

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**E.A.P. DE ODONTOLOGÍA**

**Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum*  
coca sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio in vitro**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

**AUTOR**

Armando Willy Ramos Clemente

**ASESOR**

Donald Ramos Perfecto

**Lima – Perú**

**2012**

## **JURADO**

**Presidente:** Mg. Lita Amanda Cáceres de Barcés

**Miembro:** C.D. Edwin Antonio Córdova Huayanay

**Miembro asesor:** C.D. Donald Ramos Perfecto

*A Dios, por su infinito amor y sus enseñanzas que guían nuestro camino para ser mejores cada día ante los ojos de ÉL.*

*A mis padres, por todo el amor, apoyo y esfuerzo incondicional que hicieron posible lograr mis sueños.*

*A mi esposa por su amor, comprensión, paciencia y apoyo; y los gratos momentos al andar juntos por el mismo camino.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al C.D. Donald Ramos Perfecto, profesor de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM, asesor de la presente tesis, por su constante apoyo, orientación y acertados consejos. Mi gratitud a quien ha demostrado paciencia, dedicación y compromiso como maestro y asesor.

Al Mg. C.D. Lita Amanda Cáceres de Barcés, profesora de Metodología de la Investigación de la Facultad de Odontología de la UNMSM, presidente de jurado revisor de borrador de tesis, por su ayuda y orientación en la realización de este trabajo.

Al C.D. Edwin Antonio Córdova Huayanay, profesor de rehabilitación oral de la Facultad de Odontología de la UNMSM, miembro del jurado revisor de borrador de tesis, por su apoyo en el desarrollo de este estudio.

A la Dra. Silveria Dongo, jefa del servicio de investigación de ENACO SA. Por las facilidades y ayuda brindados para la obtención del Extracto de Hoja de Coca elaborados en esta Institución.

## RESUMEN

La periodontitis es una enfermedad de alta prevalencia a nivel mundial y en nuestro medio alcanza a un 85% de la población. Es una enfermedad de etiología multifactorial, siendo el factor etiológico primario el agente microbiano. Uno de estos agentes más importantes es *Porphyromonas gingivalis*, especie bacteriana anaeróbica estricta, Gram negativo. A su vez, el uso de antibióticos sistémicos está indicado sólo en ciertos tipos de periodontitis, y no siempre el tratamiento es exitoso. Hoy en día, tanto en medicina general como odontológica, se está investigando nuevas alternativas de tratamientos antibacterianos, dado el continuo aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales y por las reacciones adversas que estos producen en algunos pacientes.

El estudio investigó la actividad antibacteriana, *in vitro*, del extracto de la hoja de coca (*Erythroxylum coca*), sobre la cepa ATCC *Porphyromonas gingivalis*, mediante el test de difusión en Agar y la prueba de dilución en medio líquido. Los resultados del primer estudio indicaron que el extracto de *Erythroxylum coca* tiene sensibilidad nula (-) para la mayor parte de las concentraciones evaluadas, y sensibilidad límite (sensibilidad : +) para la máxima concentración del extracto (100 %) sobre el crecimiento, *in vitro*, de la bacteria *Porphyromonas gingivalis*. Los resultados del segundo estudio determinaron una concentración mínima del extracto, capaz de inhibir el crecimiento de dicha bacteria. Este valor fue 6.25 %, el cual representa la concentración mínima inhibitoria (CMI).

## SUMMARY

Periodontitis is a highly prevalent disease worldwide, in our country reaches 85% of the population. It is a multifactorial disease, being the primary etiologic factor, the microbial agent. One of the most important agents is *Porphyromonas gingivalis*, a strict anaerobic bacterial species, Gram negative. In turn, the use of systemic antibiotics is indicated only in certain types of periodontitis and the treatment is not always successful. Nowadays, both general medicine and dentistry, are investigating new antibacterial treatment alternatives, given the increase in bacterial resistance to conventional antibiotics and the adverse reactions that occur in some patients.

The study investigated the antibacterial activity *in vitro*, of the extract of the coca leaves (*Erythroxylum coca*), on the *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC, using the agar diffusion test and dilution test in liquid medium. The results of the first study indicated that the extract of *Erythroxylum coca* has zero sensitivity (-) for most of the tested concentrations, and sensitivity limit (sensitivity: +) for the maximum concentration of the extract (100%) on growth *in vitro*, of the bacterium *Porphyromonas gingivalis*. The results of the second study determined a minimum concentration of the extract able to inhibit the growth of said bacteria. This value was 6.25%, which represents the minimum inhibitory concentration (MIC).

# ÍNDICE

	Pág.
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
2.1 ANTECEDENTES.....	13
2.2 BASES TEÓRICAS.....	17
2.2.1 ENFERMEDADES PERIODONTALES.....	17
2.2.2 PERIODONTITIS CRÓNICA.....	24
2.2.2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	25
2.2.3 ANTIBACTERIANOS NATURALES.....	29
2.2.4 LA HOJA DE COCA ( <i>Erythroxylum coca</i> ).....	30
2.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	36
2.4 JUSTIFICACIÓN.....	36
2.5 OBJETIVOS.....	36
2.6 HIPÓTESIS.....	37
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	38
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	38
3.3 PERACIONALIZACIONDE VARIABLES.....	39
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.4.1 RECURSOS.....	41
3.4.2 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS.....	43
3.4.3 PROCESAMIENTO DE DATOS.....	47

<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	48
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	77
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	82
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	83
<b>VIII.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	84
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	90
	9.1 CUADRO DE CONSISTENCIA.....	90
	9.2 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	94
	9.3 CUADROS Y GRÁFICOS.....	96
	9.4 TABLAS DE INTERPRETACIÓN DE DATOS.....	99
	9.5 FOTOGRAFÍAS.....	101



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01.....	21
Tabla N° 02.....	40
Tabla N° 03.....	49
Tabla N° 04.....	51
Tabla N° 05.....	53
Tabla N° 06.....	55
Tabla N° 07.....	57
Tabla N° 08.....	59
Tabla N° 09.....	61
Tabla N° 10.....	63
Tabla N° 11.....	65
Tabla N° 12.....	67
Tabla N° 13.....	69
Tabla N° 14.....	72
Tabla N° 15.....	74
Tabla N°16.....	74

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 01.....	54
Gráfico N° 02.....	56
Gráfico N° 03.....	58
Gráfico N° 04.....	60
Gráfico N° 05.....	62
Gráfico N° 06.....	64
Gráfico N° 07.....	67
Gráfico N° 08.....	68
Gráfico N° 09.....	70
Gráfico N° 10.....	71
Gráfico N° 11.....	75
Gráfico N° 12.....	76

# I. INTRODUCCIÓN

La caries dental y la enfermedad periodontal son las patologías orales con mayor prevalencia en la población a nivel mundial. En nuestro medio, la enfermedad periodontal alcanza a un 85 % de la población. Es una patología de origen multifactorial, causada por un sobre crecimiento de bacterias periodonto patógenas en la placa subgingival, seguida de una respuesta inmuno inflamatoria en un huésped susceptible. Esta enfermedad no tratada o tratada inadecuadamente, es la principal causa de pérdida de piezas dentarias en el adulto.

La prevención y terapia para esta enfermedad, se enfoca directamente hacia la reducción de la placa bacteriana y el uso de antibióticos sistémicos sólo indicados en cierto tipo de periodontitis. En los últimos tiempos se ha revalorado los efectos beneficiosos de las plantas, utilizándolas en la composición de diversos productos destinados al control de placa bacteriana, como cremas dentales y colutorios.

La hoja de coca (*Erythroxylum coca*) utilizada desde nuestros antepasados hasta la actualidad, tiene propiedades terapéuticas (antibacteriana, antiinflamatoria, anestésica y coagulante) sustentadas en diversos estudios científicos. Las investigaciones realizadas en el área odontológica, demuestran que el extracto de hoja de coca tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a bacterias presentes en la cavidad oral.

En la enfermedad periodontal, existen bacterias periodonto patógenas, siendo las más representativas *Porphyromonas*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Actinomices*, *Aggregatibacter* etc., y los estudios demuestran que

*Porphyromonas gingivalis* es la bacteria representativa de mayor prevalencia en la periodontitis crónica, motivo por el cual será objeto de estudio en esta investigación.

Se realiza entonces el presente estudio *in vitro*, mediante un Test de difusión en Agar y la prueba de dilución en medio líquido, con la intención de conocer la actividad antibacteriana del extracto de hoja de coca, sobre *Porphyromonas gingivalis*.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

**GOICOCHEA A. (1954).** “Estudio de la cavidad bucal en sujetos habituados a la masticación de la hoja de coca en la Hacienda de Collambay-Trujillo”; efectuó un estudio en 30 sujetos masticadores de hoja de coca, en el cual observó que el número de piezas dentarias ausentes y el porcentaje de caries eran relativamente bajos, más el grado de abrasión dentaria fue alto en dicho grupo, ambos en comparación con el grupo control.<sup>1</sup>

**CORONEL M. (1988).** “Estudio comparativo de la prevalencia de caries, enfermedad periodontal y abrasión entre un grupo de sujetos con el hábito de masticación de hojas de coca y un grupo control en la Comunidad de Apaycauchilla, provincia de Tarma”; realizó este estudio en 30 personas con edades comprendidas entre 30 y 50 años con el hábito de masticación de la hoja de coca (mayor a 10 años) y un grupo control con el mismo número; sin el hábito de masticación de la hoja de coca. Sus resultados revelan un incremento de la abrasión dentaria y enfermedad periodontal; pero un índice CPOD disminuido en el grupo problema, en comparación al grupo control. Coronel concluye que el bajo índice de caries se debe a la abrasión dentaria marcada o a la acción neutralizadora de las sustancias salinas sobre los ácidos producidos por las bacterias para la formación de lesiones cariosas.<sup>2</sup>

**AGUILAR E. y ENCARNACIÓN J. (1995).** “Comportamiento *in vitro* de *Erythroxyllum coca- Erythroxyllum novogranatense*, mate de coca, sobre *Mycobacterium tuberculosis* y otras especies de *Mycobacterium*”; observaron el comportamiento *in vitro* de algunas especies del género *Mycobacterium*: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium kansasii* frente a *Erythroxyllum coca* “mate de coca”, observándose cambios microscópicos, también presentaron disminución en la captación del colorante ziehl-Nielsen, debido a una posible alteración de la configuración glucolipídica y otros componentes de la pared celular, condicionándose la disminución de la resistencia de las cepas nombradas.<sup>3</sup>

**CAM O. y VILLANUEVA P. (1996).** “Acción inhibitoria *in vitro* del extracto acuoso y extracto metanólico de la hoja *Erythroxyllum novogranatense* (Morris) var. *Truxillense* (Rusby) frente a bacterias gram negativos y gram positivos”; realizaron un estudio para determinar la acción inhibitoria de los extractos acuoso y metanólico de la hoja *Erythroxyllum novogranatense* var. *Truxillense*, frente a cepas de bacterias gram negativos, gram positivos y levaduras aislados de casos clínicos. Para ello usó concentraciones de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 y 500 ug. Sus resultados indican una disminución del crecimiento de las 25 cepas bacterianas en estudio, dicha disminución del crecimiento es proporcional a la concentración del extracto utilizado; es decir que se observó una disminución del crecimiento bacteriano conforme se iba

incrementando la concentración del extracto. Concluye finalmente, que los extractos acuoso y metanólico de *Erythroxyllum novogranatense* var. *Truxillense*, poseen acción inhibitoria del crecimiento frente a las cepas de bacterias estudiadas.<sup>4</sup>

**SOLANO D. (1996).** “Acción antibacteriana de extractos acuosos y metanólico de principios activos totales de *Erythroxyllum novogranatense* (Morris) var. *Truxillense* (Rusby) sobre *Streptococos* de la cavidad oral”; para este trabajo de investigación, se recolectaron 40 muestras correspondientes a 16 muestras de placa bacteriana, 8 de caries dental, 5 de cálculo dental, 6 de absceso radicular y 4 de gingivitis, de los cuales se aislaron *Streptococcus viridans*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius*, y otros microorganismos; pero para los fines de este estudio no consideraron su aislamiento. Se emplearon dos extractos (acuoso y metanólico) de *Erythroxyllum novogranatense* var. *Truxillense*, a concentraciones de 400 ug, 600 ug, 800 ug y 1000 ug, obteniendo como resultado la inhibición del crecimiento de *S. mutans* y *S. mitis* a 800 y 1000 ug de dichos extractos.<sup>5</sup>

**GALVEZ O. (1997).** “Acción inhibitoria del extracto acuoso de principios totales de *Erythroxyllum novogranatense* (Morris) var. *Truxillense* (Rusby), frente a bacterias Gram negativos resistentes a cinco antibacterianos”; realizó un estudio sobre la acción inhibitoria de crecimiento del extracto acuoso de *Erythroxyllum novogranatense* (Morris) var. *Truxillense* (Rusby), frente a bacterias Gram negativos que presentaron resistencia a 5 antibacterianos, se emplearon los métodos

turbidimétrico y de difusión en placa. De las 4 cepas estudiadas de *Escherichia coli*, 3 presentaron inhibición del crecimiento a una concentración de 1250 ug/mL, de las tres cepas estudiadas de *Klebsiella*, sólo una presentó inhibición al crecimiento en una concentración de 1250 ug/mL, las cepas estudiadas de *Salmonella paratyphi*, presentaron inhibición de crecimiento a una concentración de 1250 ug/mL.<sup>6</sup>

**BORROVIC R F (2006).** “Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *Truxillense* (coca) sobre flora mixta salival”; efectuó un estudio sobre el efecto antibacteriano que produce el extracto de *Erythroxylum coca* a diferentes concentraciones sobre cultivos bacterianos de flora mixta salival. Obtuvo muestras de la flora mixta salival de pacientes que acudieron a la Clínica Odontológica de la UNMSM, los estandarizó e hizo un cultivo para un Test de difusión en Agar, evaluando los resultados de los efectos inhibitorios del crecimiento bacteriano de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de la hoja de coca ( 250 ug/20uL, 500 ug/20uL, 1000 ug/20uL y 1500 ug/20uL); concluyendo que existe un efecto antimicrobiano positivo a las diferentes concentraciones del extracto, frente a la flora mixta salival; además determina que a mayor concentración del extracto en estudio, existe un mayor efecto antimicrobiano de éste.<sup>7</sup>



## **2.2 BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1 ENFERMEDAD PERIODONTAL**

#### **DEFINICIÓN**

El término enfermedad periodontal, hace referencia a una serie de procesos patológicos que afectan la estructura del periodonto.<sup>8</sup> Estas afecciones son de naturaleza inflamatoria y dan origen a infecciones. Hoy en día, y tras numerosos estudios epidemiológicos, se acepta el concepto de la existencia de determinados factores de riesgo que van a modular la susceptibilidad o resistencia del huésped a padecer enfermedad periodontal, por lo tanto, en su desarrollo van a intervenir varias causas considerándose dicha patología de etiología multifactorial.<sup>9</sup> En consecuencia, la periodontitis es causada por un sobre crecimiento de bacterias periodonto patógenas en la placa subgingival, seguida de una respuesta inmuno-inflamatoria en un huésped susceptible.<sup>10</sup>

Estas lesiones se dividen en dos grandes grupos: gingivitis, la cual corresponde a una respuesta inflamatoria del tejido gingival frente a la acumulación de placa bacteriana,<sup>11</sup> y periodontitis, que corresponde a una patología infecciosa de tipo específica, con características inflamatorias que afectan a los tejidos de soporte dentario, es decir, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar.<sup>12</sup> , <sup>13</sup> A diferencia de la gingivitis, en la periodontitis existe pérdida de inserción conectiva con presencia de

sacos periodontales, reabsorción ósea, e inflamación en grados variables.<sup>14</sup>

## **CLASIFICACIÓN**

Resumen de la clasificación de condiciones y patologías periodontales según reporte de la Academia Americana de Periodontología.<sup>15</sup>

- *GINGIVITIS*
- *PERIODONTITIS CRÓNICA*
- *PERIODONTITIS AGRESIVA*
- *PERIODONTITIS COMO MANIFESTACIÓN DE ENFERMEDADES SISTÉMICAS*
- *ENFERMEDADES PERIODONTALES NECROTIZANTES*
- *ABSESOS DEL PERIODONCIO*
- *PERIODONTITIS ASOCIADA CON LESIONES ENDODÓNTICAS*
- *AFECCIONES Y MALFORMACIONES ADQUIRIDAS O DE DESARROLLO*

## **EPIDEMIOLOGÍA**

La caries dental y la enfermedad periodontal son las lesiones orales con mayor prevalencia en la población a nivel mundial, y la periodontitis no tratada o tratada inadecuadamente, es la principal causa de pérdida de piezas dentarias en el adulto.<sup>16</sup> Esta enfermedad es de alta prevalencia en nuestro país, datos del MINSA indican un 85 %<sup>17</sup>

La periodontitis crónica se presenta en un 21 % de la población, y en su forma más severa afecta a menos del 10 %. Este porcentaje aumenta considerablemente con el envejecimiento y parece alcanzar su pico a la sexta década de la vida. Además afecta casi siempre pocos dientes por sujeto y la prevalencia puede variar según los criterios de diagnóstico considerados.<sup>18</sup>

