



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Odontología**

**Escuela Profesional de Odontología**

**Comparación del efecto antibacteriano del extracto  
etanólico del *Erythroxylum novogranatense* var.  
*truxillense* y *Erythroxylum coca* var. *coca* frente al  
*Streptococcus mutans***

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

**AUTOR**

María del Rosario SALCEDO CALDERÓN

**ASESOR**

Hilda MOROMI NAKATA

Lima, Perú

2018

## **JURADOS DE SUSTENTACIÓN**

- **Presidente:** *Mg. Blg.* Sofía Belinda Espinoza Escajadillo
- **Miembro:** Dra. C.D. Juana Rosa Delgadillo Avila
- **Miembro asesor:** *Mg. Blg.* Hilda Moromi Nakata

*A Dios, por cuidarme y hacer posible que pueda cumplir mis metas.*

*A mis padres, por brindarme su amor y apoyo incondicional  
para poder culminar este proyecto.*

## AGRADECIMIENTOS

A la *Mg. Blg.* Hilda Moromi Nakata , Docente de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM, asesora de la presente tesis, por su apoyo, paciencia y consejos para la realización de este trabajo.

A la *Mg. Blg.* Sofía Belinda Espinoza Escajadillo, presidenta del jurado revisor de borrador de tesis, por su orientación y consejos en la realización de este trabajo.

A la Dra. C.D. Juana Rosa Delgadillo Avila, miembro del jurado revisor de borrador de tesis, por su apoyo y orientación en la realización de este trabajo.

Al personal del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por su ayuda durante la ejecución.

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica la Univesidad Nacional Mayor de San Marcos por la ayuda brindada para la obtención de los extractos etanólicos de hoja de Coca.

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto antibacteriano “*in vitro*” de los extractos etanólico de dos variedades de hoja de coca : *Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* sobre el *Streptococcus mutans* y ver si existe diferencia entre estas dos.

El estudio se realizó usando los extracto etanólicos de *Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* en distintas concentraciones (100 %, 50 %, 25 % y 12,5 % ). Mediante el método de difusión por discos se procedió a la aplicación de los extractos etanólicos en las distintas concentraciones y los controles positivos y negativos en los cultivos de la cepa ATCC de *Streptococcus mutans* sembradas en Agar Tritpicasa soya. La incubación se realizó a 37 °C por 24-48 horas en condiciones de anaerobiosis parcial.

Los resultados mostró mayor tamaño de halo de inhibición para *Erythroxylum coca* var. *coca* al 100 % y 50 % y que no había diferencia significativa entre ellas . Además se mostró que *Erythroxylum coca* var. *coca* al 25 % no presenta diferencia significativa con *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* al 100 %.

Se concluyó que *E.coca* var. *coca* al 100 % y 50 % tiene mayor efecto antibacteriano que la variedad *E.novogranatense* var. *truxillense* al 100 % frente al *Streptococcus mutans*.

**Palabras claves :** *Erythroxylum* , *Streptococcus mutans*, efecto antibacteriano .

## SUMMARY

The objective of the present study was to determine the antibacterial effect "in vitro" of the ethanolic extracts of two varieties of coca leaf : *Erythroxylum coca* var. *coca* and *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* on the *Streptococcus mutans* and see if there is a difference between these two.

The study was conducted using the ethanolic extracts of *Erythroxylum coca* var. *coca* and *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* in different concentrations (100 %, 50 %, 25 % and 12.5 %). Using the disc diffusion method, the ethanolic extracts were applied in the different concentrations and the positive and negative controls in the cultures of the ATCC strain of *Streptococcus mutans* seeded in Triticose Soy Agar. Incubation was performed at 37 ° C for 24-48 hours under conditions of partial anaerobiosis.

The results showed larger size of inhibition halo for *Erythroxylum coca* var. *coca* at 100 % and 50 % and that there was no significant difference between them. It was also shown that *Erythroxylum coca* var. *coca* at 25 % does not present significant difference with *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* at 100 %.

It was concluded that *E.coca* var. *coca* at 100 % and 50 % has a greater antibacterial effect than the variety *E.novogranatense* var. *truxillense* at 100% against *Streptococcus mutans*.

**Keywords:** *Erythroxylum*, *Streptococcus mutans*, antibacterial effect.

## INDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>10</b>
<b>II.</b>	<b>PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>11</b>
	2.1 ÁREA PROBLEMA .....	11
	2.2 DELIMITACIÓN .....	12
	2.3 FORMULACIÓN .....	13
	2.4 OBJETIVOS.....	13
	2.5 JUSTIFICACIÓN.....	13
	2.6 LIMITACIONES .....	14
<b>III.</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>15</b>
	3.1 ANTECEDENTES.....	15
	3.2 BASES TEÓRICAS.....	19
	<b>A. HOJA DE COCA</b> .....	<b>19</b>
	<b>A1. Clasificación Taxonómica</b> .....	<b>19</b>
	<b>A2. Historia</b> .....	<b>20</b>
	<b>A3. Botánica</b> .....	<b>20</b>
	3.1 <i>E.novogranatense</i> var. <i>truxillense</i> .....	20
	3.2 <i>E.coca</i> var. <i>coca</i> .....	21
	<b>A4. Composición Química</b> .....	<b>21</b>
	4.1 Metabolitos primarios .....	22
	4.2 Metabolitos secundarios .....	22

4.2.1	<i>Alcaloides de la Hoja de Coca</i> .....	22
4.2.2	<i>Flavonoides</i> .....	23
4.2.3	<i>Terpenoides</i> .....	23
<b>A5.</b>	<b>Propiedades</b> .....	<b>24</b>
5.1	Actividad Antibacteriana .....	25
<b>B.</b>	<b>CARIES DENTAL</b> .....	<b>25</b>
<b>B1.</b>	<b>Generalidades</b> .....	<b>25</b>
<b>B2.</b>	<b>Principales Microorganismos De La Cavity Bucal</b> .....	<b>25</b>
2.1	<i>Streptococcus</i> .....	25
2.1.1	Clasificación del género <i>Streptococcus</i> .....	26
2.1.1.1	<i>Streptococcus</i> del grupo viridans .....	27
a)	Estreptococos del grupo mutans.....	28
<b>B3.</b>	<b><i>Streptococcus mutans</i></b> .....	<b>28</b>
3.1	Aislamiento del <i>S. mutans</i> .....	29
3.3	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	29
3.4	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	30
<b>IV.</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>31</b>
4.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	31
4.2	POBLACIÓN Y MUESTRA .....	31
4.3	PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICA .....	31

4.4	PROCEDIMIENTO DE DATOS.....	32
4.5	ANÁLISIS DE RESULTADO .....	32
<b>V.</b>	<b>RESULTADO .....</b>	<b>33</b>
<b>VI.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>47</b>
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>IX.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>51</b>
<b>X.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>55</b>
10.1	CUADROS DE CONSISTENCIA .....	55
10.2	INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN .....	60
10.3	TABLA DE INTERPRETACIÓN DE DATOS .....	61
10.4	FOTOGRAFÍAS.....	62

## I. INTRODUCCIÓN

La Caries dental es la enfermedad bucodental de mayor prevalencia en el Perú. Es una enfermedad de origen multifactorial , lo que significa que deben ocurrir varios factores para que se desarrolle. Uno de estos factores es la presencia del *Streptococcus mutans* la cual tiene la capacidad de producir ácidos a partir de la sacarosa.

La prevención de esta enfermedad consiste en el control de la placa bacteriana mediante el cepillado , uso de hilo dental y el uso de antimicrobianos (colutorios) . En los últimos años se ha hecho muchos estudios sobre las propiedades de diversas plantas y muchas de ellas tienen propiedades antibacterianas , como es el caso de la hoja de Coca.

Investigaciones realizadas en el campo odontológico, han demostrado que el extracto de hoja de coca tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a bacterias presentes en la cavidad oral.

En el Perú existe 2 variedades de hoja de coca las cuales presentan además de su distinta morfología , diferente distribución geográfica y distinta composición química.

Es por eso que este presente estudio busca determinar si existe diferencia entre el efecto antibacteriano de estas dos variedades frente al *Streptococcus mutans*.

## II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 2.1 EL ÁREA PROBLEMA

En el Perú cerca del 90% de la población padece caries dental , la cual es más frecuente en los niños.<sup>1</sup> Se sabe que es una enfermedad multifactorial, y uno de esos factores es la presencia de microorganismos en saliva y placa dental que aprovechando la susceptibilidad del huésped inician su acción.<sup>2</sup>

En la actualidad se prefieren usar productos naturales en la prevención de enfermedades, y estos han resultado poseer una importante acción como agentes antimicrobianos.<sup>3</sup>

La hoja de coca (*Erythroxylum*) ha estado presente desde hace mucho tiempo en la vida de los pobladores de los Andes, y con ella todos sus efectos benéficos en la salud de estos. Se la relacionaba con su vida cultural, religiosa, política, social y laboral, casi en todos los aspectos de su vida cotidiana. Era considerada una planta sagrada por nuestros antepasados, pero hoy en día se ha visto mitificada como dañina y peligrosa, restando importancia a sus propiedades farmacéuticas.<sup>4</sup>

Actualmente los estudios realizados sobre la hoja de coca se enfocan en estudiar sus propiedades nutricionales y medicinales.

En el aspecto medicinal veremos sus propiedades anestésicas, analgésicas, antidiarreico, evita el soroche (mal de altura), regula la presión arterial, terapéuticas para la gastritis y úlceras, evita la formación de caries dental, ayuda en la coagulación, entre otras.<sup>5</sup>

Gracias a estudios experimentales microbiológicos realizados <sup>6, 7, 8</sup> se sabe que la hoja de coca (*Erythroxylum*) posee un efecto antibacteriano sobre bacterias que producen la Caries Dental.

La ampliación de estos estudios permite dar alternativas de fácil acceso para su uso en la prevención de los problemas bucales a la población de menores recursos económicos.

## 2.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Los estreptococos constituyen el grupo más numeroso en la cavidad bucal; en los cultivos representan del 20 al 30 % del total de las bacterias.<sup>9</sup>

El poder cariogénico del *Streptococcus* del grupo mutans está muy ligado a la sacarosa ya que tiene la capacidad de metabolizarla mucho más rápido que cualquier otro microorganismo de la cavidad oral.<sup>10</sup>

La hoja de coca actúa como un agente antiséptico antibacteriano interfiriendo sobre el metabolismo bacteriano.

En el Perú solo dos especies del género *Erythroxylum* son cultivadas y están relacionadas entre sí: *Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*.<sup>11</sup>

Ambas se diferencian teniendo en cuenta su distribución geográfica, ecología, sus relaciones de cultivo, morfología, anatomía y composición química.<sup>11</sup>

Estudios anteriores demostraron que la hoja de coca (cualquier variedad) presenta un efecto antibacteriano frente a distintas bacterias presentes en la cavidad oral.<sup>6, 7, 8</sup>

Con respecto a estudios comparativos sobre el efecto antibacteriano de estas dos variedades de hoja de coca, un estudio reciente demostró que el extracto crudo de *Erythroxylum coca* Lam presentó mayor tamaño efecto frente a *S. epidermidis* y *S. aureus* y *P. aeruginosa* mientras que el extracto crudo de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron presentó mayor efecto frente a *E. coli*.<sup>12</sup>

Por las consideraciones anteriormente expuestas, el presente estudio tiene como fin determinar si hay diferencia en el efecto antibacteriano de ambas variedades de hoja

de coca (*Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*) frente al *S.mutans*.

### 2.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existe diferencia entre el efecto antibacteriano del *Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* frente al *Streptococcus mutans*?

### 2.4 OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL:

- Determinar el efecto antibacteriano “*in vitro*” de los extractos etanólico de dos variedades de hoja de coca : *Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* frente al *Streptococcus mutans*.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* frente al *Streptococcus mutans*.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja *Erythroxylum coca* var. *coca* frente al *Streptococcus mutans*.
- Comparar los resultados obtenidos de la actividad antibacteriana del *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* y el *Erythroxylum coca* var. *coca* frente al *Streptococcus mutans*.

### 2.5 JUSTIFICACIÓN

Dar a conocer a las poblaciones donde existe el cultivo de las distintas variedades de hoja de coca, las propiedades anticariogénicas de cada una de ellas y el posible beneficio de su uso.

