

Efecto antimicrobiano del cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Antimicrobial effect of cinnamaldehyde, thymol, eugenol and chitosan on *Streptococcus mutans* strains

María José Erazo Guijarro,^I Felipe Andrés Arroyo Bonilla,^I David Alejandro Arroyo Bonilla,^I Marlon Reinaldo Castro García,^{II} Stalin Gustavo Santacruz Terán,^{II} Ana Del Carmen Armas Vega^{IV}

^I Universidad Central del Ecuador. Ecuador.

^{II} Universidad Laica "Eloy Alfaro de Manabí". Ecuador.

^{III} Universidad Tecnológica Equinoccial. Ecuador.

RESUMEN

Objetivo: evaluar la actividad antimicrobiana de cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano en comparación con clorhexidina al 0,12 % sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Métodos: se realizaron pruebas de susceptibilidad bacteriana de cepas de *Streptococcus mutans* con discos embebidos en eugenol, cinamaldehído, quitosano y timol, al 0,1 y 1 % con un control positivo de clorhexidina al 0,12 % evaluando los halos de inhibición existentes a las 24 h y 48 h.

Resultados: el cinamaldehído al 1 % mostró el mejor poder de control sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* al presentar 19,91 mm y 24,44 mm de halos de inhibición a las 24 h y 48 h, respectivamente, con una diferencia significativa de $p < 0,05$ entre los dos intervalos. Cuando se comparó el cinamaldehído al 1 % con el control positivo de clorhexidina al 0,12 %, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$).

Conclusiones: el cinamaldehído al 1 % tuvo los mejores resultados seguidos por quitosano, eugenol y timol a la misma concentración en comparación con clorhexidina al 0,12 % tanto a la 24 como a la 48 h.

Palabras clave: *Streptococcus mutans*; timol; cinamaldehído; eugenol; quitosano; caries.

ABSTRACT

Objective: to evaluate the antimicrobial activity of cinnamaldehyde, thymol, eugenol and chitosan compared to chlorhexidine-0.12 % on *Streptococcus mutans* strains.

Methods: bacterial susceptibility tests were performed on *S. mutans* strains with disks embedded in eugenol, cinnamaldehyde, chitosan and thymol, at 0.1 % and 1 % with a positive control of 0.12 % chlorhexidine, evaluating existing inhibition zones after 24 and 48 hours.

Results: cinnamaldehyde-1 % showed the best control power over the growth of *S. mutans*, presenting 19.91 mm and 24.44 mm of inhibition halos after 24 and 48 hours, respectively, with a significant difference of $p < 0.05$ between the two intervals. When the cinnamaldehyde-1 % was compared with the positive control of chlorhexidine-0.12 %, no significant differences were found ($p > 0.05$).

Conclusions: cinnamaldehyde-1 % had the best results followed by chitosan, eugenol and thymol in the same concentration compared to chlorhexidine-0.12 % after both 24 and 48 hours.

Keywords: *S. mutans*; thymol; cinnamaldehyde; eugenol; chitosan; caries.

INTRODUCCIÓN

Según la OMS entre el 60 % al 90 % de la población están afectados por caries dental, esta enfermedad bucodental es más frecuente en países latinoamericanos.¹ El *Streptococcus mutans* es el microorganismo con mayor relación en el inicio del desarrollo de caries, observándose una asociación positiva entre el grado de infección por *Streptococcus mutans* y la caries dental.² La caries dental es definida como el conjunto de signos y síntomas producidos por la disolución localizada en la superficie del diente previamente en contacto con placa dental,³ por lo que la reducción o eliminación de *Streptococcus* del grupo mutans de las superficies de los dientes infectados podría dar como resultado un control de caries.⁴

Diferentes productos antibacteriales de origen sintético han sido desarrollados con el objetivo de prevenir la caries dental,^{4,5} sin embargo, en los últimos años el uso de agentes de origen natural sobre numerosas afecciones comunes en la cavidad bucal se ha incrementado por su accesibilidad.⁶ Tal es el caso del timol, componente del aceite esencial extraído del orégano y del tomillo,⁷ con gran potencial antioxidante y antibacterial en concentraciones del 1 % al 2 %, principalmente frente a bacterias grampositivas.⁸

