

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Programa Macro de Investigación**

SEMINARIO DE GRADUACIÓN

Alternativas no tradicionales para el control del biofilme dental

Subtema

Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucales a partir de diente de león (*Taraxacum officinale*), moringa (*Moringa oleifera*) y salvia (*Salvia officinalis*)

Investigadora principal

Dra. Natalia Ballester Barquero

Colaboradores asociados

Dra. Eugenia Madrigal Gutiérrez

Dr. Norman Rojas Campos

Sustentantes del Seminario de Graduación

Angélica Arce Muñoz

B30534

Pamela Arias Navarro

B30622

Silvia Martínez Jiménez

B34026

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio Brenes, Costa Rica

San José, Costa Rica

2019

HOJA DE APROBACIÓN MEMORIA
SEMINARIO DE GRADUACIÓN

Nombre del proyecto:

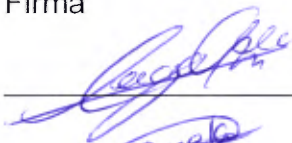
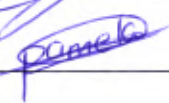
Alternativas no tradicionales para el control del biofilme dental

Subtema:

Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucales a partir de diente de león (*Taraxacum officinale*), moringa (*Moringa oleifera*) y salvia (*Salvia officinalis*)

Sustentantes

Fecha: 25 de noviembre de 2019

Nombre	Carné	Firma
Angélica Arce Muñoz	B30534	
Pamela Arias Navarro	B30622	
Silvia Martínez Jiménez	B34026	<u>Silvia Martínez</u>

Miembros del tribunal

Nombre:

Firma:

Natalia M^o Ballesteros Barquero
Karel Ramirez Chan
Juno Muello Knudsen
Mauricio Martero Aguilar
Carlos E Filloy

Natalia M^o Ballesteros Barquero.
Karel Ramirez Chan
Juno Muello Knudsen
Mauricio Martero Aguilar
Carlos E Filloy

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Vicerrectoría de Investigación
Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información (SIBDI)

Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de trabajos finales de graduación (TFG) en el acervo digital del Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información de la Universidad de Costa Rica (SIBDI-UCR).

Los abajo firmantes, en su condición de autores del Trabajo Final de Graduación: **Alternativas no tradicionales para el control del biofilme dental. Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucales a partir de diente de león (*Taraxacum officinale*), moringa (*Moringa oleifera*) y salvia (*Salvia officinalis*)**

AUTORIZAMOS de forma gratuita al SIBDI-UCR, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital del SIBDI-UCR y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accesado según lo que el SIBDI defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. Los autores del TFG, garantizan al SIBDI-UCR que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su Título, que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Lic., Licda. _____ # cédula _____
Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____
Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____
Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____
Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____
Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Para uso interno. Número de tesis: _____

Dedicatoria

En primer lugar, dedico este proyecto a Dios, que con todo su amor y misericordia me permitió comenzar este largo viaje, tomó mi mano y dirigió mis pasos en cada momento, en cada caída me sujetó con fuerza para levantarme y en cada victoria se mantuvo a mi lado, recordándome celebrar la vida sin perder de vista mis prioridades.

Le agradezco de todo corazón a mi familia, en especial a mis padres Melber y Leticia. Gracias por enseñarme el valor del esfuerzo y el trabajo, gracias por motivarme a pesar de las dificultades. Principalmente, gracias por darme la posibilidad convertir mi sueño de toda la vida en una meta y por confiar en mis decisiones. Este logro se los debo completamente a ustedes.

Deseo realizar una dedicatoria especial a mi novio, Andrés, quien desde su experiencia como estudiante y profesional en odontología me ha acompañado y aconsejado en los momentos que una persona ajena a la carrera no podría entender. Gracias por tanto amor, paciencia y consideración.

Por último, gracias a esos amigos que he tenido la oportunidad de conocer en la carrera, el Coro Universitario UCR y la vida en general. Gracias por todo su cariño y aprendizajes juntos.

Angélica Arce Muñoz

Primeramente, agradezco a Dios por ayudarme en cada paso de la carrera, por no permitirme desfallecer en los momentos más complicados y levantarme cuando sentía que no podía más, por darme fortaleza para seguir adelante y no renunciar nunca a mi sueño de infancia y mostrarme el camino cada día.

También, agradezco infinitamente a toda mi familia que estuvo y está incondicionalmente para mí. Gracias por creer en mí y apoyarme cuando decidí estudiar odontología, alentándome a esforzarme cada vez más en el estudio y en la vida, enseñándome que uno nunca se rinde por más difícil que sea la situación. Sin ustedes no estaría donde estoy en este momento.

A mis amigos y compañeros, que de una u otra forma me han apoyado y alentado a seguir adelante, preocupándose cómo me ha ido en estos años y de vez en cuando dándome un respiro del estrés y preocupaciones de la carrera. Gracias Dios por ponerlos en mi camino.

Pamela Arias Navarro

El presente proyecto de graduación lo dedico con todo mi amor a Dios y a mi familia. Sin duda alguna, el tiempo de Dios es perfecto y no puedo más que agradecer por todas las bendiciones que el Señor me ha regalado a lo largo de toda mi vida, siempre presente en cada momento y mostrándome de diversas maneras que Él tiene el control sobre mi vida.

A mis papás por todo su esfuerzo, sacrificio y apoyo brindado a lo largo de toda mi carrera universitaria. Por haberme brindado la gran oportunidad de poder estudiar y ser una profesional para construir mi propio futuro. En especial a mi mamá, que ha sido mi mayor sostén en días buenos y no tan buenos, por creer en mí y en mi capacidad, pero sobre todo por siempre incitarme a dar lo mejor de mí en todo momento.

A mis hermanas, Guisia y Sophia, por ser mi mayor orgullo, motivación e inspiración en momentos difíciles, por siempre brindarme palabras de aliento para no dejarme vencer y seguir luchando a pesar de las dificultades encontradas durante este camino.

A mis compañeros y amigos, por compartir conmigo conocimiento, alegrías y tristezas; gracias por ser parte de este proceso.

Silvia Martínez Jiménez

Reconocimientos

Un agradecimiento especial a la Doctora Natalia Ballester Barquero, por su apoyo, su guía, su tiempo y su paciencia durante todos estos meses de investigación. A la doctora Eugenia Madrigal Gutiérrez, gracias por acompañarnos en este camino.

Al Doctor Norman Rojas Campos, por su disposición para apoyar nuestra investigación desde su campo, y a la Sección de Bacteriología Médica de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica por la realización de las pruebas *in vitro*.

Corrección filológica

Inscrito, Ministerio de Hacienda:
45210000187
Fecha: 05-11-2019

San José, 5 de noviembre del 2019

Universidad de Costa Rica
Comisión Evaluadora de Trabajos Finales

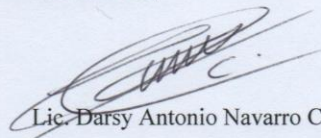
Facultad de Odontología
Programa Macro de Investigación

Estimados señores:

Las estudiantes, Angélica Arce Muñoz con carné B30534; Pamela Arias Navarro, B30622 y Silvia Martínez Jiménez, B34026, me han presentado, para efectos de corrección filológica, el trabajo de investigación denominado: **Alternativas No Tradicionales para el Control del Biofilme Dental Sustancias alternativas con acción antibacteriana para la desinfección de cavidad;** *Subtema: Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de desinfectantes de cavidades a partir de diente de león (Taraxacum officinale), moringa (Moringa oleifera) y salvia (Salvia officinalis), el cual elaboraron para optar por el grado académico de Licenciatura.*

He revisado, de acuerdo con los lineamientos de la corrección de estilo señalados por la Universidad de Costa Rica, los aspectos de estructura gramatical, acentuación, ortografía, puntuación y los vicios de dicción, que se trasladan al escrito, además, he verificado que se realizaron todas las correcciones indicadas en el documento. Por consiguiente, doy fe de que este trabajo (Seminario de Graduación) se encuentra listo para ser presentado oficialmente ante la Universidad.

Atentamente,



Lic. Darsy Antonio Navarro Corrales

Correo electrónico: darsy.navarro@ucr.ac.cr
Teléfono: 8752-6671

Tabla de contenidos

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación	2
1.2 Planteamiento	3
1.3 Objetivos del estudio	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Antecedentes	5
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	6
2.1 Inocuidad y reacciones adversas de los productos de higiene oral	7
2.1.1 Efectos adversos asociados con el digluconato de clorhexidina	8
2.1.2 Efectos adversos asociados a la pasta dental con fluoruro	10
2.1.3 Efectos adversos asociados con el triclosán	11
2.1.4 Alergia por contacto oral	12
2.1.5 Diabetes	14
2.1.6 Cáncer oral	15
2.2 Enjuagues bucales registrados en Costa Rica	16
2.3 Criterios del Ministerio de Salud para la inscripción y el registro sanitario de enjuagues y productos de higiene bucodental en Costa Rica	19
2.4 Generalidades del diente de león	33
2.4.1 Taxonomía	33
2.4.2 Nombre científico	34
2.4.3 Sinónimos	34
2.4.4 Nombres vulgares	34
2.4.5 Origen	34
2.4.6 Historia	34
2.4.7 Características	35
2.4.8 Usos en la medicina popular	36
2.4.9 Evidencia científica de actividad antimicrobiana	38

2.5 Generalidades de la moringa	40
2.5.1 Taxonomía	40
2.5.2 Nombre científico.....	40
2.5.3 Sinónimos.....	40
2.5.4 Nombres vulgares.....	41
2.5.5 Origen	41
2.5.6 Historia.....	41
2.5.7 Características	42
2.5.8 Usos en la medicina popular.....	44
2.5.9 Evidencia científica de actividad antimicrobiana y fungicida	45
2.6 Generalidades de la salvia.....	46
2.6.1 Taxonomía	46
2.6.2 Nombre científico.....	46
2.6.3 Sinónimos.....	46
2.6.4 Nombres vulgares.....	47
2.6.5 Origen	47
2.6.6 Historia.....	47
2.6.7 Características	47
2.6.8 Usos en la medicina popular.....	48
2.6.9 Evidencia científica de actividad antimicrobiana.....	48
3.1 Obtención de las sustancias por evaluar	54
3.1.1 Obtención del extracto de raíz de diente de león.....	54
3.1.2 Obtención del aceite esencial de moringa.....	55
3.1.3 Obtención del aceite esencial de salvia.....	56
3.2 Ensayo de actividad antibacteriana.....	57
CAPÍTULO IV DESARROLLO	60
4.1 Resultados	61
4.2 Discusión	62
4.3 Conclusiones.....	75
4.4 Recomendaciones.....	76
CAPÍTULO V PARTE FINAL	78

5.1 Cronograma de actividades del seminario	79
5.2 Factores facilitadores / obstáculos y dificultades.....	89
5.3 Bitácora.....	90
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
ANEXOS	110
APÉNDICES.....	119

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Enjuagues bucales registrados en Costa Rica	123
Figura 2. Enjuagues bucales en Costa Rica: compuestos y excipientes	124
Figura 3. Placas de Petri posterior a las pruebas de actividad antibacteriana en agar sangre	132
Figura 4. Promedio del diámetro medido de la capa de inhibición de las sustancias utilizadas en el estudio	132

Índice de abreviaturas

<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>A. tumefaciens</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>B. cereus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>
Consejo de Ministros de Integración Económica	COMIECO
Digluconato de clorhexidina	CHX
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>M. luteus</i>
Ministerio de Salud	MS
<i>Moringa oleífera</i>	<i>M. oleifera</i>
Organización Mundial de la Salud	OMS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. typhi</i>
<i>Salvia officinalis</i>	<i>S. officinalis</i>
<i>Streptococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>S. mutans</i>
<i>Taraxacum officinale</i>	<i>T. officinale</i>

Resumen

Las disbiosis orales tienen un origen multifactorial, se reconoce que microorganismos como el *Streptococcus mutans* tienen un papel importante en el desarrollo de cambios relacionados con la pérdida del equilibrio en la microbiota oral. A pesar de los esfuerzos de los profesionales en odontología por mantener a este microorganismo en un estado compatible con salud, educar a la población sobre el cuidado dental y elaborar materiales dentales, es todo un reto lograr la antisepsia segura con el menor grado de resistencia antimicrobiana en la cavidad bucodental. Es por ello que se encuentra en mayor auge la implementación de sustancias alternativas, por ejemplo, productos extraídos de distintas plantas para aprovechar diversas propiedades de estas.

Debido a lo anterior, este proyecto de graduación tiene como fin dar continuidad a las investigaciones de proyectos desarrollados desde el 2012 en la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica, sobre la capacidad antibacteriana de sustancias naturales contra de *Streptococcus mutans*.

En esta investigación se comparará el halo de inhibición producido por el digluconato de clorhexidina al 0.12 % frente a tres productos naturales: un extracto de diente de león y dos aceites esenciales a partir de la moringa y la salvia; esto en beneficio de ser utilizadas por la población, en el futuro, dentro de una fórmula para enjuague bucal.

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación

El uso de alternativas con productos naturales, como las plantas para uso cosmético, estético e higiene, ha aumentado en los últimos años, por lo cual, se están realizando más estudios sobre las propiedades que contienen dichas sustancias para su utilización, por ejemplo, la capacidad antimicrobiana, ya que por el alto consumo de antibióticos los microorganismos van creando cada vez más resistencia, por lo que no hay eficacia en los tratamientos (1).

Las disbiosis bucales son provocadas en gran parte por bacterias, deficiencia de salud bucodental y la presencia de altas cantidades de carbohidratos en la dieta. En general, se considera que su origen es multifactorial (2).

Para la prevención de enfermedades bucales, como por ejemplo la caries dental, se han creado los enjuagues bucales, cuya función es inhibir el crecimiento de bacterias que afecten la cavidad bucal, son coadyuvantes en el tratamiento dental y en el mantenimiento de una buena salud bucodental. Su acción antibacteriana se basa en la presencia de ciertos principios activos que no permiten la adherencia bacteriana en la superficie dental, por lo que se detiene o rechaza la proliferación de las bacterias (3).

Debido a esto, es importante investigar las propiedades de las plantas como el diente de león, la moringa y la salvia, ya que podrían ser una alternativa natural con un efecto antimicrobiano, con el fin de evitar el uso de compuestos que no producen las acciones requeridas y que además afectan al organismo.

1.2 Planteamiento

En la actualidad, se ha puesto en vigencia la utilización de sustancias naturales como alternativas para la fabricación de distintos materiales en diferentes campos de la salud; esto debido a características que poseen ciertos componentes de los extractos y aceites esenciales de las plantas, como por ejemplo actividad antibacteriana.

En la rama de la odontología, se han utilizado sustancias químicas antisépticas en productos de enjuagues bucales que no son realmente inocuos. Estos productos son comúnmente utilizados en la clínica y por la población en general. Es por ello que, se ha dado gran importancia a la búsqueda de alternativas naturales que sustituyan dichos compuestos químicos y sintéticos presentes en los enjuagues bucales, por componentes extraídos de las plantas y que posean propiedades tales como actividad antimicrobiana y biocompatibilidad; además, que no presente efectos adversos contra la salud de las personas.

En esta investigación, el enfoque va dirigido al estudio del extracto y aceites esenciales de tres plantas. Esto con el fin de valorar una acción antibacteriana entre sus derivados contra el *S. mutans* comparable con el digluconato de clorhexidina al 0.12 %.

De acuerdo a lo mencionado, se pretende resolver la siguiente interrogante: ¿Presenta el extracto del diente de león y los aceites esenciales de la salvia y la moringa poder antiséptico contra *S. mutans* para la elaboración de enjuagues bucodentales?

1.3 Objetivos del estudio

1.3.1 Objetivo general

Investigar la capacidad antibacteriana del diente de león (*Taraxacum officinale*), la moringa (*Moringa oleifera*) y la salvia (*Salvia officinalis*) con el fin de ser utilizados como alternativa natural para el enjuague bucal.

1.3.2 Objetivos específicos

1.3.2.1 Conocer sobre la inocuidad de los productos de higiene oral y posibles reacciones adversas debido a su utilización para la población que los utiliza.

1.3.2.2 Citar los diferentes enjuagues bucales registrados en Costa Rica para explicar la manera en que se clasifican y los criterios del Ministerio de Salud para la inscripción y el registro sanitario de enjuagues y productos de higiene bucodental.

1.3.2.3 Describir las características botánicas del diente de león (*Taraxacum officinale*), la moringa (*Moringa oleifera*) y la salvia (*Salvia officinalis*) descritos en la literatura para conocer sus posibles propiedades antibacterianas.

1.3.2.4 Comparar el extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*), del aceite esencial de salvia (*Salvia officinalis*) y del aceite esencial de moringa (*Moringa oleifera*), contra digluconato de clorhexidina al 0.12 % en placas de Petri, para determinar la capacidad antibacteriana de las mismas contra el *Streptococcus mutans*.

1.4 Antecedentes

Históricamente se han empleado distintas sustancias químicas antisépticas que continúan en uso. Sin embargo, por su composición no son enteramente inocuos. Es por ello que, desde el año 2012, profesores y estudiantes de la Licenciatura en Odontología de la Universidad de Costa Rica realizan proyectos de investigación enfocados en determinar propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales y otros extractos obtenidos de distintas plantas, con el fin de valorar su efectividad al utilizarlas en la inhibición de bacterias presentes en la cavidad oral en contraste con compuestos químicos y sintéticos que se utilizan en la práctica clínica (4).

En el año 2016, se estudió la actividad antibacteriana del rábano y el sésamo, sin embargo; la efectividad de ambas plantas fue menor al de la sustancia control: el digluconato de clorhexidina. Además, ninguna de las dos plantas mostró efecto antibacteriano contra *S. mutans* (5).

La información encontrada por la investigación de los aceites esenciales de distintas plantas provee mayor interés para el clínico, en cuanto a la posibilidad de encontrar nuevas alternativas de agentes de origen natural que se introduzcan en la odontología actual, que sean compatibles con los tejidos blandos y duros de la cavidad bucal. Si dichos materiales antimicrobianos naturales se logran obtener, el clínico contará con más alternativas de uso, que sean mejor toleradas por las personas y el complejo bucodentomaxilofacial.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Inocuidad y reacciones adversas de los productos de higiene oral

Los productos de higiene oral orientados al control químico del biofilme dental pueden provocar diferentes tipos de reacciones adversas dependiendo de su forma de empleo y el sujeto que los utilice. Por esta razón para recomendar una sustancia con este fin el odontólogo debe analizar cada caso según el control mecánico del biofilme dental, el estado dental y gingival de la persona, las condiciones sistémicas adicionales, las aplicaciones y los efectos adversos conocidos de tales productos de higiene oral (6).

Lo ideal en cualquier sustancia utilizada en el organismo humano es que no produzca ningún resultado distinto al propósito para el cual fue creado, en otras palabras, que dicha sustancia sea inocua.

La Real Academia Española define Inocuo como: “que no hace daño” (7). Sin embargo, en el idioma español este término está asociado principalmente a la inocuidad alimentaria, tal como se explica en la página web de la Organización Mundial de la Salud, al señalarse que la inocuidad de los alimentos busca garantizar la seguridad máxima alcanzable en los alimentos (8).

En el idioma inglés el término *Harmessless* (inocuidad) se define según el Diccionario de Oxford como “la calidad de ser incapaz o tener poca probabilidad de causar perjuicio o daño” (9). Este término en idioma inglés tiene un uso más flexible y no se reduce en su mayoría al área alimentaria.

Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud indica que, cualquier sustancia capaz de producir un efecto terapéutico, también es capaz de producir efectos no deseados o efectos adversos (10).

Según la OMS, una reacción adversa a un fármaco es “una respuesta a una droga que es nociva e involuntaria, y ocurre a dosis normalmente utilizadas en el hombre para la profilaxis, diagnóstico o terapia de enfermedad, o para modificar la función fisiológica” (10), y esta definición no se debe confundir con los términos “efecto tóxico” y “efecto secundario”.

Un efecto tóxico se define como la exageración del efecto terapéutico deseado, y no es común bajo dosis normales. Por otra parte, según la OMS un efecto secundario está relacionado con las propiedades farmacológicas de un fármaco, puede estar directamente relacionado con la dosis o no, y puede ser negativo o puede ser beneficioso (10).

A continuación, se describirá las reacciones adversas a productos de higiene oral encontradas en la literatura.

2.1.1 Efectos adversos asociados con el digluconato de clorhexidina

Este compuesto ha sido ampliamente utilizado en medicina general y odontología como un agente antiséptico, además, tiene actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas tanto aerobias como anaerobias, levaduras, hongos, entre otros. Por esta razón el digluconato de clorhexidina se ha utilizado como antiséptico pre y post operatorio al 5% en la

limpieza de heridas o desinfectante de las superficies, al 2 % como desinfectante, y como colutorio al 0.12 % (6).