Conociendo la variedad de hoja con mayor efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*, ésta podría ser usada como insumo en la industria de las cremas dentales y enjuagatorios bucales en beneficio de la salud oral de la población.

Conociendo si hay diferencia del efecto antibacteriano que hay entre ambas variedades de hoja de coca, esta podría servir para futuras investigaciones para hacer comparaciones con otras propiedades que esta tiene.

## **2.6 LIMITACIONES**

- Debido a la disponibilidad presupuestaria, se abarcó únicamente a la bacteria oral con mayor implicancia en el proceso de caries dental (*Streptococcus mutans*).

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 ANTECEDENTES

**Borrovic F. (2006)** <sup>13</sup> realizó un estudio sobre el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* sobre flora mixta salival. El objetivo del trabajo fue determinar la existencia de una acción inhibitoria de desarrollo bacteriano producido por el extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* a cuatro diferentes concentraciones sobre cultivos bacterianos de Flora Mixta Salival.

La muestra estuvo conformada por la saliva de 20 pacientes que acudieron a la Clínica de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se halló que el efecto antibacteriano se incrementaba a mayor concentración del extracto alcohólico de la hoja de coca, sobre cultivos de flora mixta salival.

**Castro A. (2008)** <sup>14</sup> realizó un estudio sobre la actividad antioxidante y antibacteriana del *Erythroxylum novogranatense* frente a *Streptococcus mutans*, cuyo objetivo fue evaluar la composición química del aceite esencial de las hojas frescas de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) "Coca" var. *truxillense*, la actividad antioxidante in vitro y la determinación antibacteriana in vitro, frente al *Streptococcus mutans*.

Se halló que el aceite esencial de coca tiene capacidad antioxidante como donador de electrones o hidrógeno al radical DPPH y como secuestrante del radical superóxido, y presenta actividad prooxidante incrementando la degradación de la desoxirribosa mediante la adición de iones ferrosos, además se determinó que el aceite esencial de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *truxillense* presenta actividad antibacteriana significativa frente a *Streptococcus mutans*.

**Minaya P. (2008)**<sup>8</sup> buscó determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* sobre las principales bacterias cariogénicas : *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*.

El tamaño de la muestra fueron 20 placas (10 de Agar MSB para *Streptococcus mutans* y 10 de Agar RMW para *Lactobacillus casei*).

Se demostró que el extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* si presenta actividad antibacteriana frente al *S. mutans* y *L. casei*.

**Ramos E. (2008)**<sup>15</sup> realizó un estudio para evaluar la efectividad de la masticación de la hoja de coca en la prevención de caries dental en los masticadores y los no masticadores de la hoja de coca , para eso se evaluó el CPOD Y CPOS de la población del centro poblado San Juan de la Libertad Huasahuasi. Se obtuvo como resultado que los masticadores de la hoja de coca tienen menos caries que los que no tienen este hábito. Se halló diferencia significativa entre la presencia de caries, el tiempo y frecuencia del hábito.

**Ventura G, Castro A, Roque M, Ruiz J. (2009)**<sup>16</sup> estudió la actividad antibacteriana del aceite esencial de la hoja de coca, frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados obtenidos en el análisis microbiológico del aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. *coca*, demuestran la presencia de mayor actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas *Bacillus subtilis* cepa clínica, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica; con mayor actividad contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y menor frente a bacterias a Gram negativas: (*Escherichia coli* cepa clínica y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). En un estudio realizado con el extracto de *Erythroxylum coca* Lam. var. *coca* se evidenció su propiedad inhibitoria de crecimiento in vitro frente a Enterobacterias, Cocos y Bacillus.

**Alvarado V , Moromi H. (2010)** <sup>6</sup> realizaron un estudio con el fin de comparar la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos de tres plantas medicinales: *Plantago major* L. (llantén), *Erythroxylum novogranatense* var *truxillense* (coca trujillo) y *Camellia sinensis* (té verde) mediante el método de difusión en agar con discos, sobre cinco cepas patrones de bacterias orales: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella melaninogenicus* y *Fusobacterium nucleatum*. Se concluye que los tres extractos hidroalcohólicos en las diluciones de 25 y 50 µg/mL presentaron actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella melaninogenica* y *Fusobacterium nucleatum*. El efecto antibacteriano aumentó con la concentración en *P. melaninogenicus*, que fue la cepa más sensible y *A. viscosus* la menos sensible.

**Rojas R. (2011)** <sup>17</sup> realizó una investigación sobre la eficacia antibacteriana in vitro del extracto de hoja de coca en comparación con la clorhexidina frente a *Staphylococcus* y *Streptococcus*, en el cual buscaba determinar e identificar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto de hoja de coca en comparación con la clorhexidina al 0,12 % en el tratamiento de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. La muestra de estudio lo constituye 20 cepas de *Staphylococcus aureus* y 20 cepas de *Streptococcus mutans* de diferentes especímenes clínicos, adquiridos del Banco de bacterias del Laboratorio del Hospital Regional Hermilio Valdizán Medrano de Huánuco. Se demostró que el tratamiento de *Streptococcus* con clorhexidina al 0,12 % es más eficaz que con extracto de coca de 1500 µg/20µL (75 %); pero el extracto de coca también tiene una eficacia del 75 % con respecto a la clorhexidina.

**Vergara C. (2011)** <sup>18</sup> realizó un estudio sobre el efecto inhibitorio del extracto acuoso y el extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* sobre el *Streptococcus mutans*, en el cual se buscaba determinar el efecto inhibitorio del extracto acuoso y extracto etanólico de la hoja de coca a diferentes

concentraciones sobre el crecimiento del *Streptococcus mutans*. Se demostró que el extracto acuoso a las concentraciones 25 %, 50 %, 75 % y 100 % de *E. novogranatense* var. *truxillense* y el extracto etanólico a las concentraciones de 10 %, 20 % 35 % y 50 % de *E. novogranatense* var. *truxillense* posee efecto inhibitorio en relación directa con la concentración utilizada, además se concluyó que el extracto etanólico fue el que obtuvo el mayor efecto inhibitorio sobre *S. mutans*.

**Castro A, Suárez S, Ramos N, Carhuapoma M y cols (2012)**<sup>19</sup> realizaron un estudio para elucidar la composición química del aceite esencial de *Erythroxylum coca* var. *coca* y determinar su actividad antioxidante y antibacteriana in vitro, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 mediante el diseño de una formulación farmacéutica.

La determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 se realizó con la aplicación del método de microdilución colorimétrico en microplaca y el método de difusión en agar.

Se diseñaron dos formulaciones farmacéuticas, pastas dentífricas, una de estas contenía 1 % de aceite esencial de coca y menta, y la otra 1 % de cada uno de los aceites esenciales de coca, menta y orégano.

Se determinó que la menor concentración de aceite esencial de hoja de coca que inhibe el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 35668 fue 0,625 µL/mL . Además se halló que el dentífrico que contenía 1 % de aceites esenciales de coca y menta presentaron actividad frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 con halo de inhibición de 37 mm y el dentífrico a base de 1 % de los aceites esenciales de coca, menta y orégano presentó actividad contra *Streptococcus mutans* ATCC 35668 con halo de inhibición de 38 mm.

**Ramos A. (2012)**<sup>20</sup> realizó un estudio sobre la actividad antibacteriana del *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis* , en el cual se buscaba 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 %). Se demostró que el extracto de *Erythroxylum coca* (hoja de coca), tiene la propiedad de inhibir el crecimiento in vitro de la bacteria *Porphyromonas gingivalis*.

**Hurtado Y. (2017)** <sup>21</sup> realizó un estudio con el objetivo de determinar la asociación entre la masticación de la hoja de coca y la prevención de la caries dental en los Pobladores del Caserío de Buenos Aires, Jaén en el año 2017 . La muestra fue de 33 personas de los cuales 16 fueron casos y 17 controles .

Existió casi una cuarta parte de la población en el grupo de los expuesto y no expuestos que ingresaron al estudio con caries dental; existiendo unos 0.75 veces de probabilidad de que los masticadores de la hoja de coca tengan caries dental. Así mismo después del masticado en el grupo de los expuestos disminuyó a casi una octava parte los casos de caries dental; mientras que los casos de la caries dental en los no masticadores se incrementaron llegando a afectar a casi la mitad de la población. Se concluyó que la masticación de la hoja de coca es considerada como una medida preventiva de la caries dental.

## **3.2 BASES TEÓRICAS**

### **A. HOJA DE COCA :**

#### **A.1 Clasificación Taxonómica**

REINO : PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA (DICOTILEDÓNEAS)

ORDEN : LINALES

FAMILIA : ERYTHROXYLACEAE

GÉNERO: *Erythroxylum*

ESPECIES : *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*

*Erythroxylum coca* var. *coca*

## A.2 Historia

La coca es nativa del Perú y ha sido cultivada desde tiempos muy antiguos <sup>20</sup>. Por lo menos desde dos mil años a.c los habitantes del área andina consumían hojas de coca, entonces la antigüedad de la coca en el Perú es de 4000 años y probablemente más. <sup>22,23</sup>

La práctica enraizada de la masticación de las hojas de coca en la época prehispánica está comprobada arqueológicamente, porque han encontrado en la costa peruana momias que tenían bolsas de coca tanto pre-incas e incas (Nazca, Mochica ), y la cerámica con diversas representaciones de la masticación de las hojas de coca. <sup>24,25</sup>

## A.3 Botánica

*Erythroxylum* (Erythroxylaceae) 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 lambran coca* y *Erythroxylum novogranatense* son las especies más conocidas y extensamente cultivadas en el Perú. <sup>11</sup>

### 3.1 *E.novogranatense* var. *truxillense*

Llamada coca de Trujillo, presente en los valles de la costa norte del Perú entre 200 y 1800 msnm de altura, crece en climas de tipo desértico . Esta variedad es geográfica y genéticamente distinta de las otras variedades. Presenta hojas pequeñas y delgadas, color verde claro, sabor dulce y aromático. Esta coca es de gran comercialización por el agradable sabor de sus hojas debido a su alto contenido de ácidos grasos volátiles

que son usados como saborizantes en la industria de bebidas gaseosas. Esta especie muestra tolerancia a la sequedad, tiende a resistir sequías prolongadas mejor que cualquier otro cultivo de la costa. <sup>26</sup> **(ver anexo 1)**.<sup>27</sup>

### **3.2 *E.coca var. coca***

Llamada coca Huánuco o coca de Bolivia se encuentra en Bolivia y en Perú, su reproducción es sexuada. Su área de repartición va del sur del Ecuador al centro de Bolivia. Es la variedad más primitiva de las cuatro cultivadas, tiene reproducción sexuada y parece bien adaptada a las condiciones ecológicas de los valles de media altura (500 a 1500 m) al Oriente de los Andes. Presenta hojas oblongas, elípticas, grandes, anchas, gruesas y de color verde oscuro, sabor amargo, con alto porcentaje de cocaína.<sup>28</sup> **(ver anexo 2)**.<sup>27</sup>

### **A.4 Composición Química**

Los componentes químicos de la hoja de coca en cultivo varían dependiendo de factores intrínsecos entre los que tenemos la edad de la planta, la identidad de las variedades, el estado de las hojas y como factores extrínsecos las zonas geográficas, la forma de cultivo y el medio ambiente principalmente.<sup>29</sup>

Estudios previos han mostrado que la hoja de coca contiene metabolitos primarios como proteínas, carbohidratos y lípidos; y metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides y taninos.<sup>30</sup>

Cada uno de estos metabolitos puede variar de acuerdo a la especie.