## **ETIOLOGÍA**

La etiología de las enfermedades periodontales, siempre ha sido un punto de discusión y hasta ahora, pese a los avances de la ciencia, no está del todo muy claro, y si no se comprenden bien la causa de una afección, mal puede instaurarse una adecuada prevención así como un efectivo tratamiento<sup>19</sup>; se acepta que las enfermedades periodontales son producidas por una interacción de un agente microbiano único o múltiple considerado como el factor etiológico primario necesario pero no suficiente, un huésped más o menos susceptible y unos factores ambientales que influyen sobre ambos.<sup>9</sup>

### **A. FACTORES MICROBIANOS**

Numerosos estudios han demostrado que las enfermedades periodontales son de naturaleza infecciosa, y que los microorganismos presentes en la placa bacteriana, localizada en la

región del surco gingivo-dentario o placa subgingival, constituyen el agente etiológico principal de esta enfermedad.<sup>20</sup>

## **PLACA SUBGINGIVAL**

La placa subgingival se encuentra por completo dentro del surco gingival o de los sacos periodontales, y está constituida principalmente por flora bacteriana proteolítica Gram negativo en los cuales se encuentran microorganismos periodonto patógenos.<sup>21, 22,</sup>

<sup>23</sup> La formación de placa dental es el resultado de una serie de procesos complejos que involucran una variedad de bacterias y componentes de la cavidad bucal del huésped;<sup>24</sup> estos procesos comprenden:

- Colonización
- Penetración
- Destrucción

En la placa supragingival y subgingival hay una significativa disminución de *Streptococos* y especies de *Actinomyces*, acompañada por un incremento de *Tannerella forsythensis*, (*Bacteroides forsythus*), *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*.<sup>25</sup>

Las lesiones periodontales son causados por un grupo de patógenos, principalmente originarios de la cavidad oral; pero se ha demostrado que microorganismos superinfectantes tales como

bacilos entéricos Gram negativos, *Pseudomonas*, *Estaphylococos*, levaduras, también se encuentran en las bolsas periodontales.<sup>26</sup>

La tabla resume el grado de asociación de los principales patógenos periodontales con el proceso de progresión de la periodontitis.<sup>13, 27</sup>

**TABLA N° 01 Grado de asociación de especies bacterianas con la progresión de la periodontitis**

Muy fuerte	Fuerte	Moderado	Estadios tempranos de investigación
<b><i>Porphyromonas gingivalis</i></b>	<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Campylobacter rectus</i>	Bacilos entéricos Gram (-)
<b><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i></b>	<i>Dialister pneumosintes</i> / <i>Dialister invisus</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> ( <i>Micromonas micros</i> )	Especies de <i>pseudomonas</i>
<b><i>Tannerella forsythensis</i></b>	<i>Eubacterium nodatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Especies de <i>Estaphylococos</i>
<b>Espiroquetas de gingivitis aguda necrotizante</b>	<i>Treponema denticola</i>	<i>salenomonas noxia</i>  <i>eikenella corrodens</i>	<i>Enterococos faecalis</i>  <i>Cándida albicans</i>
		<i>Estreptococos B-hemolíticos</i>	

*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* han sido fuertemente asociados con periodontitis crónica<sup>25, 28, 29</sup> y periodontitis agresiva<sup>28, 30, 31</sup> respectivamente.

## **CÁLCULO**

Se postulan diversas teorías que explican el efecto del cálculo sobre los tejidos periodontales, todas ellas difíciles de demostrar. Efectivamente, el cálculo *in vivo* siempre está cubierto de bacterias, por lo que la acción sobre el periodonto podría ser debida a éstas y no al cálculo propiamente dicho. Se han propuesto diversas acciones: irritativa, a causa de su aspereza, acumulación de sustancias tóxicas y retención de placa con dificultad para la higiene dental. Este último efecto parece el más importante en la relación del cálculo con la enfermedad.

### **B. FACTORES LOCALES DEL HUÉSPED**

La mayor parte de los componentes relacionados con la placa supra y sub gingival son antigénicos y, por tanto, desencadenan una respuesta por parte del huésped. Esta reacción puede sobrepasar o no alcanzar los límites de la normalidad. Estos hechos explican en buena medida no solo la patogenia de la periodontitis, sino también de la gingivitis.

La reacción local se lleva a cabo mediante la inflamación; sin embargo, en ella existe un equilibrio inestable entre protección y lesión tisular.

En una segunda línea defensiva, superada la barrera mecánica estructural del periodonto, se produce una reacción vascular y una reacción celular. La primera se caracteriza por un aumento de la permeabilidad de los vasos y una reducción de la velocidad del flujo sanguíneo en los tejidos afectados. De esta forma, se aportan proteínas, elementos celulares y líquido plasmático. Los mediadores liberados para poner en marcha el proceso, son muy variados: histamina, prostaglandinas, materiales lisosómicos, citosinas, fragmentos C3a y C5a, bradidina, calicreína y otros. La reacción celular se traduce en una acumulación de leucocitos y macrófagos, atraídos por factores quimiotácticos, que derivan del plasma (p. ej. C5a), de las células y tejidos (leucotrienos, EBT, materiales lisosómicos y citosinas) y de los propios productos bacterianos (daño local). Tras el proceso de fagocitosis, puede aislarse el daño del tejido afectado, eliminándose el agente agresivo y producirse la curación.

Si esto no ocurre, en general por persistencia de la noxa, se pone en marcha una tercera línea defensiva que entraña la producción de anticuerpos (reacción humoral) y de linfocitos (reacción celular), o de ambas simultáneamente. De estos últimos fenómenos surgen reacciones que pueden derivarse en protección o daño local:

- Respuesta normal
- Hiperrespuesta
- Respuesta insuficiente

## C. FACTORES SISTÉMICOS DEL HUÉSPED

Se trata de enfermedades generales que, de alguna forma, repercuten en la respuesta del hospedador en el periodonto.

### 2.2.2 PERIODONTITIS CRÓNICA

Puede tener un comienzo en la adolescencia o más adelante y continuar por toda la vida del individuo. Habitualmente no es clínicamente significativa antes de los 35 años. La prevalencia (número de individuos afectados) y gravedad (cantidad de zonas afectadas por individuo) aumentan con la edad y están directamente relacionadas con la presencia de placa y cálculo. Su evolución suele ser lenta y no parece tener predilección por ningún sexo. La función de los neutrófilos y linfocitos es aparentemente normal. Los microorganismos especialmente implicados son *Porphyromonas gingivalis*, *Bacillus forsythus* y *Prevotella intermedia*; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* está presente, pero en menor número de casos. Otros microorganismos asociados son *Fusobacterium nucleatum* spp, *Selenomonas noxia*, *Peptostreptococcus micros* y *Treponema denticola*. Puede encontrarse microbiota no habitual en la cavidad oral como *Acinetobacter* spp, *Pseudomonas aureginosa*,



*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus spp*, e incluso *Cándida albicans*. La presencia de estos microorganismos se debe a superinfecciones que se presentan en pacientes con neoplasias, inmunocomprometidos, geriátricos o infecciones acompañantes de otro tipo.

### **2.2.2.1 *Porphyromonas gingivalis***

#### **DESCRIPCIÓN**

Es una especie de bacilos Gram negativo pequeño (cocobacilos), no móvil, anaerobio estricto, asacrolítico, que forma colonias uniformes de coloración verdosas, pardas o negras debido a la hemina que almacena en la superficie celular. Las células de *Porphyromonas gingivalis* tienen un diámetro de 0.5 - 0.8 µm por 1.0 - 3.5 µm de largo.<sup>32</sup>

Como se mencionó anteriormente, este microorganismo es un importante miembro de la microbiota periodontal, involucrado tanto en la progresión de la periodontitis, como en los procesos de destrucción de hueso y tejido.<sup>32</sup> *Porphyromonas gingivalis* es comúnmente detectada en pacientes jóvenes con gingivitis, y pacientes adultos con periodontitis, usando métodos inmunológicos y de biología molecular (PCR). También se ha encontrado en placas supragingivales maduras de pacientes jóvenes con o sin destrucción periodontal, sugiriendo que es un patógeno de tipo oportunista.<sup>33</sup>

## **NUTRICIÓN**

*Porphyromonas gingivalis* es una especie proteolítica, asacarolítica, anaerobia estricta, por lo que coloniza sitios en donde la tensión de oxígeno es baja, pero en los cuales hay substratos abundantes en nitrógeno. El ecosistema subgingival proporciona un medioambiente ideal para esta especie, ya que, el potencial redox es bajo (y más bajo aun en sacos periodontales), y posee nutrientes endógenos ricos en péptidos y aminoácidos.<sup>34</sup>

Esta bacteria tiene un requerimiento obligado de hierro para crecer. Sin embargo, cuando ocurre una falta de hierro en el sistema de poros de la bacteria (sideporos, los cuales quelan hemina) utiliza hemina (hierro protoporfirina IX). Los niveles de hemina en boca son variables y el sangrado, como resultado de la inflamación gingival, elevaría su concentración subgingival, de modo que este puede ser un factor que predispone a la acumulación de esta bacteria. La hemina que se acumula en la membrana extracelular actúa como "basurero" de oxígeno ayudando a mantener un microambiente anaerobio.<sup>35</sup>

## **FACTORES DE VIRULENCIA**

Se ha demostrado que LPS de esta especie induce la producción de IL-6 e IL-8 desde fibroblastos del ligamento periodontal en humanos. Las evidencias indican que LPS de *Porphyromonas gingivalis*, especialmente

su lípido A, es capaz de estimular la respuesta inflamatoria del huésped indirectamente a través de la producción de citokina.<sup>32</sup>

*Porphyromonas gingivalis* produce un gran número de enzimas, proteinasas y productos finales de su metabolismo que son activos contra un amplio espectro de proteínas del huésped, y está provista de mecanismos para evadir las defensas de este. Dichos compuestos corresponden a inhibidores de proteinasas, inmunoglobulinas, proteinasas que contienen hierro, proteínas bactericidas, proteínas de matriz extracelular, y proteínas íntimamente envueltas en funciones fagocíticas, tales como fijación de complemento y coagulación. La mayoría de las actividades enzimáticas de *Porphyromonas gingivalis* son asociadas a la proteinasa cisteína, la cual le proporciona ventajas metabólicas, ya que le otorga la capacidad de utilizar largas proteínas del huésped para su crecimiento y desarrollo.<sup>32</sup> Una de las características de virulencia significativas de *Porphyromonas gingivalis* es este gran número de enzimas hidrolíticas, proteolíticas y lipolíticas, que son producidas esencialmente por todos los tipos conocidos de este microorganismo. Varias de estas proteinasas asociadas a *Porphyromonas gingivalis* (capaces de hidrolizar péptidos unidos) parecen ser funcionalmente importantes en el medioambiente *in vivo*. Estos factores de virulencia *in vivo*, si actúan en el huésped, pueden jugar un rol significativo en la progresión de la periodontitis.<sup>32</sup>

Dentro de las proteinasas de *Porphyromonas gingivalis* se consideran a las colagenasas y a las aminopeptidasas como críticas en la patogénesis de la bacteria. Existen proteinasas específicas como arginina y lisina

proteinasas, producidas por *Porphyromonas gingivalis*. Son proteinasas cisteinas, y han recibido un nombre en común, gingipainas. Estas son un potente regulador de la permeabilidad vascular, siendo capaces de inducir la permeabilidad vascular en plasma humano y unirse directamente a bradiquininas. Además, se consideran quimiotácticos para PMN. Arg-gingipain es capaz de inactivar especies oxígeno reactivas (bactericidas naturales) producidos por PMN, el cual es un importante mecanismo en la defensa del huésped.<sup>32</sup>

Otro tipo de proteinasas que produce *Porphyromonas gingivalis* para protegerse de los mecanismos de defensa del huésped son las proteinasas *inmunoglobulinas* como IgA1, IgA2 e IgG.<sup>32</sup>

Un tipo de proteinasas llamadas caseinolíticas son capaces de degradar colágeno tipo I y IV, IgG humana, fibronectina, y complemento C3, C4, C5 y C5a, también inhiben la actividad bactericida de PMN (polimorfonucleares).<sup>32</sup>

Existen unas proteínas bacterianas que actúan como factor de virulencia llamadas hemaglutininas. *Porphyromonas gingivalis* produce a lo menos cinco de ellas. Cuando se expresan en la superficie bacteriana, pueden promover la colonización mediante la unión de bacterias a receptores (usualmente oligosacáridos) en células humanas. Existe una relación entre la capacidad de hemaglutinación y la actividad proteolítica de *Porphyromonas gingivalis*, lo que se ha dilucidado mediante análisis genéticos.<sup>35</sup>

### 2.2.3 ANTIBACTERIANOS NATURALES

Simultáneamente al desarrollo tecnológico de la industria farmacéutica, se ha desplegado un gran interés de parte de los investigadores por estudiar sustancias naturales que posean algunas propiedades farmacológicas con efecto microbiano.<sup>36</sup>

Se debe destacar que los fármacos a base de derivados de productos naturales presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En las plantas los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias que van a potenciarse biológicamente entre sí, de forma tal que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados.<sup>37</sup>

En el área odontológica, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación, con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintos derivados de plantas con el objeto de ayudar en el control de la placa bacteriana, y por consiguiente, en la disminución de la incidencia de caries dental y enfermedad periodontal.<sup>36</sup>

## 2.2.4 LA HOJA DE COCA (*Erythroxylum coca*)

### GENERALIDADES

Etimológicamente la palabra coca proviene del quechua “kuka” o “koka”, que debe de interpretarse según Stomi, “ku” o “ko”: parte más destacada o principal de algo, “ka” o “kau”: vivificante, que da vida, vigorosa y fuerte.<sup>38</sup>

El género *Erythroxylum* (familia *Erythroxylaceae*), se encuentra ampliamente distribuida en las regiones tropicales de Sudamérica, principalmente en el Perú y Bolivia y en menor escala en Colombia, Ecuador, Venezuela y Brasil.<sup>39</sup>

La coca tiene diversos usos, tanto en el ámbito internacional, como por ejemplo en la fabricación de anestésicos o la utilización del extracto de sus hojas como parte de los ingredientes de una bebida gaseosa líder en el mundo<sup>40</sup>, como en la población andina tradicional, donde el uso más conocido que se les da a las hojas de coca es el “picchado”. Sin embargo, también las usan como estimulante para la interacción social, como medicina, instrumento para adivinar el futuro, para diagnosticar enfermedades y hasta como digestivo después de las comidas.<sup>41</sup>

### BOTÁNICA

*Erythroxylum* es un género de 250 especies que se hallan distribuidos en las regiones tropicales de Sudamérica, no obstante que la mayoría de las

especies contiene alcaloides relacionados con la cocaína, *Erythroxylum lambram* y *Erythroxylum novogranatense* son las especies más conocidas y extensamente cultivadas en el Perú .<sup>39, 42</sup>

La planta de hoja de coca es un arbusto que crece de cinco a diez pies de altura, con ciertas características botánicas muy particulares. Las hojas tienen líneas aeroladas longitudinales muy claras que se curvan hacia la vena central y que es un engrosamiento de la epidermis, resultando un enrollado de la hoja. En la base del peciolo tiene unas estípulas ovaladas intrapeciolares características. Las flores de un blanco cremoso, miden más o menos un centímetro, y tienen cinco sépalos y cinco pétalos. Cuando el fruto madura, dos de sus óvulos abortan, y los lóculos son destruidos. El fruto es una drupa roja, ovalada con una sola semilla.<sup>43</sup>

## **USOS EN LA MEDICINA TRADICIONAL**

El uso de la coca es una tradición andina, la coca es una planta mítica sagrada, cuyo uso ritual se remonta a más de 40 siglos, y es un componente indispensable hasta hoy, del culto religioso .<sup>43</sup>

En el Perú, por la masticación de la hoja de coca, se consumen alrededor de 6 a 8 millones de kilogramos de coca cada año. El consumidor promedio toma alrededor de 30 g diarios, aunque algunos individuos pueden consumir hasta 200 g al día.<sup>44</sup>

Los médicos o Hampicamayoc, quienes heredaron sus conocimientos terapéuticos de sus antecesores, nos indican las aplicaciones medicinales de las hojas de coca, masticadas, en infusión, cataplasmas, cocción etc.

Brack A,<sup>45</sup> nos ofrece una síntesis del uso de la hoja de coca en la medicina tradicional:

- Como analgésico gástrico y anoréxico: picchado o infusión.
- Contra el dolor y las hemorragias
- Contra picaduras de arácnidos e insectos: hojas machacadas o del picchado.
- Estomacal y carminativa: infusión de las hojas.
- Cansancio y fatiga: infusión de las hojas.
- Digestivo: infusión de las hojas.
- Dolor de muelas: enjuague con la cocción, masticar las hojas.
- Asma: tomar el cocimiento de las hojas.

