

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGA CON MENCIÓN EN LA ESPECIALIDAD DE  
MICROBIOLOGÍA

Presentado por la:

**Bach. HUAMANÍ CÓRDOVA, Carmen**

AYACUCHO – PERÚ

2021



# ACTA DE SUSTENTACIÓN


R.D. N° 111-2021-UNSC-FCB-D  
Bach. Carmen Huamaní Córdova

En la ciudad de Ayacucho siendo las cuatro de la tarde del día viernes 19 de noviembre del año dos mil veintiuno, se reunieron los miembros del Jurado Calificador en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presidido por el Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez, Dr. José Alarcón Guerrero (Miembro-Jurado), Dr. Víctor Luis Cárdenas López (Miembro – Asesor) y Dr. Serapio Romero Gavilán (Miembro 4<sup>to</sup> Jurado), actuando como secretaria docente Blga. Nilda Aurea Apayco Espinoza, para recepcionar la exposición y defensa de la Tesis titulada: "Efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175"; presentado por la Bach. Carmen Huamaní Córdova. El Presidente luego de dar inicio al acto académico indicó a la secretaria docente dar lectura a la documentación exigida, luego de ello dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos. Culminada la sustentación, el presidente del Jurado invitó a los miembros del Jurado Calificador para que puedan solicitar a la sustentante aclaraciones, ampliación y preguntas sobre el tema de exposición. Culminada esta etapa, el Presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio para que los miembros del Jurado Calificador puedan realizar deliberaciones y calificaciones cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR	EXPOSICIÓN	RESPUESTA A PREGUNTAS	PROMEDIO
Dr. José Alarcón Guerrero	16	16	16
Dr. Serapio Romero Gavilán	17	15	16
		PROMEDIO	16

La sustentante alcanzó la nota de 16 (dieciséis) aprobado.

El presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público al auditorio dando a conocer los resultados terminando el presente acto académico a las 6:20 p.m., firmando al pie del presente en señal de conformidad.



Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
Presidente



Dr. José Alarcón Guerrero  
Miembro - Jurado



Dr. Serapio Romero Gavilán  
Miembro - 4<sup>to</sup> Jurado



Dr. Víctor Luis Cárdenas López  
Miembro - Asesor



Dra. Nilda Aurea Apayco Espinoza  
Secretaria - Docente







FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA


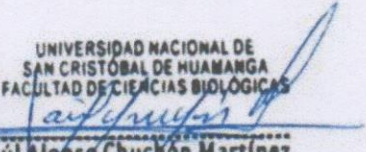
DECANATURA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS N° 033-  
2021-FCB-D

Yo, SAÚL ALONSO CHUCHÓN MARTÍNEZ, Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **“Efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175”**, presentado por la Bach. CARMEN HUAMANÍ CÓRDOVA; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 17%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-C.

En tal sentido, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 14 de diciembre del 2021.

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
  
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
DECANO





Efecto antibacteriano de los  
extractos hidroalcohólico y  
etanólico de las hojas de  
*Erythroxylum coca* Lam "coca"  
frente a *Streptococcus mutans*  
ATCC 25175

*por* Carmen Huamaní Córdova

---

**Fecha de entrega:** 14-dic-2021 08:33a.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 1730187741

**Nombre del archivo:** 1A\_Huaman\_C\_rdova\_Carmen\_Pregrado\_2021\_TURNITIN.docx (214.51K)

**Total de palabras:** 6353

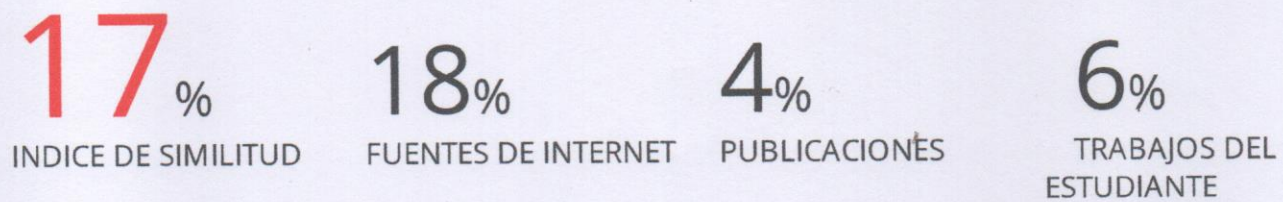
**Total de caracteres:** 34896





# Efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://repositorio.unsaac.edu.pe">repositorio.unsaac.edu.pe</a> Fuente de Internet	4%
2	<a href="http://cybertesis.unmsm.edu.pe">cybertesis.unmsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://docs.bvsalud.org">docs.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://repositorio.uss.edu.pe">repositorio.uss.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	1%
7	<a href="http://dspace.unapiquitos.edu.pe">dspace.unapiquitos.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="http://dokumen.pub">dokumen.pub</a> Fuente de Internet	1%





9	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	1 %
10	1library.co Fuente de Internet	1 %
11	archive.org Fuente de Internet	1 %
12	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	1 %
13	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1 %
14	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Trabajo del estudiante	1 %
15	cl.prvademecum.com Fuente de Internet	1 %
16	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1 %

Excluir citas      Activo

Excluir bibliografía      Activo

Excluir coincidencias < 30 words





A mis padres, mis hermanos y a los  
amigos que siempre estuvieron ahí.



## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a la Facultad de Ciencias Biológicas y en especial a los docentes de la Escuela Profesional de Biología por compartir sus experiencias y conocimientos.

Al Dr. Edwin Enciso Roca y al Mg. Enrique Javier Aguilar Felices por el apoyo en la obtención de los extractos vegetales y el respectivo tamizaje fitoquímico.

Al Biólogo Reynán Cóndor Alarcón, por su guía y apoyo en el análisis estadístico.

Al Dr. Víctor Luis Cárdenas López, por su amistad, dedicación y asesoramiento del presente trabajo de tesis.





# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN	xix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 ANTECEDENTES	3
2.2 MARCO CONCEPTUAL	5
2.2.1. <i>Erythroxyllum coca</i> Lam	5
2.2.2. <i>Streptococcus mutans</i>	6
2.2.3. Caries dental	7
2.2.4. Metabolitos secundarios	8
2.2.5. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1. Lugar de ejecución	11
3.2. Materiales	11
3.2.1. Muestra vegetal	11
3.2.2. Cepa bacteriana	11
3.3. Diseño metodológico	11
3.3.1. Obtención de los extractos	11
3.3.2. Tamizaje fitoquímico	12
3.3.3. Determinación de la actividad antibacteriana	12
3.3.4. Concentración Mínima Inhibitoria	13
3.3.5. Concentración Mínima Bactericida	13
3.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN	13
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	13
IV. RESULTADOS	15
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	31



VIII	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
IX	ANEXOS	37





## ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1	Metabolitos secundarios detectados en los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca". Ayacucho 2020.	16
Tabla 2	Efecto bactericida de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	17
Tabla 3	Determinación del promedio de los halos inhibitorios del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	18
Tabla 4	Determinación del promedio de los halos inhibitorios del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	20
Tabla 5	Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	22
Tabla 6	Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	23



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Prueba de Tukey de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam “coca” frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020..	19
Figura 2 Prueba de Tukey de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam “coca” frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	21





## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.	
Anexo 1	Constancia de identificación de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca". Ayacucho 2020.	37
Anexo 2	Certificado de calidad de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 enviado por el Laboratorio Gen Lab.	38
Anexo 3	Obtención de los extractos hidroalcohólico y etanólico de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca". Ayacucho 2020.	39
Anexo 4	Tamizaje fitoquímico cualitativo de los extractos hidroalcohólico y etanólico de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca". Ayacucho 2020.	40
Anexo 5	Preparación de medios de cultivo. Ayacucho 2020.	41
Anexo 6	Reactivación de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, enviadas por el Laboratorio Gen Lab del Perú. Ayacucho 2020.	42
Anexo 7	Determinación de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	43
Anexo 8	Halos de inhibición formados por los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca". Ayacucho 2020.	44
Anexo 9	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos hidroalcohólico y etanólico de los extractos de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca". Ayacucho 2020.	45
Anexo 10	Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en caldo Infusión Cerebro Corazón. Ayacucho 2020.	46
Anexo 11	Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en Agar Mitis Salivarius. Ayacucho 2020.	47
Anexo 12	Concentración Mínima Bactericida del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en Agar Mitis Salivarius. Ayacucho 2020.	48



Anexo 13	Prueba P de normalidad de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	49
Anexo 14	Análisis de Varianza de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	50
Anexo 15	Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	51
Anexo 16	Prueba de normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	52
Anexo 17	Análisis de Varianza de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	53
Anexo 18	Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Ayacucho 2020.	54
Anexo 19	Matriz de consistencia.	55