El quitosano por otro lado, es un polímero natural biodegradable, proveniente de los exoesqueletos de crustáceos e insectos, no tóxico, biocompatible y con actividad antimicrobiana. Se ha evaluado su efecto como protector de infecciones producidas por algunos patógenos,⁹ observándose una buena actividad antifúngica y antibacteriana.¹⁰⁻¹²

El cinamaldehído es un componente del aceite esencial proveniente de la canela,^{13,14} su efecto antimicrobiano se ha evaluado en la prevención de plagas para la preservación de cosechas.¹⁵ Otro componente de los aceites esencial de uso

probado en odontología es el eugenol,¹³ proveniente del clavo de olor y posee un efecto antiséptico y anestésico.¹⁶ La acción antibacteriana de estos compuestos se atribuye a una acción a nivel de la membrana celular que desencadena su disrupción, mediante el aumento de la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos efectos produce la muerte en la célula bacteriana.¹⁷⁻¹⁹

Tomando *S. mutans* como uno de los patógenos relacionados más estrechamente con la caries dental, y que en el mercado existen diferentes sustancias de uso comercial con efecto antibacteriano para control del desarrollo de estos microorganismos, se diseñó el presente estudio microbiológico *in vitro* para evaluar la actividad antimicrobiana de cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano en comparación con clorhexidina al 0,12 % sobre cepas de *S. mutans*. Para ello se empleó la técnica microbiológica de cuantificación de halos de inhibición.

MÉTODOS

CULTIVO MICROBIOLÓGICO

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, observacional y experimental, para evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales en el Laboratorio de Ingeniería en Alimentos de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Ecuador. Siguiendo las normas técnicas y de bioseguridad para procedimientos de susceptibilidad antimicrobiana,²⁰ y previa autorización de un Comité de Ética de Investigación reconocido, se preparó el inóculo con cepas puras de *S. mutans* ATCC35668, microorganismos que fueron adquiridos desde Minnesota, USA Laboratorio Microbiologics. Las cepas liofilizadas fueron activadas en caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth C5141 Criterion) y fueron sembradas en cajas Petri con 20 mL de medio de cultivo agar sangre de cordero e incubadas a 37 °C durante 48 h. Una vez activados los microorganismos en estudio, se prepararon suspensiones con las alícuotas correspondientes.

SOLUCIONES USADAS

Las soluciones de aceites esenciales fueron obtenidas de la Universidad Pública de Navarra (Pamplona). Todos los extractos de timol, eugenol, quitosano y cinamaldehído se ajustaron a concentraciones de 0,1 % y 1 %, mientras que la solución de clorhexidina se ajustó a una concentración de 0,12 %. Todas las soluciones fueron almacenadas en un ambiente aséptico hasta su uso en el análisis microbiológico de sensibilidad.

RECUPERACIÓN DE LA VIABILIDAD DE LAS CEPAS

Antes de comenzar con el experimento se rehidrataron las cepas liofilizadas en caldo Brain Heart (Infusion BHI Broth C5141 Criterion). Se incubaron en estufa a 37 °C, por 48 h en un ambiente microaerófilo para su reproducción. Se replicó cada cepa en una placa de agar sangre, finalmente por cada cepa se preparó una suspensión bacteriana al 0,5 Mc Farland.

Para la evaluación de la capacidad reproductora de las cepas, se realizaron lecturas de absorbancia a 625 nm de longitud de onda a 24 h y 48 h de incubación, verificando que la medida de absorbancia obtenida fuera directamente proporcional a la concentración de los microorganismos presentes. Las lecturas se realizaron en un equipo de medición de absorbancia marca Jenway 6320D. Para poder correlacionar la medida de absorbancia con la concentración de microorganismos, se utilizó un patrón 0,5 Mac Farland que representa una concentración conocida de microorganismos la cual es de $1,5 \times 10^8$ UFC. En las lecturas se incluyó un pozo blanco que contenía caldo BHI virgen; esta lectura fue restada a las lecturas realizadas para eliminar la absorbancia procedente del caldo BHI.