En pacientes sensibilizados, se han reportado reacciones alérgicas severas (anafilaxia), cuando es usado para la desinfección de la piel, principalmente durante procedimientos en los cuales las personas se encontraban bajo anestesia (general o local). Otros individuos exhibieron signos de reacción alérgica menores como prurito, urticaria y formación de vesículas (11).

Con respecto al uso del digluconato de clorhexidina como enjuague bucal, se describen algunos efectos adversos asociados al uso prolongado de esta (más de 22 días): las coloraciones extrínsecas pardas de los dientes, materiales restaurativos y lengua, la alteración del gusto y la erosión de la mucosa, principalmente por el uso de enjuagues con alta concentración del compuesto (más de 0.2 %) (6) (12); incluso en un estudio algunos participantes refirieron una sensación leve de ardor (13). Se recomendó utilizar la menor concentración posible y prolongar la medicación durante un período corto.

En casos más aislados se referenció hinchazón de la parótida asociado con el uso de CHX (6), y en otros casos se reportó sensación de anestesia a corto plazo asociado con el uso de enjuague de clorhexidina fluorada (12). Estos casos se mencionan únicamente en estudios clínicos y no son estadísticamente significativos en las revisiones bibliográficas.

El digluconato de clorhexidina al 0.12 % también se utiliza en conjunto con ácido hialurónico, un glicosaminoglicano de alto peso molecular presente en distintos fluidos del organismo, y es el mayor componente de la matriz extracelular de los tejidos mineralizados y no mineralizados (14). Este componente es un mediador de las respuestas inflamatorias, y por esta razón se combina con el CHX en enjuagues, principalmente para casos de periodontitis (15). Según varias revisiones bibliográficas realizadas en 2015 y 2017, no se han encontrado efectos adversos asociados con el uso del ácido hialurónico en los enjuagues bucales (14) (15).

2.1.2 Efectos adversos asociados a la pasta dental con fluoruro

El fluoruro se encuentra dentro de los ingredientes activos de las cremas dentales, también se adiciona tanto a fuentes de agua potable como a la sal de consumo humano, ya que demostró ser efectivo en el control de la caries dental. Sin embargo, un excesivo consumo del flúor entre uno y cinco años de edad (coincidente con la formación de los dientes permanentes) podría provocar fluorosis dental (16).

Según Murillo y Berrocal la fluorosis dental se presenta como resultado de la sumatoria de todas las fuentes posibles de consumo de flúor, principalmente agua fluorada, sal y otros (17), es decir, exposición sistémica al químico.

La exposición tópica (en este caso de la crema dental) no aumenta el riesgo que el paciente presente fluorosis; sin embargo, si la persona ingiere la pasta

dental se da una exposición sistémica. Es usual en niños la ingestión del dentífrico porque no tienen la habilidad de expulsar la pasta dental, además en algunos casos tienen gusto por ingerirla (16).

En el caso de una crema dental con concentración de 1000 a 1500 ppm (concentración promedio de las pastas dentales familiares) se debe utilizar una capa ligera de pasta dental sobre el cepillo para un niño menor a 2 años, y de los 2 a 6 años de edad utilizar una cantidad del tamaño aproximado al de un guisante verde (18).

2.1.3 Efectos adversos asociados con el triclosán

El triclosán es un antiséptico con propiedades antiinflamatorias empleado tanto en pastas dentales como en enjuagues bucales (6); dicho componente tiene la ventaja de no inducir resistencia en algunas bacterias orales. A pesar de su efectividad, se ha puesto en tela de juicio la seguridad de su uso.

En una revisión sistemática se compararon diversos estudios sobre los efectos adversos asociados con el triclosán, y lo único que se ha logrado demostrar en humanos es que podría causar reacciones alérgicas (19).

En estudios *in vitro* e *in vivo* se encontró que el triclosán podría alterar funciones metabólicas y celulares, y así sería posible que induzca cáncer, sin embargo, esta información no ha sido respaldada con estudios clínicos (20).

Ante los cuestionamientos y con el objetivo de disminuir la probabilidad de efectos secundarios producidos por el triclosán, se recomienda indicar a las

personas el uso de una pasta dental con fluoruro en lugar de con triclosán, ya que no hay ventajas significativas encontradas entre una y otra (20).

2.1.4 Alergia por contacto oral

Corresponde a una reacción alérgica de tipo IV o mediada por células T, por lo cual antígenos específicos sensibilizan a los linfocitos T y causan liberación de mediadores inflamatorios. Su prevalencia es difícil de estimar por la falta de reportes médicos y la dificultad para diagnosticar esta condición con precisión (21).

Diferentes materiales utilizados en el consultorio dental se asocian con la aparición de la alergia por contacto oral, y algunos de los componentes relacionados con el inicio de la reacción alérgica se encuentran en productos de higiene oral. Dentro de estos componentes se enlistan agentes saborizantes como canela, menta, menta verde e incluso mezclas de fragancias, las cuales son ingredientes que con frecuencia contienen los enjuagues bucales y las cremas dentales (21).

Según estudios son los saborizantes los componentes que se encuentran asociados con mayor frecuencia a las reacciones alérgicas intraorales (19). Además, se relacionan también ingredientes activos propios de cremas dentales como propilenglicol, parabenos, lauril sulfato de sodio y triclosán (21).

La presentación clínica de este tipo de reacción alérgica dificulta su diagnóstico ya que los signos clínicos observados no son patognomónicos y

pueden presentarse por distintas causas. Las personas pueden presentar edema, eritema, descamación y ulceración tanto en gíngiva como en lengua y mucosa oral de revestimiento (21); también pueden experimentar: queilitis, gingivitis, fisuras en bermellón labial, vesículas periorales y estomatitis (19, 22).

Por otra parte, los síntomas que se reportan con frecuencia en estos casos incluyen: dolor, alteración del gusto, compromiso de la función masticatoria o del habla y disminución de su calidad de vida (21, 23); con menor frecuencia pueden referir: dolor de cabeza, dispepsia, artralgia o mialgia; sin embargo, estos últimos no son síntomas específicos para una reacción alérgica (23).

Al identificar cambios en la mucosa oral, el clínico debe complementar sus hallazgos con una historia médica detallada, en la cual se indaguen datos sobre los signos y síntomas del paciente que faciliten el diagnóstico, tanto para identificar la presencia de una reacción alérgica como para identificar el componente que la provoca (23). El diagnóstico presuntivo se debe complementar con exámenes de sangre, pruebas histopatológicas o pruebas dermatológicas. Posterior a la confirmación del diagnóstico es importante sustituir el producto de higiene oral utilizado por uno que no contenga el alérgeno identificado; adicionalmente los síntomas pueden ser tratados con corticosteroides tópicos o anestesia, para disminuir el malestar mientras se elimina el alérgeno del organismo (21).

2.1.5 Diabetes

En un estudio realizado en el año 2017 se asoció el uso frecuente de enjuagues bucales con un incremento en el riesgo de desarrollar prediabetes o diabetes (24). La hipótesis en la cual se basó este estudio se formuló a partir de la vía de reducción del nitrato inorgánico (NO_3), el cual tiene diferentes vías para reducirse hasta monóxido de nitrógeno (NO), y una de estas vías es por medio de bacterias que se encuentran en la cavidad oral (25).

Existen alimentos con alto contenido de NO_3 , principalmente vegetales; por medio de bacterias reductoras del NO_3 que se encuentran en la cavidad oral, se realiza una reducción a NO_2 y posteriormente a NO , el cual es un potente vasodilatador. El mismo se relacionó mediante algunos estudios con una disminución de la presión arterial en personas normotensas y jóvenes (25).

Por otra parte, la biodisponibilidad reducida de NO se asocia con el desarrollo de resistencia a la insulina en experimentos con animales, y la evidencia respalda la hipótesis que el NO también tiene un papel importante en la regulación del metabolismo energético (26).

El estudio realizado por Joshipura *et al.* en el año 2017 analizó a 945 sujetos, y después de 3 años se encontró un riesgo significativamente mayor de desarrollar prediabetes o diabetes en personas que utilizaran enjuague bucal antimicrobiano 2 o más veces al día, con respecto a personas que lo utilizaran una vez al día o no utilizaran enjuague bucal (24).

En dicho estudio se encontraron distintas falencias, principalmente porque entre los sujetos analizados había una alta prevalencia de obesidad, prediabetes y periodontitis. Otras limitaciones dentro del estudio fueron: la falta de información sobre los componentes y el modo de empleo de los enjuagues bucales utilizados por los pacientes, y la falta de demostración cuantitativa de la biodisponibilidad de NO (26). Es necesario el desarrollo de investigaciones que resuelvan estas deficiencias para tener un panorama más claro con respecto a la relación entre el uso de enjuagues bucales y el desarrollo de diabetes.

2.1.6 Cáncer oral

Según Thomas, existe un debate en los resultados encontrados en los estudios a través de los años con respecto a la posible relación entre los enjuagues bucales que contienen alcohol y el cáncer oral. Se dificulta la correlación entre ambos debido a la presencia de múltiples factores que también están relacionados con el cáncer, como el fumado. No obstante, la mayoría de los estudios realizados a largo plazo encuentran una relación entre el uso de enjuagues bucales con alcohol y el cáncer oral (27).

En 2016 se menciona que, a pesar de no encontrarse una relación causa-efecto entre los enjuagues con contenido de alcohol y el cáncer oral, sí hay una evidencia epidemiológica que demuestra un aumento en el riesgo de cáncer oral relacionado con el contenido de alcohol y la frecuencia de su uso (28).

Lo anterior no se limitó solamente al cáncer oral, sino que se analizaron mediante uno de los estudios de mayor extensión, la relación entre el cáncer del tracto aerodigestivo superior con el uso de enjuagues bucales y factores de cuidado oral. Se encontró un aumento del riesgo de cáncer del tracto aerodigestivo superior tanto por el uso frecuente de enjuague bucal con contenido de alcohol (3 o más veces al día) como por una deficiente higiene oral (29).

2.2 Enjuagues bucales registrados en Costa Rica

En Costa Rica se comercializan gran cantidad de enjuagues bucales de diferentes marcas, compuestos y excipientes. Los enjuagues que están debidamente registrados con los permisos necesarios son 31 marcas distintas, de la cuales cada una cuenta con diferentes tipos enfocados en problemas o necesidades específicas para cada consumidor. Mayoritariamente, se clasifican como enjuagues bucales cosméticos, de los cuales la minoría son elaborados con base en productos naturales (30).

Hay un grupo de enjuagues que son hechos en Costa Rica propiamente (30), los cuales son:

- Enjuague bucal 5 elementos sabores; natural, manzanilla, eucalipto, menta, romero, canela, clavo de olor, hierbabuena, frutal, herbal, anís, ruibarbo, vainilla, cítrico, de olor, árbol de té, lippia y manzanilla.
- Enjuague bucal Ancla.
- Enjuague bucal Vaporaseptic con flúor.

- Germex enjuague bucal.
- Oralmune enjuague bucal: se compone de beta glucan soluble β GS® 2.5 mg, mentol, esencia saborizante de menta piperita, d-sorbitol, cloruro de sodio, benzoato de sodio, sacarina de sodio y beta glucan soluble.
- Oxident - enjuague bucal.
- Sanite-enjuague bucal (con acción antibacterial, sanitizante y microbicida).

Otras marcas que no son muy reconocidas en el mercado y por lo cual no hay mucha información de sus componentes son: Ultra Action enjuague bucal, enjuague bucal antiséptico Apro, Disney enjuague bucal fragancias: avengers, cars, spiderman, frozen, minnie 5, minnie hh, enjuague bucal Clinic sabor menta color azul, enjuague bucal menta fresca Famicare, Mint mouthwash - enjuague bucal de menta, MisterMint enjuague bucal (menta - yerbabuena), Original Antiseptic Mouth Rinse - enjuague bucal antiséptico original, Spring Mint Antiseptic Mouth Rinse - enjuague bucal antiséptico menta primaveral, Whiten & Restore Mouthrinse - enjuague bucal blanquea y restaura, Amalfi Dent: dientes sensibles, ultra fresh, menta, Bilka Dent: cuidado de encías y expert proteccion periodontal, Bilka Homeopathy: toronja homeopathy, enjuague bucal para niños 6+ y Vaporaseptic con flúor (30).

Entre las marcas más conocidas de enjuagues bucales y con más información se encuentran Amway Glister concentrado con fórmula antiplaca, Clorhexident con digluconato de clorhexidina al 0.12 %; Colgate, la cual es una de

las marcas dominantes en el mercado, y tiene los tipos Duraphat anticaries con base de fluoruro (473 mL), Orthogard, Sensitive pro-alivio (50 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL, 2000 mL), Total 12 aliento saludable (antibacterial), Total 12 clean mint (antibacterial), Total 12 reparación diaria (antibacterial), Luminous White, Plax, en sus variantes: ice infinity, ice glacial, ice fusion cold mint, ice fusion winter mint y Zero alcohol Colgate plax whitening; estos tipos comparten compuestos base, pero se diferencian entre ellos de acuerdo al objetivo principal del enjuague, por ejemplo el enjuague sensitive pro-alivio contiene arginina para disminuir la sensibilidad dental (30).

Además, se encuentran las marcas Eludril Activ con base en clorhexidina digluconato y clorobutanol hemihidrato, Equate de 2 tipos; antiséptico menta y menta azul, IA triple acción, Just herbal sanícula melisa basado en compuestos naturales, Kin con su amplia gama de enjuagues como Cariax desensibilizante sabor a menta, Cariax gingival sabor a menta, Flúor-kin calcium, Flúor-kin anticaries diario menta, Flúor-kin infantil sabor fresa, B5, Kin care, Kin enjuague bucal, Fresh, Ortho kin fresa mentolada, Ortho-kin sabor a menta, Perio kin, Sensi kin y Whitekin. Otras marcas son Listerine Cool mint antiséptico y Whitening extreme, Oddent B5, Desensibilizante, Flúor diario, Flúor infantil, Gingival y Ortho (30).

La otra marca dominante que existe en el mercado de Costa Rica es la Oral-B, que tiene muchos tipos de enjuagues enfocados en diferentes necesidades, los cuales son Complete Menta Refrescante – Hierbabuena, 3d

White, Blanqueador 3d white luxe, Pro-salud menta fresca, Pro-salud noche, Complete menta refrescante, Pro-salud clinical protection menta refrescante, Complete blancura menta original, Complete blancura menta refrescante, Complete hierbabuena, Complete menta, Pro-salud multiprotección, Pro-salud sensi-soft y Complete + Blancura Versiones: Menta Refrescante, Menta Original. Por último, se encuentra la marca Tebodont con árbol de té como componente principal (30).

2.3 Criterios del Ministerio de Salud para la inscripción y el registro sanitario de enjuagues y productos de higiene bucodental en Costa Rica

El Ministerio de Salud de Costa Rica es el ente encargado de establecer condiciones y requisitos bajo las cuales se otorga el registro e inscripción sanitaria de los productos utilizados en el territorio nacional. Básicamente dichas pautas aplican a personas naturales, es decir, esta persona es responsable de las obligaciones de una empresa por sí misma, o jurídicas, esto es, una empresa es la encargada de asumir dichas obligaciones; y se dedican a la producción o importación de productos terminados (31).

Los enjuagues bucales se categorizan dentro de estos productos como cosméticos, ya que son conocidos para efectos de dicha norma, como un subgrupo de medicamentos y productos afines, pero es importante mencionar que algunos enjuagues bucales medicados por el odontólogo, en razón de su composición y atribución de propiedades terapéuticas, se deben registrar como medicamento; por lo cual, el proceso de inscripción y registro sanitario en el

Ministerio de Salud difiere. Los requisitos para su registro en caso de ser catalogados como cosméticos se describen en la normativa centroamericana, en la Resolución 231-2008, aprobada por el COMIECO el 26 de junio del 2008 (31).

El COMIECO se encarga de llevar a cabo asuntos de la integración económica centroamericana, por lo tanto, le corresponde aprobar los actos administrativos del subsistema económico; es por esto que los Estados de la región pertenecientes a este Consejo tienen como compromiso constituir una Unión Aduanera entre sus territorios, esto básicamente de manera progresiva, llevando a cabo programas orientados a los objetivos en común. Según el decreto de la norma del MS, dichos objetivos están relacionados con las buenas prácticas de manufactura para los laboratorios fabricantes de productos cosméticos; registro e inscripción sanitaria de productos cosméticos; etiquetado de productos cosméticos; verificación de calidad de productos cosméticos; y, reconocimiento del registro o inscripción sanitaria de productos cosméticos (31).

En el anexo 2 de la Resolución 231-2008 (COMIECO-L) se detalla el Reglamento Técnico Centroamericano para el registro e inscripción sanitaria de productos cosméticos en Costa Rica. El objetivo de esta resolución es instaurar condiciones y requisitos bajo los cuales se otorgará el registro o inscripción de los productos cosméticos para su comercialización dentro del territorio nacional. El campo de aplicación de la norma en cuestión es para los Estados parte del COMIECO (31).

En el anexo respectivo a la Resolución 231-2008 se citan definiciones importantes para la comprensión y realización del proceso que involucra la norma; estas son:

- Etiquetado: es la información obligatoria incluida en la etiqueta, rótulo, imagen u otra materia descriptiva o gráfica que se haya escrito, impreso, estarcido, marcado en relieve, que se adhiere o incluye en el envase de un producto cosmético.
- Fabricación alterna: es la fabricación de un mismo producto, con la misma fórmula, etiquetado, presentaciones, especificaciones y condiciones de fabricación bajo el mismo titular en dos o más plantas de fabricación, sean estas en el mismo o diferente país. Los productos fabricados bajo esta condición, mantendrán el mismo número de registro.
- Producto cosmético: es toda sustancia o preparado destinado a ser puesto en contacto con las diversas partes superficiales del cuerpo humano (epidermis, sistemas piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas bucales, con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto y/o corregir los olores corporales y/o protegerlos o mantenerlos en buen estado.
- Profesional responsable: es el profesional responsable del trámite de registro o inscripción sanitaria de acuerdo a la legislación de cada país.

- Registro o inscripción sanitaria: es el proceso mediante el cual la Autoridad Sanitaria autoriza la comercialización de un producto cosmético con base en la solicitud que se presenta, acompañada de la documentación requerida para su evaluación, registro estadístico y posterior vigilancia.
- Representante legal: es aquella persona física o jurídica designada por el titular del cosmético, a través de un poder legalizado, que responde ante la autoridad reguladora.
- Sustancias prohibidas: son aquellas sustancias que no pueden formar parte de la composición de productos cosméticos.
- Sustancias restringidas: son aquellas que podrán contener los productos cosméticos bajo las restricciones y condiciones establecidas.

En cuanto a disposiciones para el registro e inscripción propiamente dichas de los enjuagues bucales catalogados como productos cosméticos, se detallan a continuación los requisitos impuestos según la normativa que rige actualmente. Es importante mencionar que toda la documentación debe presentarse en idioma español y en caso que posean otro idioma se requiere su respectiva traducción oficial (31). Los requisitos son:

1. Solicitud de registro o inscripción sanitaria.
2. Certificado de Buenas Prácticas de Manufactura o documento de autorización de fabricación debidamente legalizado, emitido por la autoridad reguladora o autoridad competente o entidad autorizada del país fabricante.

3. Poder a favor del representante legal. Si el documento es otorgado en el extranjero, este debe ser legalizado.
4. Fórmula cualitativa completa indicando las cantidades de las sustancias restringidas, emitida por el fabricante y avalada con la firma y sello del profesional responsable del registro.
5. Especificaciones del producto terminado extendidas por el laboratorio fabricante.
6. Empaques originales o sus proyectos legibles. No se aceptan fotocopias.
7. Comprobante de pago de derecho a trámite de registro o inscripción sanitaria, el cual contempla también la vigilancia sanitaria.

En cuanto a la solicitud de registro referente al producto cosmético como tal (31), se solicitan los siguientes requisitos:

1. Datos del producto: nombre comercial del producto, forma cosmética, presentación(es) del producto.
2. Datos del fabricante: nombre, dirección y país de origen, teléfono, fax y correo electrónico.
3. Datos del importador o distribuidor: nombre, dirección, país, teléfono, fax y correo electrónico.
4. Datos del profesional responsable: nombre, profesión, dirección, teléfono, fax y correo electrónico.

5. Número de inscripción en el organismo regulador (cuando aplique).
6. Firma y sello del profesional responsable.
7. Datos del representante legal de la empresa registrante del producto: nombre, dirección, teléfono, fax y correo electrónico.
8. Datos de la empresa registrante del producto: nombre o razón social, dirección, teléfono, fax y correo electrónico.
9. Datos del titular: nombre, dirección y país de origen, teléfono, fax y correo electrónico.