Así mismo se usa en gárgaras para aliviar el dolor de garganta y la ronquera, en forma de emplastos por su acción analgésica en heridas y quemaduras, además por la acción de los taninos contribuye a la cicatrización y a la protección antiséptica.<sup>43, 46</sup>

## **USOS DE LA COCA EN LA MEDICINA DEL SIGLO XXI**

Los estudios de la medicina tradicional que se vienen haciendo desde el siglo XIX, confirman las bondades de las hojas de coca, especialmente los estudios realizados por científicos nacionales y extranjeros desde 1927 con la fundación del INSTITUTO DE BIOLOGÍA ANDINA (IBA).

Los estudios del IBA, han demostrado la gran importancia que tiene la hoja de coca, a través del picchado, en la constitución anátomo-fisiológica y psicológica del hombre de altitud, así como en sus actividades



económicas y sociales, pero pese a ello hace falta más investigaciones sobre todo en el campo nutricional-medicinal.

Destacan los estudios de Cabieses F, quien en 1946, comprobó la acción anti fatigante de la cocaína, y los estudios de los doctores Monge C y Hurtado A, sobre aclimatación en los Andes con el consumo de las hojas de coca.<sup>47</sup>

De manera general, los alcaloides y los demás componentes contenidos en las hojas de coca, vienen cumpliendo funciones biológicas de gran importancia para el hombre andino y de las grandes altitudes.<sup>48</sup>

a) Facilita la adaptación el hombre a la altitud: pues las hojas con sus componentes nutritivos y pequeñas dosis de cocaína y otros alcaloides consumidos durante el picchado, facilitaron la adaptación del hombre en los andes, debido a su acción anti fatigante, de gran poder para facilitar el funcionamiento de los pulmones y el corazón entre 3000 y 4700 msnm, y sobre todo para resistir el esfuerzo desplegado durante los diversos tipos de trabajo, agrícola, ganadero y minero.

Según Cabieses F, existen algunas informaciones bibliográficas que indican la posibilidad que, además la cocaína tiene una influencia saludable sobre el metabolismo oxidativo, disminuyendo el consumo de oxígeno por unidad de trabajo.

b) Evita el soroche en las grandes alturas: la coca juega un claro papel restableciendo el equilibrio del cuerpo alterado por la hipoxia.

c) Reduce los efectos desagradables del frío: gracias a los efectos vasoconstrictores que potencia la coca.

d) Evita el stress (la cocaína): moviliza las reservas de glucosa y aumenta el nivel de esta en la sangre. Durante situaciones de stress o de fatiga, la glicemia disminuye y una forma de combatir el stress es subiendo el nivel de glucosa.<sup>48</sup>

## **BONDADES DE LA HOJA DE COCA**

Las bondades del uso tradicional de las hojas de coca para la salud humana (física, mental y social), han sido estudiadas y comprobadas por 45 investigadores entre 1991 y 1995, del Instituto Interregional de la Naciones Unidas (UNICRI), y la OMS, al ejecutar el Proyecto cocaína.

Los científicos sostienen que las hojas de coca tienen los siguientes atributos:

- Es un suave energizante que mejora la productividad en el trabajo manual e intelectual.
- Una medicina eficaz para enfermedades culturales y problemas cotidianos de salud como cefalea, dolor estomacal y reumático.
- El mejor rendimiento para problemas de salud mental como agotamiento, decepción, depresión, angustia, stress.
- Una fuente de micronutrientes y vitaminas.
- El facilitador universal de las relaciones sociales y la solidaridad en las comunidades andinas.
- El principal instrumento religioso de la trascendencia espiritual.
- El enlace con la naturaleza, tan querida y respetada en la cosmovisión andina.

## COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HOJA DE COCA

Estudios de la Universidad de Harvard en 1975, fue realizado por Duke, Aulik y Powman, quienes confirmaron el valor nutritivo y medicinal de la coca, realizado por anteriores estudios peruanos.

Estudios del Instituto de Nutrición del Ministerio de Salud y el Instituto de Nutrición de la Universidad Cayetano Heredia del Perú en 1982, confirman el valor nutricional de la hoja de coca realizados anteriormente (Anexo 9.1).

## LOS ALCALOIDES DE LA HOJA DE COCA

Cocaína	Cinamoilecnonina (cis y trans)
Egnoninatropacocaína	Tropan 3-al
Tropan 3b-ol	Tropan 3a-6b-diol
Metilegnonina	3a- benzoil oxitropano
a-truxilina	b-higrina
higrina	higrolina
cuscohigrina	nicotina
norecnonina	met-egnonidina

## **2.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es la actividad antibacteriana, *in vitro*, del extracto de *Erythroxylum coca*, sobre *Porphyromonas gingivalis*?

## **2.4 JUSTIFICACIÓN**

La investigación realizada ofrece información importante que permite conocer y valorar la propiedad antibacteriana de la hoja de coca, sumándose a otros productos naturales dirigidos al control de la placa bacteriana que ayudan a mejorar el manejo del paciente periodontalmente afectado, ya que este es el primer paso para la posterior elaboración de un producto derivado de esta hoja, dirigido al control de la enfermedad periodontal.

## **2.5 OBJETIVOS**

### **2.5.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la actividad antibacteriana, *in vitro*, del extracto de *Erythroxylum coca*, sobre *Porphyromonas gingivalis*.

## 2.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Valorar el crecimiento bacteriano de *Porphyromonas gingivalis* frente al extracto de *Erythroxylum coca* según las diferentes concentraciones (100 %, 50 %, 25 %, 12.5 %, 6.25 %, 3.13 %, 1.56 %, 0.78 %).
2. Identificar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de *Erythroxylum coca*, sobre *Porphyromonas gingivalis*.

## 2.6 HIPÓTESIS

### Hipótesis general

El extracto de *Erythroxylum coca* tiene efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis*.

### Hipótesis de trabajo

A mayor concentración del extracto de *Erythroxylum coca*, mayor será la inhibición del crecimiento bacteriano de *Porphyromonas gingivalis*.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

- Según el análisis y alcance de los resultados es **experimental**.
- Es ***in vitro***, pues durante el estudio se crean condiciones controladas y favorables en un laboratorio, que nos permiten la ejecución del estudio.
- Según el periodo y secuencia del estudio es **prospectivo**, pues los datos se analizan transcurrido un tiempo determinado.

#### 3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

##### POBLACIÓN

Está conformada por las bacterias periodontopatógenas Gram negativos.

##### MUESTRA

##### Tipo de muestreo

No probabilístico intencional, pues antes de incluir a las cepas en el estudio, se determinó si cumplía con los criterios de inclusión.

### **Unidad de muestra**

Cepa Estandarizada de *Porphyromonas gingivalis*, procedentes de la American Type Culture Collection (ATCC).

Extracto de *Erythroxylum coca* obtenidas de ENACO.

### **Unidad de análisis**

Conformada por los cultivos bacterianos de las cepas de *Porphyromonas gingivalis*, sometidos a un Test de Difusión en Agar con discos y un Test de Dilución en medio líquido.

### **Criterios de inclusión**

- Bacterias periodontopatógenas Gram negativos
- Cepa bacteriana estandarizada ATCC. *Porphyromonas gingivalis*

## **3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

### **VARIABLE INDEPENDIENTE**

- Extracto de *Erythroxylum coca*

### **VARIABLE DEPENDIENTE**

- Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis*

VARIABLES	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	VALOR
<b>EXTRACTO DE <i>Erythroxyllum coca</i></b>  <b>(VARIABLE INDEPENDIENTE)</b>	Sustancia hidroalcohólica que contiene el extracto de <i>Erythroxyllum coca</i>	Antibacteriana	Concentración	Cuantitativa continua	0.78%
					1.56%
					3.13%
					6.25%
					12.5%
					25%
					50%
					100%



<b>ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA</b>  <b>(VARIABLE DEPENDIENTE)</b>	Capacidad para destruir o inhibir el crecimiento bacteriano	Bactericida	Dimensión del diámetro del halo de inhibición en prueba de difusión en agar con discos	Intervalo	0-8 mm  9-14 mm  15-19mm  20-más
			Crecimiento bacteriano en la prueba de dilución en medio líquido	Nominal	Presencia  Ausencia

**TABLA N°02 Operacionalización de variables**

## **3.4 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.4.1 RECURSOS**

#### **RECURSOS HUMANOS**

- Asesor del trabajo de Investigación
- Odontólogos y biólogos que laboran en el Servicio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM
- Personal de apoyo en el Servicio de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UNMSM
- Personal para el manejo estadístico
- Digitador del trabajo de investigación

#### **RECURSOS MATERIALES**

##### **Infraestructura**

Servicio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM

Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM

Laboratorio del Área de Control de Calidad y Desarrollo e

Investigación de la Empresa nacional de la coca S.A (ENACO S.A).

## **Materiales**

- Materiales de laboratorio para crear un ambiente anaerobio: jarra de anaerobiosis, sobres generadores de anaerobiosis (ANAEROCULT A<sup>R</sup>) y agua destilada.
- Materiales de laboratorio para crear los medios de cultivo: Agar Schadler enriquecido con sangre de cordero, Caldo BHI, placas petri y tubos de ensayo.
- Materiales para pruebas de la actividad antibacteriana: Extracto de Hoja de Coca, Cepa ATCC *Porphyromonas gingivalis*, Agar Schadler, Caldo BHI, medio anaerobio, estufa, incubadora, discos de papel para prueba de difusión, micro pipetas, mecheros, pinzas, algodón, guantes y mascarillas.
- Fichas para la recolección de datos: registro de la lectura de los halos de inhibición y registro de datos para determinar la CMI (ANEXO 9.2)
- Computadora Pentium IV
- Software de cómputo para diseño estadístico

### **3.4.2 PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS**

#### **OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE *Erythroxylum coca***

El extracto de hoja de coca fue obtenido de la Empresa Nacional de la Coca (ENACO S.A.), en el Área de Control de Calidad e Inversión y Desarrollo, gracias al convenio de Investigación de la Hoja de Coca entre esta Institución y la UNMSM.

El extracto de Hoja de Coca fue diluido con alcohol etílico 96°, hasta obtener soluciones de 0.78 %, 1.56 %, 3.13 %, 6.25 %, 12.5 %, 25 %, 50 % y 100 % luego fueron conservados bajo refrigeración 6 - 8° C en frascos de vidrio oscuro.

#### **CEPA BACTERIANA PARA EL ESTUDIO**

Se trabajó con una cepa bacteriana estándar ATCC de *porphyromonas gingivalis*.

#### **CREACIÓN DE AMBIENTE ANAEROBIO**

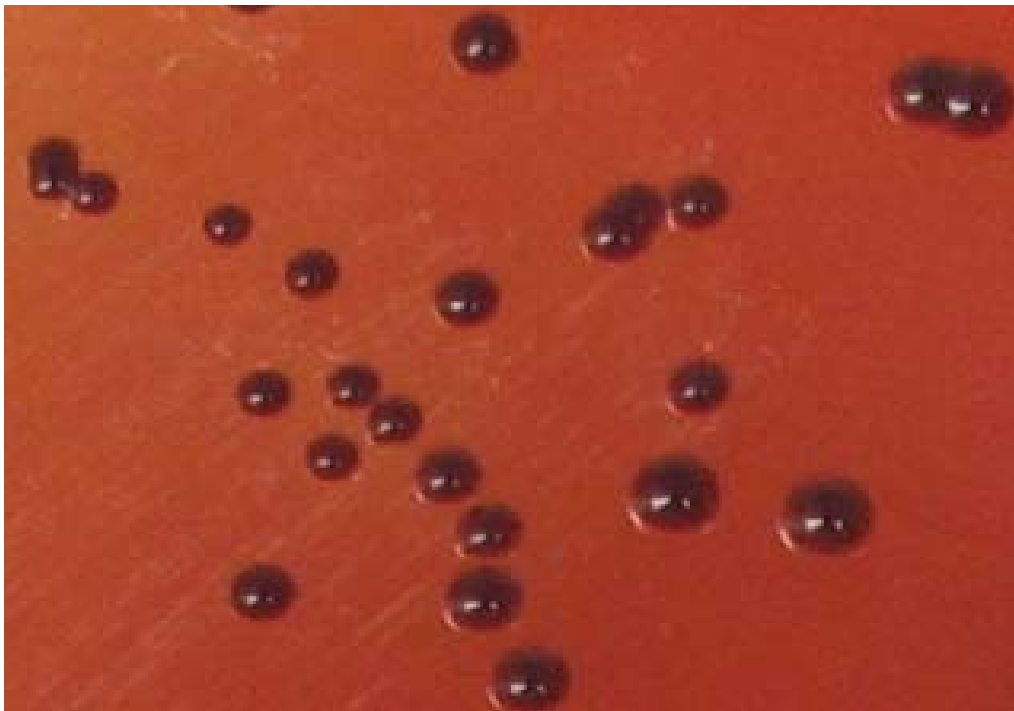
Se procedió agregar uniformemente 30mL de agua destilada sobre una lámina de ANAEROCULT A<sup>R</sup>, inmediatamente después se colocó dentro de una jarra de anaerobiosis, se cierra herméticamente y después de 30 minutos se consigue un ambiente anaerobio dentro de la jarra.

## REACTIVACIÓN DE LA CEPA

Para viabilizar esta cepa bacteriana se procedió hacer el sembrado de los cristales liofilizados, contenidos en el vial, mediante la técnica de agotamiento en Agar Schadler enriquecido con sangre de cordero. A continuación dicha placa sembrada, se colocó en un ambiente anaerobio (jarra de anaerobiosis). En condiciones estériles, esta jarra fue llevada a la incubadora a 37°.

## CRECIMIENTO DE LA CEPA BACTERIANA

En un ambiente anaerobio, a 37° C en Agar Shacdler enriquecido con sangre de cordero, en condiciones estériles y por un periodo de 5 a 7 días.



Colonias de *porphyromonas gingivalis*

## PRUEBA DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Mediante el Test de difusión en Agar.

Se procedió a tomar algunas colonias de *Porphyromonas gingivalis* del cultivo anteriormente realizado, y se las suspendió en un Caldo de BHI, luego se incubó entre 2 a 5 horas, obteniendo una turbidez final de 0.5 en la escala de Mc Farland, que equivale a  $0.5 \times 10^8$  UFC/ml.

Se diluyó proporcionalmente el extracto de *Erythroxyllum coca* (con alcohol etílico 96°) en 08 concentraciones (1/1, 1/2, 1/4, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256) y se agregaron 100 uL de estas concentraciones, a los discos de papel de filtro, para su posterior colocación de forma ordenada según su concentración, sobre el Agar Schadler.

Se realizó un test de difusión con discos en Agar Schadler, para ello se procedió a realizar el sembrado de las alícuotas bacterianas mediante la técnica por diseminación sobre dicho medio.

En consecuencia, se realizó por quintuplicado el Test de difusión en Agar, cada uno de los cuales contiene diez discos: 08 discos que portan las ocho diferentes concentraciones del extracto, 01 disco conteniendo clorhexidina 0.12 % (control positivo) y otro conteniendo alcohol etílico 96° (control negativo); distribuidos equidistantes sobre el Agar Schadler previamente sembrado con *Porphyromonas gingivalis*.

Cada placa fue incubada por 5 a 7 días en un ambiente anaerobio.

Luego del tiempo indicado, se procedió a la medición de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano en cada placa, utilizando para ello un calibrador pie de rey. Se ordenaron y registraron.

## **DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)**

Mediante un Test de Dilución en medio líquido.

Se procedió a preparar 10 tubos de ensayo, cada uno conteniendo 2.8ml de un medio de cultivo BHI. A cada tubo de ensayo se agregó 100 uL del inóculo bacteriano (*Porphyromonas gingivalis*), además 100 uL del extracto de *Erythroxyllum coca* al 0.78 %, 1.56 %, 3.13 %, 6.25 %, 12.5 %, 25 %, 50 % y 100 % en forma correspondiente, además 100 uL de Clorhexidina 0.12% (control positivo) y 100 uL de alcohol etílico 96° (control negativo)

Todo este procedimiento se realizó por quintuplicado.

Se encubó por 48 horas en un ambiente anaeróbico.

En cada grupo se evaluaron los 10 tubos, observando el crecimiento bacteriano y se determinó la concentración mínima del extracto capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, cuando esta lectura pasaba de un crecimiento (turbidez) a otro con ausencia de crecimiento (claro), esto representó la CMI.

### 3.4.3 PROCESAMIENTO DE DATOS

#### RECOLECCIÓN DE DATOS

Para la recolección de datos de la investigación, se utilizará un instrumento que será llenado por el investigador, luego se organizan los datos en tablas y gráficas.

#### ANÁLISIS DE RESULTADOS

El procesamiento se realizó con una computadora Pentium IV, sistema operativo Windows XP con el programa SPSS versión 15. Los datos fueron procesados aplicándose los intervalos de confianza al 95 %. Para determinar el nivel de significancia de los resultados ( $p < 0.05$ ), se utilizaron las Pruebas de U Mann Whitney y Kruskal Wallis.

La significancia de la presencia o ausencia del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, frente a las diferentes concentraciones de *Erythroxylum coca* estudiadas, se realizó mediante **un análisis estadístico de regresión lineal y correlación de Pearson**, en la cual el crecimiento de los aislados de *Porphyromonas gingivalis* y la concentración de *Erythroxylum coca*, corresponden a la variable dependiente e independiente respectivamente.<sup>49</sup>



## IV. RESULTADOS

Los resultados fueron clasificados según las concentraciones del extracto de *Erythroxylum coca*.