Para evaluar la sensibilidad de *S. mutans* a los aceites esenciales como control microbiano, se empleó el método de difusión en agar según la técnica estandarizada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).²¹ Se depositaron 20 μ L de cada sustancia proveniente de los aceites esenciales, eugenol, cinamaldehído y timol al 0,1 y 1 % de concentración, así como la clorhexidina al 0,12 % en discos de papel filtro (Fisher Scientific Q2) de 5 mm de diámetro. Posteriormente, estos se colocaron a 3 mm equidistantes en cada placa que contiene el medio inoculado con *S. mutans* a analizar. Las placas inoculadas se incubaron a una temperatura de 37 °C durante 2 días. Se midieron los halos de inhibición del crecimiento bacteriano en (mm) a las 24 h y 48 h; la evaluación se realizó por triplicado, siguiendo metodologías preestablecidas.²²

ANÁLISIS DE DATOS

Se describió la variable principal con medidas de tendencia central (medias y desviación estándar), posteriormente se hizo el análisis bivalente comparando las medias con la prueba de Kruskal Wallis y Mann-Whitney, previa evaluación de la normalidad de la distribución de las medias con la prueba de Shapiro Wilk. Se aceptó una $p < 0,05$ para considerar la significancia estadística (95 % de confiabilidad). Los datos recolectados fueron procesados mediante programa estadístico SPSS.

RESULTADOS

Los halos de inhibición de crecimiento bacteriano a las 24 h fueron mayores con las concentraciones al 1 % de las sustancias estudiadas. La media del halo de inhibición para cinamaldehído fue de 19,9 mm, seguido del quitosano con 17,0 mm, el eugenol con 15,9 mm y el timol 15,3 mm, mientras que las cepas expuestas a clorhexidina al 0,12 % mostraron una inhibición de 12,0 mm. Con las concentraciones al 0,1 % de los aceites esenciales se obtuvieron medias de 9,1 y 8,4 mm para el cinamaldehído y el quitosano, respectivamente (Fig.).

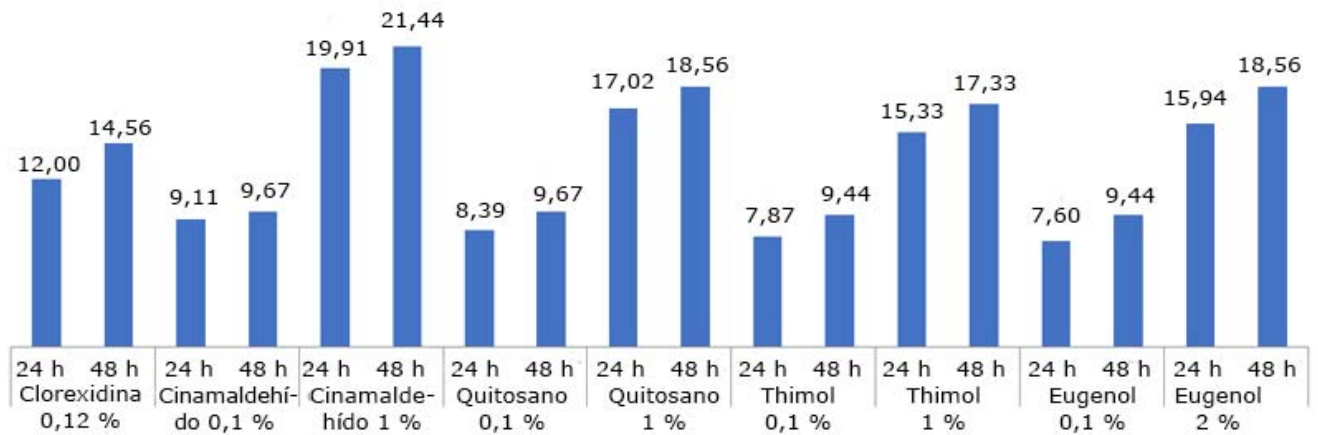


Fig. Comparación de medidas de los halos de inhibición a las 24 y 48 h.