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el tipo de investigación fue experimental. Los extractos de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” fueron obtenidos por el método de Maceración y se le realizó el respectivo tamizaje fitoquímico reportándose la presencia de metabolitos secundarios como: alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides y azúcares reductores. La actividad antibacteriana de los extractos se determinó mediante el método del antibiograma disco – placa, teniendo como control a la clorhexidina 0,12% y se evaluaron concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%; se reportó que las concentraciones de: 50%, 75% y 100% del extracto etanólico presentan mayor actividad antibacteriana y no muestran diferencias significativas entre ellas, obteniéndose halos promedios de 12,77 mm, 14,43 mm y 15,00 mm correspondientemente; con respecto al extracto hidroalcohólico se observaron halos promedio de: 7,67 mm, 8,70 mm, 9,47 mm y 12,13 mm para las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente. Asimismo, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria mediante el método de Macrodilución en caldo y la Concentración Mínima Bactericida mediante la siembra en placas, obteniéndose valores similares de CMI y CMB para ambos extractos: 18,75 mg/mL y 75 mg/mL respectivamente. Se concluye que los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% presentan actividad antibacteriana a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras clave:** Actividad antibacteriana, *Erythroxylum coca* Lam, *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



## I. INTRODUCCIÓN

Actualmente se ha incrementado el interés por los productos naturales con propiedades antibacterianas, puesto que los microorganismos no han desarrollado mecanismos de resistencia conocidos contra estos productos naturales y su utilización ya es conocida desde tiempos antiguos (Van Vuuren y Holl, 2017). La UNDOC (2016) menciona que el Perú es uno de los principales países que producen coca a nivel mundial y su consumo es considerada una práctica ancestral. Hoy en día, se mantiene el consumo tradicional de hojas de coca en el territorio peruano y se ha demostrado que quienes la consumen presentan menor prevalencia de caries dental, no obstante, muestran desgaste dental como abrasiones y erosiones (Ramos, 2008).

Investigaciones previas (Cossio Alva, 2018; Gamarra et al.,2017; Loyola Rodas,2019; Negrete y Quispe, 2015; Salcedo Calderón,2018; Vergara Pastor, 2015), demuestran que la hoja de coca tiene efecto antimicrobiano frente a diversos microorganismos, planteándonos con estos resultados la posibilidad de que las hojas de coca tengan efecto antibacteriano sobre bacterias cariogénicas, principalmente sobre *Streptococcus mutans*. El *Streptococcus mutans* habita naturalmente la microbiota oral y es la primera causante de la caries dental (Schelenz et al.,2005).

La caries es una enfermedad infecciosa, crónica y transmisible, se caracteriza principalmente por la destrucción localizada del tejido duro dental (Baca et al.,2002). Según la Organización Mundial de la Salud (2012), la caries es una enfermedad de Salud Pública, esta patología se desarrolla con mayor frecuencia en países del tercer mundo, representando una prevalencia de 60% a 90% en la población escolar y un 100% de prevalencia en personas de edad adulta. En Perú, el Ministerio de Salud (2010) afirma que el 90% de sus habitantes tiene caries dental y se desarrollan con más frecuencia en la población infantil.

Por ello tomando en cuenta las investigaciones previas donde se demuestra el efecto antimicrobiano de las hojas de coca sobre diversas bacterias se realiza la presente investigación, ya que en nuestra región no existe suficiente información acerca de la actividad

de las hojas de coca frente a *Streptococcus mutans*, teniendo como propósito aportar al conocimiento científico y motivar a los futuros investigadores a convertir los conocimientos ancestrales en científicos.

Por esta razón en el presente trabajo de tesis se plantean los siguientes objetivos:

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

### **Objetivos específicos**

- Determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca”.
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

Gamarra et al. (2017) realizaron un tamizaje fitoquímico a los extractos etanólicos de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron, los resultados mostraron gran cantidad de alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas y taninos; pero no se encontró esteroides y quinonas en ambas especies de coca. Asimismo, demostraron que los flavonoides y alcaloides totales de *Erythroxylum coca* Lam presentan mayor efecto antibacteriano contra *S. epidermidis* y *P. aeruginosa* y que *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron presenta mayor actividad contra *E. coli*.

Negrete y Quispe (2015) estudiaron la actividad antibacteriana de hojas secas y frescas de *Erythroxylum coca* Lam provenientes de los departamentos de Cochabamba y La Paz, sobre *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. En la investigación utilizaron tres solventes (solución fisiológica, alcohol (absoluto) y cloroformo) para la obtención de los macerados. Demostrando que los diferentes macerados de hojas secas y frescas presentan efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*, pero no tienen efecto antibacteriano sobre *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Vergara Pastor (2011) evaluó el efecto antibacteriano de dos extractos de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* (extracto acuoso y etanólico) frente a *Streptococcus mutans*, para ello utilizó concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto acuoso obteniendo halos promedios de 6,75 mm, 6,93 mm, 8,00 mm y 12,12 mm; y utilizó concentraciones de 10%, 20%, 35% y 50% del extracto etanólico obteniendo halos promedios de 11,43 mm, 12,12 mm, 12,15 mm y 13,31 mm. Demostrando que ambos tienen efecto antibacteriano. También determinó la Concentración Mínima Inhibitoria por el método de Unidades Formadoras de Colonias y obtuvo como resultados una CMI de 75% y 50% para el extracto acuoso y etanólico respectivamente.

Salcedo Calderón (2018) evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* sobre la bacteria *Streptococcus mutans*, usó concentraciones de 12,5%, 25%, 50% y 100%; y utilizó como control positivo a la clorhexidina 0,12%. Empleó el método de difusión por discos y obtuvo halos promedios de 13,05 mm, 15,45 mm, 17,10 mm y 18,65 mm para las concentraciones de 12,5%, 25%, 50% y 100% del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. *coca* respectivamente y halos promedios de 11,70 mm, 12,65 mm, 14,05 mm y 15,30 mm para las concentraciones de 12,5%, 25%, 50% y 100% del extracto etanólico de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* respectivamente. Para ambos tipos de extractos se usó como control positivo a la clorhexidina 0,12% que obtuvo un halo promedio de 23,30 mm. Llegó a la conclusión de que *Erythroxylum coca* var. *coca* a las concentraciones de 50% y 100% poseen mayor actividad antibacteriana que *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* a la concentración de 100% sobre la bacteria en mención.

Loyola Rodas (2019) evaluó la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam. (*coca*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 usando concentraciones de 50% y 75%. Usó como control positivo a la clorhexidina (a una concentración de 0,12%). Realizó estas mediciones a las 24 y 48 horas, a las 24 horas se obtuvo un halo promedio de 14,13 mm para la clorhexidina 0,12% y halos promedios de 10,13 mm y 11,20 mm para las concentraciones de 50% y 75%. A las 48 horas se observó un halo promedio de 14,26 mm para la clorhexidina 0,12% y halos promedio de 10,50 mm y 11,30 mm para las concentraciones de 50% y 75% respectivamente. Finalmente llegó a la conclusión de que el extracto etanólico de hojas de coca (concentración de 50% y 75%) poseen efecto bactericida sobre *S. mutans* ATCC 25175.

Cossio Alva (2018) evaluó la actividad antibacteriana del extracto hidroetanólico de *Erythroxylum coca* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668, para ello usó tres concentraciones del extracto y obtuvo como resultados halos promedios de 12,57 mm, 20,07 mm y 24,10 mm para las concentraciones de 25 mg/mL, 50 mg/mL y 75 mg/mL respectivamente. Demostrando así que *E. coca* tiene efectividad antibacteriana en sus concentraciones de 75% y 50%.

## **2.2. MARCO CONCEPTUAL**

### **2.2.1. *Erythroxylum coca* Lam**

#### **2.2.1.1. Clasificación sistemática**

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub Clase	:	Rosidae
Orden	:	Linales
Familia	:	Erythroxylaceae
Género	:	Erythroxylum
Especie	:	<i>Erythroxylum coca</i> Lam
N.V	:	“coca”

(ver anexo 1)

#### **2.2.1.2. Descripción botánica**

Machado (1980) menciona que son plantas que pueden llegar a medir hasta 3 metros de altura, sus tallos y ramas son de corteza gris plateada con ramillas rojizas, sus hojas son oblongoelípticas cuyas medidas son 4,2 cm de ancho y 8,0 cm de largo, su grosor varía entre 84 a 174  $\mu\text{m}$  y presentan un color verde oscuro. El fruto tiene una coloración granate, es de tipo drupa y tiene una medida de 10 mm de largo aproximadamente.

#### **2.2.1.3. Composición Química**

Según Brack (2011) las hojas de coca no tienen una composición química uniforme, esto quiere decir que su composición se ve afectada por factores extrínsecos y factores intrínsecos.

Está compuesto principalmente por carbohidratos, proteínas y lípidos; y los metabolitos secundarios encontrados generalmente son los alcaloides, taninos, glicósidos y aceites esenciales. Dentro del grupo de los alcaloides el que destaca es la cocaína (Díaz, 1971).

Gamarra et al. (2017), realizaron un screening fitoquímico demostrando que *E. coca* poseen gran cantidad de alcaloides, fenoles y flavonoides.