En el caso de realizarse alguna modificación del producto posterior al registro o inscripción sanitaria, la empresa o persona interesada debe efectuar una solicitud adjuntando ciertos requisitos para tramitar los cambios (31). Ejemplo de estos son:

Cambio de fabricante:

- Solicitud de modificación firmada por el profesional responsable.
- Certificado de registro o inscripción sanitaria en original o justificación de la no presentación firmada por el representante legal de la empresa registrante o titular.
- Certificado de Buenas Prácticas de Manufactura o documento de autorización de fabricación debidamente legalizado, emitido por la autoridad reguladora o autoridad competente o entidad autorizada del país fabricante.

- Empaques originales o proyectos. No se aceptan fotocopias.
- Recibo de pago por concepto del trámite de modificación.

Cambio de titular:

- Solicitud de modificación firmada por el profesional responsable
- Documento legal que avale el cambio.
- Certificado de registro o inscripción sanitaria en original o justificación de la no presentación firmada por el representante legal de la empresa registrante o titular.

- Empaques originales o proyectos. No se aceptan fotocopias.
- Recibo de pago por concepto del trámite de modificación.

Cambio de formulación:

- Solicitud de modificación firmada por el profesional responsable.
- Certificado de registro o inscripción sanitaria en original o justificación de la no presentación firmada por el representante legal de la empresa registrante o titular.

- Empaques originales o proyectos. No se aceptan fotocopias.
- Recibo de pago por concepto del trámite de modificación.

Cambio de razón social del fabricante o titular:

- Solicitud de modificación firmada por el profesional responsable.

- Documento legal que avale el cambio.
- Certificado de registro o inscripción sanitaria en original o justificación de la no presentación firmada por el representante legal de la empresa registrante o titular.
- Empaques originales o proyectos. No se aceptan fotocopias.
- Recibo de pago por concepto del trámite de modificación.

Cambio de nombre del producto:

- Solicitud de modificación firmada por el profesional responsable.
- Certificado de registro o inscripción sanitaria en original o justificación de la no presentación firmada por el representante legal de la empresa registrante o titular.
- Empaques originales o proyectos. No se aceptan fotocopias.

Adición de una planta alterna de fabricación:

Es importante mencionar que los cambios descritos anteriormente aplican siempre y cuando el producto sea del mismo titular y mantenga la misma fórmula, presentación y etiquetado, de esta manera en el Ministerio de Salud otorga el mismo número de registro sanitario para la comercialización (31).

Para el otorgamiento se deben de presentar los siguientes requisitos:

1. Solicitud de modificación firmada por el profesional responsable.

2. Declaración jurada del representante legal en la que se indique que el mismo tiene la misma fórmula, presentación y etiquetado.

3. Recibo de pago por concepto del trámite de modificaciones.

4. Empaques originales o proyectos. No se aceptan fotocopias.

5. Certificado de registro original o justificación de la no presentación firmada por el representante legal de la empresa registrante o titular.

6. Certificado de Buenas Prácticas de Manufactura o documento de autorización de fabricación debidamente legalizado, emitido por la autoridad reguladora o autoridad competente o entidad autorizada del país fabricante.

7. Cambio en el empaque o en las presentaciones: solicitud de modificación firmada por el profesional responsable y empaques originales o proyectos. No se aceptan fotocopias.

Se menciona además que si los documentos del producto se encuentran vigentes no es necesario presentar toda la documentación nuevamente, bastará con indicar el número de dictamen o la sede en la que se ubican. La vigencia de los documentos es de un plazo de 5 años a partir del otorgamiento de los permisos antes mencionados (31).

En el momento de acercarse a la caducidad del plazo de vigencia de los documentos de los productos cosméticos, se debe efectuar un trámite para la renovación del registro o inscripción sanitaria; este debe realizarse con anticipación a la caducidad del mismo (31). Los requisitos son los siguientes:

1. Solicitud de renovación firmada por el profesional responsable
2. Declaración jurada del representante legal, autenticada por un notario que manifieste el mantenimiento de las condiciones originales con las que se otorgó el registro o inscripción sanitaria.
3. Comprobante del pago de derecho a trámite de renovación del registro o inscripción sanitaria, el cual contempla también la vigilancia sanitaria.

En cuanto a enjuagues y productos de higiene bucodental catalogados como productos medicados o terapéuticos, se debe realizar una solicitud de registro sanitario en el cual se presentará al MS un expediente de solicitud en forma completa. Es importante señalar que todo certificado requerido debe estar vigente en el momento de su presentación ante el Ministerio. Toda la información en los documentos presentados, para cualquier trámite relacionado con el registro sanitario de un producto farmacéutico, debe tener carácter de declaración jurada (32). El expediente de solicitud de registro debe cumplir el siguiente formato:

Según el artículo 27 de Resolución 231-2008, se deben entregar los documentos originales en un fólder, el cual deberá contar con una prensa adecuada al grosor de la documentación, hojas debidamente numeradas, iniciando dicha numeración en la última página del mismo (de atrás hacia adelante) (32). El orden del expediente es el señalado a continuación, cada documento deberá presentarse con divisiones o portadas que indiquen su contenido:

1. Formulario de solicitud de registro sanitario.
2. Índice.
3. Poder a favor del representante legal. Si el documento es otorgado en el extranjero, éste debe ser legalizado.

4. Monografía, la cual debe incluir lo siguiente:

- . Nombre genérico y concentración del producto farmacéutico.
- . Forma farmacéutica.
- . Denominación Común Internacional (DCI) del principio activo.
- . Farmacología clínica.
- . Indicaciones.
- . Contraindicaciones.
- . Precauciones y advertencias.
- . Interacciones.
- . Efectos adversos.
- . Dosis y administración.
- . Recomendación en caso de sobredosificación.
- . Abuso y adicción (cuando aplique).
- . Fecha de revisión de la monografía.
- . Referencias bibliográficas completas.

5. Certificado de Buenas Prácticas de Manufactura: de todos los laboratorios que participan en el proceso de fabricación del producto farmacéutico.

6. Certificado de Libre Venta o Certificado de Producto Farmacéutico tipo OMS.

7. Fórmula cuantitativa y cualitativa completa del producto farmacéutico: incluyendo la declaración y justificación de los excesos del principio activo.

8. Métodos de análisis: referencia de los métodos de análisis del producto farmacéutico.

9. Validación de métodos de análisis.

10. Especificaciones de calidad del producto farmacéutico.

11. Estabilidad.

12. Equivalencia terapéutica, si aplica.

13. Contrato de fabricación a terceros, si aplica.

14. Boleta oficial del comprobante de pago del derecho de trámite, registro y control sanitario.

15. Etiquetado o proyectos de etiquetado.

16. Información relativa a seguridad y eficacia, si aplica.

17. Declaración jurada emitida ante notario público sobre patentes de producto o de procedimiento relacionadas con el producto a registrar.

18. Declaración jurada emitida ante notario público e información sobre los datos de prueba.

Para productos farmacéuticos que contienen principios activos no comprendidos en la formulación de un producto registrado previamente en Costa Rica (32):

- En caso de productos que contengan entidades químicas no comprendidas en la formulación de un producto previamente registrado:

- . Informes concluyentes de los resultados de los estudios preclínicos.
- . Informes concluyentes de los resultados de los estudios clínicos fases I, II y III.

- En caso de los productos farmacéuticos que contienen entidades químicas incluidas en productos previamente registrados cuyo principio activo corresponde a nuevos polimorfos, isómeros y aquellos derivados con partes unidas a la entidad química que la constituyen como éster, éter, sal (incluyendo una sal con uniones de hidrógeno o coordinadas) u otro derivado no covalente, tales como los complejos no covalentes, entre otros, deberán presentar:

- . Informes concluyentes de los resultados de los estudios clínicos fases I, II y III; o
- . Información internacionalmente reconocida que garantice la seguridad y eficacia ante el Ministerio de Salud.

- Para productos farmacéuticos que contienen principios activos comprendidos en la formulación de un producto previamente registrado en Costa Rica pero que presentan:

i. Nuevas combinaciones fijas de principios activos:

. Informes concluyentes de los resultados de los estudios clínicos fases I, II y III; o

. Información internacionalmente reconocida que garantice la seguridad y eficacia ante el Ministerio de Salud.

ii. Nueva forma farmacéutica con una vía de administración ya registrada:

. Informes concluyentes de los resultados de estudios de biodisponibilidad y tolerabilidad, o

. Información internacionalmente reconocida que garantice la seguridad y eficacia ante el Ministerio de Salud.

iii. Nueva forma farmacéutica con una nueva vía de administración:

. Informes concluyentes de los resultados de estudios clínicos fases I, II y III; o

. Información internacionalmente reconocida que garantice la seguridad y eficacia ante el Ministerio de Salud.

iv. Nueva forma farmacéutica con una nueva forma de liberación:

. Informes concluyentes de los resultados de estudios clínicos fases I, II y III; o

. Información internacionalmente reconocida que garantice la seguridad y eficacia ante el Ministerio de Salud.

v. Nuevas potencias o concentraciones de principios activos previamente registrados:

. Informes concluyentes de los resultados de estudios clínicos fases II y III;

o

. Información internacionalmente reconocida que garantice la seguridad y eficacia ante el Ministerio de Salud.

vi. Nuevas vías de administración con una forma farmacéutica ya registrada:

. Informes concluyentes de los resultados de estudios clínicos fases II y III;

o

. Información internacionalmente reconocida que garantice la seguridad y eficacia ante el Ministerio de Salud.

2.4 Generalidades del diente de león

2.4.1 Taxonomía

División: *Magnoliophyta* (33)

Clase: *Magnoliopsida*.

Subclase: *Asteridae*.

Orden: *Asterales*.

Familia: *Asteraceae*.

Género: *Taraxacum*.

Especie: *Taraxacum officinale*.

2.4.2 Nombre científico

Taraxacum officinale (33).

2.4.3 Sinónimos

Taraxacum argutrifrons, *T. calocephaloides*, *T. disseminatoides*, *T. mexicanum*, *T. spathulatum*, *T. tenejapense* (33).

2.4.4 Nombres vulgares

Amargón, achicoria amarga o falsa achicoria, taraxacón, cardeña, panadero, pelosilla, radicha, radicheta, botón de oro, corona de fraile, lechuguilla (33).

2.4.5 Origen

Eurasia (34, 35).

2.4.6 Historia

Se conoce en diferentes idiomas como “diente de león”, nombre acuñado en el siglo XV por un cirujano que comparó los márgenes dentado de sus hojas con los *dens leonis*, del latín diente de león (34, 36). El término *Taraxacum* se traduce como “yo remuevo” y le fue asignado debido a sus propiedades laxantes.

No hay consenso sobre los inicios del uso medicinal del diente de león. La mitología hablaba de cómo este debía ser masticado por aquellos navegantes que pretendían pasar por la barca de Caronte. También, se ha encontrado que los chinos incorporaron dicha planta en sus herbarios para el tratamiento de úlceras, hepatitis, resfríos, bronquitis, entre otros. Otros autores han encontrado evidencia en escritos médicos árabes que se remontan al siglo IX, en la obra botánica '*Umdat al-tabīb*' (33).

Los judíos en la Edad Media usaban la savia del diente de león y se indicaba como un tratamiento para hemorroides, várices y problemas ginecológicos. Sin embargo, a pesar de tener indicaciones médicas comenzó a ser utilizada principalmente como alimento, en ensaladas o cocido como verdura (33).

2.4.7 Características

El diente de león es una pequeña planta silvestre, que se cultiva apropiadamente en suelos fértiles débilmente ácidos o pH neutro (pH 4.5 - 7.5) ricos en nitrógeno, con buen drenaje y moderado contenido de humedad. A pesar de preferir climas templados, con precipitaciones de unos 700 a 900 mm³, resiste temperaturas tan bajas como las que se pueden presentar en una nevada de 1 a 2 semanas. Se puede encontrar también en terrenos baldíos y praderas de hasta los 2,000 metros de altura, jardines, huertas, alfalfares, cultivos de cereales, leguminosas, pasturas, junto a los caminos, campos, alambrados, entre otros tantos ambientes (33, 37).

Esta planta se multiplica por semillas. Su poder germinativo se asocia con la temperatura de recolección: es mejor realizarlo en temperaturas moderadas que en las altas. Cuando interactúa con plantas cultivadas su ciclo se desarrolla entre marzo y diciembre, pero en terrenos más cálidos con riego, se le puede encontrar durante todo el año. Se recomienda iniciar su cultivo en un vivero debido a que la semilla tiene un tamaño pequeño. También se puede utilizar la siembra en hileras dobles, en el terreno definitivo (33).

2.4.8 Usos en la medicina popular

Para usos medicinales se utiliza principalmente sus raíces y hojas, las cuales tienen las siguientes características (34):

- Hojas: son una fuente importante de vitaminas como vitaminas C y D, algunas vitaminas del complejo B, betacarotenos, carotenoides provitamina A; y minerales como xantofilas, clorofila, flavonoides, colina, hierro, silicio, magnesio, sodio, potasio, zinc, manganeso, cobre y fósforo. Además, se conoce que la hoja de diente de león tiene un alto contenido de potasio.
- Raíces: contienen glucósidos amargos como taraxacina (principal conocido por su sabor amargo) y taraxacerina, taninos, triterpenos, esteroides, aceite volátil, colina, asparagina e inulina.
- Flor: se utiliza principalmente como emoliente para zonas externas (33). Junto con la raíz posee acción hepática que consiste en tonificar y fortalecer el hígado (38).

Al diente de león se le atribuyen múltiples propiedades, como las siguientes:

- Propiedades diuréticas: incrementan los niveles de ácido clorhídrico en el estómago, lo cual estimula el flujo de la orina y contribuye a reducir la retención de fluidos (33).
- Acción antioxidante: para este efecto es más efectivo el extracto de las hojas (33).
- Actividad antibiótica y antiviral: en un estudio se encontró una acción similar a la gentamicina (33).
- Prevención del cáncer, de beneficios a nivel del tracto digestivo y contra colitis (35).
- Efectos hipoglicemiantes: el mecanismo de acción es poco conocido, pero se cree que está relacionado con enzimas que son parte de la digestión, específicamente algunos tipos de glucosidasa (34).
- Actividad antiinflamatoria (38).
- Actividad antimicrobiana: principalmente en organismos como *S. aureus* y *E. coli* (37, 39).
- Actividad antimicótica: se ha encontrado una actividad media contra *C. albicans* (37, 39).
- Acción de fortalecimiento hepático: según la teoría el diente de león mejora la capacidad de desintoxicación del hígado (34, 33).

2.4.9 Evidencia científica de actividad antimicrobiana

En el 2013 se realizó una investigación en la cual se prepararon oligosacáridos derivados del diente de león, por medio de hidrólisis con peróxido de hidrógeno. Por medio de la técnica de difusión en agar, se analizó la actividad antibacteriana de dichos oligosacáridos sobre *B. subtilis*, *S. aureus* y *E. coli*. Se encontró la existencia de una actividad antibacteriana alta y se concluyó que estos tienen potencial para ser utilizados como un antibacterial alternativo en el área de la medicina (36).

En 2014 Shafiq y Al-Hashimi evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de raíz y hojas de diente de león en la irrigación intraconducto en comparación con hipoclorito de sodio, propóleos y alcohol etílico. Las raíces de dientes utilizadas fueron inoculadas con *Enterococcus faecalis*, y posteriormente se irrigaron con las distintas sustancias elegidas, acompañado de instrumentación con técnica híbrida. Se tomaron muestras de cada raíz y se cultivaron para evaluar su crecimiento. Como resultado se obtuvo que, a pesar de tener propiedades antimicrobianas, los extractos de raíz y hojas de diente de león no son más eficientes en la inhibición bacteriana que el hipoclorito de sodio, el cual es el patrón de comparación en la irrigación intraconducto (40).

Este mismo año Sohail *et al.* investigaron la actividad antimicrobiana del extracto de hojas de *Taraxacum officinale* en disolución con metanol, cloroformo y agua destilada. Los extractos realizados con metanol y cloroformo fueron efectivos en las pruebas contra *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* y

Micrococcus luteus, mientras que los extractos realizados con agua destilada no presentaron ninguna actividad (41).

En 2015, Kenny *et al.* realizaron una caracterización de los componentes del extracto de la raíz del diente de león, y los mismos fueron evaluados según su actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. En dicho estudio se encontró que la parte hidrofóbica del extracto crudo de metanol demostró la mayor inhibición contra bacterias, principalmente contra *Staphylococcus aureus*, mas no contra *E. coli*. La anterior no fue la única fracción que demostró actividad antimicrobiana. En general, dicho artículo realiza una descripción detallada de los componentes químicos que componen el extracto de raíz de diente de león, la mayoría presentan actividad antimicrobiana (39).

En otro estudio desarrollado en Ecuador en el año 2016, se realizaron pruebas sobre la actividad antimicrobiana que presentaban doce plantas distintas, dentro de las cuales se encontraba el diente de león. Se utilizó la técnica de difusión en agar, se colocó en cajas de Petri una cepa de bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y dos Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), y se evaluó el halo de inhibición producido por el extracto de cada planta. Dentro de los resultados el diente de león mostró una alta actividad antibacteriana contra *E. coli*, y en menor proporción contra *P. aeruginosa* y *S. aureus* (37).

Asimismo, en el 2016 en India, se comparó por medio de la obtención con el método Soxhlet y distintos disolventes (diclorometano, etil-acetato, etanol y

agua), la actividad antimicrobiana de las flores y las raíces del diente de león. Se encontró en los diferentes disolventes una mayor inhibición del extracto de las raíces, principalmente contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus aureus*, no obstante, se presentó completa resistencia por parte de la *Pseudomonas aeruginosa* tanto a los extractos de raíz como al extracto de flores (42).

2.5 Generalidades de la moringa

2.5.1 Taxonomía (39)

División: *Magnoliophyta*.

Clase: *Magnoliopsida*.

Subclase: *Asteridae*.

Orden: *Brassicales*.

Familia: *Moringaceae*.

Género: *Moringa*.

Especie: *Moringa oleifera*.

2.5.2 Nombre científico

Moringa oleifera (39).

2.5.3 Sinónimos

Guilandina moringa L. *Hyperanthera moringa* (L.) Vahl. *Moringa zeylanica* Burmann: *Moringa pterygosperma* (39).

2.5.4 Nombres vulgares

Marango, árbol de rábano picante, árbol de palillo de tambor, paraíso, paraíso blanco, ángela, jazmín francés, palo de abeja, palo jeringa, perlas, terebinto, jacinto, reseda, ben, libertad (39).

2.5.5 Origen

Región de la India, no obstante, crece en otras regiones tropicales y subtropicales (39).

2.5.6 Historia

La familia de árboles del género *Moringaceae* comprende 13 especies diferentes, los cuales van desde pequeñas hierbas hasta grandes árboles, sin embargo, *Moringa oleifera* es la especie más conocida entre estas. La hoja de moringa se ha empleado en la medicina ayurvédica, Sidha, Unani, y también en homeopatía desde hace cientos de años. Ha sido conocida por egipcios y romanos por su uso cosmético (39).

En el Antiguo Egipto, *M. oleifera* se consideró un producto exótico y de lujo. Este se regalaba a los reyes, los que incluían el producto entre sus tesoros para llevar en las vasijas de las tumbas funerarias para la otra vida. Por otro lado, los egipcios también utilizaban la composición del aceite de esta planta para, junto con otros aceites, crear un aceite corporal utilizado en la momificación de los cuerpos (39).

En el siglo XIX la moringa fue introducida en África y el Caribe por los ingleses y franceses, y debido a su popularidad, para el siglo XX, ya esta planta era conocida en Europa y Norte América por la buena calidad de su aceite como lubricante industrial, pero no fue hasta la época entre 1921 - 1950 que se dieron a conocer sus propiedades alimenticias y curativas, además de hallazgos antimicrobianos al aislar las moléculas del aceite esencial extraído de esta planta (39).

2.5.7 Características

En cuanto a cualidades de cada una de sus partes, las semillas de la moringa contienen entre un 33 - 41% de aceite vegetal, el cual se utiliza para cocinar. Se dice que el aceite esencial de *Moringa oleifera* es muy resistente a la auto oxidación, por lo tanto, es un buen estabilizador antioxidante a largo plazo de aceites comestibles, siendo mejor que los aceites de soya, girasol, canola y aceite de algodón. El alto contenido de oleicos en el aceite le da la capacidad de incrementar el colesterol HDL y reducir triglicéridos. Las hojas son particularmente consumidas debido a que son fuente de proteína, minerales como potasio, calcio, magnesio, manganeso, fósforo, zinc, cromo, cobre; aminoácidos y vitamina A, B y C. Por otro lado, a raíz de este aceite la industria ha creado productos para el cuidado de la piel y el cabello, jabones y perfumes (43).