Según estudios realizados se dice que en la hoja de coca hay mayor presencia de los metabolitos secundarios que de los primarios.<sup>31</sup> **(ver anexo 3)**

Los componentes principales son los alcaloides, destacándose entre ellos la cocaína, siendo el *Erythroxylum coca* Lam. var. *Coca*, conocida como “coca Huánuco” tener un promedio de cocaína de 1,1 % y el *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *truxillense*, cultivada en el norte del Perú, un contenido promedio de 0,56 %, sin

embargo ésta última posee mayor cantidad de aceites volátiles siendo usados como saborizantes.<sup>32</sup>

#### **4.1 Metabolitos primarios**

Son aquellos que participan en la nutrición y procesos metabólicos esenciales para la planta.<sup>33</sup> En la hoja de coca encontramos (**ver anexo 4**) :

- Proteínas
- Carbohidratos
- Grasas
- Minerales
- Aminoácidos
- Vitaminas

#### **4.2 Metabolitos secundarios**

Son aquellos que permiten interacciones ecológicas de la planta con su entorno. La hoja de coca posee gran cantidad de metabolitos secundarios<sup>33</sup>, los principales son:

##### *4.2.1 Alcaloides de la Hoja de Coca :*

Los alcaloides de la hoja de coca, pertenecen a los grupos del Tropano, de la Pirrolidina y de la Piridina .<sup>34</sup>

##### **Alcaloides del Tropano:**

- Cocaína
- Cinnamoylcocaína : Cis-Cinnamoylcocaína y Trans-Cinnamoylcocaína
- Benzoylecgonina
- Methylecgonina
- Methylecgonidina
- Norformylecgonina

- Pseudotropyna
- Benzoylthropina
- Tropacocaína
- Dihydroxytropano,
- $\alpha$ -Truxillina y  $\beta$ -Truxillina (Las formas alfa y beta son en realidad un solo grupo).

#### **Alcaloides de la Pirrolidina:**

- Hygrina
- Hygrolina
- Cuscohygrina
- Dihydrocuscohygrina.

#### **Alcaloides de la Pyridina:**

- Nicotina

#### *4.2.2 Flavonoides :*

En los extractos de las hojas de la especie *Erythroxylum coca var. coca* se han encontrado seis O-conjugados del Eriodictiol (flavanona) .

En el extracto de las hojas de la especie *E. novogranatense var. truxillense* están un O-conjugado de quercetina (flavonol) , O-conjugado de fisetina (flavonol) , y dos O-conjugados de Kaempferol (flavonol).<sup>35</sup>

#### *4.2.3 Terpenoides :*

Se han encontrado en las hojas secas del aceite esencial de hoja de coca al  $\beta$ - pineno (monoterpeno),  $\beta$ - mirceno (monoterpeno), nerolidol (sesquiterpeno) , fitol (diterpeno).<sup>16</sup>

## A.5 Propiedades

Los diversos estudios realizados en el Perú acerca de la hoja de coca, lo relacionan generalmente a sus efectos adictivos dados por sus constituyentes alcaloides. Pero pocos son los estudios que se refieren a las propiedades benéficas que posee. Actualmente los estudios realizados sobre la hoja de coca se enfocan en estudiar sus propiedades nutricionales y medicinales.<sup>9</sup>

En el aspecto nutricional, la hoja de coca se ha promocionado en los últimos años por su supuesto valor nutricional y un alimento capaz de resolver los problemas nutricionales. Entre sus supuestas virtudes se afirma que la hoja es un alimento completo, pues tiene más calcio que la leche, así como un elevado porcentaje de proteínas digeribles y absorbibles, por lo que debe darse a niños y adultos.<sup>36</sup>

Pero estudios recientes ha demostrado que la supuesta "riqueza" en nutrientes no es tal. El contenido de vitamina C detectado en la hoja de coca es pobre.

La vitamina A se encuentra en cantidades apreciables, aunque menores que las obtenidas en las zanahorias. La existencia de los alcaloides potencialmente tóxicos limita su uso como fuente de vitamina A.<sup>37</sup>

Los niveles de calcio es baja, el nivel del hierro es también similar al nivel encontrado en otras hojas comestibles (espinaca) y un tercio del encontrado en el perejil. Las proteínas de la hoja de coca corresponden a proteínas vegetales, donde el aminoácido lisina es el aminoácido limitante. Estas son proteínas de baja calidad nutricional comparadas con las proteínas animales.<sup>37</sup>

Además se ha encontrado la presencia de antinutrientes los cuales son capaces de disminuir la absorción del calcio, el hierro y el zinc en la hoja de coca.

Estos son compuestos que tienen la capacidad de unirse a los minerales como el calcio, el hierro o el zinc, impidiendo su absorción en el intestino.

El ácido oxálico es un antinutriente para el calcio, el que se ha encontrado en este estudio en cantidades importantes en la hoja de coca (2.1 %), así como otros dos antinutrientes: ácido fítico y polifenoles.<sup>37</sup>

Con respecto a sus propiedades medicinales se le atribuye sus propiedades anestésicas, analgésicas, antidiarreico, evita el soroche (mal de altura), evita la formación de caries dental (acción antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* ), ayuda en la coagulación, entre otras.<sup>8</sup>

### **5.1 Actividad Antibacteriana**

En cuanto a la actividad antibacteriana, se sabe que la presencia de diversos terpenoides en los aceites esenciales de hoja de coca le da el efecto inhibitor a ciertas bacterias Gram (+).<sup>16</sup>

En recientes estudios se obtuvo resultados destacables en los grupos de flavonoides y alcaloides totales pertenecientes a las variedades *Erythroxylum coca var. coca* y *Erythroxylum novogranatense var. truxillense* frente a algunas bacterias Gram (+) y Gram (-).<sup>12</sup> (ver anexo 5)

## **B. CARIES DENTAL:**

### **B.1 Generalidades**

Según la OMS ha definido a la caries dental como un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y evoluciona hasta la formación de una cavidad. Si no se atiende oportunamente, afecta la salud general y la calidad de vida de los individuos de todas las edades.<sup>38</sup>

### **B.2 Principales Microorganismos De La Cavidad Bucal**

#### **2.1 Streptococcus**

Los estreptococos son microorganismos muy difundidos , en la cavidad bucal alberga gran número de especies de este género. Estos gérmenes pueden provocar distintas patologías como consecuencia de sus productos o por el hecho de ser resistentes a la fagocitosis.<sup>39</sup>

Los estreptococos tienen forma esférica y están agrupados en cadenas de longitud variable. Cada uno de los elementos aisladamente tienen un diámetro que oscila entre 0,6 y 1 a 2  $\mu\text{m}$ . Las formaciones en cadena son consecuencia de que los microorganismos permanecen adheridos por una pared celular.<sup>39</sup> **(ver anexo 6)**

Son cocos Gram positivos que normalmente se disponen en parejas o cadenas. La mayoría de las especies son anaerobios facultativos y algunos crecen únicamente en una atmósfera enriquecida con dióxido de carbono. Sus exigencias nutricionales son complejas y su aislamiento requiere del uso de medios enriquecidos con sangre o suero. Son capaces de fermentar carbohidratos y son catalasa negativo, a diferencia del género *Staphylococcus*.<sup>40</sup>

#### 2.1.1 Clasificación del género *Streptococcus*

Las clasificaciones que se han propuesto para esta bacteria son innumerables y se basan en sus distintas características; las más actuales tienen en cuenta la biología molecular.

Una de ellas considera la capacidad que tienen estas bacterias para lisar los glóbulos rojos, lo que puede ponerse en manifiesto si se siembran en placas que contengan agar sangre. En este medio de cultivo algunas especies logran producir un halo incoloro alrededor de la colonia debido a una hemólisis total de glóbulos rojos y se dice que son *Streptococcus*  $\beta$ -hemolíticos. Otras especies forman un halo de color verdoso debido a una hemólisis parcial y se denominan  $\alpha$ -hemolíticos o viridans por la coloración. Por último están los estreptococos que no producen cambios y se denominan  $\gamma$ -hemolíticos.<sup>39</sup>

Rebecca Lancefield desarrolló en 1933 el sistema de clasificación serológica para diferenciar las cepas  $\beta$ -hemolíticas. La mayoría de estas cepas y algunas  $\alpha$ -hemolíticas y no hemolíticas poseen antígenos específicos de grupo, la mayoría de las cuales son carbohidratos de la pared celular. En la actualidad el sistema Lancefield se restringe en la actualidad a un número reducido de especies de estreptococos (grupos A,B,C,F y G). La

mayoría de los  $\alpha$ -hemolíticos y no hemolíticos carece de los antígenos de pared celular específicos de grupo.<sup>40</sup>

#### 2.1.1.1 *Streptococcus del grupo viridans*

El grupo de los *Streptococcus viridans* distintos del *S. pneumoniae* conforma un grupo heterogéneo de estreptococos  $\alpha$ -hemolíticos y no hemolíticos . Al contrario de los  $\beta$ -hemolíticos humanos , estos microorganismos con excepción del grupo bovis , carecen de antígenos del grupo serológico de Lancefield específicos , aunque algunos pueden transportar antígenos que reaccionan en forma cruzada con estos antisueros.<sup>41</sup>

Por conveniencia los estreptococos del grupo viridans pueden ser ubicados en grupos sobre la base de características bioquímicas comunes. Estos grupos incluyen : *S. anginosus* , *S. sanguis* , *S. mitis* , *S. mutans* , *S. salivarius* , *S. bovis* ; además de los no agrupados su especie más representativa es *S. suis*.

Los microorganismos pueden ser asignados a estos grupos sobre la base de arginina dihidrolasa , hidrólisis de esculina , producción de acetoína (prueba de VP), producción de ácido a partir de manitol y sorbitol y presencia de ureasa.<sup>41</sup> **(ver anexo 7)**

El grupo viridans incluye varios tipos de estreptococos , que principalmente forman parte de la flora normal del tracto respiratorio superior. Algunas veces se han encontrado en casos de endocarditis bacteriana subaguda produciendo bacteremias persistentes. Muchas especies de estreptococos viridans que habitan la cavidad oral son considerados agentes patógenos , asociados con el inicio y la patogenia de la caries dental : *Streptococcus* del grupo *mutans* .<sup>42</sup>

### a) *Streptococcus* del grupo *mutans*

Pertenecen a este grupo las especies *Streptococcus mutans* , *Streptococcus sobrinus* , *Streptococcus rattus* , *Streptococcus cricetus* , *Streptococcus ferus* , *Streptococcus macacae* , *Streptococcus downey* y 8 serotipos (a-h).<sup>42</sup>

*Streptococcus mutans* (serotipos c, e y f) y *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g) son las especies con mayor frecuencia en humanos , siendo las cepas del serotipo c las más aisladas seguidas de la d y la e. Las otras cepas son raramente encontradas.<sup>42</sup>

*S. mutans* y *S. sobrinus* son capaces de producir la enzima glucosiltransferasa cuya función es romper los enlaces de sacarosa y unir los residuos de glucosa entre sí para formar glucanos insolubles , cuya función es servir de matriz pegajosa para que se unan otras bacterias. La adherencia específica e inespecífica del *S. mutans* y otros microorganismos a los glucanos adherentes e insolubles y la posterior formación de ácidos es lo que conduce a la desmineralización del esmalte y al inicio de las lesiones cariosas.<sup>42</sup>

Solo una pequeña parte de la sacarosa es usada para la formación de polisacáridos extracelulares e intracelulares , la mayor parte sirve como fuente energética para el crecimiento bacteriano.<sup>42</sup>

### **B.3 *Streptococcus mutans***

Es considerada la especie más aislada de las lesiones cariosas. En el año de 1924 , Clarke lo aisló de algunas lesiones de caries (caries en dentina) en seres humanos.

La adhesión de este microorganismo esta mediada por la interacción de la proteína PAc y algunas de las salivas que son adsorbidas por el esmalte dental ; la acumulación de placa dental se produce cuando este microorganismo produce los glucanos solubles e insolubles utilizando las enzimas Glucosiltransferasa (GTFs), a partir de los azúcares de la dieta. Cuando la unión se hace más fuerte , las bacterias degradan la sacarosa a ácidos , como

el láctico , que desmineralizan el diente , dando paso a la formación de una lesión cariosa.<sup>42</sup>

Este microorganismo en cultivos en agar sangre , sus colonias presentan alfa y gamma hemólisis. Todas las cepas de *S. mutans* fermentan manitol ,inulina ,sorbitol rafinosa y esculina ; algunas cepas fermentan melobiosa ; tiene pruebas negativas para ureasa , arginina , PYR , hidrólisis de hipurato.<sup>42</sup>

### **3.1 Aislamiento del *S. mutans***

Considerando los medios líquidos es posible recomendar el caldo Todd Hewitt , el cual es muy útil para el cultivo de estreptococos fastidiosos .Con relación a los medios sólidos tenemos el Agar Mitis Salivarius , adicionándole 20 % de sacarosa, 0,2 U/ml de Bacitracina y solución de telurito de potasio al 1 % ; además, este medio contiene otras sustancias inhibitoras , como azul tripán y cristal violeta.