Brunetón (2001) menciona que la hoja de coca contiene aceite esencial con salicilato de metilo, flavonoides y taninos; el contenido de alcaloides oscila entre 0,5 – 1,5% según la especie, variedad, origen geográfico etc.

#### **2.2.1.4. Uso medicinal de la coca**

Las hojas de coca han sido usadas desde tiempos antiguos, los indígenas le atribuían propiedades extraordinarias. Éstas hojas eran usadas para calmar el hambre, acelerar la

digestión, su consumo incrementa la concentración de urea en orina y aumenta la secreción urinaria (Barbosa, 1921).

Llosa (2006) refiere que las hojas de coca producen bienestar anímico cardiorrespiratorio, digestivo y actúa como controlador del apetito y del estrés, pero la cualidad más conocida en la actividad anti-fatigante. Zuleta y Daza (2018) afirman que es usada por los indígenas como tratamiento sintomático del dolor de muelas, también mencionan que puede ser usado como tónico laríngeo.

## **2.2.2. *Streptococcus mutans***

### **2.2.2.1. Clasificación taxonómica**

Dominio	:	Bacteria
Filo	:	Firmicutes
Clase	:	Bacilli
Orden	:	Lactobacillales
Familia	:	Streptococcaceae
Género	:	<i>Streptococcus</i>
Especie	:	<i>Streptococcus mutans</i>

Clarke,1294

(The Integrated Taxonomic Information System, s.f.)

### **2.2.2.2. Generalidades del *Streptococcus mutans***

Hamada y Slade (1980) mencionan que la bacteria *Streptococcus mutans* es un coco Gram positivo, presenta forma de cadena no móvil, es catalasa negativa, produce de manera acelerada ácido láctico, fermenta la glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la respectiva producción de ácido. Está catalogado como alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque generalmente no produce hemólisis y de acuerdo a sus propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas se dividen en cuatro serotipos: c, e, f y k.

Esta bacteria por lo regular es conocido como patógeno dental e igualmente puede causar bacteremia y endocarditis infecciosa (Inaba y Amano, 2010).

Clarke lo denominó *S. mutans* por las morfologías mutantes en que se presenta: cocobacilo (forma ovalada) en un medio ácido y coco (forma redonda) en un medio alcalino. Es anaeróbica facultativa, no obstante, su crecimiento óptimo ocurre en ausencia de oxígeno (H<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub>: N<sub>2</sub>; 10:10:80, durante 48 - 72 h a 37 °C) (Loesche, 1986).

Por medio de los trabajos de Paul Keyes y colaboradores se demostró la capacidad del *Streptococcus mutans* para producir caries, también se comprobó el origen infeccioso de esta enfermedad, puesto que la caries no aparecía sin la presencia de la bacteria (Liébana et al.,2002).

### **2.2.2.3. Factores de virulencia del *Streptococcus mutans***

Los estreptococos del grupo mutans metabolizan la sacarosa de manera rápida dándole un poder cariogénico a este grupo (Baca et al.,2002). Las glucosiltransferasas (Gtfs) de la bacteria *Streptococcus mutans* desempeñan papeles críticos en el desarrollo de la placa dental virulenta (Bowen y Koo, 2011).

Baca et al. (2002) mencionan que:

Metabólicamente otros factores de virulencia son: poder acidógeno (producen ácidos), poder acidófilo (toleran ambientes ácidos), poder acidúrico (mantienen la producción de ácidos a pH ácido), metabolizan rápidamente azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos, pueden conseguir el pH crítico para la desmineralización del esmalte más rápidamente que cualquier otro microorganismo que está presente en la placa, producen polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa, producen y movilizan polisacáridos intracelulares y producen dextranasas y fructanasas. (p.567)

### **2.2.3. Caries dental**

De la Rosa et al. (2011) mencionan que:

La caries es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico y de etiología multifactorial que origina la destrucción del diente. En su aparición intervienen factores del huésped, de naturaleza estructural y funcional (diente, flujo de saliva, etc), factores derivados de la dieta y factores relacionados con las bacterias cariogénicas. (p. 307)

Ryan et al. (2010) mencionan que las lesiones causadas por la caries se desarrollan del interior hacia la parte externa del diente, dichas lesiones pueden extenderse hacia los tejidos periodontales.

#### **2.2.3.1. Etiología de la caries dental**

Interpretando la trilogía etiológica de Keyes, modificada por Newbrum, Baca et al. (2002) menciona que para el desarrollo de la caries dental se necesitan tres factores que deben mantenerse por un tiempo: “un hospedador susceptible, una microbiota cariogena o cariogénica localizada en la placa bacteriana y un sustrato adecuado (este sustrato es obtenida por la dieta y servirá como fuente de energía a los microorganismos)” (p. 561).

Ryan et al. (2010) afirman que los glúcidos que se encuentran en la placa dental son degradados rápidamente y hay una acumulación excesiva de ácidos orgánicos causando una disminución del pH, como consecuencia provocan una desmineralización, esto hasta agotar

los glúcidos; por consiguiente, se origina un ciclo de desmineralización-reminerización que dependerá de la cantidad de azúcares que serán incluidas en la dieta.

### **2.2.3.2. Microorganismos relacionados a la caries dental**

Baca et al (2002) afirman que los microorganismos más implicados en el inicio y el desarrollo de la caries son: estreptococos del grupo mutans, *Lactobacillus spp.* y *Actinomyces spp.*

Ryan et al. (2010) afirman que:

*Streptococcus mutans* es considerado el microorganismo dominante para el inicio de la caries. Múltiples miembros de la biopelícula participan en la evolución de las lesiones; estos incluyen otros streptocococos (*S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sabrinus*), lactobacilos (*L. acidophilus*, *L. casei*,) y actinomicetos (*A. viscosus*, *A. naeslundii*). (p.690)

### **2.2.4. Metabolitos secundarios**

Según Wink (1999) los metabolitos secundarios son compuestos que poseen bajo peso molecular y poseen una importancia ecológica, estos metabolitos secundarios por su composición química son clasificados en: nitrogenados (alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos) y no nitrogenados (Terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides).

#### **Alcaloides**

Bruneton (2001) refiere que están conformados por un átomo de nitrógeno que forma parte de un sistema heterocíclico y poseen una actividad farmacológica significativa, son compuestos orgánicos de origen natural (normalmente vegetal), nitrogenado, más o menos básico, de distribución restringida y se encuentran esencialmente en las angiospermas, algunos autores estiman que entre un 10-15% de ellas sintetizan este tipo de molécula; cabe resaltar que todos los alcaloides de una misma planta tienen el mismo origen biogénico pese a que sus estructuras son distintas, sin embargo, se sabe muy poco del papel de los alcaloides en los vegetales.

Wink y Schimmer (1999) mencionan que los efectos inhibitorios de los alcaloides sobre el crecimiento de microorganismos patógenos están dados por su capacidad de intercalarse con el DNA puesto que detienen la síntesis de proteínas, inducen la apoptosis e inhiben las enzimas que participan en el metabolismo de los glúcidos.

#### **Terpenos y/o esteroides**

Los terpenos están formados por unidades isoprénicas (Bruneton, 2001). Se originan por la unión de 5 carbonos denominados isopreno y están divididos de acuerdo al número de isoprenos que poseen en su estructura (Eisenreich et al, 2001).

## **Flavonoides**

Bruneton (2001) afirma que los flavonoides actúan generalmente como pigmentos en los vegetales, casi siempre son hidrosolubles, le da coloración a las flores, frutos y a veces a las hojas; y todos ellos poseen un origen biosintético común. Faraa y Tahara (1999) refieren que los flavonoides actúan en la defensa de las plantas frente a: los microorganismos (bacterias, virus), insectos, otros animales herbívoros, radiación UV de los rayos solares, las otras plantas (efecto alelopático), y el entorno (medio ambiente agresivo).

Los flavonoides tienen gran cantidad de propiedades biológicas como: antioxidantes, antibacterianas, antivirales y muchas de las actividades terapéuticas que tienen las plantas medicinales son gracias a estos metabolitos secundarios (Álvarez y Orallo, 2003).

## **Saponinas**

Las saponinas forman un grupo amplio de heterósidos los cuales se encuentran habitualmente en los vegetales. Se caracterizan por ser tenso-activas y formar disoluciones espumosas en el agua (Bruneton, 2001).

Las saponinas presentan diversas actividades biológicas y farmacológicas como: actividad hemolítica, tenso activa, actividad antibacteriana, antitumoral, etc. (Hassan et al., 2010)

## **Quinonas**

Son compuestos oxigenados que corresponden a la oxidación de derivados aromáticos, se caracterizan por un agrupamiento 1,4-dicetociclohexa-2,5-diénico (para-quinonas) u ocasionalmente, por un agrupamiento 1,2-dicetociclohexa-3,5-diénico (orto-quinonas) (Bruneton, 2001). Por su coloración que va de amarillo a violeta contribuye en la pigmentación de algunos vegetales (Domínguez, 1985).

