

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL Y DEL EXTRACTO ACUOSO DE CANELA (*Cinnamomum zeylanicum*) SOBRE *Candida albicans* Y *Streptococcus mutans*

Antimicrobial effect of essential oil and aqueous extract of *Cinnamomum zeylanicum* on *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*

Cristina Sánchez-Barrueto Mariano Luján-Corro

Universidad Nacional de Trujillo, Unidad Segunda Especialización Estomatología (USE)
Especialidad Periodoncia. Av. Juan Pablo II s/n. Ciudad Universitaria, Trujillo-Perú.

crilusaba@gmail.com

Universidad de Padua, Facultad de Agraria. Campus Agripolis-Viale dell'Universita, 16-35020
Legnaro, Padova-Italia.

RESUMEN

El presente estudio experimental, tuvo como objetivo determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial y del extracto acuoso de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Candida albicans* y *Streptococcus mutans*. La muestra estuvo conformada por un total de 288 placas, en la que se evaluó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y el efecto antimicrobiano. Se trabajó con seis concentraciones para cada presentación de canela. La CMI se determinó a través del método de diluciones en tubos mientras que el efecto antimicrobiano se determinó a través del método de difusión de discos. Los resultados mostraron que la CMI del extracto acuoso y el aceite esencial de canela sobre el crecimiento de la *Candida albicans*, fue de 1 mg/ml. Así mismo, se halló que la CMI del extracto acuoso y del aceite esencial de la canela sobre el crecimiento del *Streptococcus mutans* fue 0,8 mg/ml y 1 mg/ml, respectivamente. Respecto al efecto antimicrobiano de todos los preparados sólo el aceite esencial de canela tuvo efecto antimicrobiano sobre la *Candida albicans*.

Palabras clave: Canela, *Cinnamomum zeylanicum*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, efecto antimicrobiano.

ABSTRACT

The aim of the present experimental research was to determinate the antimicrobial effect *in vitro* of the essential oil and the aqueous extract of *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) over *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. For this was inoculated a total of 288 Petri plates to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the antimicrobial effect evaluating six concentrations for the two presentations of *Cinnamomum zeylanicum*. The MIC was measured as Colony Forming Units per milliliter (CFU / ml) while the antimicrobial effect was determined by the disk diffusion method, making reading in millimeters (mm). The results showed that the MIC of the aqueous extract and essential oil of cinnamon on the growth of *Candida albicans* was of 1 mg / ml. The MIC of the aqueous extract and essential oil of cinnamon on the growth of *Streptococcus mutans* was 0,8 mg / ml and 1 mg / ml, respectively.

Regarding the antimicrobial effect of all preparations only the essential oil of cinnamon was antimicrobial effect on *Candida albicans*.

Keywords: Cinnamon, *Cinnamomum zeylanicum*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, antimicrobial effect.

Recibido: 05 de mayo de 2014

Aceptado: 10 de Julio de 2014

INTRODUCCIÓN

Los antibióticos hoy en día constituyen la principal fuente para el manejo de las diversas infecciones microbianas (bacterianas y fúngicas). Desde el descubrimiento de estos antibióticos y el uso de los agentes quimioterapéuticos, se pensó asegurada la erradicación de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos antibióticos trajo consigo la aparición de cepas multidrogo resistentes. Por tanto, la rápida y generalizada aparición de resistencia frente a los agentes antimicrobianos impulsó la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas¹. Por tal razón, los investigadores vuelcan su atención a productos naturales (plantas) para el desarrollo de nuevos fármacos contra dichas cepas^{2,3}. Se estima que las comunidades locales han utilizado un 10% de todas las plantas de la tierra para tratar una serie de infecciones; aunque sólo un 1% de estas especies hayan sido reconocidas por la ciencia^{4,5}. Por su lado, la disciplina de Fitoterapia pone de manifiesto el uso de una variedad de plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades infecciosas por las ventajas como la disponibilidad, menos efectos secundarios y toxicidad reducida⁶.