Las colonias se observan de color azul oscuro , con márgenes irregulares , estrellados , bien adheridas al medio y a veces rodeadas de una zona como gotas de agua , debido a la producción de polisacáridos extracelulares que conforman el glicocálix.<sup>42</sup>

### **3.3 HIPÓTESIS Y VARIABLES**

- El extracto etanólico del *Erythroxylum coca var. coca* tiene mayor efecto antibacteriano que el *Erythroxylum novagranatense var. truxillense* frente al *Streptococcus mutans* .

#### **Variable independiente :**

- Extracto etanólico de Hoja de coca

#### **Variable Dependiente :**

- Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de coca frente al *Streptococcus mutans*.

### 3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	VALOR
<b>Dependiente :</b> Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de coca frente al <i>Streptococcus mutans</i>	Capacidad de suprimir o inhibir el crecimiento bacteriano	Actividad antibacteriana	Diámetro del halo de Inhibición	Razón	mm
<b>Independiente :</b> Extracto etanólico de hoja de coca	Sustancia etanólica que contiene el extracto de Hoja de coca	Extracto etanólico de <i>Erythroxylum coca</i> var. <i>coca</i>	Concentración	Ordinal	100 % 50 % 25 % 12,5 %
		Extracto etanólico de <i>Erythroxylum novogranatense</i> var. <i>truxillense</i>	Concentración		100 % 50 % 25 % 12,5 %

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 TIPO DE ESTUDIO

Esta investigación es de tipo experimental porque el investigador manipula el objeto de estudio , transversal porque los datos serán recogidos en un solo momento y prospectivo porque los datos serán recogidos en el momento en el que ocurren los resultados.

### 4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

- **Población:**
  - Cultivos de la Cepa estándar de *Streptococcus mutans*
- **Selección de la muestra:**
  - Se determinó de forma No probabilística, por conveniencia del investigador.
- **Tamaño de la muestra:**
  - 20 cultivos de *Streptococcus mutans*
- **Unidad muestral:**
  - Placas de cultivo con *Streptococcus mutans*
- **Unidad de análisis:**
  - Halos de inhibición formados alrededor de los discos impregnados de cada una de las concentraciones de los productos en estudio.

### 4.3 PROCEDIMIENTO Y TÉCNICA

1. Procedimiento para la obtención del extracto
2. Para la determinación del efecto antibacteriano

#### **Procedimiento para la obtención del extracto**

La obtención del extracto etanólico de las 2 variedades de hoja de coca (proporcionada por la ENACO) se realizó en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

El extracto etanólico se obtuvo de la siguiente manera: La cantidad de 75g de material vegetal seco y molido de cada variedad, se puso a macerar con etanol (35 litros) a

temperatura ambiente por 6 días en un ambiente oscuro. Luego estos extractos se agitaron a 200 rpm durante 30 minutos sobre un baño María, a una temperatura de 60 °C; se filtró al vacío y se concentró a presión reducida a una temperatura no mayor de 40 ° C.

Las distintas variedades del extracto etanólico se diluyeron con alcohol puro para tener las concentraciones de 100 % , 50 % , 25 % , 12,5 % .

Para el control positivo se usó la Clorhexidina al 0,12 % y como Control negativo el Alcohol puro .

#### **Determinación del efecto antibacteriano:**

Mediante el método de difusión por discos se procedió a la aplicación del extracto etanólico en las distintas concentraciones y los controles positivos y negativos en los cultivos de la cepa estándar de *Streptococcus mutans* sembradas en Agar Triticosa soya (TSA) . La incubación se realizó a 37 °C por 24-48 horas en condiciones de anaerobiosis parcial con CO<sub>2</sub>. Los resultados se medirán en base a los halos de inhibición formados alrededor de cada disco.

#### **4.4 PROCESAMIENTO DE DATOS**

Después de haber realizado las lecturas correspondientes con una regla milimetrada , los datos obtenidos fueron registrados en la ficha de recolección de datos . **(ver anexo 8)**

#### **4.5 ANÁLISIS DE RESULTADOS**

El análisis de datos se realizó en una laptop Corel I 3 Windows10 con el programa SPSS versión 22.

Con este programa mediante el uso de tablas y gráficos (cajas y bigotes) , se halló la media aritmética (promedio) y la desviación estándar de los halos de inhibición que se formaron por cada variedad de extracto a distintas concentraciones.

Los datos fueron procesados aplicándose los intervalos de confianza al 95 %, para determinar el nivel de significancia de los resultados ( $p < 0,05$ ).

Se utilizó la Prueba U de Mann Whitney y Kruskal Wallis para la comparación de los halos de inhibición en diferentes concentraciones según el tipo de extracto etanólico utilizado

## V. RESULTADOS

Pasada las 48 horas de haberse realizado la siembra se procedió a recoger los datos en la ficha de recolección (**Anexo 8**). Se procedió a medir los halos de inhibición con una regla milimetrada .

Después se realizó el análisis estadístico con SPSS con el cual se obtuvo los siguientes resultados :

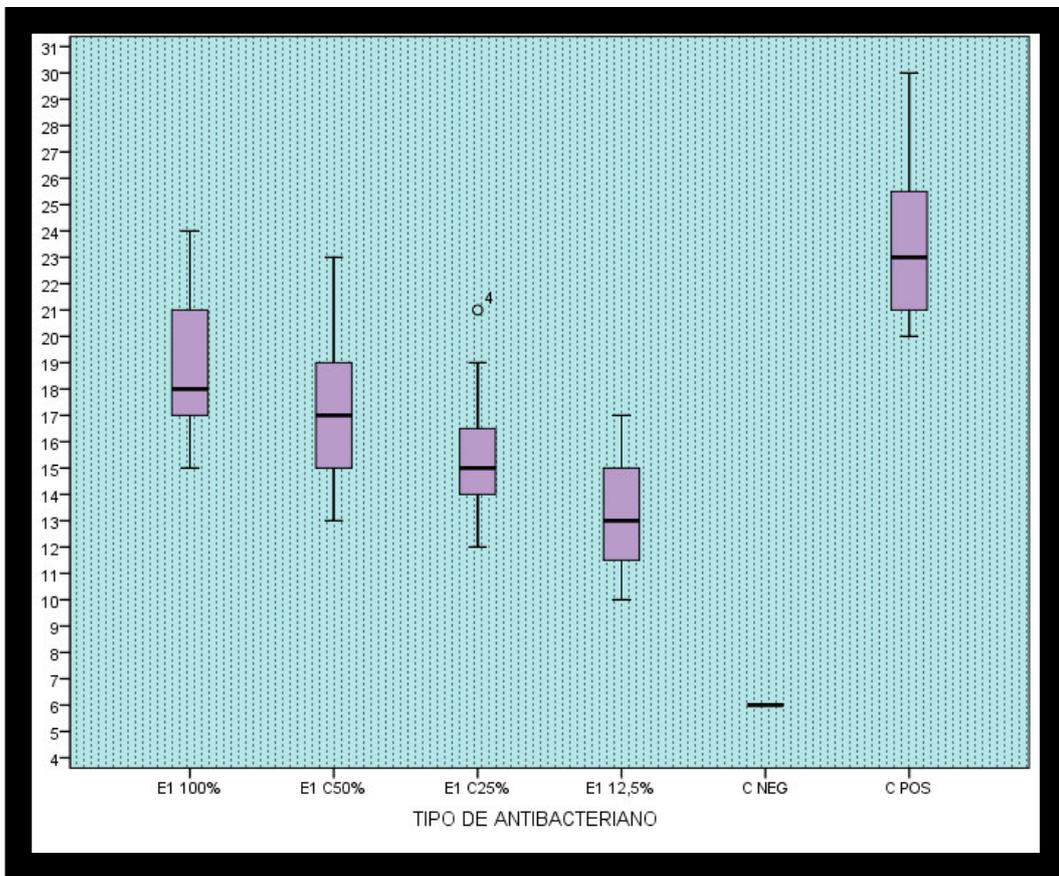
**Tabla 1. Halos de inhibición de la acción del extracto etanólico de *E. coca* var. *coca*, frente al *S. mutans*.**

	Tamaño del Halo de Inhibición				
	Media	Mediana	Desviación Standard	Máximo	Mínimo
<b>E1 100 %</b>	18,65	18	2,434	24	15
<b>E1 50 %</b>	17,10	17	2,654	23	13
<b>E1 25 %</b>	15,45	15	2,460	21	12
<b>E1 12.5 %</b>	13,05	13	2,164	17	10
<b>Control -</b>	6	6	0	6	6
<b>Control +</b>	23,30	23	2,755	30	20

E1 : *E. coca* var. *coca*

Los resultados indican que el valor promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* frente a la concentración del 100 % del Extracto etanólico del *E. coca* var. *coca* es de  $18,65 \pm 2,43$  valor que va disminuyendo según la concentración del extracto además de una menor acción que el Control Positivo (Clorhexidina 0,12 %).

**Tabla 1 y Fig. 1**



E1 : *E. coca* var. *coca*

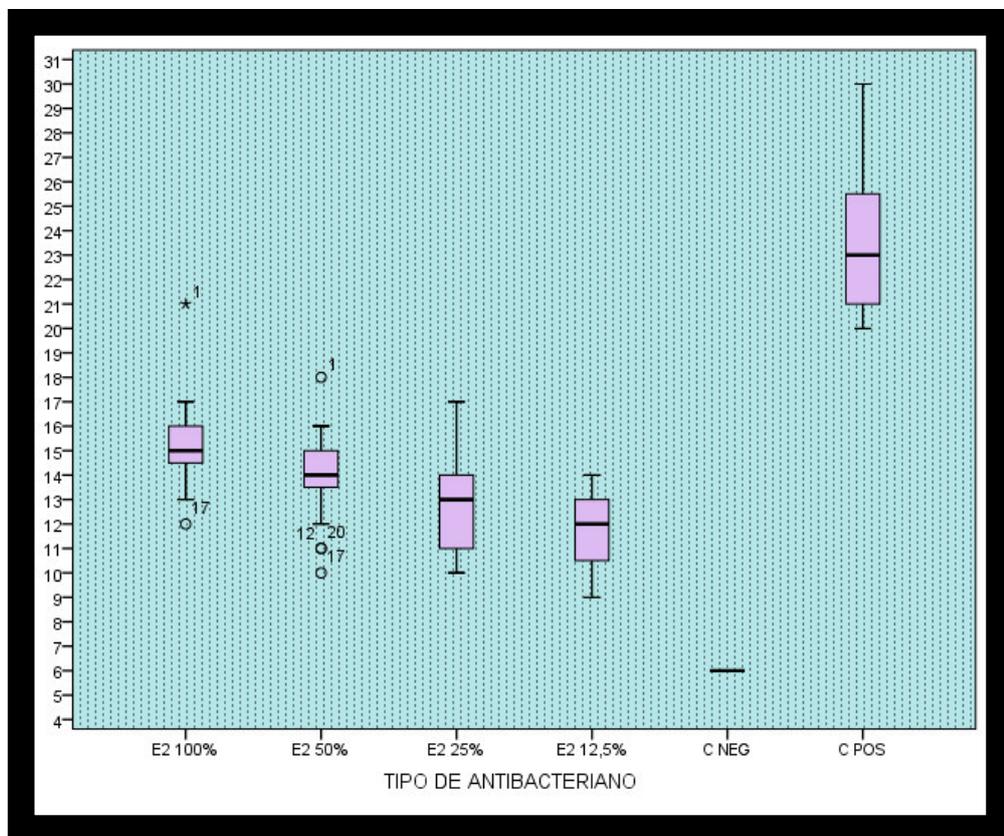
**Fig. 1. Halo de inhibición promedio del extracto etanólico del *E. coca* var. *coca***

**Tabla 2. Halos de inhibición de la acción del extracto etanólico del *E. novogranatense* var. *truxillense* frente al *S. mutans*.**

	Tamaño del Halo de Inhibición				
	Media	Mediana	Desviación Standard	Máximo	Mínimo
<b>E2 100 %</b>	15,30	15	1,895	21	12
<b>E2 50 %</b>	14,05	14	1,932	18	10
<b>E2 25 %</b>	12,65	13	1,725	17	10
<b>E2 12.5 %</b>	11,70	12	1,490	14	9
<b>Control -</b>	6	6	0	6	6
<b>Control +</b>	23,30	23	2,755	30	20

E2 : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Los resultados indican que el valor promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* frente a la concentración del 100 % del Extracto etanólico del *E. novogranatense* var. *truxillense* es de  $15,3 \pm 1,89$  y a la concentración 50 % es  $14,05 \pm 1,93$  siendo éstas la de mayor efecto antibacteriano que los extractos de menor concentración ; pero el valor promedio del halo de todas las concentraciones de este extracto es menor frente al control positivo (Clorhexidina 0,12 %). **Tabla 2 y Fig. 2**



E2 : *E. novogranatense* var. *truxillense*

**Fig. 2. Halo de inhibición promedio del extracto etanólico del *E. novogranatense* var. *truxillense* frente al *S. mutans*.**

Para elegir una prueba estadística adecuada hacemos el test de Normalidad (**ver anexo 9**) para comprobar si los datos presenta una distribución normal.