### **2.2.5. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos**

Citando a SEIMC(2000):

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo objetivo es el de evaluar a nivel de laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, para aproximar su eficacia al ser aplicado clínicamente. (p.4)

#### **2.2.5.1. Métodos de Difusión**

Cavaliere et al. (2005) mencionan que el NCCLS tomó como referencia los trabajos realizados por Bauer para describir los procedimientos de difusión por disco, los cuales deben de tomarse como guía para obtener resultados confiables.

### **Método del antibiograma disco - placa (Técnica de Bauer & Kirby)**

El método del antibiograma disco - placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar, transcurridas las 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. (SEIMC, 2000,p. 4)

SEIMC (2000) menciona que “la lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el NCCLS” (p. 5).

#### **2.2.5.2. Métodos de dilución**

SEIMC (2000) afirma que “tradicionalmente los métodos de dilución se han usado para la determinación de la CMI y la concentración mínima bactericida (CMB) de los antimicrobianos” (p.18).

#### **Método de Macrodilución en caldo**

Según la SEIMC (2000) “el método de Macrodilución en caldo se emplea por cada combinación microorganismo/antimicrobiano en una batería de tubos” (p. 22).

Generalmente se dispone de una batería de tubos de ensayo que contengan solo medio estéril, al primer tubo se le agrega el antibiótico y a partir de ella se realizará diluciones seriadas hasta la dilución más baja que queramos estudiar, posterior a ello la batería de tubos será inoculada con el microorganismo a estudiar. También se tendrá un tubo de ensayo que contenga solo 1 mL de caldo estéril que será considerada como el control (SEIMC, 2000).



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Toxicología “Rubén Gil Salas” de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en los meses de noviembre - diciembre de 2020 y enero a febrero de 2021.

#### 3.2. Materiales

##### 3.2.1. Muestra vegetal

Se empleó 1 Kg de hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” que se obtuvieron en el mercado Andrés F. Vivanco Amorín de Ayacucho en el mes de noviembre del año 2020.

##### 3.2.2. Cepa bacteriana

Se utilizó la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, que fue adquirida de la empresa Microbiologics a través de Gen Lab del Perú S.A (ver anexo 2).

#### 3.3. Diseño metodológico

##### 3.3.1. Obtención de los extractos

###### Secado y preparación de la muestra vegetal

Luego de adquirir la muestra vegetal se procedió a retirar las materias extrañas que se encontraban junto a las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca”, posterior a ello las hojas fueron secadas por tres días en un ambiente con buena ventilación (Miranda y Cuéllar, 2013).

###### Molienda y tamizado

Después del secado, las hojas de *Erythroxylum coca* Lam fueron trituradas usando una licuadora hasta la obtención de un polvo fino (Miranda y Cuéllar, 2013).

###### Obtención de los extractos hidroalcohólico y etanólico

Para la obtención del extracto hidroalcohólico se usó el método de Maceración, se pesó 250 gramos de muestra seca y triturada que fueron colocadas en un frasco de boca

ancha al cual se le agregó alcohol al 80% (hasta cubrir la muestra completamente), se dejó macerar en un ambiente oscuro por 10 días con agitación diaria. Posterior a ello se filtró el macerado con papel Whatman número 23, Seguidamente se procedió a concentrar el extracto con ayuda de un rotavapor R 300 Buchi. Finalmente se colocó la muestra en la estufa a una temperatura a 45°C hasta obtener un extracto blando. Para la obtención del extracto etanólico se siguió el mismo procedimiento con la variación de que se usó como solvente alcohol al 96% (alcohol etílico) (Miranda y Cuéllar, 2013). (Ver anexo 3).

### **Preparación de las concentraciones**

Luego de obtener los extractos, se procedió a preparar las concentraciones de 25% (25 g/100 mL), 50% (50 g/100 mL), 75% (75 g/100 mL) y 100% (100 g/100 mL). Usando la fórmula de porcentaje de masa – volumen (% m/v) (Rodríguez, 2017). Se halló los gramos de extracto para preparar cada tipo de concentración, para la concentración de 25% se pesará 0.5 gramos de extracto las cuales se disolverán en 1 mL de agua destilada estéril para luego aforar este volumen a 2 mL, se siguió el mismo procedimiento para preparar las demás concentraciones.

### **3.3.2. Tamizaje Fitoquímico**

Se identificó los distintos metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” siguiendo los procedimientos descritos por la Dra. Migdalia Miranda Martínez (Miranda y Cuéllar, 2013). (ver anexo 4).

### **3.3.3. Determinación de la actividad antibacteriana**

La determinación de la sensibilidad antibacteriana Se realizó por el método del antibiograma disco – placa (SEIMC, 2000).

### **Preparación de medios de cultivo**

Se preparó el Agar mitis salivarius, el Agar Mueller - Hinton y el caldo Infusión cerebro corazón, tomando en cuenta las instrucciones del fabricante. (ver anexo 5).

### **Preparación del inóculo**

Se tomó colonias de *Streptococcus mutans* con un asa a partir de una placa de cultivo de 18 a 24 horas y se inóculo en caldo infusión cerebro corazón para luego incubarlas a 37°C hasta alcanzar una turbidez de 0.5 de la escala de McFarland (SEIMC, 2000). (ver anexo 6)

### **Inoculación de las placas**

- Se tomó un hisopo estéril y se introdujo dentro de la suspensión preparada (SEIMC, 2000).
- Se procedió a inocular las placas que contenían agar Mueller-Hinton de manera uniforme por toda su superficie y se dejó reposar 5 minutos antes de depositar los discos (Cavaliere et al., 2005).

### **Dispensación de los discos**

- Con una pinza estéril se tomó un disco de papel Whatman conteniendo clorhexidina 0,12% y se colocó en el centro de la placa, presionando ligeramente sobre la superficie del agar (SEIMC, 2000).
- Luego se procedió a dispensar alrededor los discos de papel Whatman con las diferentes concentraciones de los extractos preparados, evitando la superposición de los halos de inhibición. (SEIMC, 2000). (ver anexo 7).
- Las placas se incubaron invertidas a 35°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 24 horas (Cavaliere et al., 2005). La lectura se realizó con ayuda de un vernier. (ver anexo 8).

#### **3.3.4. Concentración Mínima Inhibitoria**

- Se utilizó el método de Macrodilución, para lo cual se preparó una batería de 14 tubos, se rotuló los tubos del 1 al 12, un control positivo y un control negativo (SEIMC, 2000).
- Se agregó a los 14 tubos 1 mL de caldo Infusión Cerebro Corazón (SEIMC, 2000).
- Se adicionó 1 mL del extracto al tubo número 1 a partir del cual se tomará 1 mL y se transvasó al tubo número 2; y así consecutivamente hasta el tubo número 12, al que se le descartó 1 mL (SEIMC, 2000).
- Luego se agregó 0.1 mL de inóculo de la cepa de *Streptococcus mutans* a los 12 tubos y al tubo del control positivo. El tubo del control negativo solo contenía Caldo Infusión Cerebro Corazón (SEIMC, 2000).
- Se llevó a incubar todos los tubos a 35°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 24 horas. (Cavaliere et al., 2005). (ver anexo 9).
- Se determinó como Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) al tubo donde se observó ausencia de turbidez en el medio (SEIMC, 2000). (ver anexo 10).

#### **3.3.5. Concentración Mínima Bactericida**

- Se determinó la Concentración Mínima Bactericida a partir de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM), luego de observar la turbidez al determinar la CIM se procedió a sembrar los caldos no turbios en las placas de Agar Mitis Salivarius (SEIMC, 2000).
- Se llevó a incubar a 35°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 24 horas (Cavaliere et al., 2005).
- La lectura se realizó mediante observación directa (SEIMC, 2000). (ver anexo 11 y 12)

### **3.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Básico- Experimental

### **3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos fueron procesados con el programa Microsoft Excel. Se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias con la prueba Tukey.



#### **IV. RESULTADOS**

**Tabla 1.** Metabolitos secundarios detectados en los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca”. Ayacucho 2020.

