ore, până la 96 de ore (Fig.5.) Probele au fost analizate și la 7, 14, 21 și 28 de zile, pentru a observa care este procentul de scădere a viabilității bacteriilor lactice în unguent (Fig.6.), deoarece în funcție de acest parametru, se poate stabili termenul de valabilitate al unguentelor.

La T0, proba de unguent obținută prin cultivarea bacteriilor lactice probiotice în mediu pe bază de electroliți a prezentat log ufc/g = 7,04.

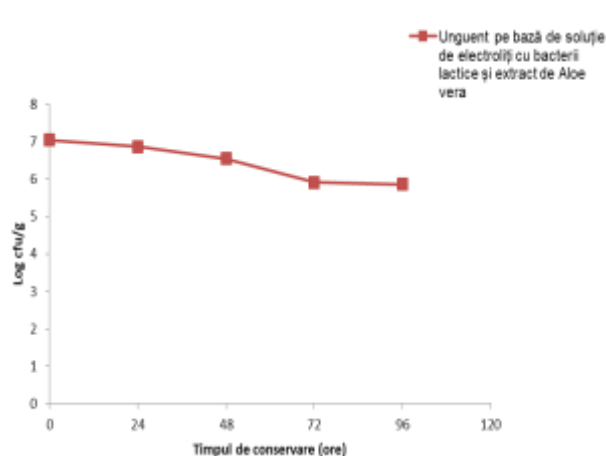


Figura 5. Menținerea viabilității bacteriilor *L. casei* și *L. plantarum* în unguent în primele 96 ore de păstrare în condiții de refrigerare

După cum se observă în figura 5, viabilitatea bacteriilor lactice în unguentul hidrofîl este influențată de mediul de cultivare utilizat, pe bază de amestec de electroliți, de concentrația inițială de lactobacili din suspensia bacteriană utilizată ca inocul și de menținerea produsului finit la temperatură scăzută, 2-8°C. După 72 de ore de menținere la temperaturi scăzute, proba de unguent prezenta un conținut de lactobacili viabili 6 log ufc/g, cu o reducere de 0,89 log ufc/g a viabilității comparativ cu momentul T0 al preparării unguentului, ceea ce determină capacitatea acestora de a influența pozitiv efectul terapeutic, așa cum menționează și Bandiera și colab., 2013 în studiile realizate [2].

În figura 5, se poate observa că după 72 de ore, se produce o pierdere a viabilității de 9,63%. Rezultatele obținute sunt comparabile cu cele raportate de Mani-Lopez, 2014 [8].

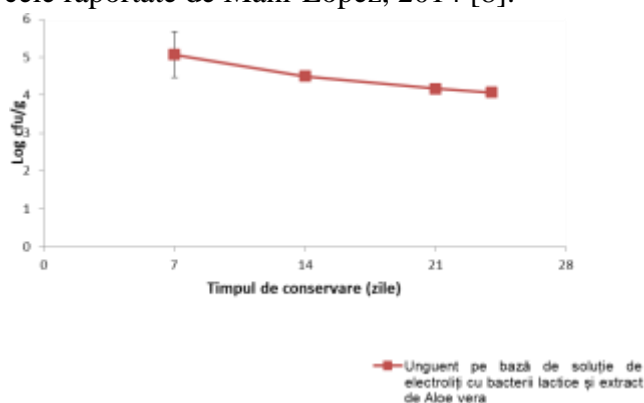


Figura 6. Menținerea viabilității bacteriilor *L. casei* și *L. plantarum* în unguent după 28 de zile de păstrare în condiții de refrigerare

Se observă din datele prezentate în figura 6, că mediul de cultivare influențează menținerea viabilității bacteriilor lactice pe o perioadă de 28 de zile, cu o scădere a N ufc/g de 42,18% din populația inițială. Rezultate asemănătoare au raportat și Mani-Lopez și colab., 2014, pentru tulpini de bacterii lactice probiotice cu o scădere a viabilității variabilă, între 30-50% din populația inițială [8].

Bacteriile lactice prezintă o menținere a viabilității timp de 28 de zile, cu o scădere marcantă a numărului de unități formatoare de colonii la 14, respectiv 21 de zile, datorită epuizării rapide a substratului nutritiv compus din electroliți.

Scăderea concentrației de tulpini lactice probiotice din unguent, după 28 de zile, a înregistrat valori mai scăzute cu 2,97 log ufc/g față de proba inițială. Deoarece în literatura de specialitate, nu au fost raportate rezultate referitoare la obținerea de unguente bioactive pe bază de Aloe Vera și bacterii lactice, nu există momentan o bază de comparație a rezultatelor obținute. Valorile obținute sunt comparabile cu funcționalitatea bacteriilor în iaurt, fiind menționate scăderi între 1,8 și 3,5 log ufc/mL [8].

### Concluzii

Studiul propus este original, întrucât demonstrează posibilitatea obținerii unor produse farmaceutice destinate tratamentului cutanat, profilactic sau în scop curativ, utilizând beneficiile bacteriilor lactice și a compușilor bioactivi din Aloe vera, ambele recunoscute pentru potențialul terapeutic.