Los exámenes de difusión en Agar y el de dilución en medio líquido, nos permiten la evaluación del efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis*, respectivamente.

Los resultados obtenidos para el control negativo, no presentaron halo de inhibición en todos los casos.

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO  
DE *Erythroxyllum coca* SOBRE *Porphyromonas gingivalis* MEDIANTE  
EL TEST DE DIFUSIÓN EN AGAR**

**TABLA N° 03 Halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* según las diferentes concentraciones del extracto de *Erythroxyllum coca***

HALOS	Concentraciones del extracto de <i>Erythroxyllum coca</i> (%)																			
	0.78%		0.56 %		3.13 %		6.25 %		12.5 %		25 %		50 %		100 %		Alcohol 96°		Clorhexidina 0.12%	
	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	%n	n	n%
5 mm	5	100%	5	100%	4	80%	1	20%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	5	100%	0	0%
6 mm	0	0%	0	0%	1	20%	4	80%	4	80%	2	40%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
7 mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	20%	3	60%	3	60%	0	0%	0	0%	0	0%
8 mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	2	40%	2	40%	0	0%	0	0%
9 mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	3	60%	0	0%	0	0%
12 mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
14 mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
15 mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
total	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%
media	5mm		5mm		5.2mm		5.8mm		6.2mm		6.6mm		7.4mm		8.6mm		5mm		14.4mm	

Para las concentraciones 0.78 % y 1.56 % del extracto de *Erythroxylum coca*, los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, miden 5 mm (100 % de los casos) con una media de 5 mm. Para la concentración de 3.13 %, se observa que los mayores halos de inhibición miden 6 mm (20 % de los casos) con una media de 5.2 mm. Para la concentración de 6.25 %, se observa que los mayores halos de inhibición miden 6 mm (80 % de los casos) con una media de 5.8 mm. Para la concentración de 12.5 %, se observa que los mayores halos de inhibición miden 7 mm (20 % de los casos) con una media de 6.2 mm. Para la concentración de 25 %, se observa que los mayores halos de inhibición miden 7 mm (60 % de los casos) con una media de 6.6 mm. Para la concentración de 50 %, se observa que los mayores halos de inhibición miden 8 mm (40 % de los casos) con una media de 7.4 mm. Para la concentración de 100 %, se observa que los mayores halos de inhibición miden 9 mm (60 % de los casos) con una media de 8.6 mm. Por su parte, para el grupo control negativo (Alcohol 96°) en todos los casos observados miden 5 mm con una media de 5 mm y para el grupo control positivo (Clorhexidina 0.12 %), se observa que los mayores halos de inhibición miden 15 mm (en el 40 % de los casos) con una media de 14.4 mm.

**TABLA N° 04 Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis***

HALOS	Concentraciones del extracto de <i>Erythroxylum coca</i> (%)																			
	0.78%		0.56 %		3.13 %		6.25 %		12.5 %		25 %		50 %		100 %		Alcohol 96°		Clorhexidina 0.12%	
	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	%n	n	n%
s.nula: menor 8mm <sup>1</sup>	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	2	40%	5	100%	0	0%
s. límite: 9-14 mm <sup>1</sup>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	3	60%	0	0%	3	60%
s. media: 15-19mm <sup>1</sup>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	2	40%
Sumamente sensible: Mayor o igual 20mm <sup>1</sup>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
total	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%

Se observa que los halos de inhibición del crecimiento bacteriano en la totalidad de las concentraciones del extracto de *Erythroxylum coca* evaluados (excepto en el 60 % de los casos del extracto cuya concentración fue 100 %), no superaron los 8 mm; eso indica que poseen una actividad antibacteriana nula (sensibilidad nula).

<sup>1</sup> Valores de sensibilidad en el Aromatograma según Duraffourd

Para la concentración del 100 % del extracto de *Erythroxylum coca*, en el 40 % de los casos, los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* no superaron los 8 mm; y en el 60 % de los casos la longitud de los halos indicaron 9 mm, eso indica una actividad antibacteriana límite (sensibilidad límite).

Por tanto *Porphyromonas gingivalis* no presenta sensibilidad frente al extracto de *Erythroxylum coca* (sensibilidad nula), solamente se observa actividad antibacteriana límite (sensibilidad límite) en el 60 % de los casos del extracto al 100 % de concentración.

**TABLA N° 05 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 0.78 % de *Erythroxyllum coca*.**

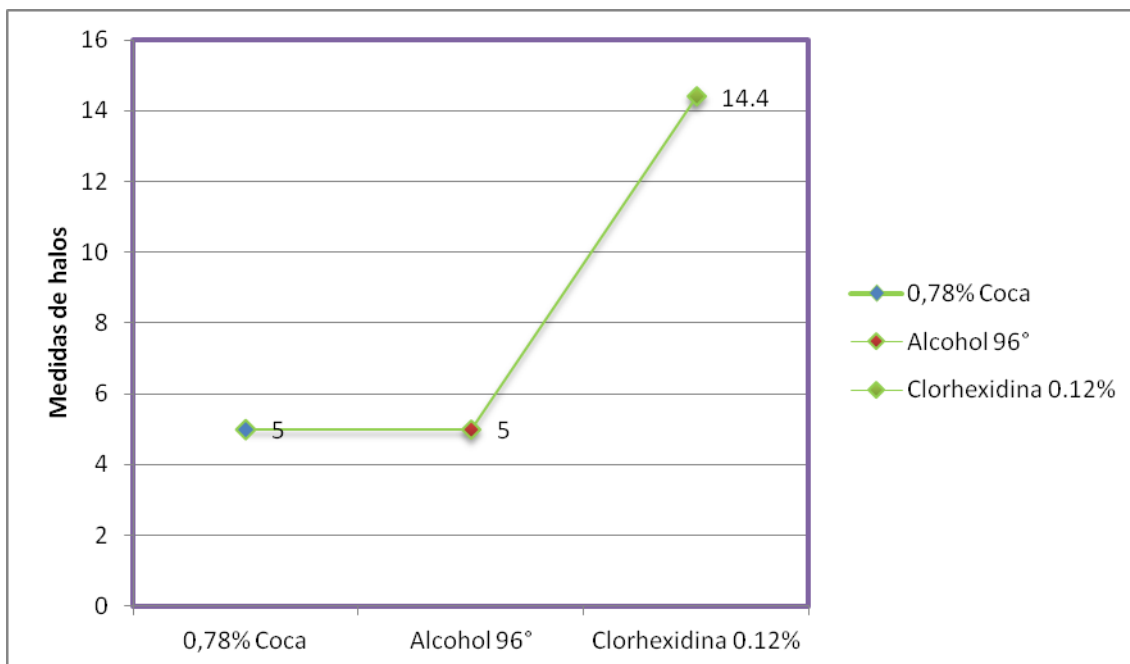
	Concentración coca 0.78 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	5 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	5 mm	5 mm	14 mm
Máximo	5 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0	0	0.547

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 0.78 % del extracto de *Erythroxyllum coca*, en todas las pruebas fue 5 mm. Los valores mínimo y máximo fueron 5 mm.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxyllum coca* 0.78 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

**GRÁFICO N° 01 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 0.78 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 0.78 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (5 mm), fue igual al valor de la media del control negativo (5 mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

**TABLA N° 06 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 1.56 % de *Erythroxyllum coca*.**

	Concentración coca 1.56 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	5 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	5 mm	5 mm	14 mm
Máximo	5 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0	0	0.547

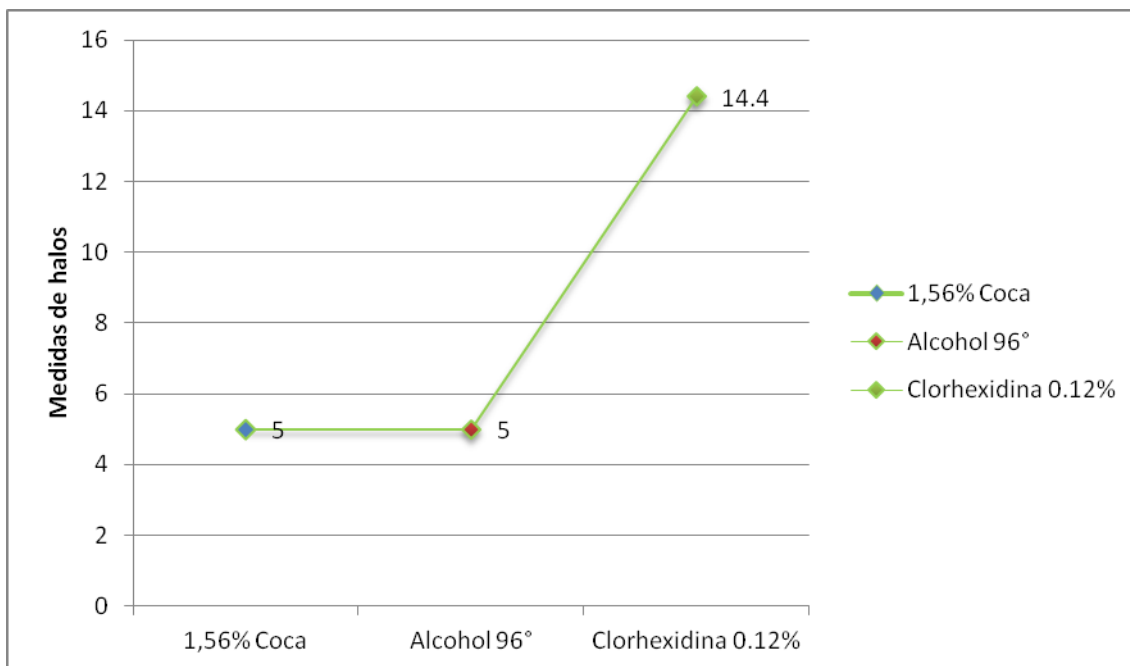
Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 1.56 % del extracto de *Erythroxyllum coca*, en todas las pruebas fue 5 mm. Los valores mínimo y máximo fueron de 5 mm.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxyllum coca* 1.56 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).



**GRÁFICO N° 02 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 1.56 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 1.56 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (5 mm), fue igual al valor de la media del control negativo (5 mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

**TABLA N° 07 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 3.13 % de *Erythroxyllum coca*.**

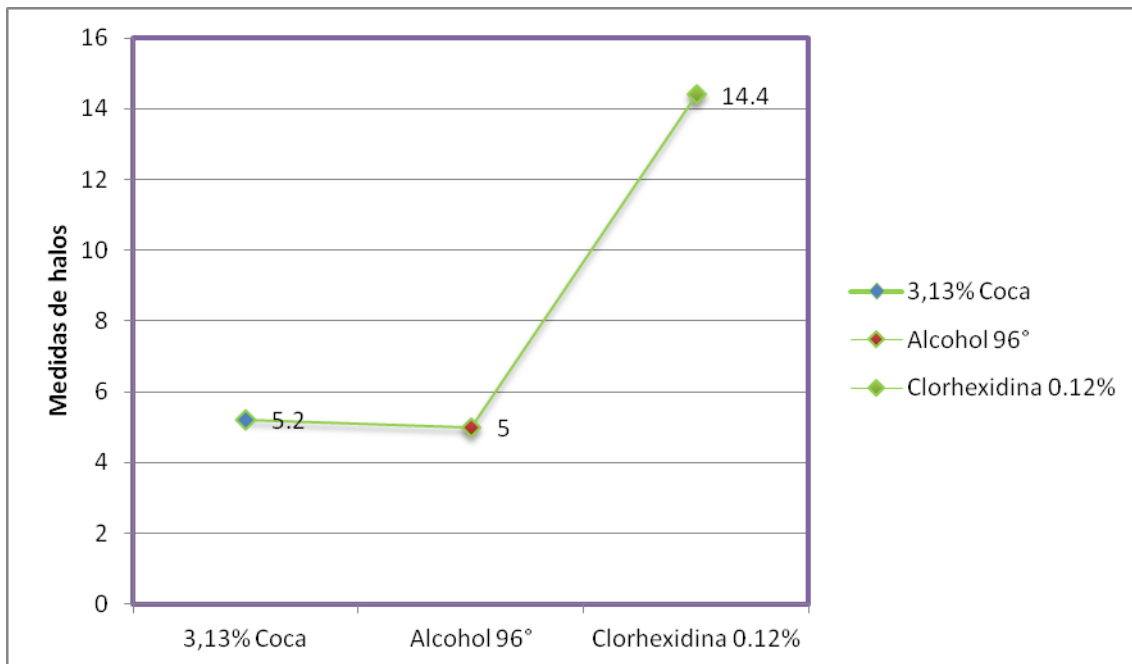
	Concentración coca 3.13 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	5.2 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	5 mm	5 mm	14 mm
Máximo	6 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0.447	0	0.547

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 3.13 % del extracto de *Erythroxyllum coca*, fue 5.2 mm. Los valores mínimo y máximo fueron de 5 y 6 mm respectivamente.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxyllum coca* 3.13 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

**GRÁFICO N° 03 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 3.13 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 3.13 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (5.2 mm), fue mayor que el valor de la media del control negativo (5 mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

**TABLA N° 08 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 6.25 % de *Erythroxyllum coca*.**

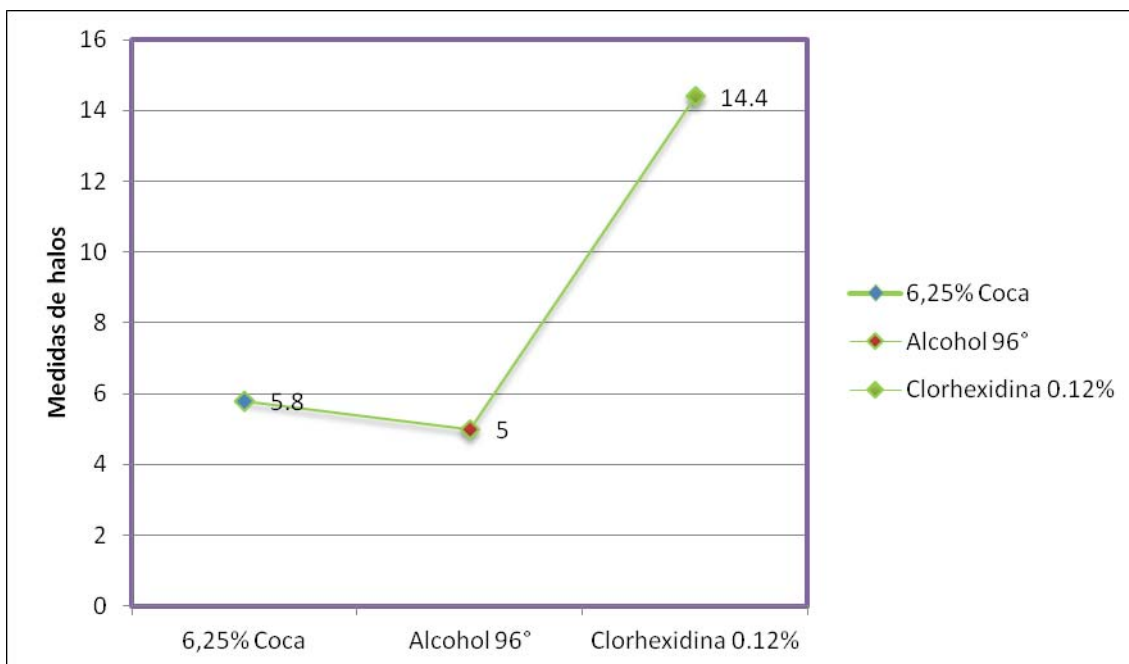
	Concentración coca 6.25 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	5.8 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	5 mm	5 mm	14 mm
Máximo	6 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0.447	0	0.547

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 6.25 % del extracto de *Erythroxyllum coca*, fue 5.8mm. Los valores mínimo y máximo fueron 5 y 6 mm respectivamente.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxyllum coca* 6.25 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**GRÁFICO N° 04 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 6.25 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 6.25 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (5.8 mm), fue mayor que el valor de la media del control negativo (5 mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