Una de las plantas investigadas es del género *Cinnamomum*. Éste comprende una variedad de especies (250) que están distribuidas en Asia y Australia, de las cuales las más representativas, por su aceite, son: *C. zeylanicum*, *C. cassia* y *C. camphora*. El *Cinnamomum zeylanicum* (canela) a veces conocido como *C. verum*⁽⁷⁾, es oriundo de Sri Lanka⁽⁸⁾ y su aceite extraído de la corteza y de las hojas tiene diversas aplicaciones; sea en cocina, en bebidas, en la industria farmacéutica, sea en perfumería^(8,9). El aceite esencial de la canela, tiene entre sus componentes a (E)-*cinnamaldehy* (68,95%), *benzaldehy* (9,94%) y (E)-*cinnamylacetate* (7,44%), los cuales demostraron proporcionar propiedades antimicrobianas y anticarcinogénicas, sugiriendo ser empleadas contra infecciones y neoplasias¹⁰.

Entre los efectos antimicrobianos de la canela

tenemos el aumento de la permeabilidad y la salida de iones de la membrana. Dicha actividad antimicrobiana se da gracias a la acción de sus componentes tales como taninos, saponinas, compuestos fenólicos, aceites esenciales y flavonoides. Incluso sus extractos etanólicos muestran gran actividad contra las cepas multidrogo resistentes, a diferencia de los antibióticos convencionales, cuya aplicación, en condiciones similares, fracasara¹¹.

Estudios muestran que el aceite esencial de canela y sus componentes poseen actividad antimicrobiana, insecticida, acaricida, actividad antitirosinasa, antioxidante y antimutagénica¹²⁻¹⁶. Otra función del aceite de la canela es la de inducir a la apoptosis. Esto a su vez genera la consecuente necrosis a través de un mecanismo por el cual se interfiere con la función mitocondrial de las células de las levaduras¹⁷. Incluso, se ha demostrado que el canela, en diversas células cancerosas presenta actividad citotóxica así como apoptosis¹⁸. El efecto antimicrobiano dura hasta las 24 horas después de la exposición. Éste resulta mayor sobre levaduras que sobre bacterias; sin embargo, si comparamos sus efectos con los de otros aceites, la canela guarda una mayor actividad antimicrobiana⁸.

Candida albicans, es un patógeno nosocomial propio de la cavidad oral que está presente en un rango de 50-70 % de los casos de candidiasis invasiva, cuya incidencia ha aumentado en la última década; lo cual se plasma en la mortalidad de los pacientes y en los costos de los medicamentos¹. La Candidiasis oral es la manifestación oral más común en personas con inmunodeficiencia y podría ser el indicativo de infección por VIH²⁰⁻²². Otro microorganismo relacionado con el inicio y desarrollo de la caries son los *Streptococcus* del grupo *mutans*, *Lactobacillus sp.*, y *Actinomyces sp.*; siendo el primero el que da inicio a dicha patología^{19,23}.

Investigaciones han evaluado el potencial antimicrobiano de la corteza de la canela contra dos hongos/levaduras (*Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*) y tres

bacterias (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* y *Lactobacillus acidophilus*) responsables de la caries dental. Se encontró una gran actividad antimicrobiana contra los dos hongos, *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*; mientras que frente al *Lactobacillus acidophilus* hubo resistencia²⁴.

Chao *et al*²⁵ y Unlu *et al*¹⁰ investigaron la actividad antimicrobiana del aceite de canela contra 21 bacterias y 4 tipos de cándida, utilizando, para ello, la difusión de discos y el método de la concentración mínima inhibitoria. El aceite mostró un fuerte efecto antimicrobiano contra todos los microorganismos estudiados. Fue altamente efectivo contra las bacterias Gram positivas (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*) y las bacterias Gram negativas incluyendo las *Pseudomonas aeruginosa*^{10,25}.

Respecto a la citotoxicidad del aceite no se obtuvo efecto mutagénico alguno. Tal reacción se evaluó en células sanas y cancerosas, encontrándose inhibición en el crecimiento de ambos tipos de células. Asimismo, la dependencia del fenómeno se dio en función del tiempo de exposición y de la concentración del aceite (24-48 h; 2,5-50 µg/ml, respectivamente)¹⁰. Otros autores, a raíz de investigaciones similares, confirmaron que diversos aceites como el de canela, orégano mexicano, tymol, y el jengibre presentaban una actividad antifúngica contra *Candida sp.*, sensible al fluconazol²⁶.

Ante la relevancia del estudio sobre las propiedades antimicrobianas del aceite de canela, el presente trabajo de investigación tiene como propósito determinar tanto la concentración mínima inhibitoria (CMI) como el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *C. zeylanicum* (canela) sobre *C. albicans* y *S. mutans*. Sin embargo, la finalidad ulterior del mismo, radica en la obtención de un producto económico y útil para la comunidad. Este producto tiene la ventaja de ser natural, de fácil adquisición y de no presentar efectos colaterales en la salud del individuo.