Estudios realizados en el año 2015 sobre el aceite esencial extraído de las semillas de la moringa, demostraron la propiedad anticancerígena de los ácidos grasos insaturados contra diferentes líneas celulares malignas de manera *in vitro*,

además de una reducción en la incidencia de cáncer y crecimiento de tumores en modelos animales; esto principalmente se debe al aumento en la concentración del aceite lleva a dichas células malignas a perder su morfología característica, así como capacidad de adherencia, lo cual lleva a un desapego y consecuentemente la muerte de estas, todo por medio de un proceso de peroxidación lipídica, provocando que los radicales libres actúen sobre la membrana de los ácidos grasos de células tumorales (44).

La moringa se cultiva desde su zona natural, a lo largo de la franja tropical alrededor del mundo (en ambos hemisferios), es decir, tanto hacia el Pacífico como hacia África y América; es posible encontrarla en climas tropicales lluviosos, tropicales de sabana y tropicales áridos. La *M. oleífera* es un árbol de alta plasticidad biológica, por lo tanto, el área de cultivo puede adaptarse fuera de sus límites naturales y a situaciones climatográficas diferentes (45).

La *M. oleífera* presenta un amplio margen de temperatura, que va desde los 25 hasta los 35 grados centígrados, se adaptada al calor del trópico, húmedo y seco, pero no resiste a temperaturas por debajo de los 8 grados por varios días consecutivos. Además, es tolerante a casi todo tipo de suelos, su pH oscila entre 4.5 y 8, así que puede crecer en suelos ligeramente salinos, suelos sueltos, limosos, arenosos y junto a cauces de agua, pero no resiste el encharcamiento ni suelos arcillosos. En cuanto a la altitud, crece en zonas desde los 0 msnm hasta los 1400 - 1800 metros según la zona geográfica. A mayor altitud disminuye la productividad, pues, el crecimiento es más lento (45).

En Costa Rica la moringa suele cultivarse en zonas de clima seco. En la zona de Limonal en San Gabriel de Aserrí un grupo de mujeres iniciaron un proyecto en el 2015 llamado “Moringa Costa Rica”, en el cual decidieron comprar un terreno y cultivar semillas de dicha planta para producirla dentro del territorio nacional y generar empleo; cabe mencionar que les fue imposible conseguir las semillas de la planta en el país, es por esto que importaron las semillas. Algunos de los productos elaborados con base en esta planta en dicha empresa fueron: moringa en polvo y en fibra, moringa seca, semilla para consumo y cultivo, cápsulas de moringa, productos para el cabello, jabones y bebidas (46).

Las semillas de la moringa se pueden cultivar en pequeños viveros o directamente en el suelo seco; este puede llegar a medir desde los 10 hasta los 15 metros de altura. Por la forma del árbol, el tamaño de sus hojas y el área que este puede llegar a abarcar, es posible sembrar otro tipo de plantas o árboles contiguos, lo cual se debe a que permite la entrada de los rayos del sol. Además, las raíces del árbol en cuestión poseen una distribución vertical, es decir, que no es capaz de robar nutrientes de árboles o plantas que se encuentren a su alrededor (46).

2.5.8 Usos en la medicina popular

La moringa se conoce popularmente como árbol de la vida o el árbol del milagro, esto debido a las características y beneficios que sus diferentes partes ofrecen a los seres humanos. Además de ser consumida por sus cualidades nutricionales y medicinales, actualmente se estudian cada una de sus partes, ya

que se reportaron diferentes propiedades extraídas del aceite esencial de la moringa; entre ellas se encuentran: ser antimicrobiano, antioxidante, anticáncer, antiespasmódico, hipotensor, antiúlceras, hipocolesterolémico, antiinflamatorio, antitripanosómico; siendo las dos primeras las propiedades más importantes (47).

- Hojas: fuente de proteína, minerales como potasio, calcio, magnesio, manganeso, fósforo, zinc, cromo, cobre; aminoácidos y vitaminas A, B y C.
- Raíz: beneficios para piel y el cabello, se realizan con su aceite esencial jabones y perfumes.
- Semillas: aceite esencial extraído y refinado con propiedades anticancerígenas.

2.5.9 Evidencia científica de actividad antimicrobiana y fungicida

Estudios sobre extractos de aceite de la raíz, hojas y vainas de la moringa probaron un potente efecto biofungicida. Existen estudios sobre reducción significativa en el crecimiento de hongos, germinación de esporas, así como efectos contra campos de micelias. Este efecto reductor de hongos se incrementa según el aumento en la concentración de aceite esencial de la planta, sin embargo, no se muestra efecto antifúngico contra *C. albicans* (48).

Un estudio encargado de investigar la capacidad antimicrobiana de extractos del aceite esencial de las hojas de la moringa utilizados contra patógenos tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas sp.* y *Bacillus sp.*; tienen actividad contra estos

organismos antes mencionados con una concentración de unos 8 mg/mL, sin embargo, con una concentración mayor de unos 16 mg/mL se observó que dicho extracto tuvo la capacidad de matar patógenos. De tales patógenos contra el que se presentó poco efecto inhibitorio fue *Staphylococcus aureus*; el de mayor resistencia fue *Pseudomonas sp*; el más susceptible al extracto fue *Aeromonas hydrophila* (49).

2.6 Generalidades de la salvia

2.6.1 Taxonomía (50) (51) (52)

División: *Magnoliophyta*.

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Labiatae / Lamiaceae*

Género: *Salvia*

Especie: *Salvia officinalis*

2.6.2 Nombre científico

Salvia officinalis (50).

2.6.3 Sinónimos

Salvia lavandulifolia, *Salvia cretica*, *Salvia hispanica*, *Salvia minor*, *Salvia digyna*, *Salvia chromatica*, *Salvia grandiflora*, *Salvia papillosa*, *Oboskon cretica*, *Salvia clusii*, *Salvia tricolor* (52).

2.6.4 Nombres vulgares

Mermasangre, salvia, salvia real, salvia fina, salima fina, hierba sagrada, salvia común, salvia de Castilla, salvia de Granada, salvia del Moncayo, salvia oficial (52).

2.6.5 Origen

Medio Oriente y en las zonas Mediterráneas, pero se ha expandido al resto del mundo (50).

2.6.6 Historia

Su nombre viene del latín “*salvia*”, cuyo significado es curar (51). Hay alrededor de unas 900 especies de la planta (50).

2.6.7 Características

Su cultivo principal es en jardinería, con distintas variedades según el lugar de procedencia. La *S. officinalis* crece generalmente en laderas secas, suelos arcillosos, soleados y hasta una altitud de unos 750 metros. Es un subarbusto perenne con alrededor de unos 30 y 70 centímetros de altura, presenta tallo leñoso y cuadrangular con muchas ramificaciones, sus hojas son de un color blanquecino por el dorso y verde-grisácea por la faz de la hoja y sus flores son azul-violáceas (50). En Costa Rica, uno de los lugares donde se encuentra la *Salvia officinalis* es en la zona aledaña al Parque Nacional Volcán Turrialba (53).

2.6.8 Usos en la medicina popular

Habitualmente se utiliza en la medicina tradicional de Asia y América Latina como tratamiento de úlceras, convulsiones, gota, reumatismo, inflamación, mareos, temblores, parálisis, hiperglucemia y diarrea, también en Europa contra la acidez e hinchazón estomacal, sudoración excesiva e inflamaciones en garganta y piel, además en la preparación de alimentos debido a sus propiedades de condimento y sabor (50).

2.6.9 Evidencia científica de actividad antimicrobiana

Para conocer nuevos efectos biológicos de la planta se realizaron amplias investigaciones en los últimos años, de las cuales se descubrieron distintas acciones farmacológicas, entre las que destacan: efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, antinociceptivos, antioxidantes, antimutagénicos, antimicrobianos, antimutagénicos, antidecencia, hipolipidémicos e hipoglucemiantes (50).

Dichos efectos biológicos están dados por múltiples compuestos químicos que contiene la planta, entre los cuales se encuentran: alcaloides, carbohidratos, ácidos grasos, derivados glicosídicos (glucósidos cardiacos, saponinas), compuestos fenólicos (taninos, flavonoides), poli acetilenos, esteroides, terpenos / terpenoides (mono y diterpenoides) y ceras (50).

Con respecto a la elaboración del aceite esencial se utilizan las partes aéreas de la *Salvia officinalis*, en este se encuentran más de 120 componentes,

los principales son borneol, alcanfor, cariofileno, cineol, elemeno, humuleno, ledeno, pineno y tujona (50).

Se debe tener presente que los compuestos químicos de la planta varían conforme a factores genéticos, condiciones ambientales como el clima, la disponibilidad del agua, la etapa de desarrollo de las plantas y la forma de extracción, la intensidad de la luz, el órgano, el lugar de siembra, la estación y la altitud (51).

La planta *Salvia officinalis* fue estudiada por Padilla (2) debido a su acción antiséptica, y según la literatura puede ser utilizada en productos de higiene bucal, dado que ayuda efectivamente en afecciones bucales como estomatitis, gingivitis, glositis, halitosis y aftas. En estudios *in vitro* se comprobó una actividad inhibitoria del aceite esencial sobre bacterias Gram negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella ozanae*, *Shigella sonnei* y *Salmonella spp* y sobre Gram positivas como *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* y hongos como *Torulopsis glabrata* y *Cryptococcus neoformans*. La tintura de las hojas mostró acción antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* debido principalmente al contenido de tuyonas del aceite esencial.

En personas con faringitis se reportó la disminución del dolor de garganta gracias a los flavonoides y terpenos que tienen acciones antiinflamatorias y antinociceptivas. En cuanto a los efectos antisépticos, según la evidencia, la *Salvia officinalis* posee efectos bacteriostáticos y bactericidas sobre bacterias Gram positivas como: *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*,

Enterococcus faecalis, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus epidermidis*, y efecto inhibitor sobre el crecimiento de bacterias Gram negativas como *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas morgani*, *Salmonella anatum*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, y *Shigella sonnei*. Además de su acción antibacteriana presenta acción antifúngica contra *Botrytis cinerea*, *Candida glabrata*, *Candida albicans*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis* (50).

Un estudio realizado en Túnez sobre las funciones del aceite esencial de la planta *Salvia officinalis*, en su actividad antimicrobiana demostró que ciertas bacterias Gram positivas (*S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus* y *B. subtilis*) y Gram negativas (*E. coli*, *S. enteritidis* y *A. tumefaciens*) fueron inhibidas por el aceite, pero los últimos exhibieron resultados más bajos, por lo que los efectos son más fuertes sobre las bacterias Gram positivas. Los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana son alcanfor, α -tujona, 1,8-cineol, α -pineno y 2- β -pineno, debido a que ejercen su efecto tóxico sobre los microorganismos al alterar la integridad de las membranas de las bacterias y hongos (51).

Además, se investigó la acción del aceite de salvia sobre la bacteria *P. aeruginosa*, ya que esta se ha vuelto muy resistente a diferentes antibióticos y productos químicos por la baja permeabilidad de la pared celular, las bombas de eflujo que eliminan eficazmente moléculas de antibióticos y la base genética de microorganismo de resistencia productoras de biopelículas. Se aislaron cepas de distintos materiales humanos (muestra de orina, piel, garganta, ojo y oreja).

Específicamente en el caso de garganta, dicha bacteria es una fuente productora de biopelículas, y al aplicarle el aceite esencial de salvia (en altas concentraciones) se redujo significativamente la producción de esas biopelículas al 50 %, por lo que se demuestra su éxito contra las infecciones de garganta. En el estudio también se investigaron los componentes del aceite que presentan su función antibacteriana, entre estos destacan α -tujona, alcanfor y 1,8-cineol (terpenoides), ya que poseen potencial antimicrobiano de amplio espectro y actúan por una alteración de la parte lipídica de la membrana plasmática debido a su hidrofobicidad, por lo que altera la permeabilidad de la membrana celular y da lugar a la fuga de materiales intracelulares (1).

Otra especie estudiada es la *Salvia sclareoides*. La planta fue recolectada del oeste de Irán; con esta se realizó el aceite esencial a partir las partes aéreas de la planta. El estudio de sus componentes se efectuó mediante el método de hidrodestilación y dio como resultado más de 60 compuestos, entre ellos están los no terpenoides (41.6 %), hidrocarburos monoterpenos (13.2 %), sesquiterpenos, hidrocarburos (39.7 %) y sesquiterpenos oxigenados (5.5 %). Su actividad antimicrobiana se estudió mediante la técnica de microdilución. Se tomaron cincuenta microlitros del aceite y se probaron contra ciertos microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* (bacterias Gram negativas), así como *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* como bacterias Gram positivas y *Candida albicans* (*C. albicans*). Como resultado se vio que el aceite esencial impidió en gran medida el crecimiento de

bacterias Gram positivas y Gram negativas, excepto *P. aeruginosa* y tampoco tuvo efecto sobre la *Candida albicans*. Dicha actividad antimicrobiana se debe en gran parte a la alta concentración de monoterpenos que presenta (54).

CAPÍTULO III MÉTODOS DEL TRABAJO

3.1 Obtención de las sustancias por evaluar

La presente investigación consistió en un estudio experimental *in vitro*, en el cual por medio de cultivos de bacterias en placas de Petri se buscó determinar si las plantas investigadas tienen actividad antibacteriana.

Las sustancias utilizadas en el estudio se adquirieron en forma comercial por medio de dos tiendas extranjeras: Piping Rock® y Botanical Beauty. Previo a la compra se verificaron los métodos de obtención del extracto y los aceites esenciales, los cuales serán descritos a continuación.

3.1.1 Obtención del extracto de raíz de diente de león

La información de la empresa Piping Rock® indica que sus extractos son libres de alcohol y su proceso de obtención se realiza con agua, alcohol y extractantes naturales. Tanto el alcohol como los extractantes son eliminados con un proceso patentado de extracción en frío, dejando así solo el extracto líquido en este caso de la raíz de diente de león. Esta empresa cuenta con certificación de buenas prácticas de manufacturación (55).

Echavarría *et al.* realizaron un estudio en el cual se utilizaron extractos de algunas plantas medicinales (que incluían al diente de león) y describieron el proceso de obtención del extracto de estas plantas. El proceso de extracción consistió en un extracto etanólico por maceración, la cual se realiza a temperatura ambiente (56).

El material vegetal, en este caso las raíces del diente de león, se remoja en etanol en un recipiente con tapa que no tenga ningún tipo de reacción química con el disolvente, por alrededor de 15 días con agitación esporádica. Posteriormente, se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente y se obtiene el extracto (56).

Por último, con disolventes orgánicos se realiza la extracción del alcohol en frío para preservar los compuestos termolábiles que pueda contener el extracto obtenido. Se coloca el material fragmentado en un embudo o recipiente cónico y se hace pasar un disolvente adecuado a través del mismo (56).

3.1.2 Obtención del aceite esencial de moringa

La extracción de aceites esenciales por medio del prensado en frío es un método exclusivamente mecánico. Es decir que, se parte de la semilla entera y limpia de la planta a extraer dicho aceite, la cual es molturada o molida con el fin de colapsar esta estructura y liberar el aceite de esta. A partir de este proceso, el aceite extraído puede ser refinado por medio de un acondicionador, en el cual las semillas molidas se colocan en una prensa de tornillo y de este paso se obtiene la masa de las semillas, llamada “torta proteínica” y el aceite separado de esa masa (57).

El aceite obtenido de dicho proceso, en el que se prensó la masa de las semillas de la planta, pasa a una máquina de tamiz vibratorio para realizar un filtrado de grandes impurezas presentes en el aceite y posteriormente se filtra (57).

El método de prensado en frío es reconocido debido a distintas características, entre ellas, cabe destacar que siempre se obtiene de frutos secos o semillas y de estos se consiguen los aceites vírgenes con un aspecto de color claro, con gran aroma y valor nutritivo gracias al proceso de filtración dado posterior al prensado. Es un método delicado, es por esto que la cantidad de aceite obtenida es muy poca. La prensa de presión a la cual se someten las semillas debe mantener una temperatura inferior a los 27 grados centígrados; es tarea del operador controlar y ajustar la velocidad, presión y temperatura de la prensa para evitar generar calor al momento de aplastar las semillas, en este caso la manera en la cual se controla la temperatura es abriendo la salida de la prensa para reducir la presión en el interior (58).

3.1.3 Obtención del aceite esencial de salvia

Las muestras de la planta para obtener el aceite esencial se tomaron de las hojas y flores de la misma. Para esta investigación, el método utilizado para la extracción fue la destilación de arrastre por vapor.

Dicho método consiste en colocar el componente vegetal en contacto con vapor seco sobrecalentado formado por una caldera o calderín a una presión más alta que la presión atmosférica. Es una destilación alcanzada al combinar dos líquidos que no pueden ser mezclados entre sí, donde se da la vaporización a temperaturas por debajo del punto de ebullición de ambos componentes volátiles debido a una corriente directa de vapor de agua. Dicha corriente destruye las células o canales oleíferos en la planta y arrastra la mezcla volátil al condensador,

ahí los vapores se enfrían y vuelven a su fase líquida. Ambos productos inmiscibles, el hidrolato y el aceite esencial, se separan finalmente por la diferencia de densidad en un decantador o vaso florentino (59).

Al realizar este método de extracción se debe tener en cuenta que la materia vegetal no sea de un tamaño reducido, por cuanto, puede ser arrastrado por el vapor contaminado el producto ya condensado. Esta técnica se utiliza con mucha frecuencia en la industria debido a su alto rendimiento, la alta pureza del aceite adquirido y la baja exigencia tecnológica (59). Otra de las ventajas a la hora de utilizar este método de extracción es su bajo costo, cuando se compara con métodos avanzados como la extracción con fluidos supercríticos (60).

3.2 Ensayo de actividad antibacteriana

Las pruebas de actividad antibacteriana se realizaron en el Laboratorio Investigación de Bacteriología Anerobia de la Facultad de Microbiología de Universidad de Costa Rica. Se empleó la bacteria *Streptococcus mutans* cepa ATCC35668, que fue aislada de la cavidad oral y se encontraba dentro de las especies de la bacterioteca del laboratorio.

Para determinar *in vitro* la susceptibilidad bacteriana ante agentes microbianos se pueden utilizar diferentes métodos de laboratorio, entre los cuales destacan métodos de difusión, métodos de dilución, bioautografía y análisis conductimétrico. Específicamente, para evaluar la capacidad antimicrobiana de las plantas de salvia, de moringa y del diente de león se utilizó el método de difusión

en agar, el cual permite obtener resultados de forma cuantitativa para conocer el efecto antibacteriano de las sustancias sobre cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos, en este caso *S. mutans* (61).

Este método se fundamenta en la correlación entre la concentración de una sustancia para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar, con un medio de cultivo adecuado y plantado uniformemente con la bacteria a estudiar, y sobre este se coloca un papel filtro de 6 mm de diámetro o se siembra un pozo impregnado con una cantidad conocida de sustancia. Después de incubar con la temperatura adecuada y el tiempo requerido, se mide el halo de inhibición y se comparan los efectos de las sustancias sobre el microorganismo estudiado (61).

El extracto de diente de león y los aceites esenciales de moringa y salvia se filtraron por membrana 0.22 μm , y se utilizaron 3 muestras de 40 microlitros con una concentración al 100 %.

La suspensión de *Streptococcus mutans* cepa ATCC35668, se rayó en tres direcciones en tres placas agar sangre suplementado con hemina y vitamina K para formar monocapas después de la incubación. Posteriormente, se realizaron pozos de 6 mm en las placas de agar sangre, y se les añadió 40 microlitros de las sustancias en estudio y los controles. Se efectuó un control con agua destilada estéril y digluconato de clorhexidina en una concentración de 0.12 %.

Las bacterias fueron almacenadas a una temperatura de -80 °C y luego se retiraron para ser incubadas en una cámara de anaerobiosis por 48 horas a 37 °C.

Posterior a la incubación se realizó la medición de los halos de inhibición en milímetros, formados en la monocapa de crecimiento, según el efecto de las distintas sustancias evaluadas. Estos halos fueron comparados con respecto a los halos de inhibición de las sustancias control: agua destilada y CHX.

El resultado fue considerado positivo ante la presencia de un halo de inhibición del crecimiento de las bacterias alrededor de los pozos de cada sustancia evaluada, este fue medido en milímetros para determinar el diámetro del halo de inhibición. Con los resultados fue posible determinar si cada una de las sustancias evaluadas presentaron una actividad antibacteriana menor o mayor a las sustancias control.

CAPÍTULO IV DESARROLLO

4.1 Resultados

En las pruebas efectuadas en el cultivo de cepas de *Streptococcus mutans* se obtuvieron los siguientes resultados:

El control de agua destilada presentó en las tres placas un diámetro de 6 mm, mismo diámetro inicial del pozo realizado en la placa de agar sangre.