Metabolitos Secundarios	Ensayos	Resultados	
		Extracto hidroalcohólico	Extracto Etanólico
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff	++	++
	Ensayo de Mayer	+++	+++
	Ensayo de Wagner	+++	+++
Quinonas	Ensayo de Borntrager	-	-
Fenoles y taninos	Ensayo de cloruro férrico	+++	+++
Flavonoides	Ensayo de Shinoda	+++	+++
Triterpenos y/o esteroides	Ensayo de Lieberman – Burchard	-	-
azúcares reductores	Ensayo de Fehling	++	++
	Ensayo de Benedict	++	++
Mucílagos	Ensayo de Mucílagos	-	-
Saponinas	Ensayo de la espuma	+	-

**Leyenda:**

-: ausente

+: Escaso

++: Moderado

+++ : Abundante

**Tabla 2.** Efecto bactericida de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

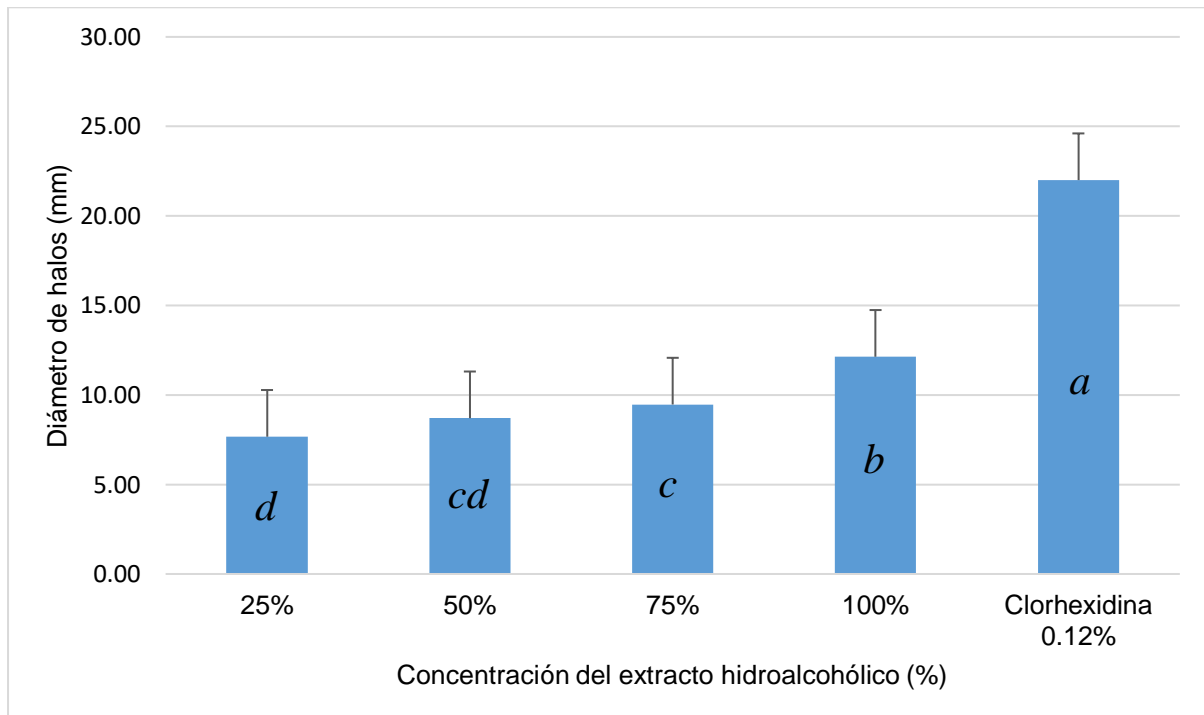
<b>Concentración de extracto en %</b>	<b>extracto hidroalcohólico de <i>Erythroxylum coca</i> Lam</b>	<b>extracto etanólico de <i>Erythroxylum coca</i> Lam</b>
25%	SI	SI
50%	SI	SI
75%	SI	SI
100%	SI	SI
Clorhexidina 0,12% (control)	SI	SI

**Tabla 3.** Determinación del promedio de los halos inhibitorios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca Lam* “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

<b>Concentración del extracto hidroalcohólico</b>	<b>N</b>	<b>Media (mm)</b>
25%	3	7,67 ± 0,59 <i>d</i>
50%	3	8,70 ± 0,62 <i>cd</i>
75%	3	9,47 ± 0,47 <i>c</i>
100%	3	12,13 ± 0,15 <i>b</i>
clorhexidina 0,12% (control)	3	22,00 ± 0,92 <i>a</i>



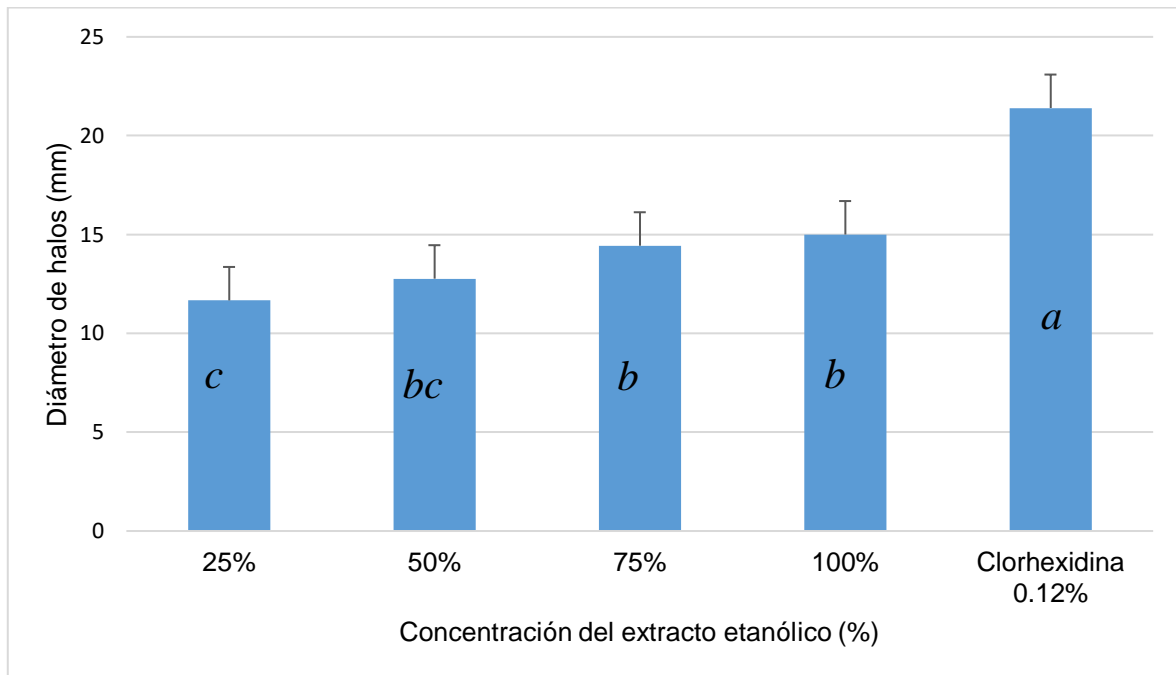
**Figura 1.** Prueba de Tukey de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.



**Tabla 4.** Determinación del promedio de los halos inhibitorios del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

<b>Concentración del extracto etanólico</b>	<b>N</b>	<b>Media (mm)</b>
25%	3	11,67 ± 1,53 c
50%	3	12,77 ± 0,67 bc
75%	3	14,43 ± 0,49 b
100%	3	15,00 ± 1,00 b
clorhexidina 0,12% (control)	3	21,40 ± 0,53 a

**Figura 2.** Prueba de Tukey de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.



**Tabla 5.** Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

Número de Tubo	Concentración (mg/mL)	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175
1	300	-
2	150	-
3	75	CMB
4	37,5	-
5	18,75	CMI
6	9,38	+
7	4,69	+
8	2,35	+
9	1,8	+
10	0,9	+
11	0,45	+
12	Control	+

**Leyenda**

- : No hubo crecimiento

+: Hubo crecimiento

**CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria

**CMB:** Concentración Mínima Bactericida

**Tabla 6.** Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

Número de Tubo	Concentración (mg/mL)	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175
1	300	-
2	150	-
3	75	CMB
4	37,5	-
5	18,75	CMI
6	9,38	+
7	4,69	+
8	2,35	+
9	1,8	+
10	0,9	+
11	0,45	+
12	Control	+

**Leyenda**

- : No hubo crecimiento

+: Hubo crecimiento

**CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria

**CMB:** Concentración Mínima Bactericida



## V. DISCUSIÓN

En la tabla 1 se observan los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca", los metabolitos secundarios encontrados en ambos extractos fueron: Alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides y azúcares reductores, se resalta la presencia de gran cantidad de flavonoides y alcaloides; según Álvarez y Orallo (2003) los flavonoides tienen propiedades antioxidantes, antibacterianas, antivirales y muchas de sus propiedades terapéuticas que tienen las plantas son gracias a estos metabolitos. Por otro lado, Wink y Schimmer (1999) mencionan que los alcaloides inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos gracias a su capacidad de intercalarse con el DNA, detienen la síntesis de proteínas, inducen la apoptosis e inhiben las enzimas del metabolismo de carbohidratos. Esto explicaría las propiedades antimicrobianas de la hoja de coca. Sin embargo al realizar el tamizaje fitoquímico no se observaron la presencia de quinonas, triterpenos y/o esteroides; adicionalmente se encontró la presencia de saponinas en el extracto hidroalcohólico; estos resultados guardan relación con los reportes de Gamarra et al. (2017) quienes evidencian la presencia de gran cantidad de alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas y taninos, pero mencionan que no se encontraron la presencia de esteroides y quinonas al realizar el tamizaje fitoquímico a los extractos etanólicos de *Erythroxylum coca* Lam y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron, también señalan que los flavonoides y alcaloides aislados del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* Lam tienen mayor actividad antibacteriana contra *S. epidermidis* y *P. aeruginosa*.