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Lugar de la investigación.- Ambientes de la Sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.2 Técnica de Muestreo

a) Unidad de análisis.- Cada placa petri con las respectivas cepas en estudio a la que se le aplicó diferentes concentraciones de aceite esencial y extracto acuoso de canela.

b) Unidad de muestreo.- La colonia de cada cepa (*C. albicans* ATCC 10231 y *S. mutans* ATCC 25175).

c) Tamaño muestral.- El número de repeticiones se determinó aplicando la fórmula que corresponde a estudios de laboratorio; en la cual se asumió que la variación relativa de los halos de inhibición y/o UFC es igual a la unidad²⁷.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma_{\delta}^2}{\delta^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha/2} = 1,96$ Para un nivel de confianza del 95%

$Z_{\beta} = 0,84$ para una potencia de prueba del 80%

Asumiendo que $\sigma_{\delta}^2/\delta^2 = 1$, y remplazando en la fórmula se obtiene:

$n = 7,84 \approx 8$ repeticiones como mínimo para cada concentración.

Para efecto de este estudio se realizaron 12 repeticiones para cada concentración de los diferentes productos de canela (aceite esencial y extracto acuoso) en la evaluación de la concentración mínima inhibitoria y la concentración antimicrobiana, con la finalidad de lograr mayor nivel de generalización de los resultados de la investigación.

2.3 Método de selección de la muestra

A. Obtención del material biológico

Las cepas se obtuvieron del laboratorio de la sección de

Microbiología de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo:

Cepa *C. albicans* ATCC 10231

Cepa *S. mutans* ATCC 25175

B. Obtención del material botánico

La corteza de *C. zeylanicum* se consiguió en forma particular.

C. Aislamiento, cultivo y estandarización del inóculo.

Cada cepa se diluyó en caldo glucosado estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo # 1 del Nefelómetro de Mc Farland, el cual contuvo 3×10^8 UFC/ml.

D. Procesamiento de los productos de canela

• Obtención del aceite esencial de canela

Para la obtención del aceite esencial de canela, se adquirió 3kg de corteza de canela, se procesó con el equipo tipo Clevenger, mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor¹⁰.

• Obtención del extracto acuoso de canela

Se combinó 100 ml de agua destilada con 50 g de canela, llevándose a ebullición (100°C por 10 minutos) en un recipiente tapado herméticamente. Posteriormente se filtró el agua y se preparó las 5 concentraciones establecidas (0,2mg/ml; 0,4mg/ml; 0,6mg/ml; 0,8mg/ml y 1,0mg/ml), las cuales se almacenaron en frascos de color ámbar estériles.

E. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La concentración mínima inhibitoria, para cada cepa, se determinó por el método de diluciones (5 concentraciones establecidas) y se agregó un grupo control con canela químicamente pura al 100 % igual a 10^3 mg/ml. El caldo glucosado para

todos los tubos de ensayo fue semejante al tubo #1 de Mc Farland.

- En el tubo N° 1 se colocó 0,5ml de la dilución de la cepa en caldo glucosado más 1,0ml del extracto acuoso de canela al 0,2mg/ml.
- En el tubo N° 2 se colocó 0,5ml de la dilución de la cepa en caldo glucosado más 1,0ml del extracto acuoso de canela al 0,4mg/ml.
- En el tubo N° 3 se colocó 0,5ml de la dilución de la cepa en caldo glucosado más 1,0ml del extracto acuoso de canela al 0,6mg/ml.
- En el tubo No 4 se colocó 0,5ml de la dilución de la cepa en caldo glucosado más 1,0ml del extracto acuoso de canela al 0,8mg/ml.
- En el tubo No 5 colocó 0,5ml de la dilución de la cepa en caldo glucosado más 1,0ml del extracto acuoso de canela al 1,0mg/ml.
- En el tubo N° 6 se colocó 0,5 ml de la dilución de la cepa en caldo glucosado más 1,0ml de canela químicamente pura al 100%. Todos los tubos fueron agitados para uniformizar la dilución.

Se utilizó el mismo protocolo al emplear el aceite esencial de canela en sus seis diluciones.