El control de CHX a concentración de 0.12 % presentó en las tres placas un diámetro de inhibición de 18 mm en cada una; se obtuvo también un promedio de 18 mm.

Con respecto al extracto de diente de león, en dos de las placas se obtuvo un halo de inhibición de 10 mm de diámetro, la tercera tuvo un halo de inhibición de 11 mm de diámetro; se alcanzó así un promedio de 10.33 mm con desviación estándar de 0.7 mm.

El aceite esencial de moringa sin diluir obtuvo en las tres placas de agar sangre un diámetro de 6 mm, misma medida inicial en los pozos realizados en las placas.

Por último, con respecto al aceite esencial de salvia sin diluir, en las tres placas se midió un diámetro de 6 mm, que fue también la medida inicial del pozo realizado en las placas.

4.2 Discusión

El método de difusión en agar ha sido ampliamente utilizado para evaluar la actividad antimicrobiana de extractos de plantas ya que representa de forma cuantitativa el efecto de las sustancias en estudio sobre las cepas bacterianas elegidas; además, sus resultados son altamente reproducibles (61).

Dentro de las sustancias evaluadas la única que presentó un halo de inhibición fue el extracto de diente de león, siendo menor al que fue obtenido con la sustancia control CHX.

Existen estudios previos en los cuales se analizó la actividad antibacteriana del diente de león por medio de extractos, pero existen variaciones con respecto al presente estudio en cuanto al método, parte de la planta utilizada para la extracción, tipo de bacteria utilizada en los cultivos u otros.

En 2014 se realizó un estudio cuyo método consistió en la obtención de extractos de tallos, hojas y raíces con distintos solventes, en este caso n-hexano, metanol, cloroformo y etil acetato. Por medio de difusión en agar se realizaron cultivos de *S. typhi*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. A pesar que no utilizaron *S. mutans*, estos resultados son importantes por la actividad antibacteriana demostrada principalmente por parte de los extractos de las raíces del diente de león (62).

Entre grupos de los distintos solventes utilizados, fue el extracto de raíces el que tuvo mayores diámetros de inhibición en comparación con los extractos de

tallos y de hojas. Entre los microorganismos testeados, fue el extracto metanólico el cual mostró mayores diámetros de inhibición en comparación con los demás solventes utilizados; a su vez, dentro del grupo del extracto metanólico fue contra el *S. aureus* que se obtuvo los mayores diámetros de inhibición. Dentro de todo el estudio el mayor diámetro de inhibición (18 mm) fue alcanzado con la aplicación de extracto de raíz de diente de león contra *S. aureus* (62).

Aunque, la investigación anterior difiere en tipo de solvente y bacteria específica valorada, los resultados de este podrían predecir parcialmente que el presente estudio con diente de león presentaría actividad antibacteriana contra la bacteria de estudio. El solvente utilizado en el estudio de Husain *et. al.* (metanol) y el solvente utilizado para el extracto del presente estudio (etanol) comparten en su estructura química, la terminación OH característica de los compuestos orgánicos alcoholes, mientras solo difieren en la cantidad de carbonos que contiene la estructura (63). Por otra parte, la bacteria valorada en el estudio de Husain *et. al.* (*S. aureus*) y la valorada en el presente estudio (*S. mutans*) son parte del amplio grupo de cocos Gram positivos y ambas se encuentran en una importante proporción en cavidad oral (63). La información anterior concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio.

En el estudio *in vitro* realizado el año 2016 por Sangeetha y Ezhilarasan se realizó una evaluación de la actividad antibacteriana del diente de león contra microorganismos patógenos encontrados en cavidad oral, dentro de los cuales se encuentra el *S. mutans*. Esta investigación obtuvo como resultado que el extracto

de diente de león no presentó actividad antibacterial frente al *S. mutans*. No obstante, este estudio presentó más diferencias que similitudes con respecto a la presente investigación. El estudio de Sangeetha y Ezhilarasan fue realizado con el extracto de hojas de diente de león y el método de análisis fue por medio de una concentración mínima inhibitoria y una concentración mínima bactericida. Además, no se especifica el método de obtención del extracto ni el solvente utilizado. Por lo tanto, no se debería realizar una extrapolación de dicha investigación con la presente.

Sharifi-Rad *et al.* en 2018 realizaron una revisión bibliográfica sobre la actividad antimicrobiana del grupo *Taraxacum spp*, en la cual se describe una amplia cantidad de evaluaciones *in vitro* de distintos extractos contra distintos tipos de bacterias. Se menciona un estudio realizado con distintos tipos de solventes, en el cual se observó que el extracto de raíces con metanol como solvente tuvo la mayor actividad antibacteriana, incluso contra *S. mutans* (64).

El presente año (2019) Grauso *et al.* realizaron una revisión bibliográfica sobre las propiedades fitoquímicas del diente de león. Se efectuó una descripción sobre los compuestos orgánicos e inorgánicos que contiene las diferentes partes de la planta, además se explican todos los tipos de actividad biológica que se han descrito en la bibliografía. Se menciona que el extracto de hojas de diente de león tanto en agua como en una mezcla de agua y etanol tiene actividad antimicrobiana, pero no se menciona específicamente contra el *S. mutans*. La importancia de este artículo radica en la demostración que tallo, hojas y raíces

comparten una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos, por lo tanto, aunque se encuentren estudios donde se analicen extractos de una parte de la planta distinta a las raíces, existe la posibilidad que los compuestos con actividad antimicrobiana se encuentren también en el extracto de las raíces (65).

Con respecto al aceite esencial de moringa, de acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas realizadas en el cultivo de *Streptococcus mutans*, la exposición de este ante el aceite esencial no presentó halo de inhibición. Aunque si bien es cierto existe evidencia que el aceite esencial de la moringa provee importantes beneficios para la salud humana, no se ha encontrado actividad antibacteriana del aceite esencial en la literatura, a diferencia del extracto del diente de león.

Según un estudio realizado en el 2016 sobre caracterización de aceites de las semillas de *Moringa oleífera* a partir de la extracción por diferentes métodos; el aceite esencial de la moringa ofrece diversos beneficios que han sido aprovechados en los campos de la medicina farmacéutica y cosmética, industria y agronomía. Esto se atribuye a que su estructura ofrece una enorme cantidad de ácidos grasos, tocoferoles y vitamina E. Sin embargo, este artículo señala que a pesar de estudios realizados sobre la química y farmacología de la moringa, que se asocian como atributos terapéuticos, estos son recientes y se encuentran en desarrollo, pues aunque muchos de sus beneficios se han comprobado, no existen caracterizaciones que permitan determinar si el mecanismo de extracción del

aceite de la planta en cuestión influye en la composición y en el porcentaje de extracción del aceite, así como su efectividad en algunos campos (66).

En el mismo estudio del año 2016, se evidenció que factores como tiempo de extracción y el tipo de solvente inciden positivamente sobre el resultado final. Además, partículas de menor tamaño y con un aspecto homogéneo garantizan que durante el proceso de extracción el área de contacto entre estas y el disolvente sea mayor, favoreciendo así la penetración del disolvente en la estructura y la operación de transferencia de masa. No obstante, tamaños excesivamente pequeños pueden hacer que las partículas se compacten dificultando la extracción. Los mejores resultados se obtuvieron con el hexano como disolvente, ya que este mostró un incremento en la concentración del aceite en el alcohol lixiviado y mayor porcentaje de extracción. Esto se debe a que el aceite vegetal extraído está compuesto por moléculas con enlaces apolares, coincidiendo con la polaridad del hexano (66).

El estudio anteriormente mencionado, concluyó que la extracción por prensado proporcionó un mayor porcentaje de producto respecto al método sólido-líquido; resultando más económico, y menos complicado; puesto que no requiere de maquinaria de tecnología sofisticada. El tiempo de extracción es mucho menor y el producto obtenido estuvo menos expuesto a los reactivos que pudieran modificarlo estructuralmente, en comparación a otro método que necesite reactivos disolventes. Por otro lado, en cuanto a componentes mayormente obtenidos en el aceite esencial de moringa independientemente de los métodos

utilizados en el estudio, se demostró cómo el ácido oleico fue el componente mayoritario (66).

Según el artículo de Fernández *et al.* en 2018 sobre las características fisicoquímicas del aceite obtenido por extracción con prensa expeller, la moringa es conocida como una importante fuente de nutrientes esenciales, la cual es rica en proteínas, aceites, aminoácidos, ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas, con una cantidad relativamente baja de anti nutrientes. Además de ser una fuente rica de compuestos bioactivos como flavonoides y compuestos fenólicos, los cuales demuestran una potente actividad antioxidante (67).

El aceite esencial de la moringa se considera un equivalente al aceite de oliva en términos de sus propiedades químicas, es por esto que es conocido por su uso comestible, pero además por sus propiedades medicinales para el tratamiento de reumatismo, gota, purificación de sangre, mejoramiento de la función cardíaca y capacidad de controlar el colesterol (67).

Los autores del estudio en cuestión, indican que la extracción del aceite de moringa puede llevarse a cabo por técnicas convencionales como el prensado hidráulico, el prensado de expeller y la extracción con solvente; aunque los valores y porcentajes de componentes obtenidos pueden variar de método a método, es necesario seguir investigando sobre el aceite de moringa y sus propiedades, y específicamente sobre el efecto del uso de complejos multienzimáticos sobre el rendimiento de la extracción y las características del aceite obtenido, así como de los beneficios tecnológicos, nutricionales y funcionales del aceite (67).

Diversas investigaciones sobre la planta en cuestión afirman que esta posee un elevado poder nutricional y un alto contenido energético, además es un reservorio biológico de minerales, vitaminas, polifenoles, flavonoides y ácidos fenólicos, los cuales prometen ser una fuente de antioxidantes naturales que reparan el ADN de las células en el proceso de envejecimiento. Por otro lado, otros componentes como alcaloides, glucosinolatos e isotiocianatos sugieren un uso terapéutico (68).

López afirma en su estudio que la moringa se encuentra actualmente en la interfase llamada "Farmanutrición", ya que el consumo de esta planta puede prevenir o retrasar determinadas enfermedades. Sin embargo, sigue siendo necesario la investigación de sus potencialidades (68).

Debido a evidencia encontrada sobre la veracidad del efecto antibacteriano de extractos de la moringa, es importante explicar la diferencia entre un aceite esencial y un extracto. En cuanto a función biológica de los aceites esenciales, según el artículo de González y Cuca, sigue siendo poco clara. Sin embargo, en la actualidad se desarrollan diversas investigaciones que involucran distintos métodos y condiciones para lograr descubrir sus funciones. En cuanto a propiedades físicas, en general son líquidos a temperatura ambiente, su densidad es inferior a la del agua, poseen un índice de refracción elevado y la mayoría desvían la luz polarizada (56).

Respecto a la composición química de los aceites esenciales, es posible encontrar grupos característicos como el de los terpenos, compuestos derivados

del fenilpropano y otros tipos de compuestos procedentes de la degradación de terpenos. Y entre las aplicaciones más conocidas de dichos aceites son en ramas de la industria: alimentos, jabones, ambientadores, perfumes, cosméticos, licores, insecticidas, fármacos, etc. Además, son empleados como aromatizantes y/o saborizantes, como ingredientes de algunos preparados farmacéuticos o son base para perfumes y productos cosméticos finos, desodorantes, lociones, jabones líquidos, pastas dentífricas. Algunos de los aceites esenciales poseen propiedades insecticidas y fungicidas y se utilizan en los preparados especiales (56).

Por otro lado, los extractos etanólicos son productos hidrofílicos con olor característico, obtenidos a partir de la materia prima desecada de origen vegetal. Este se puede obtener por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico y posteriormente ser sometido a determinadas operaciones, para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar la calidad del producto deseado (56).

En el artículo de Alarcón *et al.* en 2017, se mencionan diversas características anteriormente descritas y explicadas a lo largo del presente proyecto respecto a los beneficios de la moringa; por ejemplo, se consume como alimento, suplemento nutritivo o condimento y preparado como extracto, infusión, cataplasma, crema y ungüento. Asimismo, promete ser eficaz en el tratamiento y prevención de diversas patologías, incluyendo enfermedades dentales, de la reproducción, de la piel, del aparato circulatorio, trastornos nerviosos, digestivos, inflamatorios, como antimicrobiano, antiparasitario y desintoxicante entre otros,

además, en este artículo se evaluó la capacidad antimicrobiana de extractos de diferentes partes de la moringa (69).

Resultados positivos del artículo de Alarcón, Da Silva y Reyes en el 2017 señalan que el extracto de la planta en cuestión posee capacidad antimicrobiana, a diferencia del aceite esencial. Así por ejemplo, todos los extractos obtenidos de la corteza del árbol y de la raíz, frutos, semillas y hojas, procesados con metanol, acetona, cloroformo y acetato de etilo inhibieron el crecimiento de *S. aureus*; y *Escherichia coli*, *Enterobacter cloace*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus kristinae*, las cuales fueron inhibidos por diferentes partes de la moringa; mientras que el *Streptococcus faecalis*, *Bacillus pumilus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* y *Pseudomona aeruginosa* resultaron resistentes (69).

En relación con odontología, Alarcón, Fernández y Reyes, señalaron que, aunque las investigaciones de la fitoterapia de la moringa aplicada en dicho campo son escasas, esta planta ofrece un gran potencial de aplicaciones en la caries dental y la enfermedad periodontal en formulaciones con base en hierbas de acción antiséptica y antiplaca, puesto que juegan un rol importante en la prevención de las mismas (69).

Para prevenir la colonización y formación del biofilme se debe inhibir la actividad de la glucosil-transferasa, así como el crecimiento del *S. mutans*. La actividad antibacteriana, antiadherente y antiagregante de extractos etanólico y acuoso procesados en frío y en calor de la moringa, evaluados en su actividad

antibacteriana contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*, dieron como resultado una inhibición en el crecimiento de ambas bacterias. Además, la actividad antiadherente fue positiva con todos los extractos de prueba de la moringa, excepto con la extracción etanólica a temperatura ambiente o “en frío” y acuosa a temperatura de ebullición “en caliente”, mientras que la actividad antiagregante fue positiva con todos los extractos excepto el etanólico en caliente y el acuoso en frío (69).

En otro estudio comparativo entre el CHX y un extracto foliar acuoso de moringa, contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus spp* (Gram positivas), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella spp* (Gram negativas), además, la especie fúngica *Candida albicans*; el CHX inhibió el crecimiento de todos los microorganismos del ensayo, mientras que el extracto de la moringa inhibió solo a las bacterias Gram positivas y entre ellas *Streptococcus spp*. Por otro lado, se menciona la capacidad anticariogénica del extracto acuoso de la moringa contra *Streptococcus mutans*, ya que produjo inhibición del crecimiento de esta bacteria en todas las concentraciones ensayadas. Por tal razón, el efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans* que posee el extracto de la moringa, sumado al efecto antiagregante y antiadherente indican que la moringa podría ser una alternativa efectiva para combatir al *Streptococcus mutans*, sin embargo, se requiere de más investigación (69).

En otro estudio se encontró que el extracto hidroetanólico de dicha planta presenta efecto antibacteriano a concentraciones de 76 mg/mL y 38 mg/mL, y que

los halos promedio fueron de 17.96 y 15.27 mm para las concentraciones respectivamente. Asimismo, se comparó el efecto antibacteriano de extractos de etanol, acetona y acetato de etilo; encontrando que los extractos etanólicos de la moringa presentaron mayor actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans*, e incluso aún mayor que con el extracto acuoso. Por lo tanto, se concluye que el extracto basado en agua no tiene la misma capacidad solvente como el etanol, pues probablemente necesite altas concentraciones de moringa para tener efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* (70).

Con respecto a la respuesta encontrada sobre las pruebas realizadas con el aceite esencial de *Salvia officinalis* sobre el *S. mutans*, no hubo presencia de halo de inhibición. De acuerdo a la revisión bibliográfica, el aceite esencial posee actividad antimicrobiana contra diferentes bacterias, pero no se evidenciaron pruebas contundentes sobre las razones de la resistencia a *S. mutans*.

Según un estudio realizado por Tardugno *et al.*, al analizar la detección *in vitro* de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales en bacterias patógenas orales, se encontró que con respecto al *S. mutans* el aceite esencial de salvia presentó los efectos inhibitorios más leves, pero no se profundizó en las razones de los resultados (71).

Otra investigación también midió la actividad antimicrobiana de algunos aceites esenciales contra patógenos orales comunes y encontró el mismo resultado que el artículo anterior, donde la *Salvia officinalis* mostró un potencial antibacteriano muy bajo contra *S. mutans* en el estudio *in vitro*, debido a la

naturaleza lipofílica de algunos componentes de los aceites esenciales de la salvia, en contra parte a las pruebas *in vivo* que demostraron muy buena actividad antimicrobiana, ya que no están expuestos a las mismas condiciones de la cavidad oral (72) (73).

En los artículos consultados, empero la respuesta antibacteriana del aceite esencial de salvia contra el *S. mutans* fue muy baja o mínima sí tuvo actividad, esto puede darse por diversos factores, como los aspectos relacionados con la planta, el microorganismo y el método utilizado, las condiciones ambientales; como la estación del año en la que se encuentre, el clima, el tipo de suelo y la temperatura del aire a la hora de cosechar o recolectar la planta, ya que, la producción de metabolitos secundarios por la misma se da en función de la interacción de la planta con el medio ambiente en respuesta a factores químicos y biológicos (73).

Otros estudios demostraron que, a diferencia del aceite esencial, el extracto de salvia según estudios elaborados sí tiene actividad antimicrobiana contra el *S. mutans*. En el ensayo clínico realizado por Beheshti *et al.* se utilizó un enjuague bucal formulado a partir del extracto etanólico de *Salvia officinalis* y otro enjuague bucal con placebo y se usó una muestra aleatoria para seleccionar a los participantes que se dividieron en grupo de estudio y grupo control; unos hicieron enjuagues con el que contenía la salvia y otros con el placebo, se recogieron las muestras y se analizaron. Estas dieron como resultado una reducción

considerable de las colonias de *S. mutans* en las personas que hicieron enjuagues con el extracto de salvia y no hubo cambios significativos con el placebo (74).

En un estudio realizado en 2019, utilizaron el extracto glicólico de *Salvia officinalis* de las hojas de la planta, el cual estaba compuesto químicamente de pineno, cineol, alcanfor, carvacrol, tujona, ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido labiático, ácido rosmarínico, amina α y β , picrosalvina (carnosol), betulina, flavonoides, taninos, sustancia estrogénica, saponinas, resinas y mucílagos, contra 60 muestras capaces de causar infecciones oportunistas, entre ellas el *S. mutans*. Como resultado, la salvia tuvo una acción antimicrobiana efectiva contra todas las muestras (75).

El efecto antimicrobiano y otras labores biológicas que tiene la *S. officinalis* se le ha otorgado gracias a la existencia de innumerables compuestos bioactivos en esta planta. Entre los componentes más significativos reconocidos están la α -tujona, el alcanfor, el 1,8-cineol y el carvacrol (75).

En 2019, Medeiros *et al.*, evaluaron la planta *in vitro* y demostraron que el extracto etanólico de la hoja de tiene actividad antimicrobiana fuerte contra *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. El extracto demostró un perfil bacteriostático, inhibiendo el desarrollo del microorganismo, pero sin ocasionar su muerte (73).

El mismo estudio, confirmó que el extracto crudo de la hoja de *S. officinalis* y su fracción diterpeno-manool tienen una fuerte actividad antibacteriana contra *S. mutans* (73).

Al poseer el extracto etanólico o glicólico de salvia una fuerte actividad antimicrobiana contra el *S. mutans*, otras especies de *Streptococcus* y *Candida albicans*, se refuerza la importancia de investigar sobre alternativas terapéuticas de las plantas medicinales para el uso de las mismas en diferentes campos de la odontología y la salud en general.

4.3 Conclusiones

El extracto de raíz de diente de león presentó un halo de inhibición en menor proporción con respecto al CHX, por lo tanto, se podría evaluar como alternativa natural para enjuague bucal. Los aceites esenciales de moringa y salvia no presentaron halo de inhibición contra *S. mutans*, por lo tanto, según este estudio no se recomienda el uso de dichos aceites esenciales como alternativa natural para enjuague bucal.

No existe ninguna sustancia utilizada como producto de higiene oral que sea completamente inocua. Es indispensable conocer los posibles efectos adversos de un producto de higiene oral antes de indicar el uso de este a una persona.

El Ministerio de Salud de Costa Rica establece condiciones y requisitos para otorgar el registro e inscripción de enjuagues bucales como productos

cosméticos bajo las normas de COMIECO. Los enjuagues bucales categorizados como medicados o terapéuticos deberán presentar un formulario distinto al requerido para productos cosméticos.

Los diversos estudios científicos actuales respaldan la actividad antibacteriana como una de las características propias en el diente de león, la moringa y la salvia.