Del mismo modo Negrete M y Quispe A (2015), demostraron que los extractos de hojas secas y frescas de *Erythroxylum coca* Lam presentan efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*, pero no tienen efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. En nuestra investigación uno de los objetivos fue evaluar el efecto

antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y observamos que ambos extractos presentan efecto antibacteriano a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% como se presenta en la tabla 2.

En la tabla 3 podemos observar el promedio de los halos de inhibición obtenidos al enfrentar el extracto hidroalcohólico de *Erythroxylum coca* Lam "coca" al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, observamos que el halo de mayor longitud fue obtenido por la clorhexidina 0,12% (control) cuya medida fue de 22,00 mm. Bascones y Morante (2006) mencionan que La clorhexidina es el antiséptico oral de mayor elección por su efectividad alta; reduce la formación de la película adquirida, altera el desarrollo bacteriano y evita la inserción de estos microorganismos al diente; La clorhexidina se une a la membrana celular de la bacteria y a concentraciones menores induce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático) y a concentraciones elevadas provoca la precipitación del citoplasma bacteriano y por ende causa la muerte celular (efecto bactericida). El halo obtenido por la clorhexidina 0,12% (control) fue significativamente superior a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% cuyo promedio de halos de inhibición fueron de 7,67 mm, 8,70 mm, 9,47 mm, y 12,13 mm respectivamente estos resultados tienen similitud a los obtenidos por Vergara Pastor (2011) quien evaluó concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto acuoso de *Erythroxylum novogranatense* var *truxillense* obteniendo halos promedios de: 6,75 mm, 6,93 mm, 8,00 mm y 12,00 mm. No obstante, estos resultados son diferentes a los obtenidos por Cossio Alva (2018) quien evaluó concentraciones de 25%, 50% y 75% del extracto hidroetanólico de *Erythroxylum coca* y obtuvo halos promedios de mayor tamaño: 12,57 mm, 20,07 mm y 24,10 mm, finalmente llegó a la conclusión de que la concentración del 75% y 50% tienen efecto significativo, pero la concentración del 25% no es significativa.

En la Figura 1 se muestran los resultados luego de aplicar la prueba Tukey al promedio de los halos de inhibición al enfrentar el extracto hidroalcohólico de *Erythroxylum coca* Lam "coca" y la clorhexidina 0,12% sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Se evidenció que la clorhexidina 0,12% difiere significativamente de todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico, por otro lado las concentraciones de 100% y 75% difieren significativamente con halos promedios de 12,13 mm y 9,47 mm, siendo la concentración de 100% con la que se obtiene mejores resultados de efecto inhibitorio luego de la clorhexidina 0,12%.

En la tabla 4 se reportan los halos inhibitorios obtenidos al evaluar el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, en el que se usó 4 concentraciones diferentes del extracto (25%,50%,75% y 100%) y se empleó como control a la clorhexidina 0,12%. Se observa que la clorhexidina 0,12% mostró mayor promedio de halos inhibitorios con una medida de 21,40 mm siendo significativamente



superior a los efectos inhibitorios de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto etanólico con los cuales se obtuvieron halos de 11,67 mm, 12,77 mm, 14,43 mm, 15,00 mm. Además, como se muestra en la figura 2, las concentraciones del 50%, 75% y 100% del extracto etanólico no muestran diferencias significativas al aplicarles la prueba Tukey, siendo estas concentraciones con las que se obtienen mejores resultados de efecto inhibitorio luego de la clorhexidina 0,12%. En tal sentido estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Vergara Pastor (2011) quien evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. truxillense al 10%, 20%, 35% y 50% sobre *S. mutans* y obtuvo halos de 11,43 mm, 12,12 mm, 12,5 mm y 13,31 mm respectivamente, concluyendo que estos extractos poseen efecto inhibitorio. No obstante Loyola Rodas (2019) determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam (coca) sobre *S. mutans* ATCC 25175, obteniendo halos de menor tamaño: 10,13 mm y 11,20 mm para las 24 horas para las concentraciones de 50% y 75%; y halos de 10,50 mm y 11,30 mm a las 48 horas para las concentraciones de 50% y 75% respectivamente. En el caso de la clorhexidina 0,12% obtuvo halos de 14,13 mm a las 24 horas y 14,26 mm a las 48 horas, finalmente llegó a la conclusión de que el extracto a las concentraciones del 50% y 75% si presentan efecto antibacteriano.

Y por otro lado Salcedo Calderón (2018) evaluó el extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. coca sobre *Streptococcus mutans* y obtuvo halos promedios de 13,05 mm, 15,45 mm, 17,10 mm y 18,65 mm para las concentraciones de 12,5%, 25%, 50% y 100% respectivamente, es decir obtuvo halos de mayor tamaño, y con la clorhexidina 0,12% obtuvo un halo promedio de 23,30 mm. Como se observa obtuvo halos de mayor tamaño a la concentración de 50% y 100% y estas no mostraron diferencias significativas, siendo las concentraciones más eficientes luego de la clorhexidina 0,12%.

Con respecto a los datos obtenidos en la investigación realizada mencionamos que con el extracto etanólico a concentraciones de 50%, 75% y 100% se obtienen halos de mayor tamaño a comparación de las concentraciones evaluadas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca", sin embargo, ambos extractos poseen actividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" se muestran en la tabla 5, obteniéndose la Concentración Mínima Inhibitoria a la concentración de 18,75 mg/mL y la Concentración Mínima Bactericida a una concentración de 75 mg/mL. De igual forma en la tabla 6 se reporta la CMI y CMB del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca", se obtuvo la concentración Mínima Inhibitoria a una concentración de 18,75 mg/mL y la concentración Mínima Bactericida a una concentración de 75 mg/mL. con respecto a la Determinación de la CMI Y CMB los estudios realizados son

escasos. No obstante, en el estudio realizado por Vergara Pastor (2011), se determinó la CMI de los extractos acuoso y etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* (coca) frente a *Streptococcus mutans* usando la metodología del conteo de Unidades Formadoras de Colonias y concluyó que la CMI para el extracto acuoso es del 75% y la CMI para el extracto etanólico es al 50%.

## VI. CONCLUSIONES

- Los metabolitos secundarios hallados en los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” fueron: alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides y azúcares reductores; No se observaron la presencia de quinonas, triterpenos y/o esteroides; pero se identificó la presencia de saponinas en el extracto hidroalcohólico.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” presenta efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en todas las concentraciones evaluadas, obteniéndose halos promedios de :7,67 mm; 8,70 mm; 9,47 mm y 12,13 mm para las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente.
- El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” presenta efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% obteniéndose halos promedio de:11,67 mm; 12,77 mm; 14,43 mm y 15,00 mm respectivamente.
- La Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida para el extracto hidroalcohólico de *Erythroxylum coca* Lam “coca” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fue de: 18,75 mg/mL y 75 mg/mL respectivamente; para el extracto etanólico de *Erythroxylum coca* Lam “coca” fue de: 18,75 mg/mL y 75 mg/mL correspondientemente.



## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios utilizando otro tipo de solventes para la extracción de sustancias bioactivas de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca” y evaluarlas sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Realizar estudios para evaluar la toxicidad de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas se *Erythroxylum coca* Lam “coca”.
- Determinar cuantitativamente los metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas se *Erythroxylum coca* Lam “coca”.
- Aislar los principales metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana y enfrentarlos al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de distintas variedades de hojas de coca sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Comparar el efecto antibacteriano de la saliva de los masticadores de hojas de coca y los extractos evaluados en la investigación sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, E., & Orallo, F. (2003). Actividad biológica de los flavonoides, acción frente al cáncer. *OFFARM.Revista de la Oficina de Farmacia*, 22(10), 131-133.
- Baca García, P., Baca García, A., & Maestre Vera, J. (2002). Microbiología de la Caries. En J. Liébana, *Microbiología Oral* (Segunda ed., págs. 561-570). España: McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA.
- Barbosa, R. M. (1921). *Apuntes sobre anestesia local y general*. Bogotá, Colombia: Biblioteca Luis Ángel Arango del Banco de la República.
- Bascones, A., & Morante, S. (2006). Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*. 18(1), 21-29. Obtenido de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1699-65852006000100004&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852006000100004&lng=es&tlng=es).
- Bowen, W. H., & Koo, H. (Enero de 2011). Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries research*, 45(1), 69 - 86. doi:<https://doi.org/10.1159/000324598>
- Brack , A. (2011). *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú* (Segunda ed.). Lima: Fondo Editorial ARR.
- Brack, A., & Heinz, P. (2002). *Perú Maravilloso*. Lima: Epenza. Empresa Peridodística Nacional SAC.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia.Fitoquímica.Plantas medicinales* (Segunda ed.). Zaragoza, España: Acribia S.A.
- Cavaleri, S., Harbeck, R., McCarter, Y., Ortez, J., Rankin, I., & Sautter, R. (2005). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana*. Obtenido de <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
- Cossio Alva, B. (2018). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Erythroxylum coca "coca" frente Streptococcus mutans ATCC 35668*. Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista, Universidad Señor de Sipán, Lambayeque - Perú. Obtenido de <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/5516/Cossio%20Alva%20Bryan%20Alexis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- De la Rosa, M., Prieto, J., & Navarro, J. (2011). *Microbiología en ciencias de la Salud* (Tercera ed.). Elsevier.
- Díaz, L. (1971). Coca Leaves, Cocaine and its substitutes. *Circular Farmacéutico*, 230(29), 59-81.
- Domínguez, X. (1985). *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa.
- Eisenreich, W., Rohdich, F., & Bacher, A. (2001). Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. *Trends in Plant Science*, 6, 78-84.
- Faraa , M., & Tahara, S. (1999). Fungal metabolism of flavonoids and related phytoalexins. *Phytochemistry*, 2, 1-33.
- Gamarra , V., Fuertes , C., Chavez, N., Contreras, D., Goya, E., Huamantumba, K., . . . Ruiz, G. (2017). Metabolitos en las hojas de *Erythroxylum coca Lam* y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Vieron y evaluacion de sus propiedades biologicas mediante