De la misma manera, al trabajar con el grupo de la cepa *S. mutans* se obtuvo 6 tubos con el extracto acuoso y 6 tubos con el aceite esencial de la canela. Para este grupo se empleó el medio Tio Glicolato en vez de caldo glucosado.

Posteriormente los 24 tubos fueron colocados en la estufa a 37°C por 24 horas. A continuación se sembraron 12 placas de cada tubo, utilizando 0,1ml de solución de cada concentración; trabajando con un total de 288 placas. Para dispersar la muestra en cada placa se utilizó el asa de Driglasky.

2.4. Sembrado

Con un hisopo estéril embebido en el tubo con los microorganismos, se sembró en las placas hisopando uniformemente sobre toda la superficie del agar y girando cada placa 30 grados por diez veces aproximadamente. Luego fueron colocadas dentro de la estufa a 37°C de temperatura durante 10 minutos. La cepa de *C. albicans* tuvo como medio el Agar Saburoau y la cepa de *S. mutans* el Agar Sangre.

Con las placas sembradas y los discos de papel de filtro preparados, se procedió a colocar con una aguja estéril 4 discos de papel de filtro en cada placa. Asimismo, se trabajó con 3 de ellas por cada concentración según el grupo de microorganismos (*C. albicans* o *S. mutans*) y las presentaciones de canela (aceite esencial y extracto acuoso).

Las 288 placas fueron colocadas en Jarras Gas Pack. Para ello se utilizó el método de la vela. Inmediatamente, se introdujeron en la estufa a 37°C, por 24 horas. El crecimiento microbiano pudo observarse mediante el conteo de las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml). Durante el proceso se consideró como la CMI, a la menor concentración exenta de UFC/ml. Finalmente se midieron los halos de inhibición de cada concentración, inclusive el área del disco de papel de filtro, con una regla milimetrada.

Tanto la información de conteo de UFC/ml como los datos de los halos de inhibición fueron consignadas en fichas de registro.

2.5. Determinación de la concentración antimicrobiana mínima

Para determinar el efecto antimicrobiano, se utilizó el método de difusión de discos. Las seis concentraciones tanto de extracto acuoso como del aceite esencial de canela fueron conservadas a 4 °C para el estudio microbiológico.

Además se prepararon discos de papel de filtro estériles, los cuales fueron sumergidos, durante 24 horas, dentro de cada una de las concentraciones de los preparados en base al aceite esencial y al extracto acuoso de canela.

2.6. Análisis estadístico

Los datos fueron recolectados en hojas de registro, elaborados en base a los objetivos propuestos y los resultados se presentaron en tablas según concentraciones y números de repeticiones. Para cada nivel de concentración se presentó su promedio a fin de determinar la tendencia de las UFC/ml así como del halo de inhibición según el nivel de concentración (los cuales son presentados en figuras para facilitar su interpretación). Para determinar si existe diferencia significativa entre los promedios de UFC/ml y entre los halos de inhibición, se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y se ordenaron los promedios tras aplicar la prueba de DUNCAN para cada uno de los casos. Si $p < 0,05$; se considera que existe diferencia significativa.

RESULTADOS

Luego de trabajar con 288 placas, para determinar la concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y el efecto antimicrobiano de seis concentraciones tanto de extracto acuoso como de aceite esencial de *C. zeylanicum*, se obtuvieron los siguientes resultados:

- La CMI del aceite esencial y del extracto acuoso de canela fue de 1 mg/ml, obteniendo un crecimiento medio de 107,75 UFC/ml para la *C. albicans*, con un $p=0,00$ (Fig. 1) y de 0,17 UFC/ml para *C. albicans*, con un $p=0,00$ (Fig. 2).
- La CMI del aceite esencial y del extracto acuoso de canela fue de 0,8 mg/ml y 1 mg/ml; respectivamente obteniendo un crecimiento medio de 10,83 UFC/ml para el *S. mutans*, con un $p=0,00$ (Fig. 3) y de 10,83 UFC/ml de crecimiento de *S.*

- mutans*, con un $p=0,00$ (Fig. 4).
- La concentración mínima antimicrobiana del aceite esencial sobre el crecimiento de *C. albicans* fue de 0,6 mg/ml con el que se obtuvo un halo de 2mm, con un $p=0,00$ (Fig. 5). El extracto acuoso, no tubo efecto antimicrobiano

- El aceite esencial y el extracto acuoso del *C. zeylanicum* no tuvieron efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *S. mutans*.