En comparación con el CHX, el extracto de diente de león presentó menor actividad antibacteriana contra el *S. mutans*. En comparación con el agua destilada, los aceites esenciales de moringa y salvia presentaron similar actividad antibacteriana contra el *S. mutans*.

4.4 Recomendaciones

Para futuras investigaciones sobre la misma línea de trabajo, se recomienda realizar la obtención de los extractos o aceites esenciales dentro de un mismo laboratorio y en un ambiente que pueda ser controlado por los investigadores, de manera que se puedan conocer las características de la muestra utilizada y la concentración de los extractos o aceites esenciales obtenidos.

Para ampliar el estudio de las sustancias utilizadas en este trabajo, se recomienda realizar una caracterización de cada una de las plantas, que permita identificar los compuestos específicos con actividad antibacteriana.

Con el fin de expandir y complementar el tema de investigación, se insta a realizar las pruebas de actividad antibacteriana con otro tipo de bacterias patógenas que puedan ser encontradas en la cavidad oral.

CAPÍTULO V PARTE FINAL

5.1 Cronograma de actividades del seminario

MARZO		
Fecha	Temas desarrollados	Responsables
Semana I 11 al 15 marzo	<p>Entrega y lectura del programa de curso. Motivación para la investigación. Objetivos de este Seminario de Graduación. Asignación deberes. Inducción al uso de Mediación Virtual. El cuaderno de bitácora como registro de la experiencia de investigación: agendas de trabajo, avances en reuniones, ficheros bibliográficos, anotaciones, los obstáculos, las dificultades y los factores facilitadores de las actividades. El resguardo de las copias de información: el disco duro externo, la llave maya y la red internet (correos electrónicos y contenedores). Word/Text document y Excel/Calc: trucos y secretos en el procesador de texto y la base de datos. ESQUEMA PARA EL PLAN DE TRABAJO DE LA INVESTIGACIÓN: resultados esperados-actividades-aspectos a considerar-duración-fecha de inicio-fecha de terminación-responsable-recursos. Importancia de la planificación del trabajo en investigación: lo previsto e imprevisto. El diagrama de Gantt en la planificación de proyectos: tareas (predecesora, sucesora, resumen), trabajo, duración, hito, calendario, simbología (tarea, división, progreso, hito, resumen, tarea resumida, división resumida, hito resumido, progreso resumido, resumen del proyecto). Herramientas para la elaboración del diagrama de Gantt: Excel/Calc.</p> <p>Tareas 1. Creación del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación (2 días).</p>	Dra. Ballesteró Dra. Madrigal Estudiantes

	<p>2. Elaboración de un documento/folleto/tríptico explicando cómo se construyen las referencias bibliográficas siguiendo el formato Vancouver. Incluir: generalidades, libros (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, edición revisada), revistas (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, sin volumen, en prensa), periódicos (con autor, sin autor, periódico mensual), entrevista personal, enciclopedia o diccionario, artículo de enciclopedia, tesis y disertaciones, filme, medio (cintas de video, cintas de audio, diapositivas, gráficas, trabajos artísticos, grabación de casete), información en la red, medios electrónicos (correspondencia electrónica, mensajes electrónicos, listas de discusión, CD-ROM, cinta de datos electrónica, cinta en cartucho y programa de computadora).</p> <p>3. Elaboración de un folleto o tríptico con las reglas para insertar referencias bibliográficas en un documento y el uso correcto de las abreviaturas relacionadas con la técnica de referencia.</p> <p>4. Realizar las lecturas:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● ¿Qué es la Odontología basada en evidencia? ● Cuestionamientos bioéticos en odontología. ● Bioética e investigación en odontología. ● Equipo de salud: el trabajo multidisciplinario en investigaciones del área de la salud 	
<p>Semana II 18 al 22 marzo</p>	<p>TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN <u>CAPÍTULO</u> <u>INTRODUCCIÓN</u> JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN (propósitos, aplicabilidad). PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA (justificación científica). USO DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN (propósitos, aplicabilidad). Tareas 1. Entrega del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación a las profesoras (3 días). 2. Elaboración del título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación (3 días).</p>	<p>Dra. Ballesteros Dra. Madrigal Estudiantes</p>

Semana III 25 al 29 marzo	Exposición de la información relacionada a las indicaciones para la construcción e inserción de referencias bibliográficas y uso de abreviaturas. Discusión de las lecturas asignadas en Semana I. Tareas 1. Correcciones al diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación a las profesoras (2 días). 2. Entrega de la elaboración del título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación a las profesoras (2 días).	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes
Semana IV 01 al 4 abril	SEMANA SANTA	
ABRIL		
Semana V 08 al 12 abril	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN (general y específicos). Cómo se estructuran los objetivos de investigación: el qué, el cómo y el para qué. FUNDAMENTO TEÓRICO/ANTECEDENTES SOBRE EL TEMA (argumentación, respuestas posibles, hipótesis). Detalles a considerar durante la revisión bibliográfica: reconocimiento de fuentes confiables, uso de los servicios del sistema de bibliotecas y manejo correcto de los motores de búsqueda por internet. Tareas 1. Corrección al título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación (2 días). 2. Elaboración de los objetivos de la investigación y del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (2 semanas).	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes
Semana VI 15 al 18 abril	Importancia del registro fotográfico y de video en el proceso de investigación. Manejo de los insumos, creación y gestión de carpetas: .doc, .odt, .img, sonido, video: numeración, orden, omisión de caracteres especiales.	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes

	<p><u>CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO</u></p> <p>Desarrollo de la revisión bibliográfica con inserción de citas según formato Vancouver.</p> <p>Generalidades de las plantas en estudio: taxonomía, nombre científico, sinónimos, nombres vulgares, origen, historia, características, usos en la medicina popular, evidencia científica de actividad antimicrobiana.</p> <p>Aceites esenciales de las plantas en estudio. Generalidades de las sustancias control del estudio: propiedades y características.</p> <p>Microorganismos en estudio: características, importancia del control con métodos alternativos.</p> <p>Tarea</p> <ol style="list-style-type: none"> Entrega del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (I parte) y de los objetivos de la investigación a las profesoras (2 días). Elaboración del marco teórico (4 semanas). 	
Semana VII 22 al 25 abril	<p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> Correcciones a los objetivos de la investigación y al fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (I parte) (2 días). Entrega del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (II parte) a las profesoras (2 días). Entrega del marco teórico (I parte) (2 días). 	Estudiantes
Semana VIII 29 de abril al 2 de mayo	<p>Elementos de la Guía OPS para escribir un protocolo/una propuesta de investigación.</p> <p><u>CAPÍTULO III MÉTODOS DEL TRABAJO</u></p> <p>Definición operacional de las variables: objetivo específico-temas por desarrollar-variable-definición conceptual-definición operacional-definición instrumental-escala de medición-variable por tipo de categoría-tipo de variable.</p> <p>Tipo de estudio.</p> <p>Diseño general del estudio. Universo de estudio.</p> <p>Selección y tamaño de la muestra: técnicas de muestreo.</p> <p>Unidad de análisis.</p>	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes

	<p>Unidad de observación. Criterios de inclusión. Criterios de exclusión.</p> <p>Procedimientos para la recolección de información.</p> <p>Instrumentos a utilizar en la recolección de la información: definición y diseño.</p> <p>Métodos para el control y la calidad de los datos.</p> <p>Establecimiento de protocolos para procedimientos con las sustancias naturales y los cultivos de microorganismos.</p> <p>Calibración práctica.</p> <p>Materiales usados en el levantamiento de los datos.</p> <p>Procedimientos para garantizar aspectos éticos en la investigación.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (II parte) (2 días). 2. Entrega del marco teórico (II parte) (2 días). 3. Lectura tipos de estudio y diseño de las investigaciones en salud en Metodología de la investigación (Hernández, Fernández y Baptista, 2010). 4. Elaboración del CAPÍTULO III MÉTODOS DEL TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación (1 semana). 	
MAYO		
Semana IX 06 al 09 mayo	<p>Tarea</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Entrega del marco teórico (III parte) (2 días). 2. Entrega del CAPÍTULO III MÉTODOS DEL TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación a las profesoras (3 días). 	Estudiantes
Semana X 13 al 17 mayo	<p>Importancia, utilidad y características de los gráficos y las tablas: tipos, usos y formatos apropiados.</p> <p>PLAN DE ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS</p> <p>Métodos de análisis de los datos según tipo de variable.</p>	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes

	Modelos de análisis de los datos según tipo de variable. Tareas 1. Entrega del marco teórico (IV parte) (2 días). 2. Correcciones al CAPÍTULO III MÉTODOS DEL TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación (2 días). 3. Definición de los métodos y modelos estadísticos para el análisis de datos según el tipo de variable, diseño de tablas y gráficos para la presentación de la información (2 días).	
Semana XI 20 al 24 mayo	Tarea 1. Entrega de la definición de los métodos y modelos estadísticos para el análisis de datos según el tipo de variable, diseño de tablas y gráficos para la presentación de la información a las profesoras (3 días)	Estudiantes
Semana XI 27 al 31 mayo	Herramientas para la creación de bases de datos y análisis de los insumos: Excel, Calc, Epi Info 7 u otros. El manejo correcto de la base de datos: la importancia en la definición de las características de cada grupo de datos para la codificación y el valor de cada registro. Tareas 1. Correcciones al CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO de la Memoria del Seminario de Investigación (2 días). 2. Correcciones al diseño de tablas y gráficos para el análisis de la información (2 días). 3. Construcción de la matriz para base de datos (1.5 semanas)	Dra. Ballesteros Dra. Madrigal Estudiantes
JUNIO		
Semana XII 03 junio al 07 de junio	Tarea Entrega de la matriz para base de datos a las profesoras (3 días).	Estudiantes
Semana XIII 10 al 13 junio	Tarea Correcciones a la matriz para la base de datos (2 días).	Estudiantes

Semanas XIV- XV 17 al 27 junio	LEVANTAMIENTO DE DATOS Tareas (2 semanas) 1. Obtención de las sustancias naturales. 2. Traslado de las sustancias naturales. 3. Procesamiento de las sustancias naturales.	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes
JULIO		
Semana XVI- XVII 01 al 12 julio	LEVANTAMIENTO DE DATOS Tareas (2 semanas) 1. Obtención de las muestras microbiológicas. 2. Preparación de cultivos microbiológicos.	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes
Semana XVIII 15 al 19 julio	Tarea (1 semana) Aplicación de las sustancias naturales en los cultivos microbiológicos.	Estudiantes
Semana XIX 22 al 26 julio	Tarea (1 semana) Obtención de datos.	Estudiantes
AGOSTO		
Semana XX 29 julio al 02 agosto	Tareas (1 semana) 1. CODIFICACIÓN DE DATOS 2. TABULACIÓN DE DATOS	Estudiantes
Semana XXI 05 al 09 agosto	Tarea (1 semana) PROCESAMIENTO DE DATOS	Estudiantes
Semanas XXII-XXIV 12 al 23 agosto	<u>CAPÍTULO IV DESARROLLO RESULTADOS</u> DISCUSIÓN (incluye el análisis de los resultados en comparación con lo planteado en el marco teórico) CONCLUSIONES (deben ser concordantes con lo planteado en el objetivo general y los objetivos específicos de la investigación). RECOMENDACIONES Tarea (3 semanas) Elaboración del CAPÍTULO IV DESARROLLO de la Memoria del Seminario de Investigación.	Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes
SETIEMBRE		

<p>Semanas XXV-XXVI 26 al 30 agosto</p>	<p><u>CAPÍTULO V PARTE FINAL</u> CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES DEL SEMINARIO: fecha-actividad-recursos-responsables-evaluación de la directora-evaluación del grupo. FACTORES FACILITADORES/OBSTÁCULOS Y DIFICULTADES BITÁCORA (experiencia personal de acuerdo con el Seminario). GLOSARIO (optativo). REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS (formato Vancouver). ANEXOS/APÉNDICES (protocolos, instrumentos de recolección de la información, ampliación de métodos y procedimientos, diseño de tablas y gráficos, etc.). Anexos y apéndices ¿cuál es realmente la diferencia? Normas para el respeto a la identidad gráfica de la Universidad de Costa Rica: lo que debemos considerar en el diseño de los maquetadores. Tarea 1. Entrega del CAPÍTULO IV DESARROLLO de la Memoria del Seminario de Investigación. 2. Elaboración del CAPÍTULO V PARTE FINAL de la Memoria del Seminario de Investigación (2 semanas)</p>	<p>Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes</p>
<p>Semana XXVII-XXVIII 9 al 20 setiembre</p>	<p><u>PARTE INICIAL</u> Portada. Hoja de aprobación memoria. Formulario para autorización al SIBDI-UCR. Dedicatoria. Reconocimientos. Carta del filólogo. Tabla de contenidos. Lista de figuras. Lista de abreviaturas. Resumen de la investigación y palabras clave. Buenas prácticas para la: <ul style="list-style-type: none"> ● Redacción de la dedicatoria y los reconocimientos. ● Elaboración de la tabla de contenidos y las listas (figuras, abreviaturas). ● Construcción del resumen y la elección de las palabras clave. </p>	<p>Dra. Ballestero Dra. Madrigal Estudiantes</p>

	Tareas 1. Correcciones al CAPÍTULO IV DESARROLLO. 2. Entrega del CAPÍTULO V PARTE FINAL de la Memoria del Seminario de Investigación. 2. Elaboración de la PARTE INICIAL de la Memoria del Seminario de Investigación (2 semanas).	
Semana XXIX 23 al 27 octubre	Tarea (1 semana) 1. Correcciones al CAPÍTULO V PARTE FINAL. 2. Entrega del PRIMER BORRADOR DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO (según el Formato Memoria de Seminarios 2018 del Programa Macro de Investigación)	Estudiantes
OCTUBRE		
Semana XXX 30 setiembre al 04 octubre	Importancia de la revisión filológica familiarizada con el área odontológica. Tarea (1 semana) Correcciones al PRIMER BORRADOR DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO (según el Formato Memoria de Seminarios 2018 del Programa Macro de Investigación)	Dra. Balletero Dra. Madrigal Estudiantes
Semana XXXI 7 al 11 octubre	Tarea (1 semana) Revisión del SEGUNDO BORRADOR (impreso) DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO por parte de un profesional en FILOLOGÍA.	Estudiantes
Semana XXXII 14 al 18 octubre	Tarea (1 semana) Correcciones al SEGUNDO BORRADOR DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO DE GRADUACIÓN.	Dra. Balletero Dra. Madrigal Estudiantes
NOVIEMBRE		
Semana XXXIII-XXXIV 22 octubre al 01 noviembre	Tarea (2 semanas) Entrega DEL TERCER BORRADOR (impreso) DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO a la COMISIÓN DEL PROGRAMA MACRO DE INVESTIGACIÓN (debe incluir carta con el visto bueno del profesional en filología).	Estudiantes
Semana XXXIV	Tareas (1 semana)	Dra. Balletero

04 al 08 noviembre	<ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al TERCER BORRADOR (impreso) DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO DE GRADUACIÓN. 2. Impresión definitiva, copias y empastes de la MEMORIA DEL SEMINARIO DE GRADUACIÓN. 	Dra. Madrigal Estudiantes
Semana XXXV 11 al 15 noviembre	<p>Normas para el respeto a la identidad gráfica de la Universidad de Costa Rica: lo que debemos considerar en el diseño de los maquetadores.</p> <p>ELABORACIÓN DEL BORRADOR DEL PÓSTER (seguir el formato del Programa Macro de Investigación).</p> <p>Uso de herramientas de maquetación para póster: Publisher, Scribus o Illustrator.</p> <p>Tareas (1 semana)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Elaboración del borrador del póster. 2. Entrega del borrador del póster. 3. Correcciones al póster. 4. Impresión definitiva del póster. 	Dra. Ballesteros Dra. Madrigal Estudiantes
Semana XXXVI 18 al 22 noviembre	<p>ELABORACIÓN DEL BORRADOR PARA LA PRESENTACIÓN A LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA (según formato del Programa Macro de Investigación)</p> <p>Herramientas para la captura de sonidos y videos: 4shared.com, jimmyr.com, aTubeCatcher.com</p> <p>Uso de herramientas para el procesamiento de imágenes: Paint, PhotoShop, textanim.com</p> <p>Uso de herramientas para la edición de sonido: Audacity.</p> <p>Uso de herramientas para la creación de videos: Movie Maker, Photo Story (Fotos Narradas) u otros.</p> <p>Uso de herramientas para la creación de presentaciones: Power Point/Impress.</p> <p>Tareas (1 semana)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Obtención y construcción de insumos para la presentación a la Facultad de Odontología. 2. Elaboración del borrador de la presentación. 3. Entrega del borrador de la presentación. 4. Correcciones a la presentación. 5. Ensayo de la presentación. 	Dra. Ballesteros Dra. Madrigal Estudiantes

	Elaboración de CDs debidamente etiquetados e identificados con copias digitales de: la MEMORIA DEL SEMINARIO DE GRADUACIÓN, el REGISTRO FOTOGRÁFICO, el PÓSTER y la PRESENTACIÓN A LA FACULTAD (también incluir videos y otros recursos). Guardar en subcarpetas.	
Semana XXXV 25 al 29 de noviembre	Tareas (1 semana) 1. Entrega de la MEMORIA DEL SEMINARIO DE GRADUACIÓN, el PÓSTER, la PRESENTACIÓN A LA FACULTAD (versiones impresas). 2. Entrega de la MEMORIA DEL SEMINARIO DE GRADUACIÓN, el REGISTRO FOTOGRÁFICO, el PÓSTER y la PRESENTACIÓN A LA FACULTAD, videos y otros recursos (CDs con versiones digitales en subcarpetas). 3. Presentación oral de Seminarios del Graduación del Programa Macro de Investigación (10 minutos).	Estudiantes
ENERO 2020		
Semana XXXVI enero 2019	Entrega de certificados Proyectos de Investigación.	Programa Macro de Investigación

5.2 Factores facilitadores / obstáculos y dificultades

El mayor facilitador en el presente estudio fue el Laboratorio de Bacteriología Médica de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, lugar donde se realizaron las pruebas de actividad antibacteriana sin limitantes y con gran rapidez.

Hubo algunos obstáculos que dificultaron el desarrollo del proyecto. Primero, no se logró encontrar un laboratorio en el cual se pudiera realizar la obtención de extractos y aceites esenciales con la asesoría adecuada.

Posteriormente, las sustancias por evaluar fueron importadas desde un casillero en los Estados Unidos de América y al ingresar al país fueron retenidas en Aduanas, lo cual retrasó el desarrollo de la investigación mientras se realizaban los trámites para conseguir los permisos.

Por último, la discusión se vio limitada por la falta de estudios con mayor similitud a la presente investigación con respecto al método.