**TABLA N° 09 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 12.5 % de *Erythroxyllum coca*.**

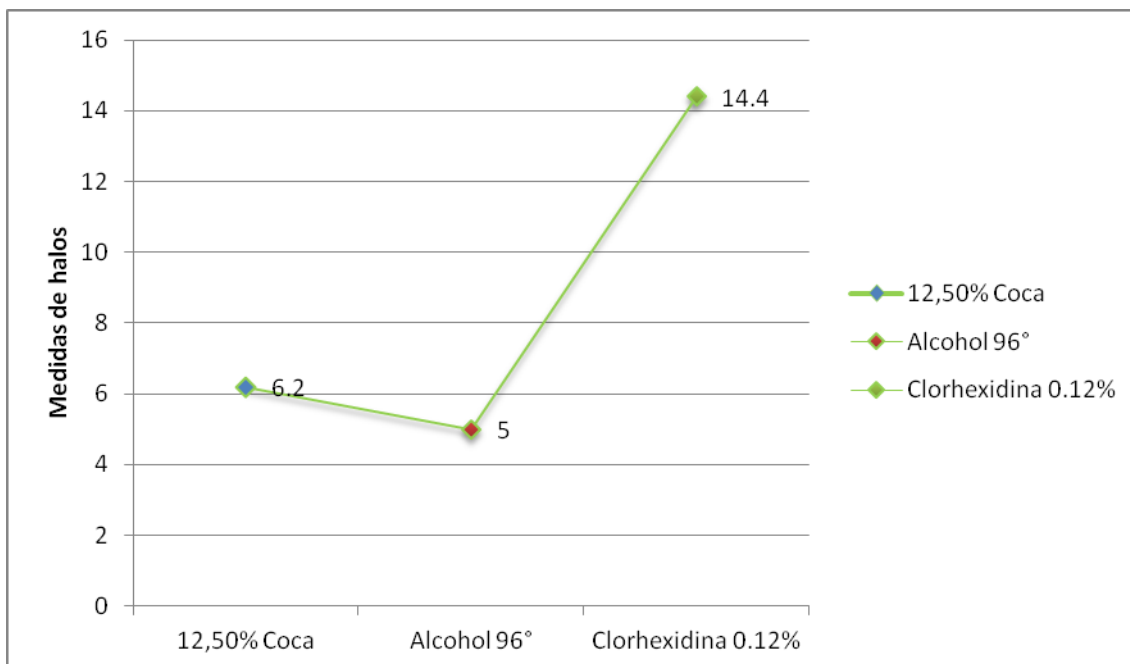
	Concentración coca 12.5 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	6.2 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	6 mm	5 mm	14 mm
Máximo	7 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0.447	0	0.547

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 12.5 % del extracto de *Erythroxyllum coca*, fue 6.2 mm. Los valores mínimo y máximo fueron 6 y 7 mm respectivamente.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxyllum coca* 12.5 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**GRÁFICO N° 05 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 12.5 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 12.5 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (6.2 mm), fue mayor que el valor de la media del control negativo (5 mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

**TABLA N° 10 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 25 % de *Erythroxylum coca*.**

	Concentración coca 25 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	6.6 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	6 mm	5 mm	14 mm
Máximo	7 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0.547	0	0.547

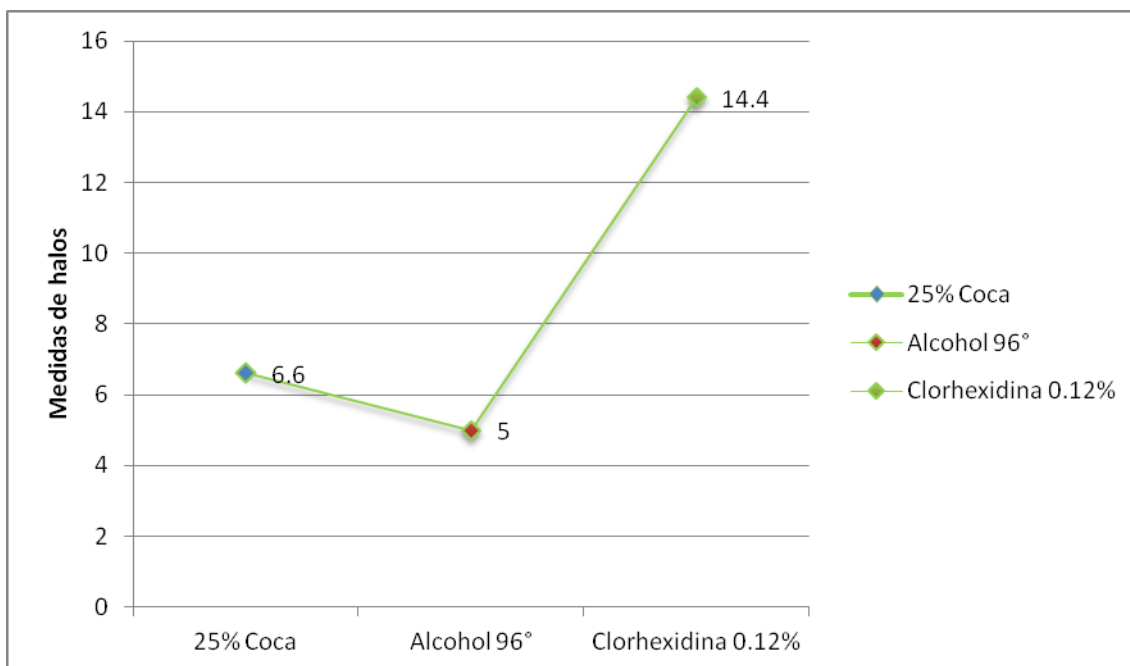
Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 25 % del extracto de *Erythroxylum coca*, fue 6.6 mm. Los valores mínimo y máximo fueron 6 y 7 mm respectivamente.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxylum coca* 25 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



**GRÁFICO N° 06 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 25 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 25 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (6.6 mm), fue mayor que el valor de la media del control negativo (5 mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

**TABLA N° 11 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 50 % de *Erythroxylum coca*.**

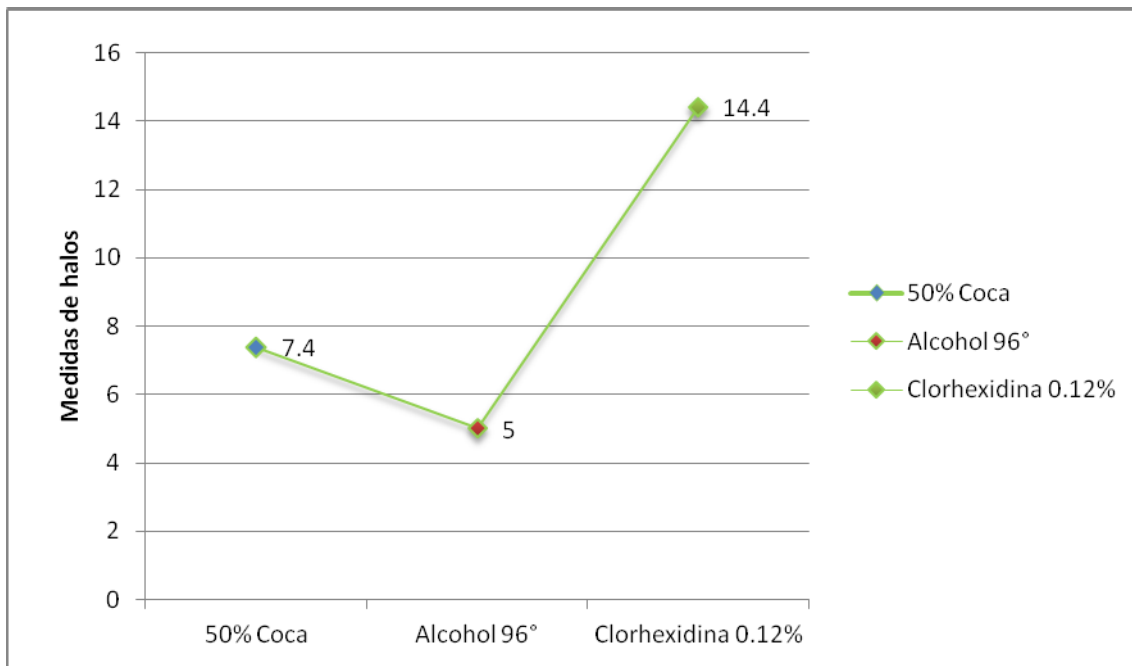
	Concentración coca 50 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	7.4 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	7 mm	5 mm	14 mm
Máximo	8 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0.547	0	0.547

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 50 % del extracto de *Erythroxylum coca*, fue 7.4 mm. Los valores mínimo y máximo fueron 7 y 8 mm respectivamente.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxylum coca* 50 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**GRÁFICO N° 07 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 50 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 50 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (7.4 mm), fue mayor que el valor de la media del control negativo (5 mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

**TABLA N° 12 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 100 % de *Erythroxyllum coca*.**

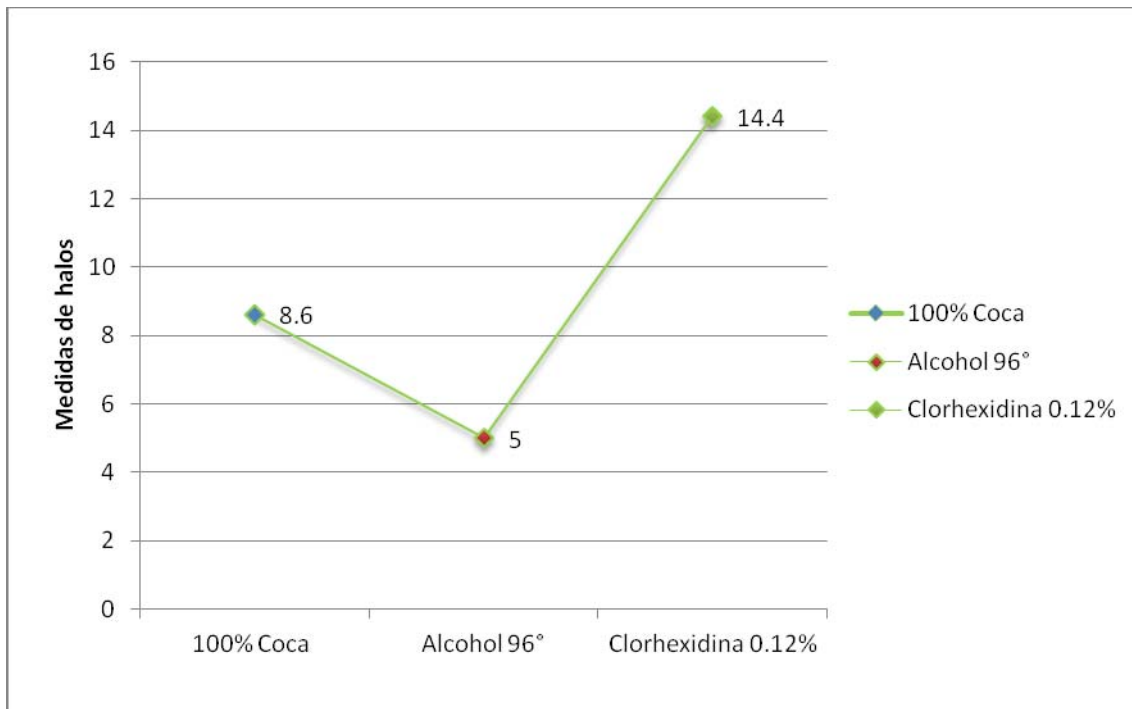
	Concentración coca 100 %	Alcohol 96° (control negativo)	Clorhexidina 0.12 % (control positivo)
Media	8.6 mm	5 mm	14.4 mm
Mínimo	8 mm	5 mm	14 mm
Máximo	9 mm	5 mm	15 mm
Desv. Est.	0.547	0	0.547

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 100 % del extracto de *Erythroxyllum coca*, fue 8.6 mm. Los valores mínimo y máximo fueron 8 y 9 mm respectivamente.

Los valores de las medias del grupo control negativo (Alcohol 96°) y positivo (Clorhexidina 0.12 %) fueron 5 y 14.4 mm respectivamente.

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxyllum coca* 100%) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**GRÁFICO N° 08 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 100 % de *Erythroxyllum coca*.**



El valor de la media de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 100 % del extracto de *Erythroxyllum coca* (8.6 mm), fue mayor que el valor de la media del control negativo (5mm) y menor al control positivo (14,4 mm).

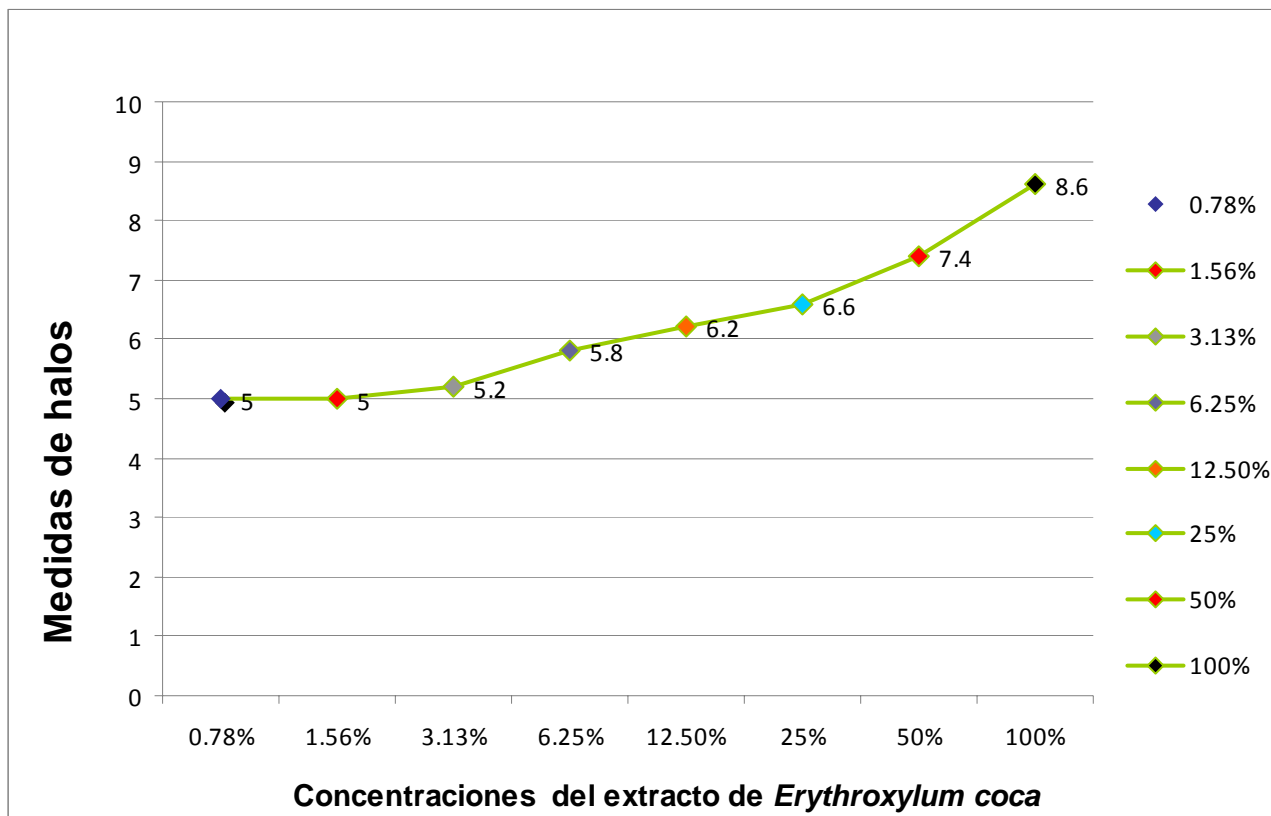
**TABLA N° 13 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* según las diferentes concentraciones del extracto de *Erythroxylum coca*.**

	Concentraciones del extracto de <i>Erythroxylum coca</i> (%)							
	0.78 %	1.56 %	3.13 %	6.25 %	12.5 %	25 %	50 %	100 %
Media	5mm	5mm	5.2mm	5.8mm	6.2mm	6.6mm	7.4mm	8.6mm
Mínimo	5mm	5mm	5mm	5mm	6mm	6mm	7mm	8mm
Máximo	5mm	5mm	6mm	6mm	7mm	7mm	8mm	9mm
Desv. Est.	0	0	0.447	0.447	0.447	0.547	0.547	0.547

Se observa que la mayor medida del halo de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* se dio frente a 100 % de la concentración de *Erythroxylum coca* (8.6 mm), seguida por la concentración de 50 % (7.4 mm), la concentración de 25 % (6.6 mm), la concentración de 12.5 % (6.2 mm), la concentración de 6.25 % (5.8 mm), la concentración de 3.13 % (5.2 mm), y la concentración de 1.56 % y 0.78 % (5 mm).