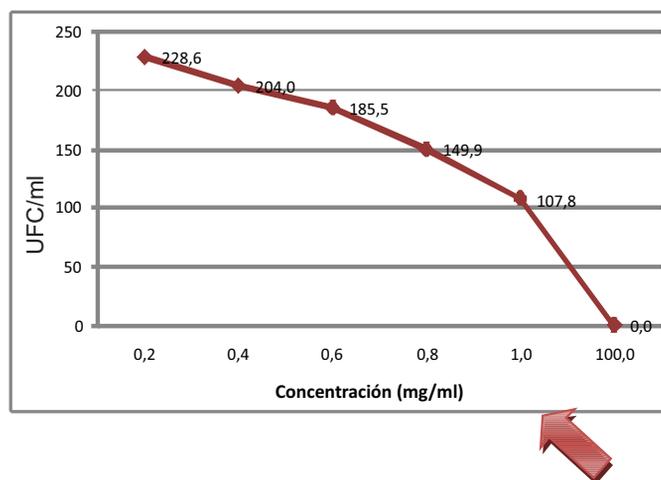


Fig. 1. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto acuoso de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *C. albicans*; *in vitro*. CMI=1mg/ml.

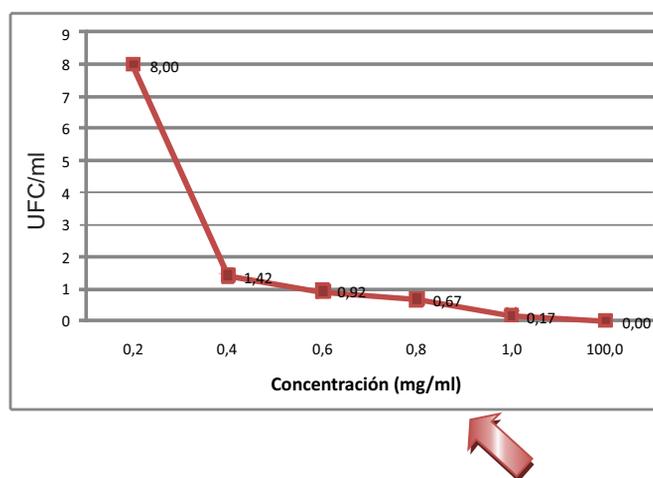


Fig.2 . Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *C. albicans in vitro*.

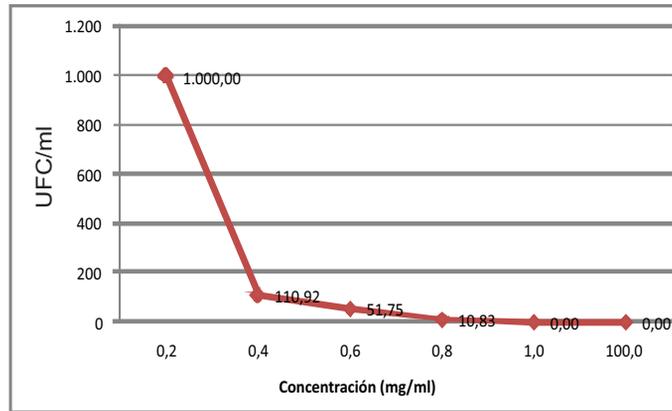


Fig. 3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto acuoso de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *S. mutans*; *in vitro*.

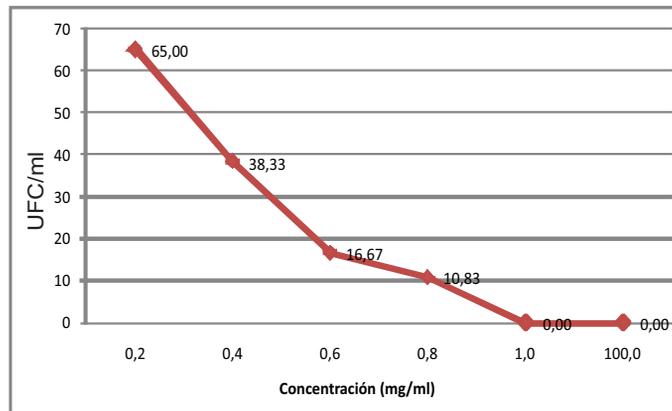


Fig. 4. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *S. mutans*; *in vitro*.