5.3 Bitácora

Fecha	Descripción	Tiempo de trabajo
07-03-19	Primera reunión de investigación. Se explica con mayor detalle los objetivos y la metodología de trabajo. Se distribuyen los temas de investigación preliminares para realizar una búsqueda inicial y que cada estudiante pueda elegir una planta de estudio definitiva, que debe ser indicada a las coordinadoras antes del viernes 15 de marzo.	1:30 horas
	Investigación sobre las plantas propuestas para la investigación. Se decide trabajar diente de león, moringa y salvia.	1 hora
19-03-19	Recolección de artículos científicos sobre diente de león, moringa y salvia: información general y actividad antimicrobiana.	1 hora
21-03-19	Organización de la información recolectada y redacción de documento con generalidades sobre el diente de león, moringa y salvia. Envío del documento para su revisión.	1 hora

19-04-19	Investigación y organización de información sobre reacciones adversas a los enjuagues bucales y otros productos dentales (cremas, etc), inocuidad, tratamiento de las mismas y otros temas indicados para el marco teórico. Se envía a revisión.	8 horas
23-04-19	Se realizan las correcciones indicadas sobre el marco teórico.	4 horas
28-05-19	Se indica que la extracción de aceites esenciales se realizará en el laboratorio del CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos).	-
30-05-19	Reunión virtual: redacción del capítulo de inducción y organización del marco teórico.	3 horas
05-06-19	Se envía el trabajo con las nuevas ediciones para revisión.	30 minutos
06-06-19	Se envía un correo al profesor Eduardo Thompson solicitando un espacio para realizar la extracción de aceites esenciales, el cual indica que debe haber comunicación con la profesora Laura Arroyo.	15 minutos
25-06-19	Se contacta a la profesora vía telefónica. Indica que debe recibir vía correo electrónico la metodología del trabajo, el procedimiento y los reactivos necesarios para la extracción de aceites esenciales.	10 minutos
01-07-19	Se investiga y se redacta lo solicitado por la profesora Laura Arroyo: metodología del trabajo, procedimiento y reactivos necesarios. Se envía a la Dra. Ballesteros un nuevo avance con correcciones realizadas y el documento redactado para una revisión previa.	3 horas
03-07-19	Se envía un correo a la profesora Laura Arroyo con el documento y la información solicitada sobre el método elegido para la extracción de aceite esencial (Soxhlet). La profesora responde que necesita saber la cantidad de solvente por utilizar y su horario	20 minutos

	disponible.	
04-07-19	Se consulta a la doctora sobre la cantidad de solvente necesaria, para lo cual envía algunos documentos que se pueden utilizar de referencia. Sin embargo, quedan muchas dudas por despejar, por lo cual se le solicita a la profesora vía correo una reunión inicial para aclarar dichas dudas.	2 horas
08-07-19	Se realiza una reunión presencial con la profesora Laura Arroyo, en la cual se explica sobre el proyecto que se va a realizar. La profesora indica, para extracción de aceites esenciales, el método adecuado es arrastre por vapor, ya que, con el método Soxhlet se obtiene únicamente la parte lipofílica de la muestra. Indica que se debe investigar dónde se encuentra el componente antimicrobiano que se desea extraer para las pruebas posteriores, porque de eso depende el método de extracción. Se solicita una reunión a la Dra. Ballesteros y se programa para el día 10 de julio a la 1 pm.	2 horas
07-10-19	Se cancela la cita programada con la Dra Ballesteros a la 1:00 p.m.	-
08-07-19	Se recibe vía correo electrónico la nueva revisión del trabajo escrito, y se solicita su entrega para la primera semana del segundo semestre (22 al 26 julio)	-
21-07-19	Realización de correcciones indicadas	1:30 horas
22-07-19	Se reciben las correcciones de Pamela Arias	-
31-07-19	Se decide que para el análisis los aceites esenciales serán importados, ya que dos de las estudiantes se encuentran en rotación larga del externado y no se podrá coordinar un horario para poder realizar la extracción de aceites esenciales en laboratorio.	-
01-08-19	Se adjunta al trabajo la información recolectada previamente sobre las plantas en estudio.	4 horas

	Se envía un nuevo avance del proyecto a la Dra. Ballestero	
05-08-19	Se reciben nuevas correcciones por parte de la Dra. Ballestero.	-
07-08-19	Se trabaja en las correcciones de contenido y formato indicadas por la Dra. Ballestero.	5 horas
12-08-19	Se envía un nuevo avance a la Dra. Ballestero.	2 horas
16-08-19	Se realiza la compra de aceites esenciales vía internet.	-
20-08-19	Se reciben las nuevas correcciones de la Dra. Ballestero.	-
10-09-19	Se realizan las nuevas correcciones y se envía un nuevo avance a la Dra. Ballestero.	6 horas
24-09-19	Se recibe la revisión de la Dra. Ballestero	-
25-09-19	Se trabaja en las correcciones indicadas por la doctora.	2 horas
01-10-19	Se trabaja en las correcciones indicadas por la doctora.	4 horas
02-10-19	Se trabaja en las correcciones indicadas por la doctora.	2 horas
05-10-19	Se reciben los resultados de las pruebas de laboratorio.	-
07-10-19	Se trabaja en el método.	2 horas
08-10-19	Se trabaja en los agradecimientos, dedicatoria, resultados y discusión.	3 horas
12-10-19	Se trabaja en la discusión, conclusiones, recomendaciones y formato en general.	7 horas
13-10-19	Se trabaja en el formato en general. Se envía un nuevo avance a la Dra. Ballestero.	2 horas
21-10-19	Se reciben las correcciones por parte de la Dra. Ballestero.	-

22-10-19	Se realizan las correcciones indicadas por la doctora.	3 horas
24-10-19	Se envía el trabajo completo a la Dra. Balletero.	-

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stojanović-Radić Z, Pejčić M, Stojanović N, Sharifi-Rad J, Stanković N. Potential of *Ocimum basilicum* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against biofilms of *P. aeruginosa* clinical isolates. *Cell Mol Biol.* 2016;62(9):27–32.
2. Padilla E, Suárez M. Formulación y control de calidad de un enjuague bucal elaborado a partir de los extractos totales de *Matricaria recutita* L. (manzanilla) y de *Salvia officinalis* L. (salvia). Universidad Central del Ecuador; 2015.
3. Leyva A, Badillo G, Reyes R, Campos E. Efectividad antimicrobiana de cuatro enjuagues bucales. *Tlamati sabiduría.* 2016;7(1):822-829.
4. Brenes I, Ballesteros N. Pruebas de sensibilidad antibacteriana *in vitro* contra *Streptococcus mutans* utilizando extractos de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Tradescantia zebrina* (cucaracha) para la elaboración de desinfectantes de cavidades dentales [Internet]. Universidad de Costa Rica; 2017. Disponible en: <http://weekly.cnbnews.com/news/article.html?no=124000>
5. Segura P, Liang W, Ballesteros, N. Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucales a partir de *Raphanus sativus* (rábano) y *Sesamun indicum* (sésamo). [Internet] Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/67/browse?typ>

e=subject&order=ASC&rpp=20&value=ENJUAGUES+BUCALES

6. Parashar A. Mouthwashes and Their Use in Different Oral Conditions. *Sch J Dent Sci J Dent Sci* [Internet]. 2015; 2(2B):186–91. Disponible en: www.saspublisher.com
7. Real Academia Española. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario [Internet]. 2019 [citado 20 de agosto de 2019]. p. 1–2. Disponible en: <https://dle.rae.es/srv/fetch?id=LhnnHI9>
8. Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos [Internet]. 2019 [citado 20 de agosto de 2019]. p. 1–2. Disponible en: https://www.who.int/topics/food_safety/es/
9. Oxford University Press. Harmlessness noun - Definition, pictures, pronunciation and usage notes _ Oxford Advanced Learner's Dictionary at OxfordLearnersDictionaries [Internet]. 2019 [citado 20 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.oxfordlearnersdictionaries.com/definition/english/harmlessness>
10. Edwards I, Aronson J. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *The Lancet*. 2000;356(1):1255-1259.
11. Abdallah C. Perioperative chlorhexidine allergy: Is it serious? *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2015;31(2):152.
12. Sadat Sajadi F, Moradi M, Pardakhty A, Yazdizadeh R, Madani F. Effect of

- Fluoride, Chlorhexidine and Fluoride-chlorhexidine Mouthwashes on Salivary *Streptococcus mutans* Count and the Prevalence of Oral Side Effects. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2015;9(1):49–52.
13. Haydari M, Bardakci AG, Koldslund OC, Aass AM, Sandvik L, Preus HR. Comparing the effect of 0.06% -, 0.12% and 0.2% Chlorhexidine on plaque, bleeding and side effects in an experimental gingivitis model: A parallel group, double masked randomized clinical trial. *BMC Oral Health*. 2017;17(1):0–8.
 14. Bertl K, Bruckmann C, Isberg PE, Klinge B, Gotfredsen K, Stavropoulos A. Hyaluronan in non-surgical and surgical periodontal therapy: A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2015;42(3):236–46.
 15. Genovesi A, Barone A, Toti P, Covani U. The efficacy of 0.12% chlorhexidine versus 0.12% chlorhexidine plus hyaluronic acid mouthwash on healing of submerged single implant insertion areas: a short-term randomized controlled clinical trial. *Int J Dent Hyg*. 2017;15(1):65–72.
 16. Pérez Jaramillo A, Tamayo JA, Chavarro Lozano M, Arana Osorio W, Felipe Saldarriaga A. Estimación cualitativa del peso de la crema dental en niños. *Rev Cubana Estomatol*. 2015;51(4):388–402.
 17. Murillo G, Berrocal C. Lesiones de esmalte en desarrollo, clasificación en familias costarricenses. *Odovtos*. 2013;(15):45–52.
 18. Affairs ONS. Fluoride toothpaste use for young children. *J Am Dent Assoc*.

2014;145(2):190–1.

19. De Groot A. Contact Allergy to (Ingredients of) Toothpastes. *Dermatitis*. 2017;28(2):95–114.
20. García Yerena G, De Jesús Sánchez A, Galindo Reyes E, Cerda Cisterna B. Triclosán en pastas dentales, ¿Tiene un riesgo verdadero para la salud? Triclosan in Toothpaste, Is There Any Real Risk for the Health? *Int J Dent Sci*. 2016;2(18):41–9.
21. Stoopler ET. AAOM Clinical Practice Statement. Oral Surg Oral Med Oral Pathol *Oral Radiol* [Internet]. 2016;122(1):50–2. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oooo.2016.02.016>
22. Larsen KR, Johansen JD, Reibel J, Zachariae C, Pedersen AML. Symptomatic oral lesions may be associated with contact allergy to substances in oral hygiene products. *Clin Oral Investig*. 2017;21(8):2543–51.
23. Papakonstantinou E, Raap U. Oral Cavity and Allergy: Meeting the Diagnostic and Therapeutic Challenge. *Curr Oral Heal Reports*. 2016;3(4):347–55.
24. Joshipura KJ, Muñoz-Torres FJ, Morou-Bermudez E, Patel RP. Over-the-counter mouthwash use and risk of pre-diabetes/diabetes. *Nitric Oxide - Biol Chem* [Internet]. 2017;71(September):14–20. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.09.004>

25. Vanhatalo A, Blackwell JR, L'Heureux JE, Williams DW, Smith A, van der Giezen M, Winyard P, Kelly J, Jones A. Nitrate-responsive oral microbiome modulates nitric oxide homeostasis and blood pressure in humans. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2018;124(March):21–30. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.078>
26. Preshaw PM. Mouthwash use and risk of diabetes. *Br Dent J* [Internet]. 2018;225(10):923–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.1020>
27. Mathew ST. Alcohol-containing Mouthwash and Oral Cancer Risk: A Systematic Review. *Int J Dent Med Spec*. 2015;2(3):21.
28. Kumar M, Nanavati R, Modi T, Dobariya C. Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. *J Cancer Res Ther*. 2016;12(2):458–63.
29. Ahrens W, Pohlabein H, Foraita R, Nelis M, Lagiou P, Lagiou A, Bouchardy C, Slamova A, Schejbalova M, Merletti F, Richiardi L, Kjaerheim K, Agudo A, Castellsague X, Macfarlane T, Marfarlane G, Lee Y, Talamini R, Barzan L, Canova C, Simonato L, Thomson P, McKinney A, Znaor A, Healy C, McCartan B, Metspalu A, Marron M, Hashibe M, Conway D, Brennan P. Oral health, dental care and mouthwash associated with upper aerodigestive tract cancer risk in Europe: The ARCAGE study. *Oral Oncol* [Internet]. 2014;50(6):616–25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.03.001>

30. Ministerio de Salud. Gobierno de Costa. Reporte de Productos Registrados. 2019. p. 16–9.
31. Procuraduría General de la República [Internet] Costa Rica. Publica Resolución N° 231-2008 (COMIECO-L): Aprobación de Reglamentos Técnicos Centroamericanos N° RTCA 71.03.49:08, RTCA 71.01.35:06, RTCA 71.03.36:07, RTCA 71.03.45:07 sobre Productos Cosméticos. Disponible en:
http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=64869&nValor3=75501¶m2=1&strTipM=TC&IResultado=4&strSim=simp
32. Procuraduría General de la República [Internet] Costa Rica. Publica Resolución N° 231-2008 (COMIECO-L): Aprobación de Reglamentos Técnicos Centroamericanos N° RTCA 71.03.49:08, RTCA 71.01.35:06, RTCA 71.03.36:07, RTCA 71.03.45:07 sobre Productos Cosméticos. Disponible en
http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_articulo.aspx?param1=NRA&nValor1=1&nValor2=64869&nValor3=75501&nValor4=1&nValor5=2&nValor6=25/07/2008&strTipM=FA
33. García M, Viglione L. Diente de León. Una maleza alternativa con múltiples beneficios para la salud. Universidad Fasta; 2016.
34. Rasool S, Sharma B. *Taraxacum officinale*: a high value less known

medicinal plant Parts used. *Ann Plant Sci.* 2014;3(12):908–15.

35. Dias MI, Barros L, Alves RC, Oliveira MBPP, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Nutritional composition, antioxidant activity and phenolic compounds of wild *Taraxacum* sect. *Ruderalia*. *Food Res Int* [Internet]. 2014; 56:266–71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.003>
36. Qian L, Zhou Y, Teng Z, Du CL, Tian C. Preparation and antibacterial activity of oligosaccharides derived from dandelion. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2014; 64:392–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.12.031>
37. Azuero A, Jaramillo Jaramillo C, San Martin D, D'Armas Regnault H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador / Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador. *Cienc Unemi.* 2018;9(20):11.
38. Martinez M, Poirrier P, Chamy R, Prüfer D, Schulze-Gronover C, Jorquera L, Ruiz G. *Taraxacum officinale* and related species - An ethnopharmacological review and its potential as a commercial medicinal plant. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2015; 169:244–62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.03.067>
39. Kenny O, Brunton N, Walsh D, Hewage C, McLoughlin P, Smyth T. Characterisation of antimicrobial extracts from dandelion root (*Taraxacum officinale*) using LC-SPE-NMR. *Phyther Res.* 2015;29(4):526–32.

40. Shafiq N, Al-Hashimi M. The antibacterial evaluation of dandelion extracts as root canal irrigating solutions (A comparative study). *Restorative dentistry* 2014;26(1):35–40.
41. Sohail M, Iqbal Z, Afzai M, Afzai A, Ur Rahman I, Shad S, et al. *In vitro* antibacterial study of *Taraxacum officinale* leaves extracts against different bacterial pathogenic strains. *J Pharmacogn Phytochem*. 2014;3(2):15–7.
42. Mir M A, SS S. Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Taraxacum officinale*. *J Microb Biochem Technol* [Internet]. 2016;8(3). Disponible en: <https://www.omicsonline.org/open-access/antimicrobial-activity-of-various-extracts-of-taraxacum-officinale-1948-5948-1000287.php?aid=76191>
43. Nadeem M, Imran M. Promising features of *Moringa oleifera* oil: recent updates and perspectives. *Lipids Health Dis* [Internet]. 2016;1–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-016-0379-0>
44. Ahmed E, Sharaf-Eldin M, Wadaan M. *In vitro* Evaluation of Cytotoxic Activities of Essential Oil from *Moringa oleifera* Seeds on Hela, HepG2, MCF-7, CACO-2 and L292 cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015; 16:4671–5.
45. González J. Un estudio transversal de *Moringa oleifera* Lam. (*Moringaceae*). *Dominguezia*. 2018;34(1):5–25.
46. Serie Forjadores CU. Aserrí - *Moringa* Costa Rica [Internet]. 2019 [citado 20 de marzo de 2019]. p. 8–10. Disponible en:

https://www.youtube.com/watch?v=-hlgU_yO6FY

47. Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. Moringa oleifera Seeds and Oil: Characteristics and Uses for Human Health. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;1–14.
48. El-Mohamedy R, Abdalla A. Evaluation of Antifungal Activity of *Moringa oleifera* Extracts as Natural Fungicide against Some Plant Pathogenic Fungi In- vitro. *International Journal of Agricultural Technology.* 2014;10(4):963–82.
49. Abdelhamid M, Mahmoud M, Saleh E, Gaber A. Comparison of the Antimicrobial Activities of the Leaves-Crude Extracts of *Moringa peregrina* and *Moringa oleifera* in Saudi. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* (2015) 4(12): 1-9.
50. Ghorbani A, Esmaeilzadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med.* 2017;7(4):433–40.
51. Ben Khedher M, Ben Khedher S, Chaieb I, Tounsi M. Chemical composition and biological activities of *Salvia Officinalis* essential oil from Tunisia. *Exp Clin Sci Int Online J Adv Sci.* 2017;47(3):365–9.
52. Gesner J, Freyhof J, Kottelat M. *Acipenser ruthenus*, Sterlet [Internet]. Vol. e.T227A130, The IUCN Red List of Threatened Species 2010. 2010 [citado 12 de agosto de 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-1.RLTS.T227A13039007.en>

53. Guillén J, Ruiz A. Diagnóstico de los efectos de la lluvia ácida en la actividad productiva de la zona aledaña al Parque Nacional Volcán Turrialba, Costa Rica. *Repert Científico*. 2015; 18:59–73.
54. Sepahvand R, Delfan B, Ghanbarzadeh S, Rashidipour M, Veiskarami GH, Ghasemian-Yadegari J. Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pac J Trop Med*. 2014;7(S1):S491–6.
55. PipingRock®. Dandelion Root Liquid Extract Alcohol Free, 2 fl oz (59 mL) Dropper Bottle [Internet]. Vol. 0. 2019 [citado 7 de octubre de 2019]. p. 2–5. Disponible en: <https://m.pipingrock.com/dandelion-root/dandelion-root-liquid-extract-alcohol-free-2-fl-oz-59-ml-dropper-bottle-40351>
56. González A, Cuca L. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del amazonas. Universidad Nacional de Colombia; 2004.
57. Tabio D, Díaz Y, Rondón M, Fernández E, Piloto R. Extracción de aceites de origen vegetal. Universidad Tecnológica de La Habana; 2017.
58. Engineering K. Prensado en frío para la extracción de aceite [Internet]. 2019 [citado 10 de diciembre de 2019]. p. 1–2. Disponible en: http://www.plantasaceiteras.com/prensado_en_frio_extraccion_aceite.html#send
59. Estrada J. Extracción del aceite esencial del flavelo de la naranja dulce (*Citrus sinensis*) variedad valencia, proveniente de desechos agroindustriales,

utilizando el método de destilación por arrastre con vapor a escala planta piloto, para su aplicación en la formul [Internet]. Emecanica. Ingenieria. Usac.Edu.Gt. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2015. Disponible en: <http://emecanica.ingenieria.usac.edu.gt/sitio/wp-content/subidas/6ARTÍCULO-III-INDESA-SIE.pdf>

60. García R. Obtención de aceite esencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*) extraído por arrastre con vapor a escala piloto: estudio de la influencia de variables en el rendimiento y la calidad del aceite [Internet]. Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica (QUIMOB). Universidad Tecnológica Nacional; 2014. Disponible en: [http://ria.utn.edu.ar/bitstream/handle/123456789/847/Tesis final.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://ria.utn.edu.ar/bitstream/handle/123456789/847/Tesis%20final.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
61. Ramírez A. L, Marín Castaño D. Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Sci Tech* [Internet]. 2009; Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916714049>
62. Hussain I, Ullah R, AbdElsalam NM, Hayat S, Uddin K, Khan J, Akhtar N, Ullah Z. Antibacterial and preliminary phytochemicals screening of *theraxicum officinale*. *J Pure Appl Microbiol*. 2014;8(January):535–8.
63. Klein D. Química Orgánica. 9° ed. Buenos Aries: Editorial Médica Panamericana; 2014. 1–1352 p.

64. Sharifi-Rad M, Roberts T, Matthews K, Bezerra C, Morais-Braga M, Coutinho H, et al. Ethnobotany of the genus *Taraxacum* — Phytochemicals and antimicrobial activity. *Phyther Res*. 2018;(December 2017):1–15.
65. Grauso L, Emrick S, de Falco B, Lanzotti V, Bonanomi G. Common dandelion: a review of its botanical, phytochemical and pharmacological profiles. *Phytochem Rev* [Internet]. 2019;2. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09622-2>
66. Gómez D, Pita V, Zumalacárregui B. Caracterización de aceites de las semillas de *Moringa oleífera* a partir de la extracción por diferentes métodos. *Rev Colomb Biotecnol* [Internet]. 2016;43(2):66–72. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74502014000200002
67. Fernández J, Pascual G, Silva-Jaimes M, Salvá B, Guevara A, Encina C. Efecto del tratamiento enzimático de la semilla de moringa (*Moringa olifera*) sobre las características físico - químicas del aceite obtenido por extracción con prensa expeller. *Sci Agropecu*. 2018;9(3):371–80.
68. López J. *Moringa oleífera Lam*: Biología, botánica, propiedades nutricionales y medicinales [Internet]. Universidad de Sevilla; 2016. Disponible en: <https://idus.us.es/xmlui/handle//11441/80558%0Ahttp://www.ecoagricultor.com/2012/08/propiedades-nutricionales-y-medicinales-de-la-pina/>
69. Alarcón M, Da Silva R, Reyes D. *Moringa oleifera*: potenciales usos en

- odontología. *Salus* [Internet]. 2017;21(2):4–7. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85049423880&partnerID=40&md5=418fe87f11599e4c641f0957a26da937>
70. Chero V. Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de *Moringa olifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668 [Internet]. Trastornos Alimenticios. Universidad Señor de Sipán; 2018. Disponible en: [http://www.ub.edu.ar/posgrados/continua/archivos_segundo_semestre/Diagnóstico y Tratamiento de los Trastornos Alimentarios.pdf](http://www.ub.edu.ar/posgrados/continua/archivos_segundo_semestre/Diagnóstico_y_Tratamiento_de_los_Trastornos_Alimentarios.pdf)
71. Tardugno R, Pellati F, Iseppi R, Bondi M, Bruzzesi G, Benvenuti S. Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of essential oils on oral pathogenic bacteria. *Nat Prod Res* [Internet]. 2018;32(5):544–51. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1329730>
72. Nikolić M, Marković T, Marković D, Glamočlija J, Ćirić A, Smiljković M, Soković M. Antimicrobial Activity of Three Lamiaceae Essential Oils Against Common Oral Pathogens. *Balk J Dent Med*. 2016;20(3):160–7.
73. Medeiros C, Lira E, Ponchet E, De Freitas R, Wanderley Y, Barbosa R, Vieira J, Melo E. *In vitro* Evaluation of the Antimicrobial Potential of *Salvia officinalis* L. against Oral Pathogens. *J Heal Sci*. 2019;21(2):129.
74. Beheshti-Rouy M, Azarsina M, Rezaie-Soufi L, Alikhani MY, Roshanaie G,

Komaki S. The antibacterial effect of sage extract (*Salvia officinalis*) mouthwash against *Streptococcus mutans* in dental plaque: A randomized clinical trial. *Iran J Microbiol.* 2015;7(3):173–7.