A las 48 h los aceites esenciales al 1 % produjeron medias de halos de inhibición de 21,4 mm para el cinamaldehído, 18,6 mm para el quitosano y eugenol y 17,3 mm para timol, mientras que las cepas expuestas a clorhexidina por 48 h mostraron una inhibición de 14,6 mm. En cuanto a las concentraciones de 0,1 % de los aceites esenciales el cinamaldehído y el quitosano produjeron una media de halo de inhibición de 9,7 mm y el eugenol y el timol de 9,4 mm. Cuando se comparó el efecto antibacteriano de los aceites esenciales a diferentes concentraciones en relación con el control positivo de clorhexidina al 0,12 % no se encontró diferencia significativa, $p > 0,05$ (tabla).

Tabla. Relación del efecto antibacteriano de aceites esenciales con la clorhexidina

Sustancia 1-Sustancia 2	Estadístico de prueba	Estándar error	Desviación Estadístico de prueba	Valor p
TML 0,1 %-CHX 0,12 %	26,33	10,92	2,41	0,57
EGN 0,1 %-CHX 0,12 %	26,33	10,92	2,41	0,57
CMLD 0,1 %-CHX 0,12 %	22,44	10,92	2,05	1,00
QTS 0,1 %-CHX 0,12 %	21,33	10,92	1,95	1,00
TML 1 %-CHX 0,12 %	-12,55	10,92	-1,14	1,00
QTS 1 %-CHX 0,12 %	-18,72	10,92	-1,71	1,00
EGN 1 %-CHX 0,12 %	-19,77	10,92	-1,81	1,00
CMLD 1 % -CHX 0,12 %	-30,88	10,92	-2,82	0,16

TML: timol, CHX: clorhexidina, EGN: eugenol, QTS: quitosano, CMLD: cinamaldehído

DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la actividad antibacteriana de diferentes aceites esenciales en concentraciones de 0,1 % y 1 % sobre cepas de *S. mutans* a las 24 h y 48 h; el mejor efecto antibacteriano fue obtenido por parte del cinamaldehído en los dos tiempos con la prueba de halos de inhibición. Aunque se encontró un efecto antibacteriano mayor que el control positivo de clorhexidina al 0,12 %, no se

demostró diferencia significativa entre ninguno de los aceites esenciales a diferentes concentraciones en comparación con el control positivo.

Dentro de los procesos de enfermedad bucal, la caries es una de las afecciones ampliamente distribuidas en el mundo,¹ debido a su multietimología, donde tiempo, huésped, dieta y microorganismos se encuentran inmiscuidos²³ y se crea una enorme dificultad en su control, de ahí la necesidad de que existan agentes que permitan mantener en número y potencial reducido los microorganismos responsables de la caries dental. En este sentido la clorhexidina ha mostrado gran utilidad como agente de inhibición del crecimiento de *S. mutans* como un control por ser sustancia antimicrobiana de elección en odontología²⁴ por lo que en el presente estudio fue empleada como una sustancia de control positivo.

El timol es un componente del aceite esencial de orégano que en concentraciones entre 1 % y 2 % presenta gran potencial antimicrobiano contra bacterias grampositivas y en menor nivel sobre bacterias gramnegativas.⁸ Esta información coincide con el presente estudio ya que se observó un efecto inhibitorio sobre *S. mutans* que son cocos grampositivos, sin embargo, el mayor poder inhibitorio se encontró en el cinamaldehído al 1 % tanto a las 24 h como a las 48 h. Asimismo el efecto antimicrobiano del quitosano al ser un polímero natural biodegradable, proveniente de los exoesqueletos de crustáceos e insectos, no tóxico, presenta un amplio espectro de aplicaciones;²⁵ su actividad antifúngica, antibacterial²⁶ y anticancerígena ha sido reportada en diversos estudios⁹ y comprobada en el presente estudio.