El análisis estadístico de los resultados se observan en las **Tablas 3 al 12**.

**Tabla 3. Prueba de Kruskal – Wallis**

<b>Tamaño del halo de Inhibición</b>	
<b>Chi - cuadrado</b>	86,843
<b>gl</b>	7
<b>Significación exacta</b>	0,000

Según la prueba de Kruskal – Wallis , si vemos una  $p < 0,05$  significa que existe diferencia significativa entre los grupos.

Para ver entre que grupos existe diferencia significativa , usamos la Prueba U de Mann Whitney .

**Tabla 4. Prueba U de Mann Whitney entre *E.coca* var. *coca* 100 % y los otros extractos.**

		<b>Tamaño del Halo de Inhibición</b>	
		<b>U de Mann Whitney</b>	<b>Sig. Exacta</b>
	<b><i>E1</i> 50 %</b>	138,500	0,096
<b><i>E1</i> 100 %</b>	<b><i>E1</i> 25 %</b>	66,500	0,000
	<b><i>E1</i> 12,5 %</b>	12,000	0,000
	<b><i>E2</i> 100 %</b>	43,500	0,000
	<b><i>E2</i> 50 %</b>	18,000	0,000
	<b><i>E2</i> 25 %</b>	6,000	0,000
	<b><i>E2</i> 12,5 %</b>	0,000	0,000

*E1* : *E. coca* var. *coca* , *E2* : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que la significancia que tiene el extracto etanólico de *E.coca* var. *coca* 100 % frente a los grupos de *E. coca* var. *coca* 25 % , 12,5 % , *E. novogranatense* var. *truxillense* 100 % , 50 % , 25 % y 12,5 % es igual a 0,000 lo que significa que *E.coca* var. *coca* 100 % presenta diferencias significativas frente a estos grupos

Con respecto a *E.coca* var. *coca* 100 % frente a *E.coca* var. *coca* 50 % hay una significancia de 0,096 lo que significa que no hay diferencia significativa entre estos dos grupos.

**Tabla 5. Prueba U de Mann Whitney entre *E.coca* var. *coca* 50 % y los otros extractos.**

		<b>Tamaño del Halo de Inhibición</b>	
		<b>U de Mann Whitney</b>	<b>Sig. Exacta</b>
	<b><i>E1</i> 100 %</b>	138,500	0,096
<b><i>E1</i> 50 %</b>	<b><i>E1</i> 25 %</b>	128,000	0,052
	<b><i>E1</i> 12,5 %</b>	48,000	0,000
	<b><i>E2</i> 100 %</b>	118,000	0,026
	<b><i>E2</i> 50 %</b>	75,000	0,000
	<b><i>E2</i> 25 %</b>	32,000	0,000
	<b><i>E2</i> 12,5 %</b>	10,000	0,000

*E1* : *E. coca* var. *coca* , *E2* : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que la significancia que tiene el extracto etanólico de *E.coca* var. *coca* 50 % frente a los grupos *E.coca* var. *coca* 12,5 % , *E. novogranatense* var. *truxillense* 100 % , 50 % , 25 % y 12,5 % es menor a 0,05 lo que significa que *E.coca* var. *coca* 50 % presenta diferencias significativas frente a estos grupos.

Con respecto a *E.coca* var. *coca* 50 % frente a *E. coca* var. *coca* 100 % y 25 % hay una significancia mayor a 0,05 lo que significa que no hay diferencia significativa entre estos grupos.

**Tabla 6. Prueba U de Mann Whitney entre *E.coca* var. *coca* 25 % y los otros extractos.**

		<b>Tamaño del Halo de Inhibición</b>	
		<b>U de Mann Whitney</b>	<b>Sig. Exacta</b>
	<b><i>E1</i> 100 %</b>	66,500	0,000
<b><i>E1</i> 25 %</b>	<b><i>E1</i> 50 %</b>	128,000	0,052
	<b><i>E1</i> 12,5 %</b>	97,500	0,005
	<b><i>E2</i> 100 %</b>	196,500	0,925
	<b><i>E2</i> 50 %</b>	135,000	0,081
	<b><i>E2</i> 25 %</b>	67,000	0,000
	<b><i>E2</i> 12,5 %</b>	35,500	0,000

*E1* : *E. coca* var. *coca* , *E2* : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que la significancia que presenta *E.coca* var. *coca* 25% frente a los grupos *E.coca* var. *coca* 100 % , 12,5 % , *E. novogranatense* var.*truxillense* 25 % , 12,5 % es menor a 0,05 lo que significa que *E.coca* var. *coca* 25 % presenta diferencias significativas frente a estos grupos.

Con respecto a la significancia que tiene el extracto etanólico de *E.coca* var. *coca* 25 % frente a *E.coca* var. *coca* 50 % (0,052) , *E.novogranatense* var.*truxillense* 100 % (0,925) , 50 % (0,081) es mayor a 0,05 lo que significa que no hay diferencia significativas entre estos grupos.

**Tabla 7. Prueba U de Mann Whitney entre *E.coca* var. *coca* 12,5 % y los otros extractos.**

		<b>Tamaño del Halo de Inhibición</b>	
		<b>U de Mann Whitney</b>	<b>Sig. Exacta</b>
	<b>E1 100 %</b>	12,000	0,000
<b>E1 12,5 %</b>	<b>E1 50 %</b>	48,000	0,000
	<b>E1 25 %</b>	97,500	0,005
	<b>E2 100 %</b>	92,500	0,003
	<b>E2 50 %</b>	147,500	0,157
	<b>E2 25 %</b>	181,500	0,620
	<b>E2 12,5 %</b>	131,500	0,063

E1 : *E. coca* var. *coca* , E2 : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que la significancia que presenta *E.coca* var. *coca* 12,5 % frente a los grupos *E.coca* var. *coca* 100 % , 50 % , 25 % , *E.novogranatense* var.*truxillense* 100% es menor a 0,05 lo que indica que *E.coca* var. *coca* 12,5 % presenta diferencias significativas frente a estos grupos.

Con respecto a la significancia que presenta el extracto etanólico de *E.coca* var. *coca* 12,5 % frente a los grupos *E.novogranatense* var.*truxillense* 50 % (0,157) , *E.novogranatense* var.*truxillense* 25 % (0,620) y *E.novogranatense* var.*truxillense* 12,5 % (0,063) es mayor a 0,05 lo que significa que no hay diferencia significativa entre ellos .

**Tabla 8. Prueba U de Mann Whitney entre *E.novogranatense* var. *truxillense* 100 % y los otros extractos.**

		<b>Tamaño del Halo de Inhibición</b>	
		<b>U de Mann Whitney</b>	<b>Sig. Exacta</b>
	<b><i>E1</i> 100 %</b>	43,500	0,000
<b><i>E2</i> 100 %</b>	<b><i>E1</i> 50 %</b>	118,000	0,026
	<b><i>E1</i> 25 %</b>	196,500	0,925
	<b><i>E1</i> 12,5 %</b>	92,500	0,003
	<b><i>E2</i> 50 %</b>	129,000	0,056
	<b><i>E2</i> 25 %</b>	51,000	0,000
	<b><i>E2</i> 12,5 %</b>	19,500	0,000

*E1* : *E. coca* var. *coca* , *E2* : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que existe diferencia significativa entre *E.novogranatense* var. *truxillense* 100 % frente a los grupos *E. coca* var. *coca* 100 % , 50 % , 12,5 % , *E.novogranatense* var.*truxillense* 25 % y 12,5 % ya que presentan una significancia menor a 0,05.

Con respecto a la significancia que presenta *E.novogranatense* var. *truxillense* 100 % frente a los grupos *E.coca* var. *coca* 25 % (0,925) y *E.novogranatense* var. *truxillense* 50 % (0,056) es mayor a 0,05 , lo que indica que no hay diferencia significativa entre estos.

**Tabla 9. Prueba U de Mann Whitney entre *E.novogranatense* var. *truxillense* 50 % y los otros extractos.**

		Tamaño del Halo de Inhibición	
		U de Mann Whitney	Sig. Exacta
	<b><i>E1</i> 100 %</b>	18,000	0,000
<b><i>E2</i> 50 %</b>	<b><i>E1</i> 50 %</b>	75,000	0,000
	<b><i>E1</i> 25 %</b>	135,000	0,081
	<b><i>E1</i> 12,5 %</b>	147,500	0,157
	<b><i>E2</i> 100 %</b>	129,000	0,056
	<b><i>E2</i> 25 %</b>	107,500	0,011
	<b><i>E2</i> 12,5 %</b>	65,000	0,000

E1 : *E. coca* var. *coca* , E2 : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que la significancia que presenta el extracto etanólico de *E.novogranatense* var.*truxillense* 50 % frente a *E.coca* var. *coca* 100 % , 50 % y *E.novogranatense* var.*truxillense* 25 % , 12,5 % es menor a 0,05 lo que indica que *E.novogranatense* var.*truxillense* 50 % presenta diferencias significativas frente a estos grupos.

Con respecto a la significancia que presenta *E.novogranatense* var.*truxillense* 50 % frente a los grupos *E.coca* var. *coca* 25 % (0,081) , *E.coca* var. *coca* 12,5 % (0,157) , *E.novogranatense* var.*truxillense* 100 % (0,056) lo que significa que no hay diferencia significativa entre ellas .

**Tabla 10. Prueba U de Mann Whitney *E.novogranatense* var. *truxillense* 25 % y los otros extractos.**

		<b>Tamaño del Halo de Inhibición</b>	
		<b>U de Mann Whitney</b>	<b>Sig. Exacta</b>
	<b><i>E1</i> 100 %</b>	6,000	0,000
<b><i>E2</i> 25 %</b>	<b><i>E1</i> 50 %</b>	32,000	0,000
	<b><i>E1</i> 25 %</b>	67,000	0,000
	<b><i>E1</i> 12,5 %</b>	181,500	0,620
	<b><i>E2</i> 100 %</b>	51,000	0,000
	<b><i>E2</i> 50 %</b>	107,500	0,011
	<b><i>E2</i> 12,5 %</b>	139,500	0,102

*E1* : *E. coca* var. *coca* , *E2* : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que la significancia que presenta el extracto etanólico de *E.novogranatense* var.*truxillense* 25 % frente a *E.coca* var. *coca* 100 % , 50 % , 25 % y *E.novogranatense* var.*truxillense* 100 % , 50 % es menor a 0,05 lo que indica que *E.novogranatense* var.*truxillense* 25 % presenta diferencias significativas frente a estos grupos.

Con respecto a la significancia que presenta *E.novogranatense* var.*truxillense* 25 % frente a los grupos *E.coca* var. *Coca* 12,5 % (0,620) y *E.novogranatense* var.*truxillense* 12,5 % (0,102) es mayor a 0,05 lo que significa que no hay diferencia significativa entre ellas .