75. De Oliveira J, Figueiredo P, De Aguiar R, De Oliveira F, Taige C, Afonso S, Cardoso A, De Oliveira L. Antimicrobial activity of noncytotoxic concentrations of *Salvia officinalis* extract against bacterial and fungal species from the oral cavity. *Gen Dent.* 2019;(February):22–6.

Anexos

Marca

Ultra Action Enjuague bucal.

Enjuague bucal antiséptico apro.

Disney enjuague bucal fragancias: avengers, cars, spiderman, frozen, minnie 5, minnie hh.

Enjuague bucal 5 elementos sabores natural, manzanilla, eucalipto, menta, romero, canela, clavo de olor, hierbabuena, frutal, herbal, anís, ruibarbo, vainilla, cítrico, de olor, árbol de té, lippia, manzanilla y lippia.

Enjuague bucal ancla.

Enjuague Bucal Clinic Sabor Menta color Azul.

Enjuague bucal Menta fresca Famicare.

Germex enjuague bucal.

Mint mouthwash - enjuague bucal de menta.

MisterMint Enjuague Bucal (Menta – Yerbabuena).

Original antiseptic mouth rinse -enjuague bucal antiséptico original.

Oxidant - enjuague bucal.

Sanite-enjuague bucal (con acción antibacterial, sanitizante y microbicida).

Spring mint antiseptic mouth rinse- enjuague bucal antiséptico menta primaveral.

Whiten & restore mouthrinse-enjuague bucal blanquea y restaura.

Figura 1. Enjuagues bucales registrados en Costa Rica.

Fuente: Reporte de productos registrados. Ministerio de Salud. Gobierno de Costa Rica

Marca	Tipo	Compuestos
Amalfi dent	Dientes sensibles, ultra fresh, menta	
Amway	Glister concentrado fórmula anti placa	Agua, alcohol, polisorbato 20, glicerina, saborizante, sacarina sódica, cloruro de cetilpiridinium, poloxamer 407, D&C Amarillo N.o 10, FD&C Azul N.o.
Bilka Dent	Cuidado de encías	
Bilka Dent	Expert proteccion periodontal	
Bilka Homeopathy	Toronja Homeopathy	
Bilka Homeopathy	Enjuague bucal para niños 6+	
ClorhexiDent	Enjuague bucal clorhexident	Gluconato de Clorhexidina:0.12%, Cloruro de cetilpiridino, Fluoruro de Sodio.
Colgate	Duraphat anticaries a base de fluoruro (473 ml)	Agua, sorbitol, propilen glicol, poloxamer 407, fosfato sódico, benzoato sódico, fosfato disódico, fluoruro de sodio (500ppm), Cetylpyridinium chloride, aroma, sacarina sódica.
	Orthogard	Fluoruro sódico 0,04%, fluoruro de fosfato acidulado.
	Sensitive pro-alivio (50ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml, 2000 ml)	Arginina, Agua, glicerina, sorbitol, propilenglicol, pirofosfato de tetrapotasio, aceite de ricino hidrogenado PEG-40, copolímero de PVM / MA, polisorbato 20, pirofosfato de tetrasodio, aroma, alcohol de bencilo, fluoruro de sodio (225 ppm F), Mentol, sacarina de sodio, ácido cítrico, metilisotiazolinona.
	Total 12 aliento saludable (antibacterial)	Agua, glicerina, propilenglicol, sorbitol, aroma, sabor, poloxámero, sacarina sódica, cloruro de cetilpiridinio, sorbato de potasio, fluoruro de sodio, ácido cítrico, flúor.
	Total 12 clean mint (antibacterial)	Agua, glicerina, propilenglicol, sorbitol, poloxámero, lactato de zinc, aroma, sabor, cloruro de cetilpiridinio, sorbato de potasio, fluoruro de sodio, ácido láctico,

		sacarina sódica, sucralosa, CI 42051/azul, ácido 3, flúor.
	Total 12 reparación diaria (antibacterial)	Fluoruro de sodio, agua, glicerina, propilenglicol, sorbitol, poloxámero 338 y 407, saborizante, aceite de castor PEG-40, sodio, sacarina, ácido fosfórico, cloruro de cetilpiridinio, fosfato de disodio, sorbato de potasio, FD&C azul No. 1.
	Luminous white	Agua, glicerina, alcohol etílico, propilenglicol, sorbitol, pirofosfato de tetrapotasio, polisorbato 20, pirofosfato tetrasodio, zinc, citrato de zinc, copolímero, aroma, sabor, benzoato de sodio, fluoruro de sodio, sacarina sódica, azul 1.
	Plax, en sus variantes: ice infinity, ice glacial, ice fusion cold mint, ice fusion winter mint	Agua, glicerina, propilenglicol, sorbitol, poloxámero, aroma, cloruro de cetilpiridinio, sorbato de potasio, fluoruro de sodio, mentol, sacarina de sodio.
	Zero alcohol colgate plax whitening	Fluoruro de sodio 0.05%, agua, glicerina, propilenglicol, sorbitol, pirofosfato de tetrapotasio, polisorbato 20, tetrasodium zinc, citrato de cinc, copolímero, aroma sabor, alcohol bencílico, fluoruro de sodio, sacarina sódica, CI 42051/azul, ácido 3.
Eludril	Activ	Clorhexidina digluconato, Clorobutanol hemihidrato. <u>Excipientes:</u> Etanol, glicerol, solución alcohólica de aceite esencial de menta, dioctilsulfosuccinato sódico, parahidroxibenzoato de metilo, parahidroxibenzoato de propilo, levomentol, rojo cochinilla A, y agua purificada.
Equate	Antiséptico menta	Agua, alcohol 21.6%, solución de sorbitol, saborizantes, eucaliptol 0.092%, mentol 0.042%, salicilato de metilo 0.06%, timol 0.064%, poloxamero 407, ácido benzoico, sacarina sódica, citrato de sodio, D&C amarillo 10 y verde 3.

	Menta azul	Eucaliptol 0.092%, mentol 0.042%, salicilato de metilo 0.06%, timol 0.064%, Agua, alcohol 21.6%, solución de sorbitol, saborizantes, poloxamero 407, ácido benzoico, sacarina sódica, benzoato de sodio, FD&C verde 3.
IA	Triple acción	Fluoruro Sódico 0.05%, Flúor, Alcohol 5.20%, Panthenol 0.5%, Alantoína 0.20% y Triclosan 0.05%.
Just	Herbal sanícula melisa	Extracto de sanícula y de melisa, aceite esencial de menta y de limón, y bicarbonato de sodio.
Kin	Cariax desensibilizante sabor a menta	Nitrato potásico: 5,00%, Fluoruro sódico: 900 ppm.
	Cariax gingival sabor a menta	Digluconato de Clorhexidina, Fluoruro Sódico, Sacarina Sódica.
	Flúor-kin calcium	Agua, glicerina, sorbitol, propilenglicol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, xilitol, aroma, metilparabeno sódico, ácido cítrico, monofluorofosfato de sodio, cloruro de cetilpiridinio, glicerofosfato de calcio, propilparabeno de sodio, sacarina de sodio, acesulfamo de potasio, CI 14720.
	Flúor-kin anticaries diario menta	Agua, glicerina, sorbitol, propilenglicol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, aroma, metilparabeno sódico, ácido cítrico, etilparabeno de sodio, fluoruro de sodio, mentol, sacarina de sodio, d-limón, CI 47005, CI 42051.
	Flúor-kin infantil sabor fresa	Agua, sorbitol, glicerina, sílica hidratada, aroma, dióxido de titanio, goma xanthan, xilitol, lauril sulfato de sodio, metilparabeno, etilparabeno de sodio, limonene, sacarina sódica, fluoruro de sodio aportando 500 ppm.
	B5	Agua, glicerina, sorbitol, propilenglicol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, xilitol, pantenol, lactato de zinc, metilparabeno sódico, ácido cítrico, aroma, EDTA disódica, niacinamida, cloruro de cetilpiridinio, propilparabeno de sodio, fluoruro de sodio, mentol,

		sacarina de sodio, d-limón.
	Kin care	Agua, sorbitol, glicerina, aceite de ricino hidrogenado PEG-60, betaína, xilitol, pantenol, metilparabeno sódico, niacinamida, ácido cítrico, Aroma, Extracto de hoja de Aloe Barbadensis, glicirricato de amonio, cloruro de cetilpiridinio, digluconato de clorhexidina (0,05%), edta disódica, propilparabeno de sodio, triacetina, sacarina de sodio, nesoesperidina dihidrocalcona, D-Limón, eugenol.
	Kin enjuague bucal	Agua, glicerina, sorbitol, propilenglicol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, xilitol, Aloe Barbadensis, pantenol, aroma, metilparabeno sódico, ácido cítrico, cloruro de cetilpiridinio, fluoruro de sodio, propilparabeno de sodio, sacarina de sodio, d-limón, CI 47005, CI 42051.
	Fresh	Agua, glicerina, sorbitol, propilenglicol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, xilitol, aroma, mentol, triclosán, edta disódico, cloruro de cetilpiridinio, fluoruro de sodio, acesulfamo de potasio, sacarina de sodio, canela, eugenol, d-limón, CI 42051.
	Ortho kin fresa mentolada	Agua, glicerina, sorbitol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, xilitol, pantenol, metilparabeno de sodio, aroma, acetato de tocoferil, ácido cítrico, Fluoruro de sodio, Propilenglicol, Cloruro de cetilpiridinio, Edta disódico, Acesulfamo de potasio, Propilparabeno de sodio, Sacarina de sodio, Triacetina, CI 14720.
	Ortho-kin sabor a menta	Agua, glicerina, sorbitol, Propilenglicol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, acetato de zinc, aroma, digluconato de clorhexidina, Sacarina de sodio, ácido cítrico, Fluoruro de sodio, mentol, canela, limoneno.
	Perio kin	Agua, glicerina, sorbitol, Propilenglicol, aceite de castor hidrogenado PEG-40, metilparabeno de sodio, aroma,

		digluconato de clorhexidina, Sacarina de sodio, ácido cítrico, metil salicilato, mentol, canela, d-limoneno, propilparabeno de sodio, eugenol.
	Sensi kin	Agua, sorbitol, glicerina, nitrato de potasio, aceite de castor hidrogenado PEG-40, pantenol, fluoruro de sodio, aroma, acetato de tocoferilo, metilparabeno sódico, etilparabeno sódico, propilparabeno sódico, sacarina sódica, ácido cítrico, d-limoneno.
	Whitekin	Agua, sorbitol, glicerina, aceite de castor hidrogenado PEG-40, PVP, xilitol, pantenol, metilparabeno de sodio, aroma, fluoruro de sodio, ácido cítrico, glicirrizato de amonio, cloruro de cetilpiridinio, EDTA disódico, propilparabeno de sodio, sacarina de sodio, sulfito de sodio, d-limoneno, alcohol de bencilo, eugenol, linelol.
Listerine	Cool mint antiséptico	Agua, alcohol 21,6%, solución de sorbitol, saborizante, poloxámero 407, ácido benzoico, sacarina sódica, benzoato de sodio, verde #3, eucaliptol, mentol, salicilato de metilo, timol.
	Whitening extreme	Agua, alcohol, peróxido de hidrógeno 2,5%, poloxámero 407, sabor, sacarina sódica, sucralosa, ácido fosfórico, mentol, fosfato disódico, fluoruro de sodio.
Oddent	B5	Pantenol 0.5%, Lactato de Zinc 0.1%, Cloruro de cetilpiridinio 0.05%, Fluoruro potásico 0.061 %, Sacarina sódica.
	Desensibilizante	Nitrato potásico 5.0%, Fluoruro potásico 0.0765%, sacarina sódica.
	Flúor diario	Fluoruro sódico 0.050 g, Sacarina sódica 0.020 g.
	Flúor infantil	Fluoruro sódico 0.050 g, Xilitol 1.000 g, Sacarina sódica 0.025 g.
	Gingival	Digluconato clorhexidina 0.12%, Fluoruro potásico 0.061%, Xilitol.
	Ortho	Fluoruro sódico 0.050 g, Digluconato de Clorhexidina al 20% 0.318, Lactato de Zinc 0.100 g.

Oral-B	Complete Menta Refrescante, Hierbabuena	
	3d White	Peróxido De Hidrógeno (1.5%), Agua, Glicerina, Propolenglicol, Polifosfato De Sodio, Poloxámero 407, Aroma, Citrato De Sodio Dihidratado, Sacarina Sódica, Ácido Cítrico.
	Blanqueador 3d white luxe	Agua, alcohol, glicerina, pirofosfato disódico, pirofosfato tetrasódico, polisorbato 80, aroma, poloxámero 407, sacarina sódica, fluoruro de sodio, sucralosa, CI 42090.
	Pro-salud menta fresca	0.07% Cloruro de Cetilpiridinio, Agua, Glicerina, Saborizante, Poloxámero 407, Metilparabeno, Sacarina Sódica, Propilparabén, FD&C Azul N° 1.
	Pro-salud noche	Cloruro de cetil Piridinio 0.07%, Polaxámero 407, Lactato de zinc
	Complete menta refrescante	0,053% Cloruro De Cetilpiridinio, 0,05 Fluoruro De Sodio 226 Ppm-Flúor, Agua, Glicerina, Peg-40 Aceite de castor Hidrogenado, Metilparabeno, Sabor, Sacarina Sódica, Benzoato De Sodio, Propilparabén, Fd&C Azul No 1 Ci42090.
	Pro-salud clinical protection menta refrescante	
	Complete blancura menta original	
	Complete blancura menta refrescante	
	Complete hierbabuena	Cloruro de cetilpiridinio, fluoruro de sodio, agua, glicerina, polisorbato 20, aroma, metilparabeno, sacarina de sodio, benzoato de sodio, propilparabeno, CI 47005, CI 42051.
	Complete menta	
	Pro-salud multiprotección	

	Pro-salud sensi-soft	
	Complete + Blancura Versiones: Menta Refrescante, Menta Original	
Oralmune	Oralmune enjuague bucal	Beta glucan soluble β GS® 2.5 mg, mentol. <u>Excipientes:</u> Esencia saborizante de menta piperita, d-sorbitol, cloruro de Sodio, benzoato de Sodio, sacarina de Sodio, beta glucan soluble.
Tebodont	Tebodont enjuague bucal	Agua, xilitol, sorbitol, glicerina, propilenglicol, aceite de castor PEG 40 hidrogenado, melaleuca alternifolia (árbol de té), sacarina sódica, aroma, limoneno.
Vaporaseptic	Vaporaseptic con flúor	

Figura 2. Enjuagues bucales en Costa Rica: compuestos y excipientes.

Fuente: Elaboración propia con base en datos indicados en los prospectos de cada producto.

Apéndices

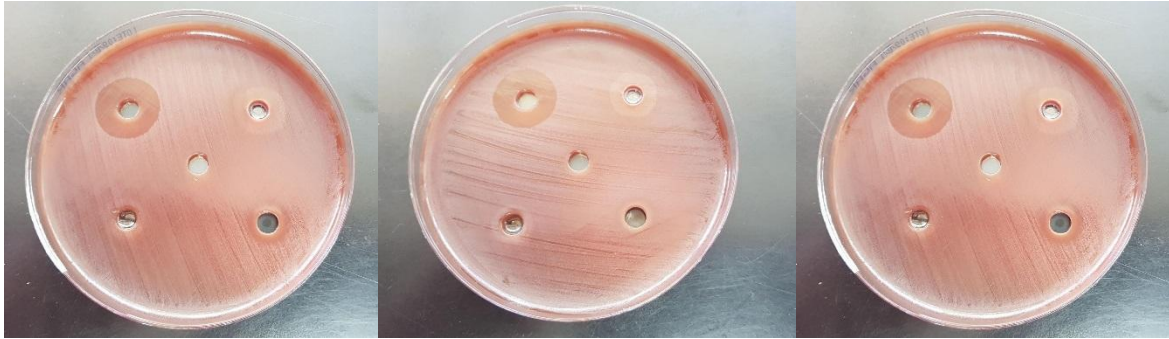


Figura 3. Placas de Petri posterior a las pruebas de actividad antibacteriana en agar sangre.

Fuente: Laboratorio de Bacteriología Médica de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

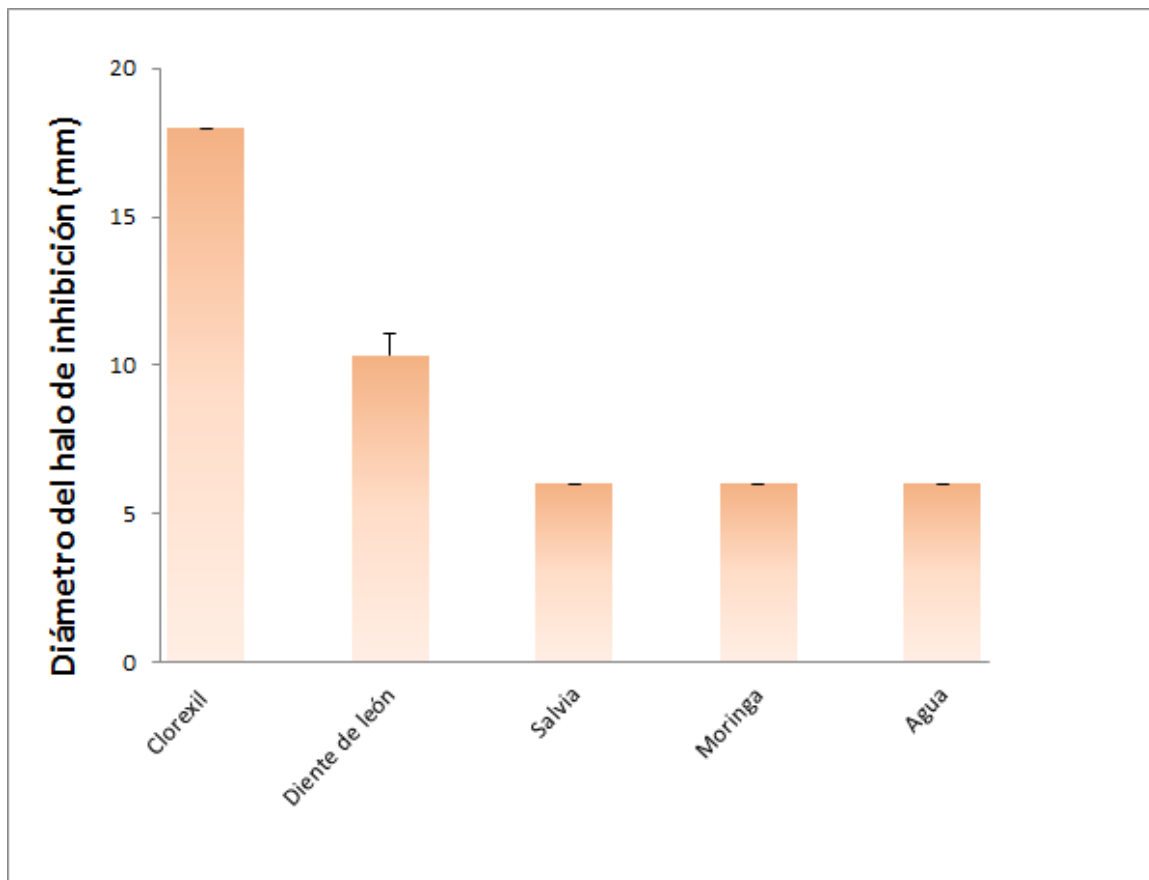


Figura 4. Promedio del diámetro medido de la capa de inhibición de las sustancias utilizadas en el estudio.

Fuente: Laboratorio de Bacteriología Médica de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.