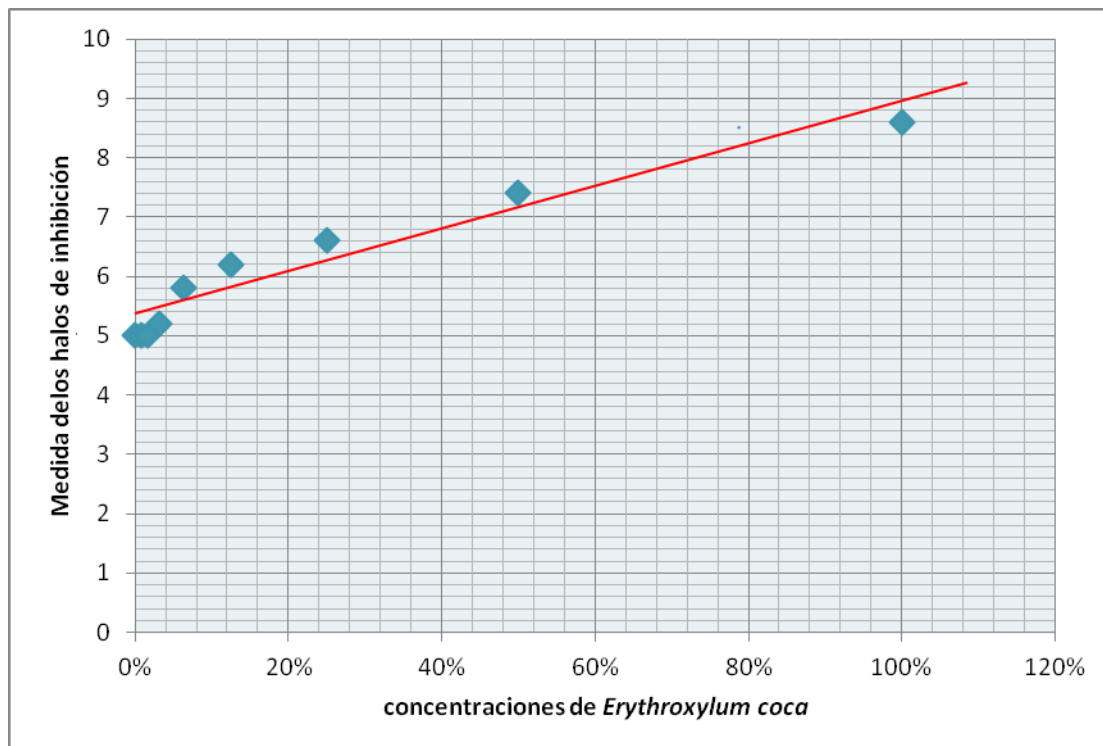
Al hacerse la comparación de las diferentes concentraciones del extracto de *Erythroxylum coca* mediante la prueba de Kruskal - Wallis, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**GRÁFICO N° 09 Medidas de halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* en relación a las diferentes concentraciones de *Erythroxylum coca*.**



La mayor medida del halo de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* se dio frente a 100 % de la concentración de *Erythroxylum coca* (8.6 mm), seguida por la concentración de 50 % (7.4 mm), la concentración de 25 % (6.6 mm), la concentración de 12.5 % (6.2 mm), la concentración de 6.25 % (5.8 mm), la concentración de 3.13 % (5.2 mm), y la concentración de 1.56 % y 0.78 % (5 mm).

**GRÁFICO N° 10** Línea de tendencia o progresión lineal entre las medidas de halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* en relación a las diferentes concentraciones de *Erythroxyllum coca*.



La ecuación de la recta para este estudio fue  $Y : 3.542X + 5.342$

El coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) encontrado fue  $r : 0.9602$ , indicando una relación directa muy fuerte entre la variable dependiente (actividad antibacteriana) y la variable independiente (extracto de *Erythroxyllum coca*). A su vez, el coeficiente de determinación ( $r^2 : 0.922$ ), equivalente al 92 %, indicó que la variación en el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* se debe en un 92 % por la variación en la concentración del extracto de *Erythroxyllum coca*.



**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Erythroxylum coca* SOBRE *Porphyromonas gingivalis* MEDIANTE EL TEST DE DILUCIÓN EN MEDIO LÍQUIDO**

**TABLA N° 14 Crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* según las diferentes concentraciones del extracto de *Erythroxylum coca*.**

SEBRADO P. g EN CALDO DE CULTIVO AGAR BHI (2.8 ml)  CONCENTRACIÓN EXTRACTO COCA (100 ul)	TUBO ENSAYO	CRECIMIENTO BACTERIANO				
		GRUPO N° I	GRUPO N° II	GRUPO N° III	GRUPO N° IV	GRUPO N° V
100 %	1	-	-	-	-	-
50 %	2	-	-	-	-	-
25 %	3	-	-	-	-	-
12.5 %	4	-	-	-	-	-
6.25 %	5	-	-	-	-	-
3.13 %	6	-	+	-	-	+
1.56 %	7	-	+	+	+	+
0.78 %	8	+	+	+	+	+

(+) : Crecimiento bacteriano

(-) : Ausencia de crecimiento bacteriano

De acuerdo a los resultados presentados en esta tabla, se observa que no hubo crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* en las concentraciones de 100 %, 50 %, 25 %, 12.5 % y 6.25 % de extracto de *Erythroxyllum coca*.

En el 100 % de los casos si hubo crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* en la concentración de 0.78 % del extracto de *Erythroxyllum coca*.

De acuerdo a los resultados, la concentración mínima del extracto de *Erythroxyllum coca*, capaz de inhibir a la totalidad de los aislados de *Porphyromonas gingivalis*, correspondió a 6.25 %

El efecto de las diferentes concentraciones de *Erythroxyllum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis* se encuentra resumido en las tablas N° 15 y N° 16, y expresado como puntos de dispersión en el gráfico N° 12.

**TABLA N° 15 Relación entre el crecimiento de los aislados de *Porphyromonas gingivalis* y la concentración de los extractos de *Erythroxylum coca*.**

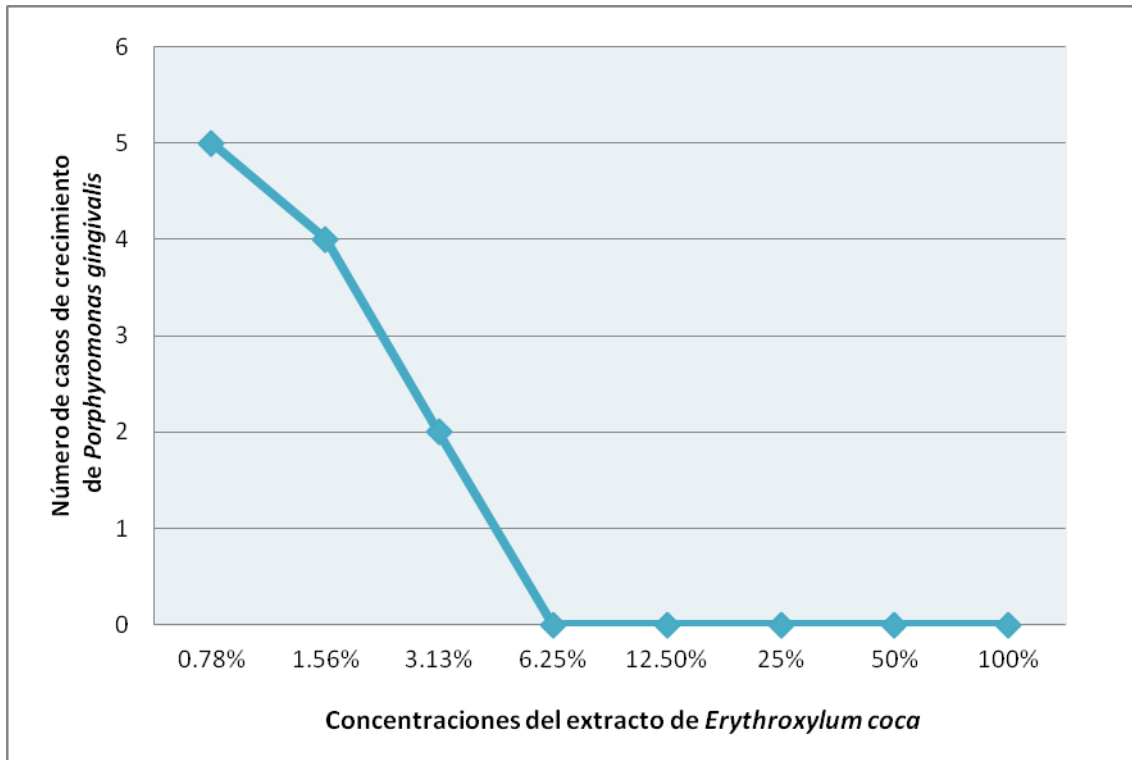
	Concentración de <i>Erythroxylum coca</i>							
N° CRECIMIENTO AISLADOS <i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.78%	1.56%	3.13%	6.25%	12.5%	25%	50%	100%
(+)	5	4	2	0	0	0	0	0
(-)	0	1	3	5	5	5	5	5

En la Tabla N° 16 se expresan en porcentajes, los mismos resultados anteriores.

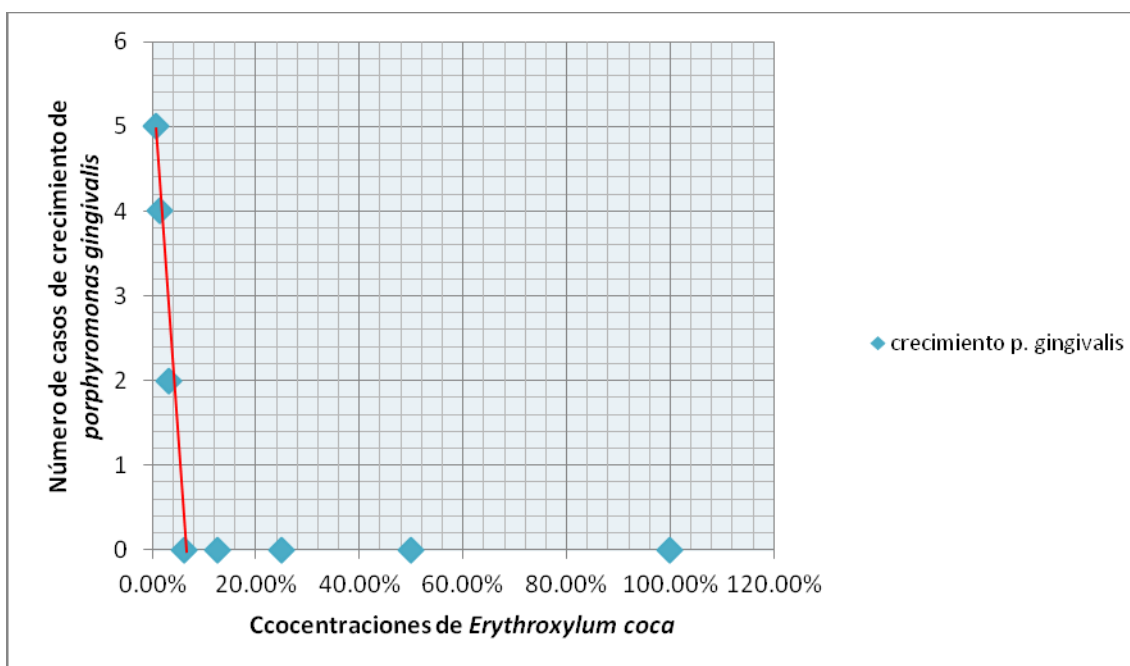
**TABLA N° 16 Relación porcentual entre el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* y la concentración de los extractos de *Erythroxylum coca*.**

	Concentración de <i>Erythroxylum coca</i>							
% CRECIMIENTO AISLADOS <i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.78%	1.56%	3.13%	6.25%	12.5%	25%	50%	100%
(+)	100	80	40	0	0	0	0	0
(-)	0	20	60	100	100	100	100	100

**GRÁFICO N° 11 Crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* en relación a las diferentes concentraciones de *Erythroxylum coca*.**



**GRÁFICO N° 12** Línea de tendencia o regresión lineal entre el número de casos con crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* en relación a las diferentes concentraciones de *Erythroxyllum coca*.



La ecuación de la recta para este estudio fue  $Y : -3.0760X + 2.1410$ .

El coeficiente de correlación de Pearson (r) encontrado fue  $r: -0.9835$  indicando una relación inversa muy fuerte entre el indicador de la variable dependiente (crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*) y la variable independiente (extracto de *Erythroxyllum coca*). A su vez, el coeficiente de determinación ( $r^2 : 0.9672$ ), equivalente al 96 %, indicó que la variación en el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* se debe en un 96 % por la variación en la concentración del extracto de *Erythroxyllum coca*. ( $p < 0.05$ ).

## V. DISCUSIÓN

Este trabajo de investigación permitió un alcance preliminar al determinar *in vitro* que el extracto de *Erythroxylum coca*, tiene actividad antibacteriana sobre *Porphyromonas gingivalis*, evaluado mediante el Test de difusión en Agar con discos y la prueba de dilución en medio líquido. Se determinó con este último estudio que la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue 6.25 % de este extracto.

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis* mediante un Test de difusión en Agar, nos permitió determinar un análisis de estimación lineal entre las concentraciones de *Erythroxylum coca* y la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, mostrando una recta con una pendiente pronunciada (  $m : 3.542$  ) desde una concentración de 0.78 % hasta el 100 % del extracto en estudio. Se observó una relación directa entre la variable independiente (*coca*) y el indicador de la variable dependiente (halos de inhibición del crecimiento bacteriano). El valor obtenido para el coeficiente de regresión,  $r^2: 0.922$ , nos indicó que la variable extracto de *Erythroxylum coca* está influyendo fuertemente en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* (en el 92 % de los casos se manifiesta esta influencia). Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Erythroxylum coca*) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que para las concentraciones 0,78 %, 1.56 % y 3.13 % del extracto, no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ); pero para los resultados de las demás concentraciones (6.25 %, 12.5 %, 25 %, 50 %, y 100 %), si existe

una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). Se determina que la menor concentración del extracto de *Erythroxylum coca*, cuyos resultados presentan una diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control ( $p < 0.05$ ), fue de 6.25 %.

Los resultados de esta investigación, no se pueden comparar con resultados de otras investigaciones pues no se han trabajado con *Porphyromonas gingivalis*, además los extractos de hoja de coca utilizados en los anteriores estudios, difieren entre sí, pues fueron elaborados con diferentes especies y en diferentes dependencias. Para este estudio, ENACO nos proporcionó un extracto cuya elaboración obedece estándares que garantizan la homogeneidad del producto, pudiendo ser la base para la ejecución de futuros trabajos relacionados.

El efecto antibacteriano del extracto de *Erythroxylum coca*, también es sustentado por otros trabajos de investigación como los de Goicochea A<sup>1</sup> y Coronel M<sup>2</sup>, quienes obtuvieron como resultados una disminución en la prevalencia e incidencia de caries en grupos poblacionales que tenían el hábito del picchado de la hoja de coca. Con respecto a la enfermedad periodontal, en los resultados de Coronel M<sup>2</sup>, las personas que tenían el hábito de picchado de la hoja de coca, presentaron una tendencia al aumento en la prevalencia de la enfermedad periodontal; argumenta el investigador que se debe posiblemente por el trauma mecánico sobre los tejidos de soporte dentario durante el proceso de picchado de la hoja de coca.

Los estudios de Cam O y Villanueva P<sup>4</sup>, Solano D<sup>5</sup>, Gálvez O<sup>6</sup>; demuestran que el extracto de *Erythroxylum coca*, tiene propiedades antibacterianas sobre

distintos agentes microbianos como bacterias Gram negativos y Gram positivos, *Streptococcus* de la cavidad bucal, bacterias Gram negativos resistentes, respectivamente.

Solano D<sup>5</sup> y Borrovic R<sup>7</sup>, evaluaron la actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Streptococcus* de la cavidad oral y sobre flora mixta salival, respectivamente, mediante un Test de difusión en Agar con pozos (no se utilizaron discos). Utilizando distintas concentraciones del extracto, Solano D<sup>5</sup> encontró que existía inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus salivarius* a 800 ug y 1000 ug de dicho extracto; a su vez, Borrovic R<sup>7</sup>, evaluando cada concentración utilizada (250 ug/20ug, 500 ug/20ug, 1000 ug/20ug y 1500 ug/20ug), concluyó que existe un efecto antimicrobiano positivo a las diferentes concentraciones del extracto frente a la flora mixta salival; además indicó que a mayor concentración del extracto, existe mayor efecto antimicrobiano.

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis*, mediante la prueba de dilución en medio líquido, nos permitió determinar un análisis de estimación lineal entre las concentraciones de *Erythroxylum coca* y el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, mostrando una recta con una pendiente pronunciada (  $m : - 3.0760$  ) desde una concentración de 0.78 % hasta 6.25 % y una recta sin pendiente ( $m:0$ ) desde una concentración de 6.25 % hasta 100 % del extracto en estudio. Se observó una relación inversa entre la variable independiente (*Erythroxylum coca*) y el indicador de la variable dependiente (crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*). El valor obtenido para el coeficiente de regresión,  $r^2$ : 0.9672, nos indicó que la variable extracto de *Erythroxylum*



*coca* está influyendo fuertemente en el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*. (El extracto de *Erythroxylum coca* explica 97 % de la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*).

El valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI) que inhibió el crecimiento del 100 % de los cultivos de *Porphyromonas gingivalis*, en este estudio, fue 6.25 % de concentración del extracto de *Erythroxylum coca*. Este hallazgo no se puede comparar con otros estudios similares pues es un trabajo pionero en la búsqueda de esta CMI.

De acuerdo a los valores de sensibilidad en el Aromatograma según Duraffourd, para los resultados obtenidos en el Test de difusión en Agar (halos de inhibición de crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* inferiores a 9mm), resuelve que *Porphyromonas gingivalis* presenta sensibilidad nula (-) frente a las diferentes concentraciones del extracto de *Erythroxylum coca* y sensibilidad límite (sensibilidad : +) sólo para la concentración 100 % del extracto estudiado. Esta aseveración contradice la conclusión que se desprende de la prueba de Dilución en medio líquido, la cual expresa que el extracto de *Erythroxylum coca* tiene la propiedad de inhibir el crecimiento *in vitro* de *Porphyromonas gingivalis* a concentraciones iguales o superiores al 6.25 % del extracto (CMI : 6.25 %).