**Tabla 11. Prueba U de Mann Whitney entre *E.novogranatense* var. *truxillense* 12,5 % y los otros extractos**

		Tamaño del Halo de Inhibición	
		U de Mann Whitney	Sig. Exacta
	<b>E1 100 %</b>	0,000	0,000
<b>E2 12,5 %</b>	<b>E1 50 %</b>	10,000	0,000
	<b>E1 25 %</b>	35,500	0,000
	<b>E1 12,5 %</b>	131,500	0,063
	<b>E2 100 %</b>	19,500	0,000
	<b>E2 50 %</b>	65,000	0,000
	<b>E2 25 %</b>	139,500	0,102

E1 : *E. coca* var. *coca* , E2 : *E. novogranatense* var. *truxillense*

Según la Prueba U de Mann Whitney podemos ver que la significancia que presenta el extracto etanólico de *E.novogranatense* var.*truxillense* 12,5 % frente a *E.coca* var. *coca* 100 % , 50 % , 25 % y *E.novogranatense* var. *truxillense* 100 % y 50 % es menor a 0,05 lo que indica que *E.novogranatense* var.*truxillense* 12,5 % presenta diferencias significativas frente a estos grupos.

Con respecto a la significancia que presenta el extracto etanólico de *E.novogranatense* var. *truxillense* 12,5 % frente a los grupos *E.coca* var. *coca* 12,5 % (0,063) y *E.novogranatense* var. *truxillense* 25 % (0,102) ) es mayor a 0,05 lo que significa que no hay diferencia significativa entre ellas .

**Tabla 12. Prueba U de Mann Whitney entre *E.novogranatense* var. *truxillense* y *E. coca* var. *coca***

<b>Variedad</b>	<b>E2 100 %</b>	<b>E2 50 %</b>	<b>E2 25 %</b>	<b>E2 12.5 %</b>
<b>E1 100 %</b>	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>E1 50 %</b>	0,026	0,000	0,000	0,000
<b>E1 25 %</b>	0,925	0,081	0,000	0,000
<b>E1 12.5%</b>	0,003	0,157	0,620	0,063

E1 : *E. coca* var. *coca* , E2 : *E. novogranatense* var. *Truxillense*

Podemos ver que *E. coca* var. *coca* 100 % y 50 % presenta diferencias significativas frente a *E. novogranatense* var. *truxillense* 100 % , 50 % , 25 % y 12,5 %.

*E. coca* var. *coca* 25 % presenta diferencias significativas frente a *E. novogranatense* var. *truxillense* 25 % y 12,5 %.

*E. coca* var. *coca* 12,5 % presenta diferencia significativa frente a *E. novogranatense* var. *truxillense* 100 %.

## VI. DISCUSIÓN

En este estudio se buscó determinar si había una diferencia en el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de las variedades *E. novogranatense* var. *truxillense* y *E. coca* var. *coca* frente al *S.mutans* , lo cual fue demostrado midiendo los tamaños del halo de inhibición formados de cada variedad a diferente concentración.

Los resultados de la evaluación del efecto antibacteriano mediante las pruebas estadísticas determinaron que sí existen diferencias entre estas 2 variedades de hoja de coca , demostrando que el efecto antibacteriano del extracto de *E. coca* var. *coca* al 100 % y 50 % es mayor al de la variedad *truxillense* al 100 % (**Tabla 1 y 2**) . Además también se determinó que el efecto antibacteriano del extracto de *E. coca* var. *coca* al 25 % , no presentó diferencia significativa frente al extracto del *E. novogranatense* var. *truxillense* al 100 % y 50 % (**Tabla 6**) .

Los resultados mostrados se puede deber a la distinta composición química que posee cada una de ellas.<sup>29</sup> La literatura nos indica que esta diferencia se debe a diversos factores , los cuales probablemente influyan en el efecto antibacteriano de estas.

Si bien no existen estudios que comparen el efecto antibacteriano de estas dos variedades frente al *S.mutans* , Vidal y cols<sup>12</sup> comparó la actividad antibacteriana del extracto crudo de las 2 variedades frente a *S. aureus* , *S. epidermis* , *E. coli* y *P. aeruginosa* ; en donde se evidenció que el extracto crudo de *Erythroxyllum coca Lam* presentó mayor tamaño de halo de inhibición frente a las Bacterias Gram + (*S. epidermidis* y *S. aureus*) y *P. aeruginosa* que el extracto crudo de *Erythroxyllum novogranatense (Morris) Hieron*. Sin embargo este último presentó mayor tamaño de halo de inhibición frente a *E. coli* . Además en este estudio también se evaluó la composición química de ambas demostrando que el contenido de alcaloides aislados presentes en el extracto etanólico fue de 2,69 % para *Erythroxyllum coca Lam*, y 1,67 % para *Erythroxyllum novogranatense (Morris) Hieron*. Con respecto a los flavonoides , *Erythroxyllum novogranatense (Morris) Hieron* presentó mayor cantidad de flavonoides.

Con respecto al Control Positivo (Clorhexidina 0,12 %) pudimos ver que esta posee mayor efecto antibacteriano frente al *S.mutans* que los extractos etanólicos de las 2 variedades de hoja de coca (**Tabla 1 y 2**).

El efecto antibacteriano de la hoja de coca frente al *S.mutans* está sustentado en los estudios de Minaya <sup>8</sup> , Borrovic <sup>13</sup>, Vergara <sup>19</sup> los cuales demostraron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *E. novogranatense* var. *truxillense* frente a distintas bacterias de la cavidad oral como el *Streptococcus mutans* .

En el estudio de Rojas <sup>18</sup> se evidenció que el extracto de la hoja de *Erythroxylum coca* var. *coca* (Lambran) a distintas concentraciones ejercía una eficacia antibacteriana frente al *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans* , pero esta no demostró superioridad para con los resultados obtenidos con la clorhexidina al 0,12 %. Además se pudo evidenciar que a mayor concentración del extracto de *Erythroxylum coca* var. *coca* (Lambran) había mayor efecto antibacteriano.

## VII. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos muestran que se cumple la hipótesis planteada que la variedad de *E.coca* var. *coca* tiene mayor efecto antibacteriano que la *E.novogranatense* var. *truxillense*.
- Se demostró que el extracto etanólico de *E. coca* var. *coca* al 100 % tiene igual efecto antibacteriano que la *E. coca* var. *coca* al 50 % y difiere significativamente con la variedad *E.novogranatense* var. *truxillense* .
- Se demostró que el extracto etanólico de *E. coca* var. *coca* al 25 % tiene igual efecto antibacteriano que *E.novogranatense* var. *truxillense* al 100 % y 50 %.
- Se demostró que la Clorhexidina al 0,12 % tiene mayor efecto que el extracto etanólico de las 2 variedades de hoja de coca .

## VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar el mismo estudio in vitro pero con otras bacterias presentes en la cavidad oral.
- Realizar el mismo estudio pero in vivo.
- Determinar con precisión cuál de los componentes de la hoja de coca es responsable del efecto antibacteriano .

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud. Módulo de promoción de la salud bucal. 2ª ed. Lima : Minsa; 2010
2. Lewis M. Bases Biológicas de la Caries Dental. 1ª ed. Barcelona :Editorial Salvat ; 1986.
3. Moromi H, Martínez E. Antibacterianos naturales orales :Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Odontología San Marquina . 2009; 12(1):25-28.Lima;2009.
4. Cabieses F. Aspectos etnológicos de la coca y la cocaína. Lima: Editorial F. R. Jeri; 1980.
5. Machado E. El género *Erythroxylum* en el Perú. Lima; 1968.
6. Alvarado V , Moromi H . Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. Odontología Sanmarquina. 2010; 13(2):21-25.
7. Medina S .Efecto antibacteriano in vitro de *Erythroxylum coca*, *Llpta* y la combinación de ambos en cultivos de *Streptococcus mutans* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2012.
8. Minaya P . Determinación de la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense var truxillense* (coca) frente a bacterias orales cariogénicas. [tesis de bachiller]. Lima: UNMSM. Facultad de Odontología ; 2008.
9. Liébana J. Microbiología Oral. 2a ed .Madrid : Editorial Mc Graw Hill ; 2002.
10. Martínez M , Rodríguez A. Estudio de las cepas de Estreptococos del grupo mutans presentes en binomios madre-hijo. Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia . 2009;21(2):177-85.
11. Machado E. Determinación de variedades y cultivares en cocas Peruanas. Cocaína. Lima : R. Jeri. Edit. Pacific Press ; 1980.

12. Gamarra V, Fuertes C, Chávez N, Contreras D. Metabolitos detectados en las hojas de *Erythroxylum coca* Lam y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron y evaluación de sus propiedades biológicas mediante bioensayos. *Rev Perú Med Integrativa*. 2017;2(4):828-34.
13. Borrovic F. Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* (coca) sobre flora mixta salival .[tesis de bachiller]. Lima: UNMSM. Facultad de Odontología ; 2006.
14. Castro A. Composición química del aceite esencial de las hojas de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) "coca", actividad antioxidante y determinación antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*. [tesis de bachiller]. Lima: UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica ; 2008.
15. Ramos E. Efectividad de la masticación de la hoja de coca en la prevención de la caries dental en el centro poblado de San Juan de la Libertad Huasahuasi Tarma. [Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal, 2008.
16. Ventura G, Castro A, Roque M, Ruiz J . Chemical composition of essential oil *Erythroxylum coca* Lam var. *coca* (Coca) and evaluation of its antibacterial activity. [tesis de bachiller]. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Ciencia e Investigación UNMSM . 2009; 12(1): 24-28.
17. Rojas R. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto de hoja de coca en comparación con la clorhexidina frente a *Staphilococcus* y *Streptococcus*. [tesis de bachiller]. Huánuco: Universidad de Huánuco. Facultad de Odontología ; 2011.
18. Vergara C. Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso y extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *Truxillense* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. [tesis de bachiller].La Libertad. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Odontología; 2011.
19. Castro A, Suárez S, Ramos N, Carhuapoma M, Ruiz, J, Alcarraz M ,Vicente W. Evaluación química y antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Erythroxylum*