- Hamada, S., & Slade, H. (1980). Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev*, 44(2), 331- 84.
- Hassan, M., Haq, U. A., Byrd, J. A., Berhow, M. A., Cartwright, A. L., & Bailey, S. A. (2010). Haemolytic and antimicrobial activities of saponin-rich extracts from guar meal. *Food Chemistry*, 119, 600 - 605.
- Inaba, H., & Amano, A. (2010). Roles of Oral Bacteria in Cardiovascular Diseases - From Molecular Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 113(2), 103-9.
- Liébana, J., Castillo, A. M., & García, F. (2002). Evolución histórica de la Microbiología. Desarrollo de la Microbiología Oral. En J. Liébana, *Microbiología Oral* (Segunda ed., págs. 12-13). España: McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA.
- Llosa, T. (2006). *Terapia de la cocalización*. Lima - Perú: Juan Gutemberg.
- Loesche, W. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.*, 50(4), 353-80.
- Loyola Rodas, D. (2019). *Actividad antibacteriana de hojas de Erythroxylum coca Lam. (coca) y Schinus molle L. (molle) frente a Streptococcus mutans cepa ATCC 25175*. Tesis para obtener el título profesional de Cirujano Dentista, Universidad Nacional Federico Villareal, Lima - Perú. Obtenido de <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/2819>
- Machado, E. (1980). *Determinación de variedades y cultivares en cocas peruanas*. Lima-Perú: Edit. Pacific Press.
- Marsh, P., featherstone, A., Mckee, A., Hallsworth, A., Robinson, C., Weatherell, J., & etal. (1989). A microbiological study of early caries of approximal surfaces in schoolchildren. *J Dwt Res.*, 68(7), 1151-4.
- Martínez, A., Valencia, G., Jiménez, N., Mesa, M., & Galeano, E. (2008). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica 2008*. Medellín: Universidad de Antioquía.
- Ministerio de Salud. (2010). *Módulo de promoción de la salud bucal* (Segunda ed.). Lima: Minsa. Obtenido de <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2573.pdf>
- Miranda, M., & Cuéllar, A. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio/métodos de extracción: Farmacognosia y productos naturales*. Cuba: Universidad de La Habana.
- Negrete, M., & Quispe, A. (2015). Estudio in vitro de la capacidad antibacteriana de la hoja de coca (*Erythroxylum coca Lam*) frente a bacterias ATCC *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Univ. Cienc. Soc.*, 15(38-47). Recuperado el 04 de Abril de 2021, de [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S8888-88882015000200007&lng=en&nrm=iso](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S8888-88882015000200007&lng=en&nrm=iso)
- Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito. Perú. (2016). *Monitoreo de Cultivos de Coca - 2015* (Vol. 102 p.). Lima: Imaginem. Obtenido de [https://www.unodc.org/documents/crop-monitoring/Peru/Peru\\_monitoreo\\_coca\\_2016.pdf](https://www.unodc.org/documents/crop-monitoring/Peru/Peru_monitoreo_coca_2016.pdf)
- Organización Mundial de la Salud. (2012). *Salud Bucodental; Centro de Prensa Nota N° 318*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>



- Pérez, K. (2016). *Síntesis, caracterización electroquímica y reactividad con anión superóxido de nuevas cumarinas híbridas*. Tesis Doctoral, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago -Chile.
- Ramos, E. (2008). *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 Huasahuas-Tarma en 2008*. Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista, Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Odontología, Lima - Perú.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.*, 20, 933-956. doi:[https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Rodríguez, R. (2017). *Fundamentos de química general: Disoluciones, Propiedades Coligativas y Gases Ideales* (primera ed.). Ecuador: UPSE.
- Ryan, K., Ahmad, N., Drew, w., & Plorde, J. (2010). *Microbiología Médica* (Quinta ed.). México: McGraw -Hill / Interamericana Editores.
- Sacsquispe , R., & Velásquez, J. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Obtenido de [https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua\\_l\\_sensibilidad.pdf](https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua_l_sensibilidad.pdf)
- Salcedo Calderón, M. (2018). *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, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú. Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/9308>
- Schelenz, S., Page, A., & Emmerson, A. (2005). *Streptococcus mutans* endocarditis: beware of the "diphtheroid". *J R Soc Med*, 98, 420-421.
- SEIMC. (2000). *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. (J. Picazo, Ed.) España: SEIMC. Obtenido de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, M. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355-63. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221317>
- The Integrated Taxonomic Information System. (s.f.). *Streptococcus mutans* Clarke, 1924. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 30(368). Obtenido de <https://www.gbif.org/es/species/3227119>
- Van Vuuren , S., & Holl, D. (2017). Antimicrobial natural product research: A review from a South African perspective for the years 2009-2016. *J Ethnopharmacol*, 208(236-252). doi:10.1016/j.jep.2017.07.011
- Vergara Pastor, C. (2011). *Efecto antibacteriano "in vitro" del extracto acuoso y el extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* (coca) sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans**. Tesis para optar el Grado de Bachiller en Estomatología, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo - Perú. Obtenido de [https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/465/VergaraPastor\\_C.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/465/VergaraPastor_C.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Wink, M. (1999). Introduction: Biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites. En M. Wink (Ed.), *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. Annual Plant Reviews* (págs. 1-17). London, UK: Sheffield Academic Press Ltd.
- Wink, M., & Schimmer, O. (1999). Modes of action of defensive secondary metabolites. En M. Wink (Ed.), *Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology* (págs. 17-134). Sheffield, England: Sheffield Academic Press.
- Zuleta, P., & Daza, D. L. (2018). *Revisión sistemática de artículos científicos de uso medicinal, nutricional y agroindustrial de la hoja de coca y sus derivados*. (P. Aguirre, Ed.) Bogotá, Colombia: Elementa.

## IX. ANEXOS

**ANEXO 1.** Constancia de identificación de *Erythroxylum coca* Lam "coca". Ayacucho 2020.

### CONSTANCIA

**LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**

Que, la Bachiller en Ciencias Biológicas, Srta. Carmen, HUAMANÍ CÓRDOVA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	LINALES
FAMILIA	:	ERYTHROXYLACEAE
GÉNERO	:	<i>Erythroxylum</i>
ESPECIE	:	<i><b>Erythroxylum coca Lam</b></i>
N.V.	:	"coca"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 29 de Noviembre del 2 020


LAURA AUCASIME MEDINA  
BIÓLOGA  
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

**ANEXO 2.** Certificado de calidad de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175 enviado por el Laboratorio Gen Lab.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Streptococcus mutans <b>Catalog Number:</b> 0266 <b>Lot Number:</b> 266-28** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25175™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2020/9/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon <b>Release Date:</b> 2018/10/24
---	--

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	<b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	<b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