El cinamaldehído es un componente del aceite esencial proveniente de la canela,^{13,14} con un efecto antimicrobiano probado en Odontología,^{15,27} al igual que el eugenol proveniente del clavo de olor.¹³ Chaudhari y otros²⁴ de igual manera mostraron que el aceite esencial proveniente de la canela, obtuvo mejores resultados de halos de inhibición sobre cepas de microorganismos, en comparación con el aceite esencial de clavo de olor. El efecto antimicrobiano se asocia a la actividad a nivel de la membrana celular produciendo un aumento de la permeabilidad que se traduce en la fuga de iones así como la pérdida de otros contenidos celulares, incluyendo las proteínas intracelulares lo cual resulta en la muerte celular.^{17,18} Considerando la actividad antimicrobiana de aceites esenciales del cinamaldehído y clavo de olor en diferentes bacterias, se encontraron una mayor zona de inhibición por el cimaldehído, seguido de la clorhexidina y el aceite clavo de olor sobre cepas de *S. mutans*; es evidente que el empleo de estas sustancias puras poseen un mejor desempeño en la inhibición del crecimiento de microorganismos en relación con soluciones diluidas del mismo componente.²⁸ Sin embargo, en el presente estudio se decidió trabajar con concentraciones de 1 % y 0,1 % similares a las empleadas en estudios, considerando la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano sobre bacterias patógenas del tracto gastrointestinal;⁹ por otro lado, las concentraciones al 1% de componentes activos se han empleado en otros estudios²⁹ en los que se utilizaron productos de uso dental como barnices fluorados con el timol, enjuagues bucales con aceites esenciales,³⁰ y productos con eugenol,³¹ en los cuales se ha reportado un efecto antimicrobiano.

De la misma manera se puede señalar sobre el análisis de las sustancias en los dos tiempos de evaluación (24 h y 48 h) en los que fue evidente el mejor desempeño del cinamaldehído al 1 % en los dos periodos de tiempo; de esta manera pese a los incontables efectos benéficos que la clorhexidina posee,⁶ la pigmentación en las superficies dentales cuando su uso es prolongado es una de sus principales limitaciones.³² En este sentido los aceites esenciales resultan más exitosos, por lo que se establece con ello la necesidad de ejecutar evaluaciones posteriores en

tiempos prolongados o quizá sobre otros microorganismos o inclusive plantear futuros estudios *in vivo* involucrando al cinamaldehído y su efectividad en el control de caries.

En las condiciones que este estudio fue desarrollado es factible concluir que el cinamaldehído al 1 % tuvo los mejores resultados inhibitorios seguidos por quitosano, eugenol y timol a la misma concentración en comparación con clorhexidina al 0,12 % tanto a las 24 h como 48 h.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bulletin of the World Health Organization*. 2005;83(9):661-9.
2. Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and dental caries. *CES Odontología*. 2013;26(1):44-56.
3. Fejerskov O, Kidd E. *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Tunbridge Wells: Wiley; 2015.
4. Evans A, Leishman S, Walsh L, Seow W. Inhibitory effects of antiseptic mouthrinses on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus acidophilus*. *Australian Dental Journal*. 2015;60(2):247-54.
5. Walsh T, Oliveira-Neto JM, Moore D. Chlorhexidine treatment for the prevention of dental caries in children and adolescents. *The Cochrane Library*. 2015;4:1-63.
6. Martha S, Salazar M, Medina JMJ, Quiñonez BJ, Salas EJ, Paredes LEU. Evaluación in vitro del efecto de extractos de *Aloe vera* sobre *Streptococcus mutans*. *Acta Bioclínica*. 2014;4(8):3-19.
7. Dunn LL, Davidson PM, Critzer FJ. Antimicrobial Efficacy of an Array of Essential Oils Against Lactic Acid Bacteria. *Journal of food science*. 2016;81(2):438-44.
8. Jouki M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Koocheki A. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*. 2014;36:9-19.
9. Valencia GA. Efecto antimicrobiano del quitosano: Una revisión de la literatura. *Revista Scientia Agroalimentaria*. 2015;2:32-8.
10. Tan W, Li Q, Dong F, Wei L, Guo Z. Synthesis, characterization, and antifungal property of chitosan ammonium salts with halogens. *International journal of biological macromolecules*. 2016;92:293-8.