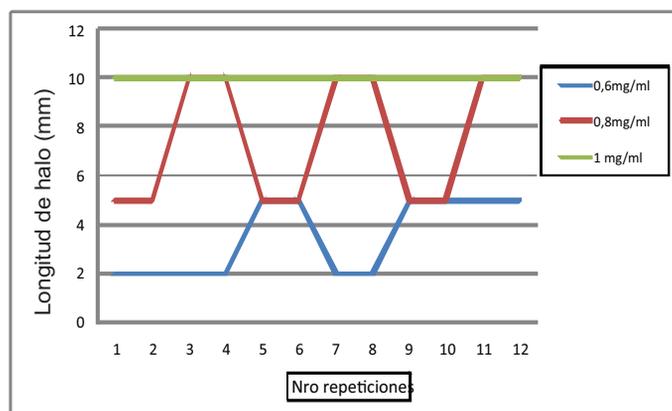


Fig. 5. Evolución de tres halos de inhibición más representativos del aceite esencial de *C. zeylanicu* sobre el crecimiento de *C. albicans*; *in vitro*.



Fig. 6. Halos de inhibición de: A) *C.albicans* en aceite esencial; B) *S.mutans* en aceite esencial y C) *S.mutans* en extracto acuoso.

DISCUSIÓN

Uno de los inconvenientes en el éxito del tratamiento de enfermedades es la resistencia que los microorganismos desarrollan frente al uso de medicamentos convencionales, por lo que surge la necesidad de desarrollar compuestos antimicrobianos con gran actividad y baja toxicidad. Por esta razón, se inician investigaciones en plantas y sus componentes como agentes antimicrobianos potenciales³⁰.

Unlu *et al*¹⁰ demostraron el efecto que presenta la canela sobre los diferentes microorganismos, del mismo modo Walsh *et al*³¹, dando a conocer algunos de sus efectos antimicrobianos. Entre estos destaca el que la canela estimule el aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática del microorganismo, así como la salida de iones de ésta, lo cual provocaría su total inactividad.

En el presente estudio se evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial así como del extracto acuoso de *C. zeylanicum* (canela) sobre el crecimiento de *C. albicans* y del *S. mutans*.

Entre los resultados tenemos que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto acuoso sobre el crecimiento de la *C. albicans* fue de 1 mg/ml, obteniendo un mayor recuento de UFC/ml en las concentraciones más bajas, más en la presentación de canela químicamente pura (10^3 mg/ml) el crecimiento fue nulo, lo que indica que a mayor concentración del compuesto, menor crecimiento de microorganismos.

Por su parte Vinita y Ballal³² obtuvieron resultados similares pero a diferente

concentración, en la que la CMI sobre el crecimiento de *C. albicans* fue de 25 mg/ml, mientras que Netnapi³³ obtuvo una CMI igual a 1,2 µg/ml. Estas diferencias en los resultados podría deberse a que el extracto fue preparado a partir de la hoja del árbol de la canela mientras que en este estudio se utilizó la corteza del mismo. Para el presente estudio la CMI del aceite esencial sobre el crecimiento de *C. albicans* fue de 1 mg/ml, obteniendo como media 0,17 UFC/ml. Mediante el análisis de ANOVA, se obtuvo una diferencia altamente significativa entre los promedios ($p=0,00$); es decir que a mayor concentración del compuesto es menor el crecimiento de la *C. albicans*.

La CMI del aceite esencial y del extracto acuoso de canela sobre el crecimiento de *S. mutans* fue de 0,8 mg/ml y 1 mg/ml respectivamente, obteniendo como media 10,83 UFC/ml para ambos preparados. Mediante el análisis de ANOVA se obtuvo una diferencia altamente significativa entre los promedios ($p=0,000$). Al respecto Khan *et al*¹ encontraron que la CMI del extracto acuoso *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *S. mutans* fue de 195 µg/ml, obteniendo una concentración menor a la trabajada en este estudio.

La concentración mínima antimicrobiana del aceite esencial sobre el crecimiento de *C. albicans* que permitió percibir el mínimo halo de inhibición fue de 0,6 mg/ml, con éste, a su vez, se obtuvo un halo de 2 mm. Mediante el análisis de ANOVA se consiguió una diferencia significativa entre los promedios ($p=0,000$). Khan *et al*¹ muestran valores más

bajos al trabajar con la CMI que con los halos de inhibición, lo cual sugiere que el extracto así como el aceite de *C. zeylanicum* inhiben el crecimiento de los microorganismos (fúngicos y bacterianos) en altas concentraciones. El efecto del extracto acuoso sobre la *C. albicans* fue negativo.

El efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *S. mutans* para ambos compuestos a base de canela fue igualmente negativo. Esto podría deberse a que las bacterias aun son resistentes al no dejar pasar a través de su membrana los componentes tanto del aceite como del extracto.

CONCLUSIONES

Al análisis de los resultados se concluye que a mayor concentración de aceite esencial y del extracto acuoso de *C. zeylanicum* (canela), mayor efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de la *C. albicans* y el *S. mutans*.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial y del extracto acuoso de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *C. albicans*, fue de 1 mg/ml. $p=0,000$.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial y del extracto acuoso de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *S. mutans* fue de 1 mg/ml y 0.8 mg/ml respectivamente con $p=0,000$.

La concentración mínima antimicrobiana del aceite esencial de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento de *C. albicans*; fue de 0,6 mg/ml. $p=0,000$. Por su parte el extracto acuoso no mostró ningún efecto antimicrobiano.

El aceite esencial así como el extracto acuoso de *C. zeylanicum*, no mostraron efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *S. mutans*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Khan R. Antimicrobial Activity of Five Herbal Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus of Clinical Origin. *Molecules*

2009; 14: 586-597.

2. Braga L, Leite A, Xavie K, Takahashi J, Bemquerer M, Chartone-Souza E, Nascimento A. Synergic interaction between pomegranate extracts and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Can. J. Microbiol.* 2005;51: 541-547.
3. Hill A. Botánica Económica Plantas útiles y productos vegetales. 1a edición. Ediciones Omega 1965. 571
4. Kafaru E. Immense help formative workshop. In *Essential Pharmacology*; 1st Ed. Elizabeth Kafaru Publishers: Lagos, Nigeria 1994.
5. Somchit MN, Reezal I, Nur IE, Mutalib AR. In vitro Antimicrobial Activity of Ethanol and Water Extracts of Cassialata. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 84: 1-4.
6. Lee SB, Cha KH, Kim SN. Altantsetseg, S.; Shatar, S.; Sarangerel, O. The Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Dracocephalum foetidum* against Pathogenic Microorganisms. *J. Microbiol* 2007; 45: 53-57.
7. Ooi L, Li Y, Kam Sh, Wang H, Wong E. and Ooi V. Antimicrobial Activities of Cinnamon Oil and Cinnamaldehyde from the Chinese Medicinal Herb *Cinnamomum cassia* Blume. *The American Journal of Chinese Medicine* 2006; 34(3): 511-522
8. Jayaprakasha G y Jagan L Chemistry, Biogenesis, and Biological Activities of *C. zeylanicum*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2011;51(6): 547-562
9. Lee R. and Balick M. Sweetwood-cinnamon and its importance as a spice and medicine. *EXPLORE*. 2005; 1: 61-64.
10. Unlu M, Ergene E, Unlu G, Zeytinoglu H, Vural N. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Food and Chemical Toxicolog.* El Sevier 2010; 48:

- 3274–3280.
11. Aboaba O, Efuwape BM. Antibacterial Properties of Some Nigerian Species. *Bio. Res. Comm.* 2001; 13: 183-188.
 12. Carmo ES, Lima ED, de Souza EL, de Sousa FB. Effect of *Cinnamomum zeylanicum* blume essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic *Aspergillus* species. *Braz. J. Microbiol.* 2008; 39 (1): 91–97.
 13. Yang YC, Lee HS, Lee SH, Clark JM, Ahn YJ. Ovicidal and adulticidal activities of *C. zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *P. humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Int. J. Parasitol.* 2005; 35 (14): 1595–1600.
 14. Fichi G, Flamini G, Zaralli LJ, Perrucci S. Efficacy of an essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* against *Psoroptes cuniculi*. *Phytomedicine.* 2007; 14: 227–231.
 15. Marongiu B, Piras A, Porcedda S, Tuveri E, Sanjust, E, Meli M, Sollai F, Zucca P, Rescigno A. Supercritical CO₂ extract of *Cinnamomum zeylanicum*: Chemical characterization and antityrosinase activity. *J. Agr. Food Chem* 2007; 55 (24): 10022–10027.
 16. Jayaprakasha GK, Negi PS, Jena BS, Jagan Mohan Rao, L. Antioxidant and antimutagenic activities of *C. zeylanicum* fruit extracts. *J. Food Compos* 2007; 20: 330–336.
 17. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Zhiri A, Baudoux D, Idaomar M. Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatments with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS 2006; 606: 27–38.
 18. Chen CY, Liu TZ, Chen CH, Wu CC, Cheng JT, Yiin SJ, Shih MK, Wu MJ, Chern CL. Isoobtusilactone A-induced apoptosis in human hepatoma Hep G2 cells is mediated via increased NADPH oxidase - derived reactive oxygen species (ROS) production and the mitochondria - associated apoptotic mechanisms. *Food Chem. Toxicol* 2007; 45: 1268–1276.
 19. Jacob LS, Flaitz CM, Nichols CM, Hicks MJ. Role of dentinal carious lesions in the pathogenesis of oral candidiasis in HIV infection. *J Am Dent Assoc* 1998; 129(2):187-94
 20. Russell JI, McFarlane TW, Aitchison TC, Stephen KW, Burchell CK. Caries prevalence and microbiological and salivary caries activity tests in Scottish adolescents. *Community Dent Oral Epidemiol* 1990; 18:120-125.
 21. Rego MA, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Effects of oral environment stabilization procedures on counts of *Candida* spp. in children. *Pesqui Odontol Bras* 2003; 17: 322-6.
 22. Cerqueira DF. Examining Dentinal Carious Lesions as a Predisposing Factor for the Oral Prevalence of *Candida* spp. in HIV-infected Children 2007; 74:2.
 23. Seif T. Cariología, prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental. 1ª. Ed. Caracas, Venezuela: Ed. Amolca. 1997: 27-37.
 24. Aneja K, Joshi R, Sharma Ch. Antimicrobial activity of Dalchini (*Cinnamomum zeylanicum* bark) extracts on some dental caries pathogens. *Journal of Pharmacy Research.* 2009; 2(9): 1387-1390.
 25. Chao SC, Young DG, Oberg, C.J. Screening for inhibitory activity of essential oil on selected bacteria, fungi and viruses. *J. Essent. Oil Res* 2000; 12 (5): 639–649.
 26. Pozzatti P, Scheid L, Spader T, Atayde M, Santurio J and Alves S. In vitro activity of essential oils extracted from plants used as spices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida* spp. *Can. J. Microbiol.* 2008; 54: 950–956.
 27. Dawson SB, Trapp RG. Bioestadística

- Médica. 2da. Ed. México. Editorial Manual Moderno. 1999.
28. Sathishkumar M, Sneha K, Won S, Cho C., Kim S, Yun Y. *Cinnamomum zeylanicum* bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Elsevier. 2009; 73: 332–338.
 29. Brooks G, Batel J, Morse S. *Microbiología Médica de Jawest, Meldick y Adelberg*. 16va. Ed. México: el Manual Moderno: 1999
 30. Fani M, Kohanteb J. Inhibitory Activity of Cinnamomum Zeylanicum and Eucalyptus Globulus Oils on Streptococcus Mutans, Staphylococcus Aureus, and Candida Species Isolated from Patients with Oral Infections. *ShirazUnivDent J* 2011;11.
 31. Walsh SE, Maillard JY, Russel AD; Catrenich, C.E.; Charbonneau, A.L.; Bartolo, R.G. Activity and Mechanism of Action of Selected Biocidal Agents on Gram -positive and -negative Bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2003; 94: 240-247.
 32. Vinitha M, Ballal M. In vitro anticandidal activity of *Cinnamomum verum*. *Journal of Medical Sciences*. J. Med. Sci. 2008; 8(4):425-428.
 33. Netnapi K, Somsiri S. Postharvest antifungal activity of extracts and compounds from *Cinnamomum zeylanicum*, *Boesenbergiapandurata* and *Syzygium aromaticum* against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Botryodiplodia theobromae*. *Asian Journal of Food and Agro – Industry*. As. J. Food Ag – Ind 2009: 125-131.

CORRESPONDENCIA:

Cristina Luz Sánchez Barrueto

Dirección: Francisco Lozano No 396

Urb. San Andrés

Teléfono celular: 948319615

E-mail: crilusaba@hotmail.com