Los resultados del Test de difusión en Agar, nos indican una actividad nula del extracto frente a la bacteria en estudio, posiblemente fueron influenciados por la pobre difusión radial del extracto hidroalcohólico desde los discos sobre el agar, debido tal vez a la tensión superficial y la naturaleza volátil del vehículo (Alcohol 96°). Sin embargo, los resultados de la prueba de dilución en medio

líquido, indican una mayor actividad (CMI : 6.25 %), posiblemente porque durante el proceso de dilución existe una fuerte interacción entre el extracto y la bacteria, traduciéndose en un resultado más confiable.

## VI. CONCLUSIONES

1. El presente trabajo demostró que el extracto de *Erythroxylum coca* (hoja de coca), tiene la propiedad de inhibir el crecimiento *in vitro* de la bacteria *Porphyromonas gingivalis*.
2. Los resultados determinaron que la mínima concentración de extracto de *Erythroxylum coca*, capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* fue 6.25 %.
3. Los resultados evidencian que en la prueba de dilución en medio líquido, la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis*, es más efectiva.
4. La prueba de dilución en medio líquido es más efectiva que el Test de difusión en Agar, para evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis*.

## VII. RECOMENDACIONES

1. El extracto de *Erythroxylum coca* podría ser una alternativa antibacteriana en el futuro, siempre y cuando se realicen estudios en pacientes con diferentes patologías periodontales, evaluando parámetros clínicos como microbiológicos.
2. Realizar estudios con cepas de *Porphyromonas gingivalis* y otras especies bacterianas asociadas a la progresión de la enfermedad periodontal, aisladas de pacientes de nuestro medio.
3. Estandarizar el extracto y los sistemas de medios de cultivos, para el estudio de la actividad antibacteriana del *Erythroxylum coca*; pues la especie y procedencia del extracto, así como también los agares y caldos de cultivo, tienen influencia en la actividad biológica de éste.
4. Analizar la composición química del extracto de *Erythroxylum coca*, y estudiar los componentes que estarían actuando en las propiedades antibacterianas.
5. Se recomienda el uso de pruebas de dilución y microdilución en medios líquidos, para evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de bacterias anaerobias exigentes como *Porphyromonas gingivalis*,

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Goicochea A. Estudio de la cavidad bucal en sujetos habituados a la masticación de hoja de coca en la Hacienda de Collambay-Trujillo. Tesis de Bachiller. Fac Odontol: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 1954.
2. Coronel M. Estudio comparativo de la prevalencia de caries, enfermedad periodontal y abrasión entre un grupo de sujetos con el hábito de masticación de hojas de coca y un grupo control en la Comunidad de Apaycauchilla, Provincia de Tarma. Tesis de Bachiller. Fac. Estomatol: Univ. Peruana Cayetano Heredia. Lima. 1988.
3. Aguilar FE, Encarnación MJ. Comportamiento in vitro de *Erythroxyllum coca-Erythroxyllum novogranatense* “mate de coca” sobre *Mycobacterium tuberculosis* y otras especies de *Mycobacterium*. Tesis de Bachiller. Fac. Farmacia y Bioquímica: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 1954.
4. Cam O, Villanueva P. Acción inhibitoria in vitro del extracto acuoso y extracto metanólico de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense* (Morris) var. *truxillense* (Rusby) frente a bacterias Gram (-) y Gram (+). Tesis de Bachiller. Fac Farmacia y Bioquímica: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 1996.
5. Solano D. Acción antibacteriana de extractos acuosos y metanólico de principios totales de *Erythroxyllum novogranatense* (Morris) var. *Truxillense* (Rusby) sobre *Streptococos* de la cavidad oral. Tesis

- Bachiller. Fac. Farmacia y Bioquímica: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 1996.
6. GALVEZ O. Acción inhibitoria del extracto acuoso de principios activos totales de *Erythroxyllum novogranatense* Morris var. Trujillense (Rusby) , frente a bacterias Gram (-) resistentes a 5 antibacterianos. Tesis de Bachiller. Fac. Farmacia y Bioquímica: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 1997.
  7. Borrovic RF. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense* var. *Truxillense* (coca) sobre flora mixta salival. Tesis de Bachiller. Fac. Odontol: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 2006.
  8. Liébana UJ. Microbiología Oral. 1° ed. México: Interamericana Mc Graw-Hill.1995.
  9. Rioboo CM, Bascones A. Factores de riesgo de la enfermedad periodontal: factores genéticos. *Av Periodont Implantol.* 2005; 17( 2): 69-77.
  10. Page RC, Schroeder HE. Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. *J Periodontol.*1981; 52 : 477-491.
  11. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.*1965; 35: 177-187.
  12. Slots J, Bragd L, Wikstrom M, Dahlén G. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetecomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol.* 1986; 13: 570-577.

13. Socransky S, Haffajje A. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol 2000*. 1994; 5: 7-25.
14. Goodson JM. Acute exacerbation in chronic periodontal disease. *J Can Dent Assoc*. 1984; 50 (5): 380-387.
15. Flemming T. Periodontitis. *Ann Periodontol*. 1999, 4 (1): 32-37.
16. Moore WEC, Moore LVH. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 1999; 5: 66-67.
17. MINSA. *Indicadores básicos 2005*. Lima: Oficina de Estadística e Informática del MINSA. 2005.
18. Newman M, Takei H, Carranza F. *Carranza Periodontología clínica 9° ed*. México: Mc Graw-Hill. 2004.
19. Farías RF. Enfermedad periodontal y microorganismos periodontopatógenos. *ODOUS Científica*. Revista de la Facultad de Odontología de Carabobo.
20. Genco RJ, Evans RT, Ellison SA. Dental research in microbiology with emphasis on periodontal disease. *J Am Dent Assoc*. 1969; 78 (5): 1016-1036.
21. Carranza F, Newman M. *Periodontología clínica*. 8° ed. México: Ediciones Mc Graw-Hill Interamericana. 1997.
22. Slots J, Taubma M. *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. 1° ed. St. Louis USA: Editorial Mosby. 1992.
23. Genco R, Golman H, Coen D. *Periodoncia*. México: Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. 1990.

24. Guilarte C, Perrone M. Microorganismos de la placa dental relacionados con la etiología de la periodontitis. *Acta Odontológica Venezolana*. 42(3): 213-217.
25. Socransky S, Haffajee A. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*. 2002; 28: 12-55
26. Walker CB. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal flora. *Periodontol 2000*. 1996; 10: 78-88
27. Slots J, Chen C. *The oral microflora and human periodontal disease*. In: G.W. Tannock, ed. *Medical Importance of the Normal Microflora*. London: Kluwer Academic Publishers. 1999: 101-127
28. Zadeh HH, Nichols FC & Miyasaki KT. (1999). The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromona gingivalis* in periodontitis. *Periodontol 2000*. 1999; 20: 239-288
29. Ramos PD, Moromi NH, Martinez CE. *Porphyromonas gingivalis*: patógeno relevante en la periodontitis crónica. *Odontol. Sanmarquina* 2011; 14(1): 34-38
30. Ramos PD, Moromi NH, Martinez CE, Mendoza RA. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: patógeno importante en la periodontitis. *Odontol. Sanmarquina* 2010; 13(2):42-45
31. Jorgensen M, Aalam A, Slots J. Periodontal antimicrobials-finding the right solutions. *International Dental Journal*. 2005; 55: 3-12
32. Holt S, Kesavalu L, Walker S, Genco C. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*. 1999; 20:168-238.



33. Ishikawa I, Baheni P. Nonsurgical periodontal therapy - where do we stand now? *Periodontol 2000*.2004; 36: 9-13
34. Olsen I, Shhah HN, Gharbia SE. Taxonomy and biochemical characteristics of *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*.1999; 20: 14-52
35. Lamont R, Jenkinson H. (1999). Life below the gum line: Pathogenic Mechanism of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1999; 62(4):1244-1263.
36. Rodriguez C. Eficacia antimicrobiana de solucies irrigadotas de canais radiculares. *Dissertacao apresentada ao Programa de Maestrado en Medicina Tropical de Universidad Federal de Goais*. 2000; 27
37. Bavestrello P. Introducción a la Fitoterapia. Universidad Católica de Chile.
38. Navarro A. Prevalencia de caries dental por superficie en sujetos con el hábito de masticar hojas de coca, en el distrito de Palcamayo, Provincia de Tarma, Departamento de Junín. Tesis de Bachiller. Fac. Estomatología: Univ. Peruana Cayetano Heredia. Lima. 1988.
39. Burchard R. Una nueva perspectiva sobre la masticación de la coca. *Instituto Indigenista Americano. América Indígena*.1978; XXXVIII(4). Octubre-Diciembre.
40. Cabieses F. *Aspectos etnológicos de la coca y la cocaína. Cocaína 1980-actas del seminario interamericano sobre aspectos médicos y sociológicos de la coca y la cocaína*. Lima: Editorial F R Jeri. 1980.
41. Terran M, Sandagorda A. *Aspectos socioculturales del consumo de la coca. Cocaína 1980-actas del seminario interamericano sobre aspectos*

- médicos y sociológicos de la coca y la cocaína*. Lima: Editorial F R Jeri.1980.
42. Machado E. *El género Erythroxylum coca en el Perú*. Lima: 1968.
43. Roberto B. *Análisis antropológico del uso de la hoja de coca en Sudamérica*.
44. Cabieses F. *Apuntes de medicina tradicional*. Lima: A&B S.A. 1993.
45. Brack EA. *Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú, Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas*. Lima:1999.
46. Daniel S, Norman R. The value of plants in traditional for drug discovery. Program for collaborative research in the pharmaceutical sciences, college of pharmacy, University of Illinois-Chicago.2001; 1: 69-75.
47. Hurtado FC. *Harina de coca solución prodigiosa del hambre-malnutrición en el Perú y pueblos de Abya Yala*. 1° ed. Perú: Nov 2008.
48. Cabieses MF. *La coca ¿dilema trágico?*, Lima: ENACO. 1992.
49. Norman G, Streiner D. *Bioestadística*. Madrid: Mosby/Doyma. 1996:  
Capitulo 12: 100-107. Capitulo 16: 150-152

## IX. ANEXOS

### 9.1 CUADROS DE CONSISTENCIA

#### COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO DE HOJA DE COCA (100 mg)<sup>2</sup>

Calorías	305	Niacina	3.73 mg
Agua	8.5 g	Vitamina C	1.40 mg
Proteína	18.8 g	Vitamina E	43.5 UI
Grasa	3.3 g	Vitamina B5	0.308 mg
Carbohidratos	44.3 g	Vitamina B12	1.05 mg
Fibra	133 g	Ácido fólico	0.1 g
Calcio	1790 mg	Biotina	0.09 mg
Alcaloides	0.5-1.5 %	Ácido pantoténico	0.68 mg
Fósforo	637 mg	Yodo	5.0 mg
Hierro	26.9 mg	Magnesio	213.0 mg
Vitamina A	10,999 UI	Zing	2.7 mg
Tiamina B1	0.58 mg	Cobre	1.21 mg
Ribofavina B2	1.33 mg	Sodio	40.6 mg

<sup>2</sup> Nutritional Value of Coca by James, David Aulik and Timothy Plowman (En: Botanical Museum Leaflets. Harvard University, Vol. 24, N° 6, 1975)

### COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HOJA DE COCA (100 mg)<sup>3</sup>

Humedad	9.21	Caroteno	42.34
Extracto seco	0.79	Tiamina	0.16
Extracto etereo	4.53	Riboflavina	0.88
Hidrat. De carbono	49.62	Niacina	26
Proteína total	15.96	Vitamina C	16.7
Proteína digerible	12.39	Calcio	1550.7
Fibra cruda	13	Fósforo	209.7
Cenizas	7.68	Hierro	4.2
Arena y sílice	1.55	Sodio	0.59
Alcaloides totales	0.821	Potasio	9.96

---

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Salud e Instituto de Nutrición de la Universidad Cayetano Heredia Informe N° 296-82-DQF/NN

# ENACO S.A

Empresa Nacional de la Coca S.A  
Departamento de Control de

## CERTIFICADO ANALISIS PRODUCTO TERMINADO

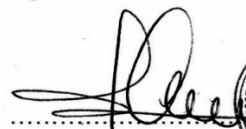
N° 007-11-E


PRODUCTO :EXTRACTO DE COCA EI 70  
MARCA : DELISSE  
CODIGO DE PRODUCTO : 22  
LOTE N° : 001-228  
FECHA DE EMISION : 02/03/2011

<u>ANALISIS ORGANOLEPTICO</u>	<u>ESPECIFICACIONES</u>	<u>RESULTADOS</u>
ASPECTO	LIQUIDO	APROBADO
OLOR	SUI GÉNERIS	APROBADO
SABOR	PROPIO	APROBADO
COLOR	MARRON VERDUZCO OSCURO	CONFORME

<u>ANALISIS FISICOQUIMICO</u>	<u>ESPECIFICACIONES</u>	<u>RESULTADOS</u>
RESIDUO SECO ( g% )	15 – 20 %	18.22 %.
pH ( g% )	5.2 – 5.7	5.2
PESO ESPECIFICO ( g/ml )	0.95 – 0.99 g/ml	0.9804
ALCALOIDES (g%)	0.6 – 1.2 g%	0.8%

CONCLUSIÓN: El producto analizado Extracto de Hoja de Coca EI 70, Lote: 001-228 cumple con las especificaciones descritas para el producto

  
Q.F. MARTHA ARIAN  
N° CQF 00027





**ENACO S.A.**

Empresa Nacional de la Coca S.A.

☎ 263-1340 263-7219 FAX 263-7220

Av. Universitaria 602 Lima 32 Perú

---

**ESPECIFICACIONES TECNICAS DE PRODUCTO**

---

<b>NOMBRE</b>	<b>EXTRACTO INTEGRAL DE HOJA DE COCA EI-70</b>
<b>CODIGO DEL PRODUCTO</b>	<b>22</b>
<b>DESCRIPCIÓN FÍSICA</b>	Apariencia: Líquido Color marrón verdoso oscuro; Olor sabor: característico
<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICAS</b>	Extracto de coca con todos sus componentes: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, aceites esenciales, aminoácidos.
<b>CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUIMICAS</b>	pH 5.2 – 5.7 Residuo seco 15 –20% Peso específico 0.95 – 0.99 g/ml Alcaloides 0.6 – 1.2 g%
<b>APLICACIONES</b>	En la industria farmacéutica y cosmética. En jabones la cantidad sugerida es 5g%, en champú contra caspa y seborrea 2%, Colutorios 10%.
<b>VIDA ÚTIL ESPERADA</b>	5 años en condiciones de almacenamiento adecuadas.



Q.F. SILVIA VERÓNICA GONZÁLEZ  
QUÍMICO FARMACÉUTICA CQFP N° 3638  
DIRECTORA TÉCNICA

## 9.2 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA EL TEST DE DIFUSIÓN EN AGAR

HALOS DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Porphyromonas gingivalis*  
SEGÚN LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE *Erythroxyllum coca*.