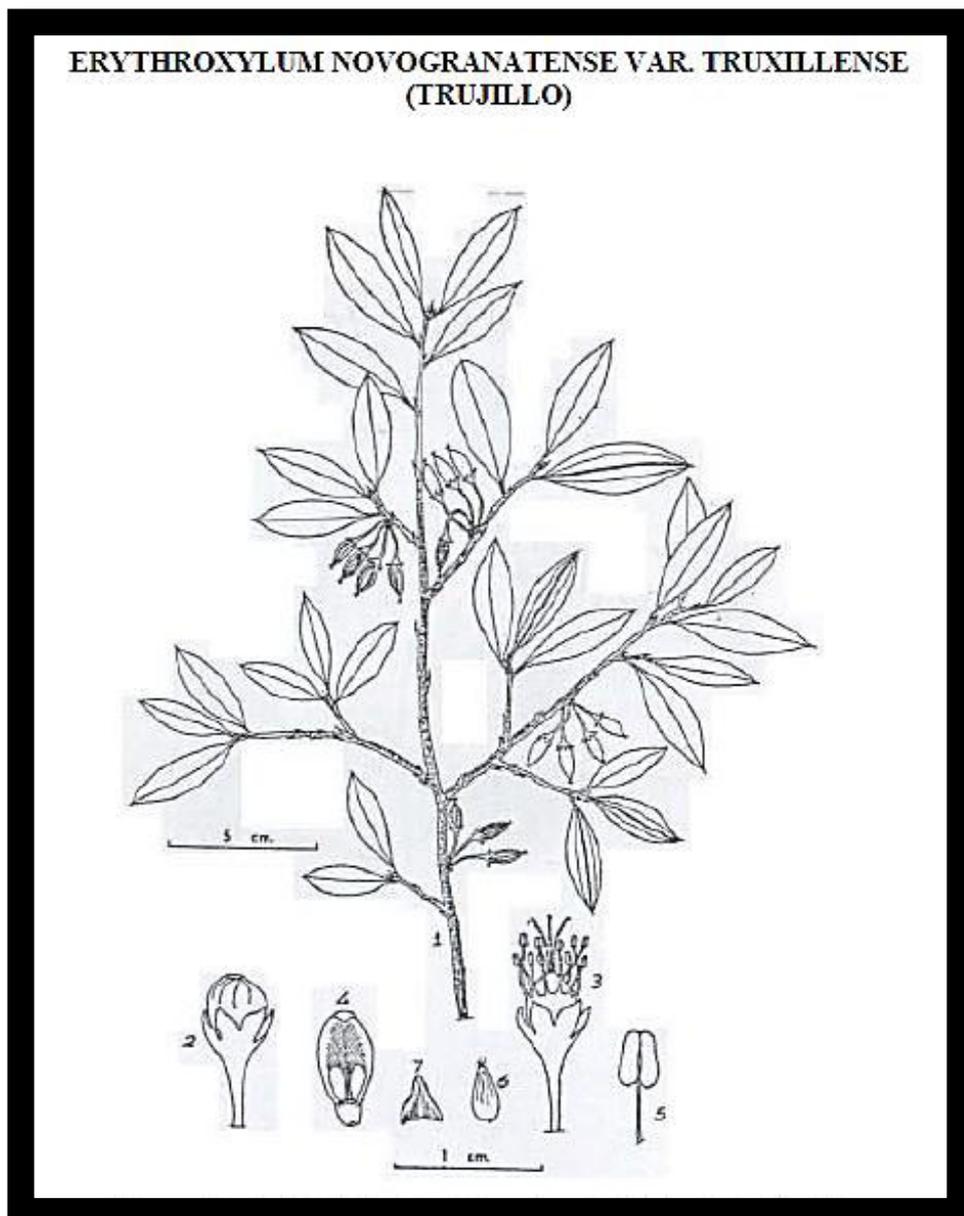
- coca Lam. var.* "coca Huánuco": diseño de una formulación farmacéutica. *Theorēma UNMSM* .2014; 1(1), 65-72.
20. Ramos A. Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio in vitro. [tesis de bachiller]. Lima: UNMSM. Facultad de Odontología ;2012.
  21. Hurtado Y. Asociación entre la masticación de la hoja de coca y la prevención de la caries dental en los pobladores del caserío de Buenos Aires, Jaén – 2017 . [tesis de bachiller]. Amazonas: Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De Amazonas. Facultad de Odontología ; 2017.
  22. Cabieses F. Apuntes de medicina tradicional. Lima : A&B S.A. ; 1993.
  23. Domic Z. Revisión crítica bibliográfica y consideraciones generales acerca del masticado de coca. Actas del Seminario Interamericano sobre Aspectos Médicos de la Coca y la Cocaína. Lima : Editorial F. R. Jeri ; 1985.
  24. Gutiérrez C , Zapata O. Estudios sobre la coca y la cocaína en el Perú. Lima: Ed. Educación Artística y Extensión Cultural. Ministerio de Salud Pública; 1947 .
  25. World Health Organization (1987): Oral health surveys. Basic Methods. 3rd. Geneve, Suiza, WHO
  26. Lévano A . Estudio fotoquímico de *Erythroxylum coca* "Hoja de Coca". *Revista de Sanidad de las Fuerzas policiales* .1988;49(2):130-132.
  27. Machado E. "El género *Erythroxylum* en el Perú", las cocas silvestres y cultivadas del país. Lima : *Revista Raymondiana*. Dic 1972 ;5:101.
  28. Diaz M. Coca leaves, cocaine and its substitutes. *Circular Farmacéutica*.1971; 230(24): 59-81.
  29. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú . 2ª ed . Lima : Fondo Editorial ARR. ; 2011.
  30. Sauvain M, Rerat C, Moretti C, Saravia E, Arrazola S, Gutierrez E, et al. A study of the chemical composition of *Erythroxylum coca var. coca* leaves collected in two ecological regions of Bolivia. *J Ethnopharmacol*. Mayo de 1997;56(3):179–91.

31. González K, González JA, González J, Prieto S. Género *Erythroxylum*: Análisis de la Información Científica. *Acta Farm. Bonaerense* .2005; 24 (2): 284-90.
32. Diaz M. 1971. Coca Leaves, Cocaine and its substitutes. *Circular Farmacéutico*. 230(29):59-81.
33. Verde MJ, García S, Rivas C. Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. *OmniaScience Monographs* .2016.
34. Novak M, Saleminck C , Khan I. Biological Activity Of The Alkaloids of *Erythroxylum coca* and *Erythroxylum Novogranatense*. *Journal of Ethnopharmacology* .1984;10(261): 261–274.
35. Scarpetta M. Reconocimiento Fitoquímico y etnobotánico de *Erythroxylum coca* en la población Nasa del Departamento del Cauca – Colombia . *Revista de la Universidad libre seccional Cali*. 2017; 14(1) .
36. Duke A, Aulik D, Plowman T. Nutritional value of coca. *Bot Mus Leafl Harv Univ* 1975;24:113-9.
37. Penny E, Zavaleta A, Lemay M, Liria R, Huaylinas L, Alminger M, McChesney J, Alcaraz F, Reddy B. Can coca leaves contribute to improving the nutritional status of the Andean population? *Food and Nutrition Bulletin*. 2009, 30 (3): 205-216.
38. Brooks G, Butel J, Morse S. *Microbiología medica de Jawets, Melnick y Adelberg*. Editorial el manual moderno .2005 ;14 – 15.
39. Negroni M. *Microbiología Estomatología “Fundamentos Y Guía Práctica”*. 6ª ed. Buenos aires : Editorial Médica Panamericana; 2009.
40. Murray P R, Rosenthal K S, Pfaller A . *Microbiología Médica*. 6ª ed. España : Editorial Elsevier; 2010 .
41. Koneman E, Procop G. *Koneman Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires : Editorial Médica Panamericana; 2006.
42. Gutierrez J. *Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la odontología*. Bogotá : Editorial Pontificia Universidad Javeriana; 2006.

X. ANEXOS

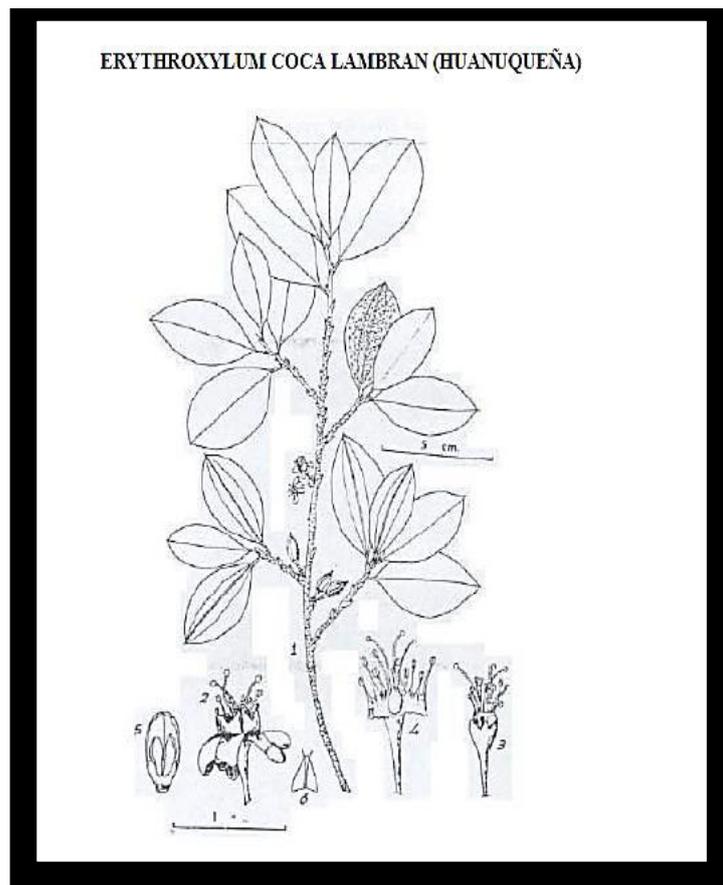
10.1 CUADROS DE CONSISTENCIA

ANEXO Nº 1. MORFOLOGÍA DEL *ERYTHROXYLUM NOVOGRANATENSE* VAR. *TRUXILLENSE*

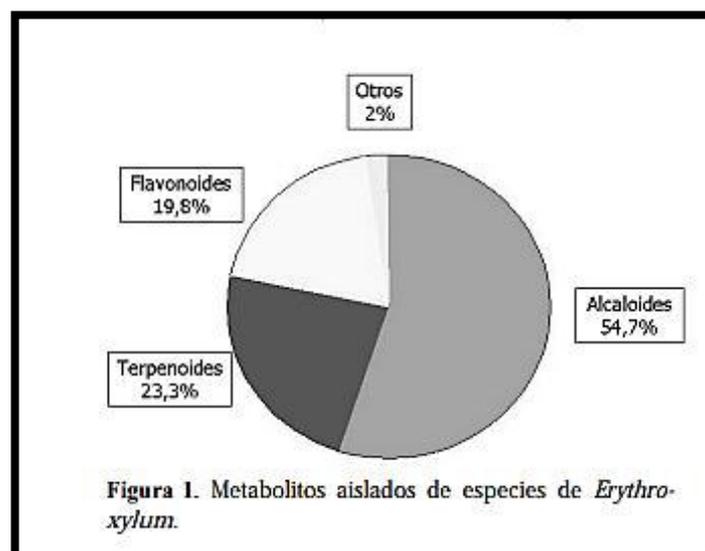


## ANEXO Nº 2. MORFOLOGÍA DEL *ERYTHROXYLUM COCA*

### VAR. *COCA*



## ANEXO Nº3. PRINCIPALES COMPONENTES DE LA HOJA DE COCA



Fuente : Género *Erythroxylum*: Análisis de la Información Científica <sup>31</sup>

**ANEXO Nº4. PRINCIPALES COMPONENTES DE LA HOJA DE COCA**

<b>COMPONENTE</b>	<b>CONTENIDO (/100 g de peso seco)</b>
<b>Minerales :</b>	
Calcio	1011.67 mg
Hierro	29.16 mg
Zinc	2.67 mg
Magnesio	210.95 mg
<b>Grasa</b>	<b>6.12 ± 0.70 g</b>
<b>Energía</b>	<b>346.23 ± 5.76 (kcal)</b>
<b>Vitaminas :</b>	
Vitamina A (μ-caroteno)	3.51 mg
Vitamina D	0.00312 mg
Vitamina E (μ-tocoferol)	16.72 mg
<b>Proteínas</b>	<b>20.28 ± 1.65 g</b>
<b>Aminoácidos :</b>	
Histidina	0.418 ± 0.040 g
Isoleucina	0.728 ± 0.072 g
Leucina	1.323 ± 0.147 g
Lisina	0.801 ± 0.095 g
Metionina	0.337 ± 0.036 g
Cisteína	0.200 ± 0.020 g
Fenilalanina	0.790 ± 0.094 g
Tirosina	0.570 ± 0.073 g
Treonina	0.711 ± 0.076 g
Triptofano	0.265 ± 0.034 g
Valina	0.902 ± 0.096 g
<b>Carbohidratos</b>	<b>46.2 g</b>

*Fuente : Food and Nutrition Bulletin <sup>37</sup>*

## ANEXO N°5 COMPONENTES DE LA HOJA DE COCA CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

**Tabla 3.** Actividad antibacteriana por difusión en agar para *Erythroxylum coca Lam* y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron tomando como indicador el diámetro del halo

Especie	Muestra (500 µL)	Halo de Inhibición (mm)		
		Extracto crudo (1 g/mL)	Alcaloides totales (40 mg/mL)	Flavonoides totales (0,5 g/mL)
<i>Erythroxylum coca Lam</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	23	NP	21
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33	25	26
	<i>Escherichia coli</i>	18	18	20
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	26	28
<i>Erythroxylum novogranatense</i> (Morris) Hieron	<i>Staphylococcus aureus</i>	22	20	23
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	28	23	35
	<i>Escherichia coli</i>	24	22	20
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19	NP	20

**Fuente : Rev Peruana de Medicina Integrativa <sup>12</sup>**

### ANEXO N°6. *STREPTOCOCCUS MUTANS*



## ANEXO N°7. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DEL *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Cuadro 13-4 Diferenciación fenotípica de los grupos de estreptococos viridans hallados en seres humanos							
GRUPO VIRIDANS	ADH	HIDRÓLISIS DE ESCULINA	ACETOÍNA (VP)	MANITOL	SORBITOL	UREASA	MIEMBROS DEL GRUPO
Grupo Sanguis	+	+	-	-	-	-	<i>S. sanguis</i> ( <i>S. sanguinis</i> ), <i>S. parasanguis</i> ( <i>S. parasanguinis</i> ), <i>S. gordonii</i> , <i>S. sinensis</i> (VP+)
Grupo Mitis	-	-	-	-	-	-	<i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. crista</i> ( <i>S. cristatus</i> ), <i>S. peroris</i> , <i>S. infantis</i> , <i>S. australis</i> , <i>S. oligofermentans</i>
Grupo Mutans	-	+	+	+	+	-	<i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. cricetus</i> , <i>S. rattii</i> , <i>S. macacae</i> , <i>S. downei</i> , <i>S. ferus</i> y <i>S. hyovaginalis</i>
Grupo Salivarius	-	V	V	-	-	V	<i>S. salivarius</i> , <i>S. vestibularis</i> , <i>S. infantarius</i> , <i>S. alactolyticus</i> , <i>S. hyointestinalis</i> y <i>S. thermophilus</i>
Grupo Anginosus	+	+	+	-	-	-	<i>S. intermedius</i> , subespecies de <i>S. constellatus</i> , <i>S. anginosus</i>
Grupo Bovis	-	+	+	V	-	-	<i>S. bovis</i> / <i>S. equinus</i> , subespecies de <i>S. gallolyticus</i> , subespecies de <i>S. infantarius</i> , <i>S. alactolyticus</i>

+, reacción positiva; -, reacción negativa; V, reacción variable.