Unguentul bioactiv formulat, având ca excipient polietilenglicol 4000, o bază anhidră și hidrosolubilă cu capacitate redusă de a încorpora apa, a determinat o bună conservare a probelor, la rece (2-8°C) sau la temperatura camerei (20±5°C), unguentul fiind stabil față de contaminarea cu microorganisme. Datorită includerii în ingredientele active a tulpinilor probiotice *L. casei* și *L. plantarum*, se recomandă păstrarea acestor probe în condiții de refrigerare la rece, pentru a crește perioada de depozitare. Adaosul de glicerol în formularea unguentului bioactiv este benefică, întrucât în acest experiment a avut dublă funcție, de plastifiant și de conservant, prelungind perioada de viabilitate a tulpinilor de bacterii lactice

probiotice. Tulpinile de *Lactobacillus casei* și *Lactobacillus plantarum*, cultivate în medii de cultură suplimentate cu 0,5% pulbere liofilizată din frunze de *Aloe vera*, și-au păstrat un grad superior de viabilitate, după o perioadă de 28 de zile de menținere în condiții de refrigerare, pierderea viabilității fiind de 103 ufc/g. Astfel, se poate recomanda un termen de valabilitate pentru unguent de 14 zile, la temperatura de 0-4°C.

În perspectivă, pentru a optimiza compoziția unguentului, corelat cu proprietățile sale funcționale vizate, se vor avea în vedere o serie de parametri identificați ca variabile independente în acest studiu și anume: ingredientele de bază ale unguentului, cantitatea de mediu fermentat și proprietățile biologice ale acestuia. Astfel, se va identifica proporția optimă a ingredientelor pentru care acțiunea terapeutică este maximă. Rezultatele testelor in vitro se vor corela ulterior cu teste in vivo.

#### Bibliografie:

1. Arasu, M.V., Jung, M.W., Ilavenil, S., Jane, H., Kim, M. D., Lee, K.D., Park, H.S., Hur, T.Y., Choi, G.J., Lim, Y.C., Al-Dhabi, N.A., Choi, K.C., 2013, Isolation and characterization of antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* KCC-10 from forage silage with potential beneficial properties, *Journal Applied Microbiology*, vol. 115: 1172-1185.
2. Bandiera, N.S. Carneiro, I., da Silva, A.S., Honjoya, E.R., Walter de Santana, E.H. Aragon-Alegro, L.C., de Souza, C.H.B., 2013, Viability of probiotic *Lactobacillus casei* in yoghurt: defining the best processing step to its addition, *Archivas Latinoamericanas de Nutricion*, vol. 63 (1): 18-25.
3. Davis, C., 2014, Enumeration of probiotic strains: Review of culture-dependent and alternative techniques to quantify viable bacteria, *Journal of Microbiological Methods*, vol. 103: 9-17.
4. Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animal, *Journal Applied Bacteriology*, vol. 66: 365-378.
5. Kaufman, T., Kalderon, N., Ullmann, Y., Berger, J., 1988, *Aloe vera* gel hindered wound healing of experimental second-degree burns: a quantitative controlled study, *Journal of Burn Care and Rehabilitation*, vol. 9 (2):156-159.
6. Kim, J., Lee I.S., Park, S., Choue, R., 2010, Effects of *Scutellariae radix* and *Aloe vera* gel extracts on immunoglobulin E and cytokine levels in atopic dermatitis NC/Nga mice, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 132 (2): 529-532.
7. Kim, M.S., Kim, J.E., Yoon, Y.S., Kim, T.H., Seo, J.G., Chung, M.J., Yum, D.Y., 2015, Improvement of atopic dermatitis-like skin lesions by IL-4 inhibition of P14 protein isolated from *Lactobacillus casei* in NC/Nga mice, *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 99(17): 7089-99. doi: 10.1007/s00253-015-6455-y
8. Mani-López, E. Palou, E. López-Malo, A., 2014, Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria, *Journal of Dairy Science*, vol. 97(5): 2578-2590.
9. Miller, M.B., Koltai, P.J., 1995, Treatment of experimental frostbite with pentoxifylline and *aloe vera* cream, *Archive of Otolaryngology- Head and Neck Surgery*, vol. 121 (6): 678-80.
10. Olsen, D.L., Raub, W. Jr., Bradley, C., Johnson, M., Macias, J.L., Love, V., Markoe, A., 2001, The effect of *aloe vera* gel/mild soap versus mild soap alone in preventing skin reactions in patients undergoing radiation therapy, *Oncology Nursing Forum*, vol. 28 (3): 543-547.
11. Radha, M. H., Laxmipriya, N. P., 2014, Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review, *Journal of Traditional Complementary Medicine*, vol.5 (1): 21-26. doi: 10.1016/j.jtcme.2014.10.006
12. Rejiniemon, T.S. Hussain, R.R. Rajamani, B., 2015, In vitro functional properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented ragi malt, *South Indian Journal of Biological Sciences*, vol. 1: 15-23.
13. Syed, T.A., Ahmad, S.A., Holt, A.H., Ahmad, S.A., Ahmad, S.H., Afzal, M., 1996, Management of psoriasis with *Aloe vera* extract in a hydrophilic cream: a placebo-controlled, double-blind study, *Tropical Medicine and International Health*, vol. 1 (4): 505-509.
14. Velando, M. K., Barcelon, E. G., 2013, Survival of *L. casei* BD II and *L. plantarum* WCFS1 in gastrointestinal stresses and viability in mango juice during storage, *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, vol. 6 (4): 222-232.
15. \*\*\* Farmacopeea Română, ediția a X-a, 2015, Editura Medicală, București.