SEBRADO P. g EN PLACA PETRI (AGAR SHACDLER) DISCOS CON CONCENTRACIÓN COCA (100 ul)	DISCO N°	HALOS DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO (mm)				
		PLACA PETRI N° I	PLACA PETRI N° II	PLACA PETRI N° III	PLACA PETRI N° IV	PLACA PETRI N° V
100 %	1					
50 %	2					
25 %	3					
12.5 %	4					
6.25 %	5					
3.13 %	6					
1.56 %	7					
0.78 %	8					
CONTROL (+)	9					
CONTROL (-)	10					

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA EL TEST DE DILUCIÓN EN  
MEDIO LÍQUIDO**

**CRECIMIENTO DE *Porphyromonas gingivalis* SEGÚN LAS DIFERENTES  
CONCENTRACIONES DE *Erythroxyllum coca***

SEMBRADO P. g EN CALDO DE CULTIVO AGAR BHI (2.8 ml)  CONCENTRACIÓN EXTRACTO COCA (100 ul)	TUBO ENSAYO	CRECIMIENTO BACTERIANO				
		GRUPO N° I	GRUPO N° II	GRUPO N° III	GRUPO N° IV	GRUPO N° V
100 %	1					
50 %	2					
25 %	3					
12.5 %	4					
6.25 %	5					
3.13 %	6					
1.56 %	7					
0.78 %	8					
<b>Control positivo</b>	9					
<b>Control negativo</b>	10					

(+) : Crecimiento bacteriano

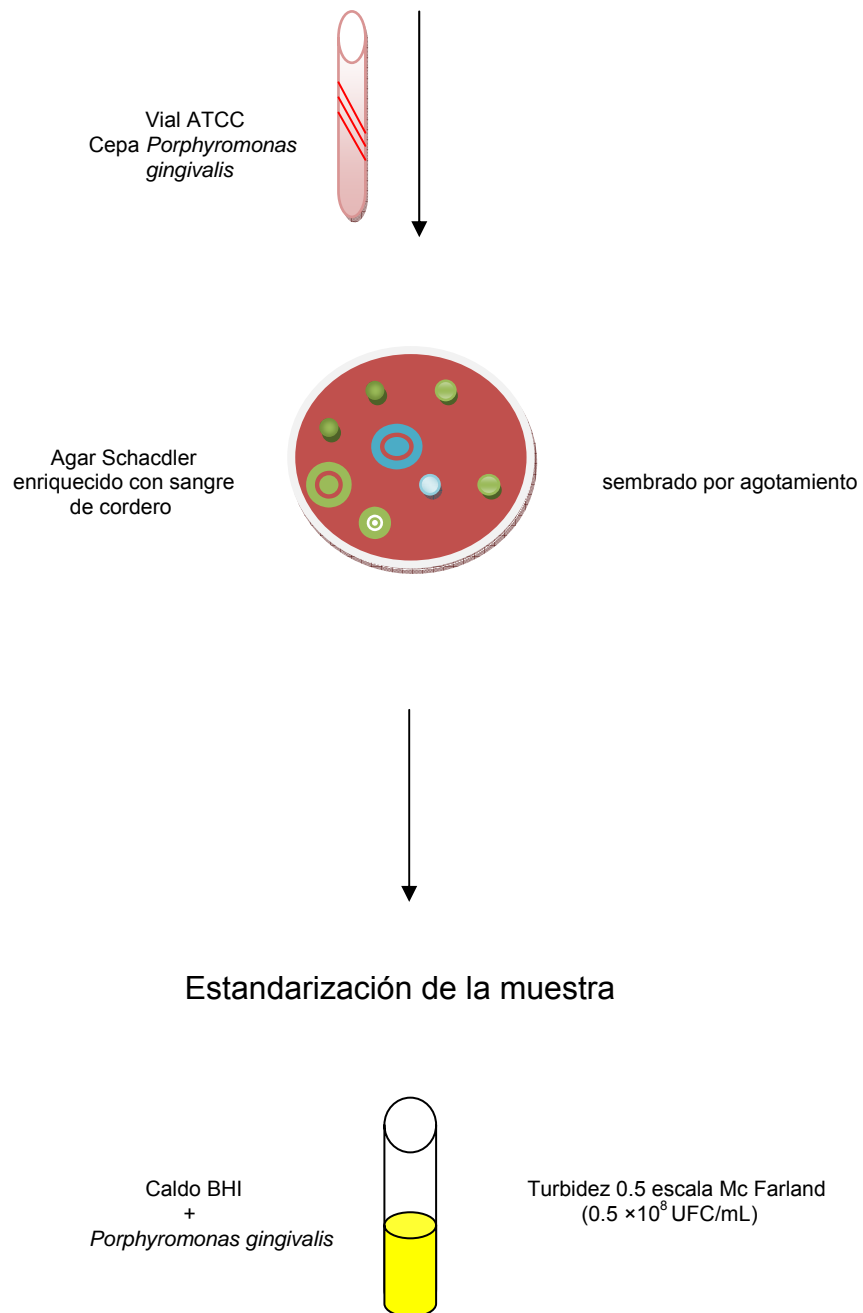
(-) : Ausencia de crecimiento bacteriano



### 9.3 CUADROS Y GRÁFICOS

#### FLUXOGRAMA DE PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

##### A. Estandarización de la muestra



B.

Test de

### difusión en agar

Muestra estandarizada

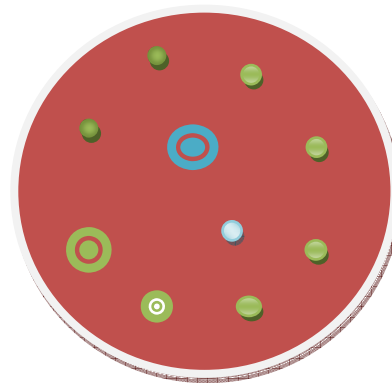
Caldo BHI  
+  
*Porphyromonas gingivalis*



Turbidez 0.5 escala Mc Farland  
( $0.5 \times 10^8$  UFC/mL)



Discos papel filtro embebidos  
con Extracto  
*Erythroxylum coca*



Sembrado por agotamiento  
*Porphyromonas gingivalis*

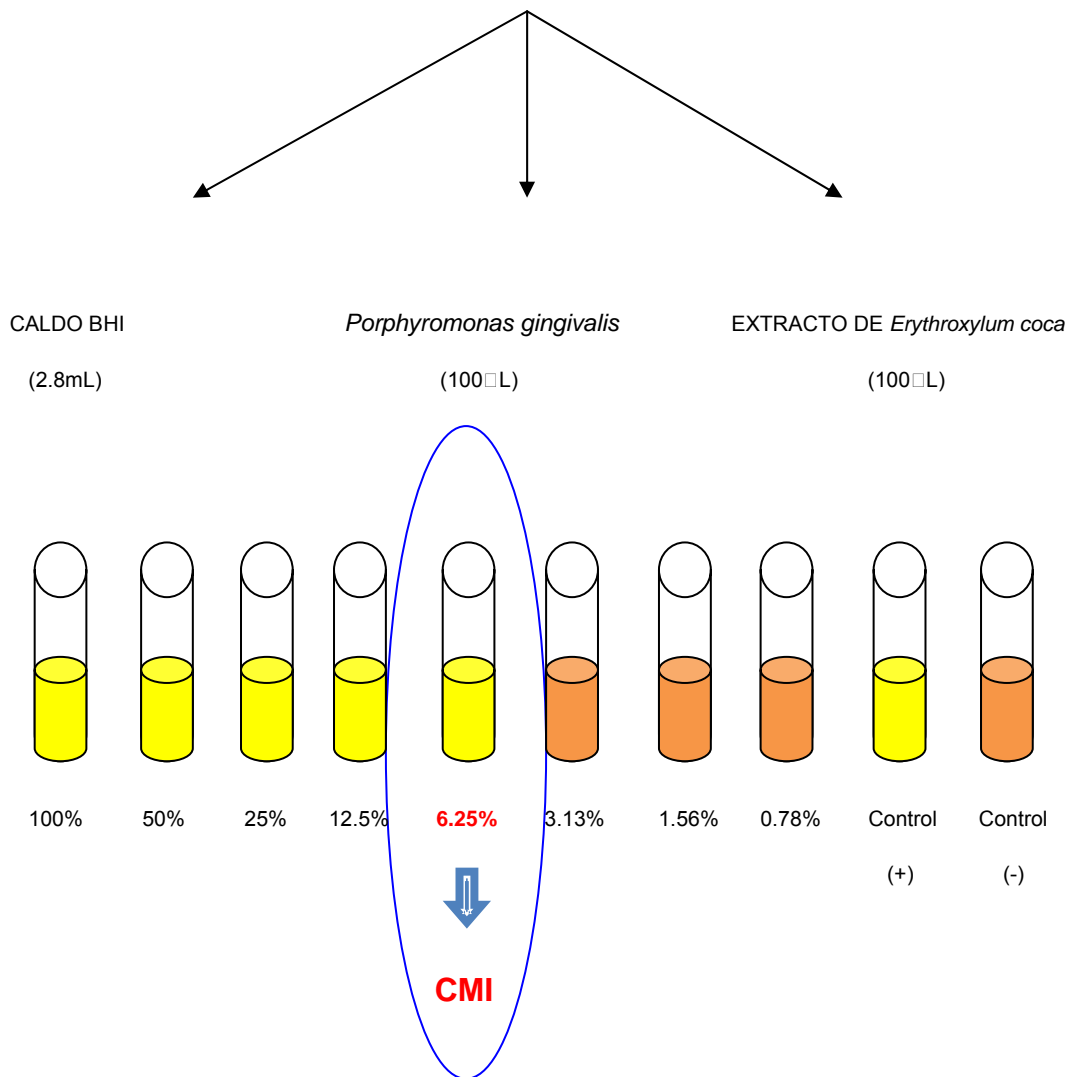
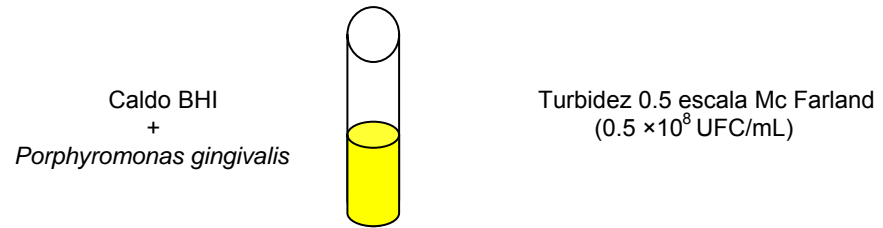
Agar Schacdlar  
enriquecido con sangre  
de cordero

C.

Prueba

### de dilución en medio líquido

Muestra estandarizada



#### 9.4 TABLAS DE INTERPRETACIÓN DE DATOS

Halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* según las diferentes concentraciones del extracto de *Erythroxylum coca*

HALOS	Concentraciones del extracto de <i>Erythroxylum coca</i> (%)									
	0.78%	0.56 %	3.13 %	6.25 %	12.5 %	25 %	50 %	100 %	Alcohol 96°	Clorhexi dina 0.12%
5 mm										
6 mm										
7 mm										
8 mm										
9 mm										
12 mm										
14 mm										
15 mm										
total										
media										

**Crecimiento de los aislados de *Porphyromonas gingivalis* en relación a la concentración de los extractos de *Erythroxylum coca***

	<b>Concentración de <i>Erythroxylum coca</i></b>									
<b>N° CRECIMIENTO AISLADOS <i>Porphyromona s gingivalis</i></b>	<b>0.78 %</b>	<b>1.56 %</b>	<b>3.13 %</b>	<b>6.25 %</b>	<b>12.5 %</b>	<b>25 %</b>	<b>50 %</b>	<b>100 %</b>	<b>Con trol (+)</b>	<b>Con trol (-)</b>
<b>(+)</b>										
<b>( - )</b>										

## 9.5 FOTOGRAFÍAS



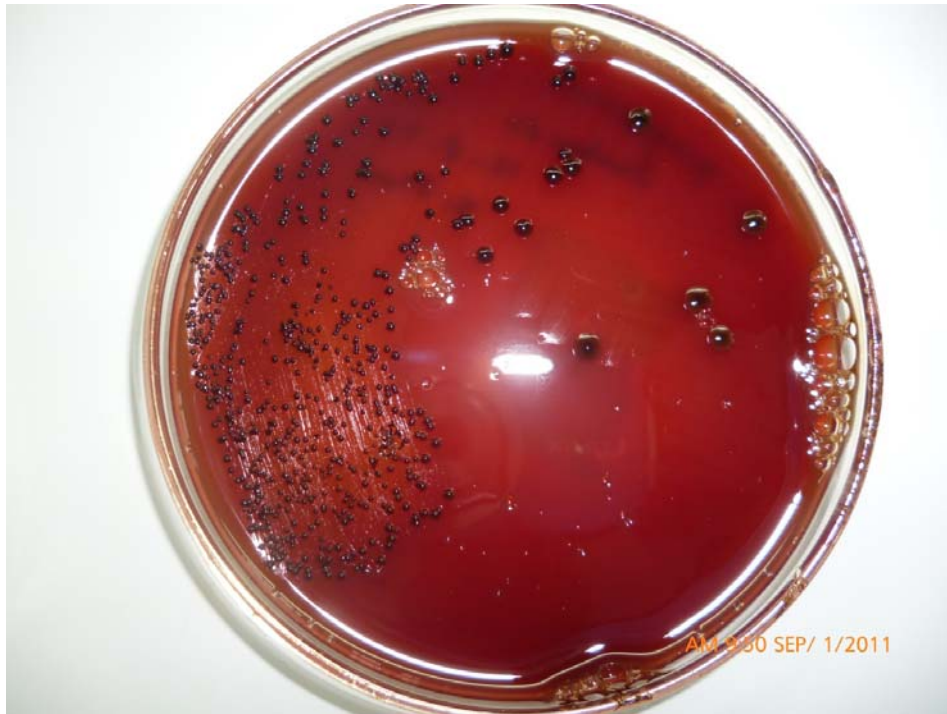
Fotografía N° 01 Materiales para el sembrado de la muestra



Fotografía N° 02 Sembrado de *Porphyromonas gingivalis* en caldo BHI



Fotografía N° 03 Sembrado de *Porphyromonas gingivalis* en AgarSchadler



Fotografía N° 04 Colonias de *Porphyromonas gingivalis*



Fotografía N° 05 Discos de papel con extracto de *Erythroxylum coca*





**Fotografía N° 06 Disposición de los discos**



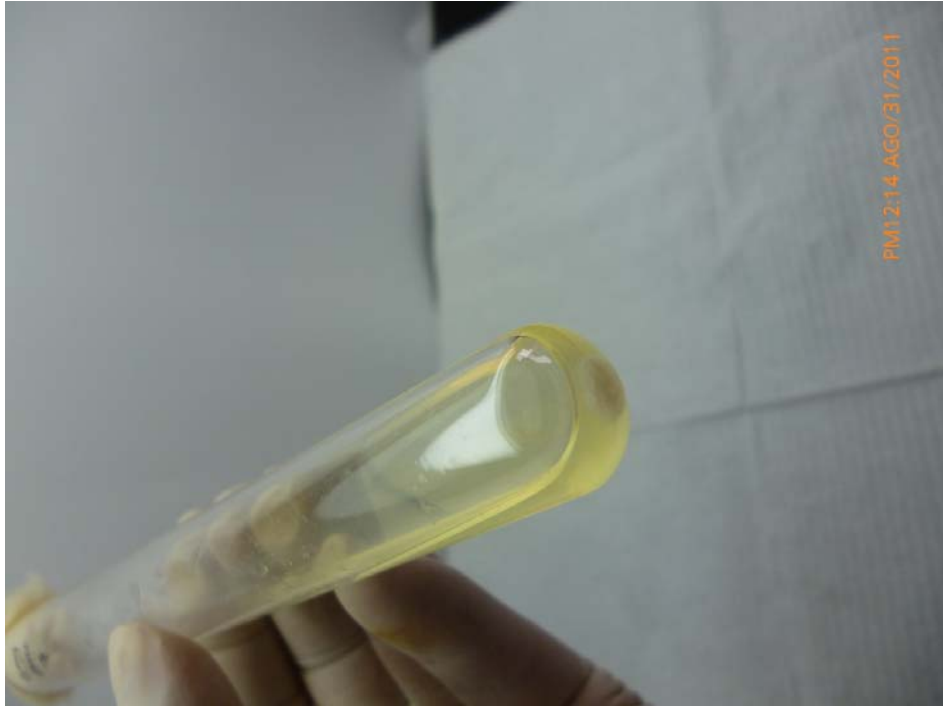
**Fotografía N° 07 Jarra de anaerobiosis**



Fotografía N° 08 Incubación durante 5 a 7 días



Fotografía N° 09 Crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* en caldo BHI



Fotografía N° 10 Crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* (sedimento)



Fotografía N° 11 Halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*



Fotografía N° 12 Halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*

---

<sup>1</sup> GOICOCHEA, A., en 1954,

<sup>2</sup> CORONEL, M.,

<sup>3</sup> AGUILAR

<sup>4</sup> CAM

<sup>5</sup> solano

<sup>6</sup> GALVEZ

<sup>7</sup> borrovic

<sup>8</sup> 11 ac

<sup>9</sup> (26 ac)

<sup>10</sup> (27 ac)

<sup>11</sup> (28 ac)

<sup>12</sup> (29 ac), (

<sup>13</sup> 30 a c)

<sup>14</sup> (31 ac)

<sup>15</sup> (25 ac)

<sup>16</sup> moore

<sup>17</sup> minsa

<sup>18</sup> (44 bib pasta herbl)

<sup>19</sup> (32 ac)

<sup>20</sup> (33 ac).

<sup>21</sup> (34 ac)

<sup>22</sup> (35 ac)

<sup>23</sup> (36 ac)

<sup>24</sup> (37 ac)

<sup>25</sup> 7 P CH.

<sup>26</sup> 37 P CH.

<sup>27</sup> 38 P CH.

- 
- <sup>28</sup> 8 PCH.  
<sup>29</sup> Porph odtl unmsm2011  
<sup>30</sup> Referncia 46 de porph odtl sm2011  
<sup>31</sup> 35 P CH.  
<sup>32</sup> 41 P CH.  
<sup>33</sup> 36 P CH.  
<sup>34</sup> 44 P CH.  
<sup>35</sup> 10 P CH.  
<sup>36</sup> 66 P CH  
<sup>37</sup> 68 P CH  
<sup>38</sup> (78 ac)  
<sup>39</sup> (79 ac)  
<sup>40</sup> (85 ac)  
<sup>41</sup> (86 ac)  
<sup>42</sup> (92 ac)  
<sup>43</sup> (81 ac) iii  
<sup>44</sup> (88 ac)  
<sup>45</sup> (bibl lib harina de coca ant brack)  
<sup>46</sup> ( 97 ac)  
<sup>47</sup> (autor harina coca Ciro Hurtado)  
<sup>48</sup> ( fern cavss mol lib harin cca)  
<sup>49</sup> 136 P CH