11. Kulatunga D, Dananjaya S, Godahewa G, Lee J, De Zoysa M. Chitosan silver nanocomposite (CAGNC) as an antifungal agent against *Candida albicans*. *Medical Mycology*. 2016;00(00): 1-10.
12. Liu Y, Ji P, Lv H, Qin Y, Deng L. Gentamicin modified chitosan film with improved antibacterial property and cell biocompatibility. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;98:550-6.
13. de León R, Cáceres I, Vargas RC, Muñoz ES, Muñoz Castellanos LN, Ochoa LH. Antifungal Activity in vitro of the Aqueous Extracts of Spice's Against *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* and *Aspergillus niger*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2013;31(2): 105-12.
14. Verastegui A, Fukushima M, editors. Observaciones preliminares del efecto de la canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y clavo de olor (*Eugenia caryophyllata*) en el crecimiento de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis* spp.), bajo condiciones de laboratorio. *Anales Científicos*; 2009;70(4):73-80.
15. Maqbool M, Ali A, Alderson PG, Mohamed MTM, Siddiqui Y, Zahid N. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. *Postharvest biology and technology*. 2011;62(1):71-6.
16. Sharma UK, Sharma AK, Pandey AK. Medicinal attributes of major phenylpropanoids present in cinnamon. *BMC complementary and alternative medicine*. 2016;16(1):156.
17. Devi KP, Nisha SA, Sakthivel R, Pandian SK. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of ethnopharmacology*. 2010;130(1):107-15.
18. Filgueiras CT, Vanetti MCD. Effect of eugenol on growth and listeriolysin O production by *Listeria monocytogenes*. *Brazilian archives of biology and technology*. 2006;49(3):405-9.
19. Trombetta D, Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristani M, Daniele C, et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005;49(6):2474-8.
20. Clinical, Institute LS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2009.
21. Standards NCCL. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests; Approved Standards M2-A12. 12th ed. Wayne, Pa: NCCLS; 2015.
22. Cáceres Rueda de León I, Colorado Vargas R, Salas Muñoz E, Muñoz Castellanos LN, Hernández Ochoa L. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos acuosos de especias contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2013;31(2):105-12.

23. Ferraro M, Vieira AR. Explaining gender differences in caries: a multifactorial approach to a multifactorial disease. *International Journal of Dentistry*. 2010;2010:1-6.
24. Chaudhari LKD, Jawale BA, Sharma S, Kumar HSM, Kulkarni PA. Antimicrobial activity of commercially available essential oils against *Streptococcus mutans*. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 2012;13(1):71-4.
25. Costa E, Silva S, Tavaría F, Pintado M. Study of the effects of chitosan upon *Streptococcus mutans* adherence and biofilm formation. *Anaerobe*. 2013;20:27-31.
26. Fernandes JC, Eaton P, Gomes AM, Pintado ME, Malcata FX. Study of the antibacterial effects of chitosans on *Bacillus cereus* (and its spores) by atomic force microscopy imaging and nanoindentation. *Ultramicroscopy*. 2009;109(8):854-60.
27. Choi O, Cho SK, Kim J, Park CG, Kim J. *In vitro* antibacterial activity and major bioactive components of *Cinnamomum verum* essential oils against cariogenic bacteria, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2016;6(4):308-14.
28. Gupta C, Kumari A, Garg AP. Comparative study of cinnamon oil and clove oil in some oral microbiota. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*. 2012;82(3):197-9.
29. Flamee S, Gizani S, Caroni C, Papagiannoulis L, Twetman S. Effect of a chlorhexidine/thymol and a fluoride varnish on caries development in erupting permanent molars: a comparative study. *European Archives of Paediatric Dentistry*. 2015;16(6):449-54.
30. Vlachojannis C, Chrubasik-Hausmann S, Hellwig E, Al-Ahmad A. A preliminary investigation on the antimicrobial activity of Listerine®, its components, and of mixtures thereof. *Phytotherapy Research*. 2015;29(10):1590-4.
31. Pramod K, Aji Alex M, Singh M, Dang S, Ansari SH, Ali J. Eugenol nanocapsule for enhanced therapeutic activity against periodontal infections. *Journal of Drug Targeting*. 2016;24(1):24-33.
32. López MdICT, Álvarez MD, Morales AA. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en la estomatología. *Gaceta Médica Espirituana*. 2009;11(1).

Recibido: 23 de abril de 2017.
Aprobado: 11 de julio de 2017.

David Alejandro Arroyo Bonilla. Universidad Central del Ecuador. Ecuador. Correo electrónico: davidxyz4@hotmail.com