**Fuente : Koneman Diagnóstico Microbiológico <sup>41</sup>**

## 10.2 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### ANEXO Nº 8. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Número de muestra	Extracto Etanólico de <i>Erythroxylum coca</i> var. <i>coca</i>				Extracto Etanólico de <i>Erythroxylum novogranatense</i> var. <i>truxillense</i>				Control Positivo	Control Negativo
	100 %	50 %	25 %	12.5 %	100 %	50 %	25 %	12.5 %		
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										
<b>PROMEDIO</b>										

### 10.3 TABLA DE INTERPRETACIÓN DE DATOS

#### ANEXO Nº9. PRUEBA DE NORMALIDAD PARA DETERMINAR SI LOS DATOS OBTENIDOS PRESENTAN DISTRIBUCIÓN NORMAL

	Kolmogorov - Smirnov			Shapiro - Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
<b>• <i>E.coca</i> var. <i>coca</i></b>						
100 %	0,201	20	0,033	0,924	20	0,118
50 %	0,163	20	0,171	0,952	20	0,405
25 %	0,162	20	0,182	0,947	20	0,323
12.5 %	0,166	20	0,149	0,932	20	0,168
<b>• <i>E.novogranatense</i> var. <i>truxillense</i></b>						
100 %	0,213	20	0,018	0,885	20	0,021
50 %	0,240	20	0,004	0,936	20	0,205
25 %	0,167	20	0,146	0,921	20	0,102
12.5 %	0,230	20	0,007	0,923	20	0,115
<b>• Control Negativo</b>						
	0	20	0	0	20	0
<b>• Control Positivo</b>						
	0,193	20	0,048	0,919	20	0,094

Según la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk podemos observar que el extracto etanólico de *E.novogranatense* var. *truxillense* (100 %) no presenta distribución normal ( $p = 0,021$ ).

## 10.4 FOTOGRAFÍAS



FOTO 1 : HOJAS DE *Erythroxylum coca* var. *coca*



FOTO 2 : HOJAS DE *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*



FOTO 3 : CULTIVO DE LA CEPA ATCC de *Streptococcus mutans*



FOTO 4 : EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* Y *Erythroxylum coca* var. *coca*

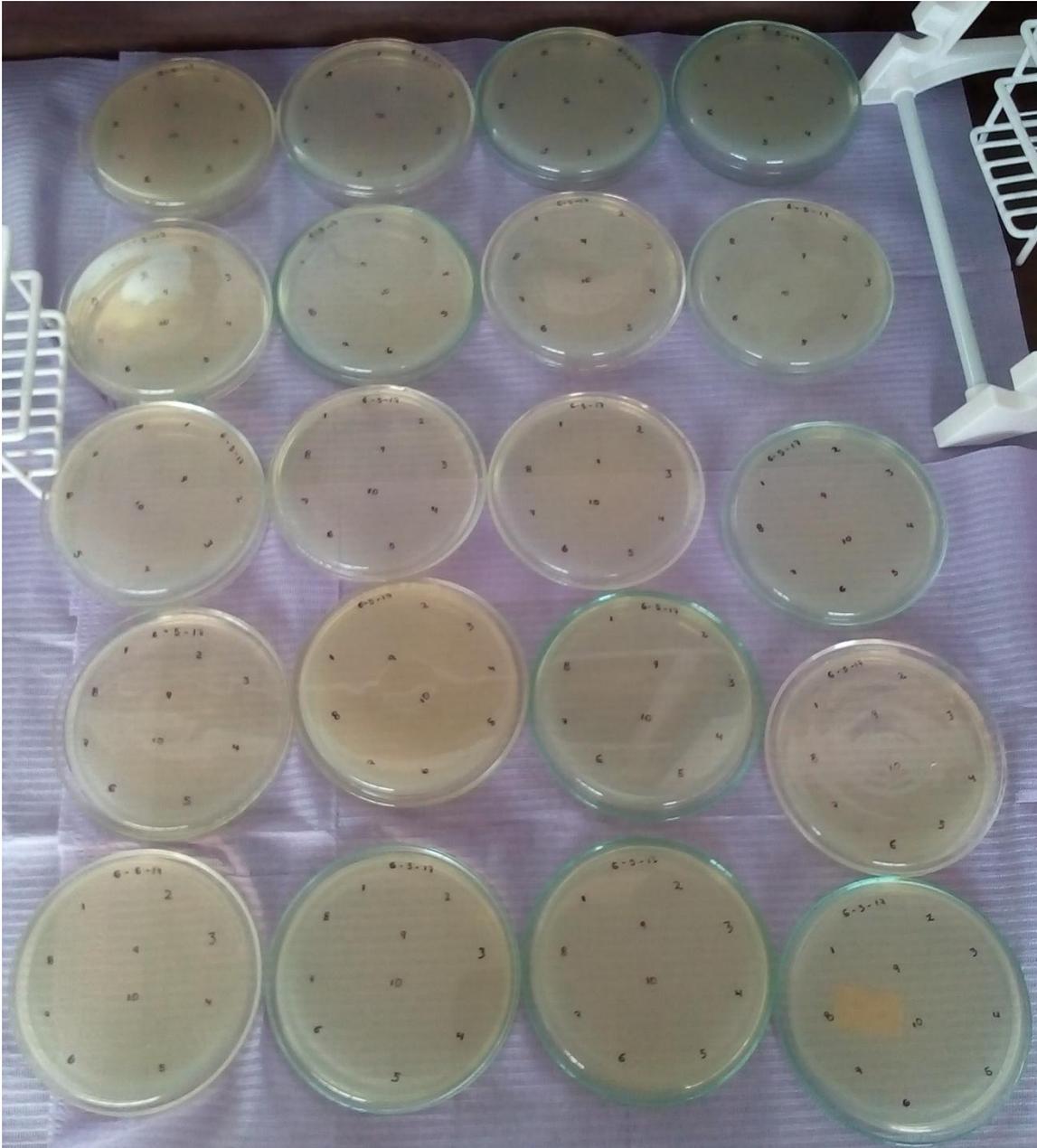


FOTO 5 : PLACAS DE VIDRIO CON AGAR TSA



FOTO 6 : TUBOS DE ENSAYO



FOTO 7 : PREPARANDO LAS DILUCIONES



FOTO 8 : ESTANDARIZANDO LA CEPA



FOTO 9 : CEPA ESTANDARIZADA



FOTO 10 : EXTRACTO DE LAS DISTINTAS VARIEDADES DE HOJA DE COCA A DISTINTAS CONCENTRACIONES JUNTO CON EL CONTROL POSITIVO Y NEGATIVO



FOTO 11 : SIEMBRA DE LA CEPA ESTANDARIZADA EN AGAR TSA



FOTO 12 : DISCOS EMBEBIDOS



FOTO 13 : COLOCACIÓN DE LOS DISCOS EN EL AGAR



FOTO 14 : DISCOS COLOCADOS EN LOS AGARES SEMBRADOS CON LA CEPA STANDARD DE *Streptococcus mutans*



FOTO 15 : COLOCACIÓN DE LAS PLACAS SEMBRADAS EN UNA JARRA EN CONDICIONES DE ANAEROBIOISIS PARCIAL C/CO<sub>2</sub>



FOTO 16 : COLOCACIÓN DE LA JARRA EN LA INCUBADORA A 37°C

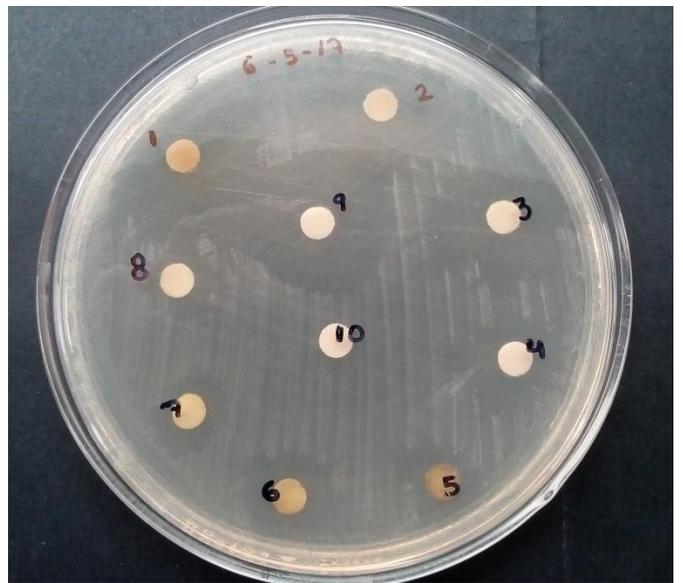
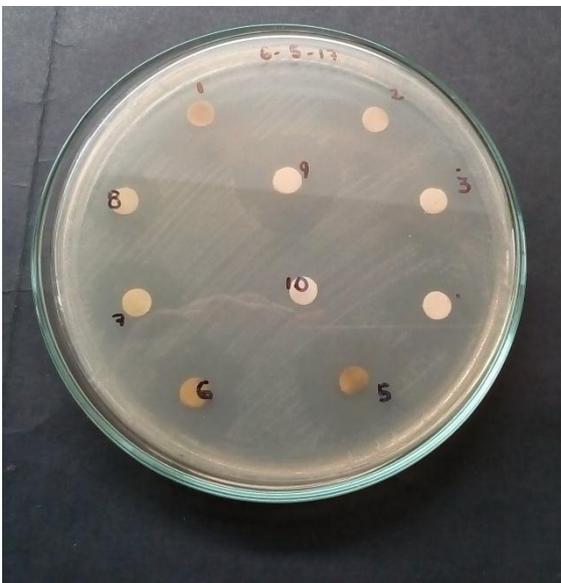


FOTO 17 : LECTURA DE LA SIEMBRA A LAS 48 HORAS

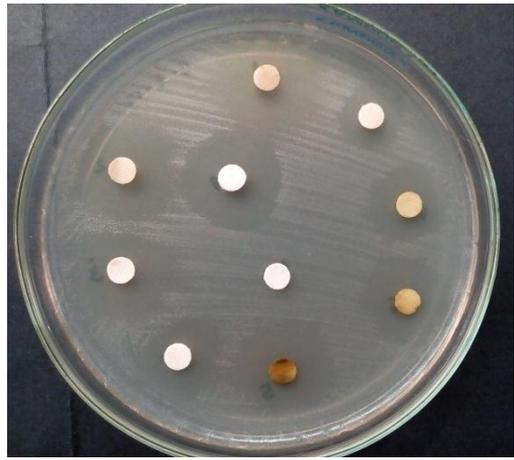
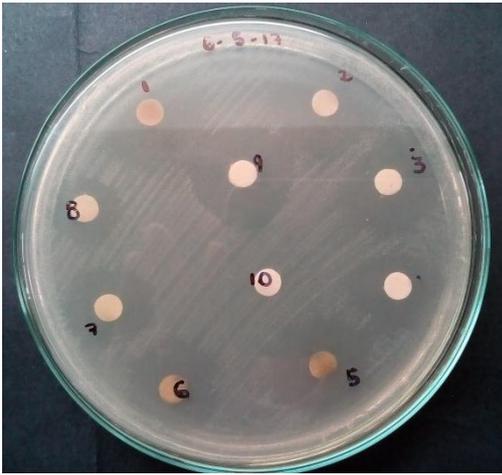


FOTO 18 : LECTURA DE LA SIEMBRA A LAS 48 HORAS