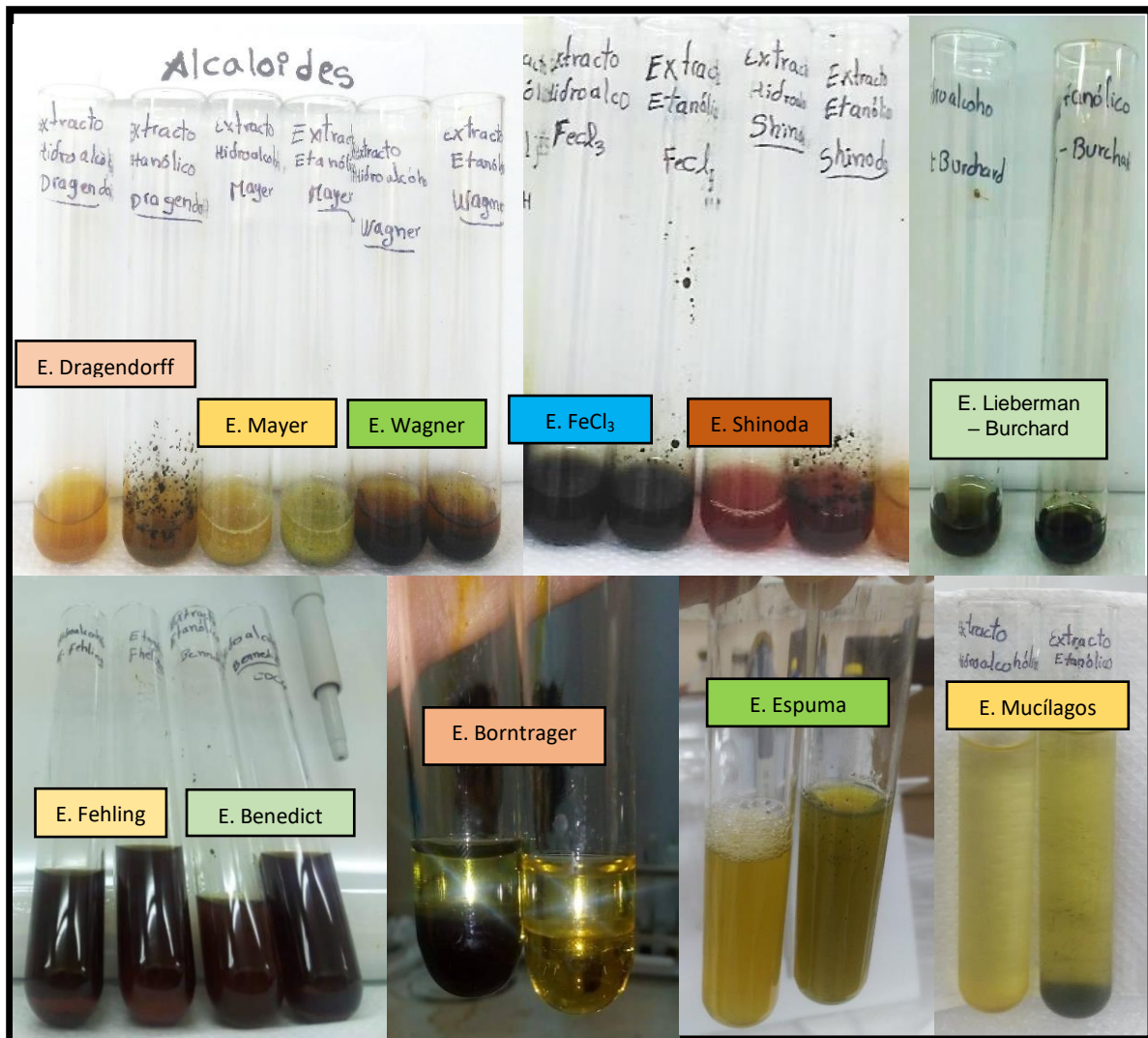
(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

**ANEXO 3.** Se muestra el procedimiento para la obtención de los extractos hidroalcohólico y etanólico de *Erythroxylum coca* Lam “coca”. Ayacucho 2020.





**ANEXO 4.** Identificación de metabolitos secundarios encontrados en los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca". Ayacucho 2020.



**ANEXO 5. Preparación de medios de cultivo. Ayacucho 2020.**



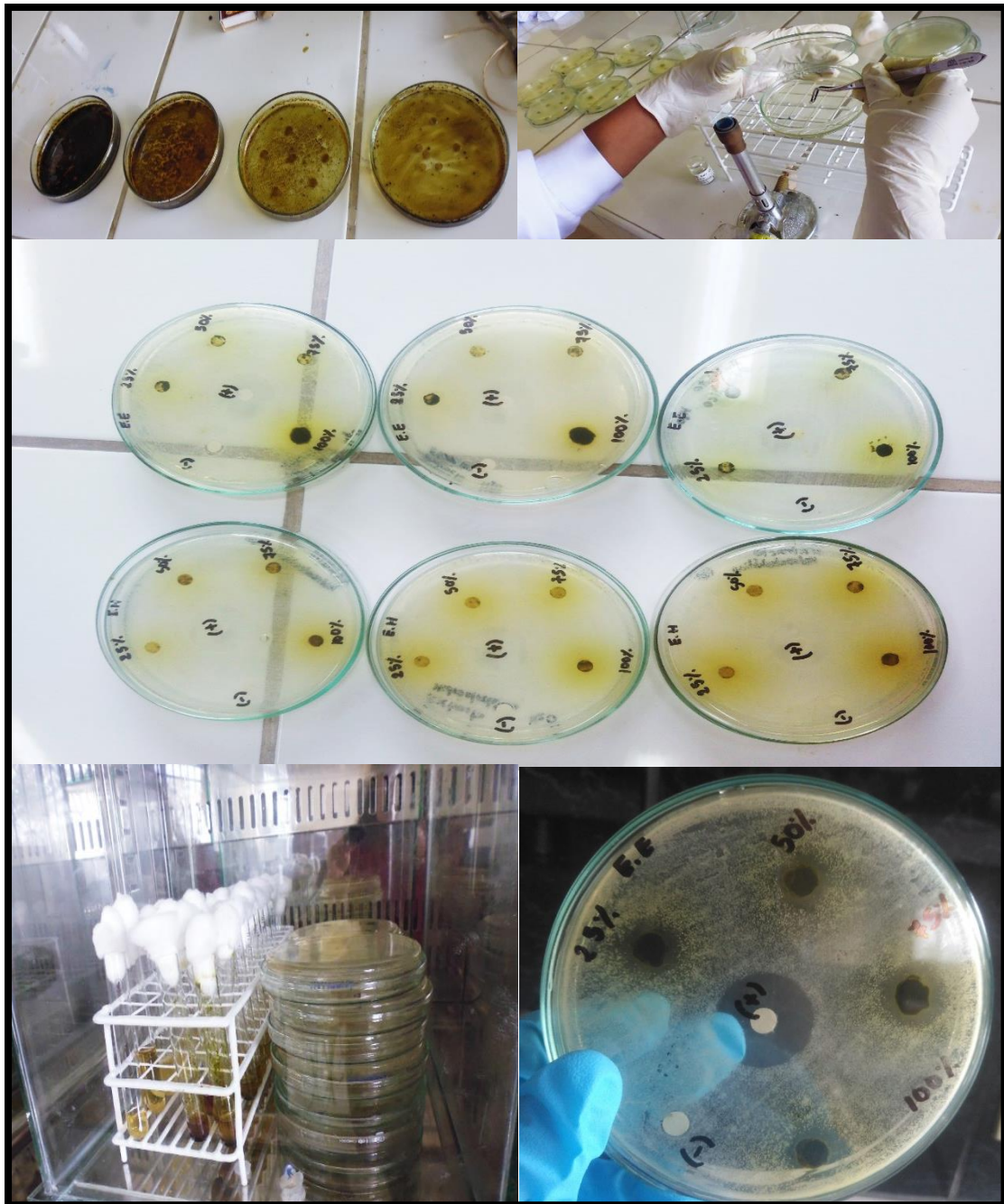


**ANEXO 6.** Reactivación de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, enviadas por el Laboratorio Gen Lab del Perú. Ayacucho 2020.

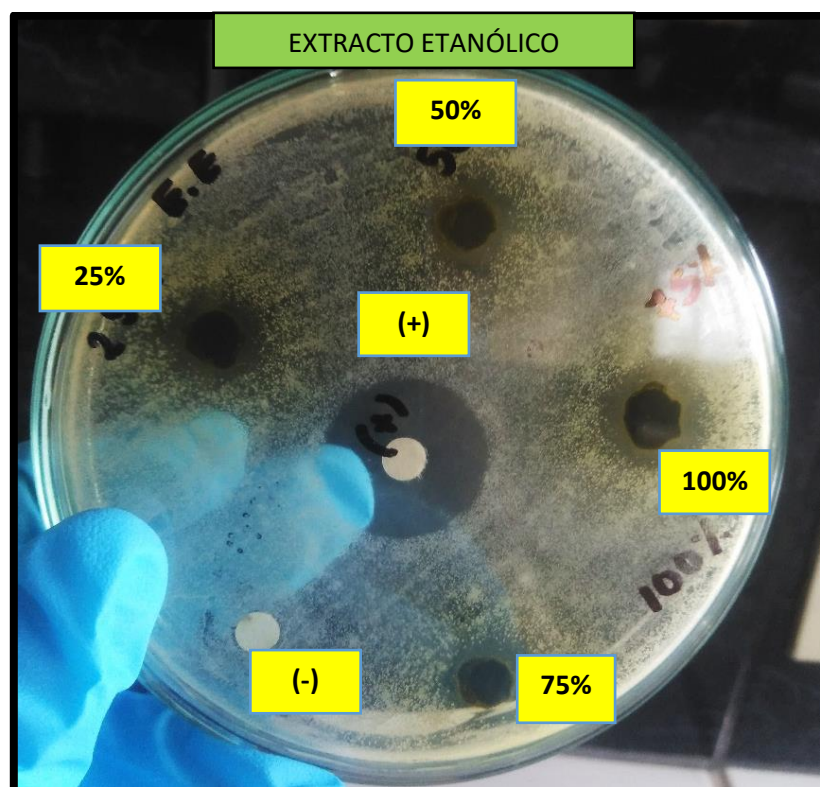
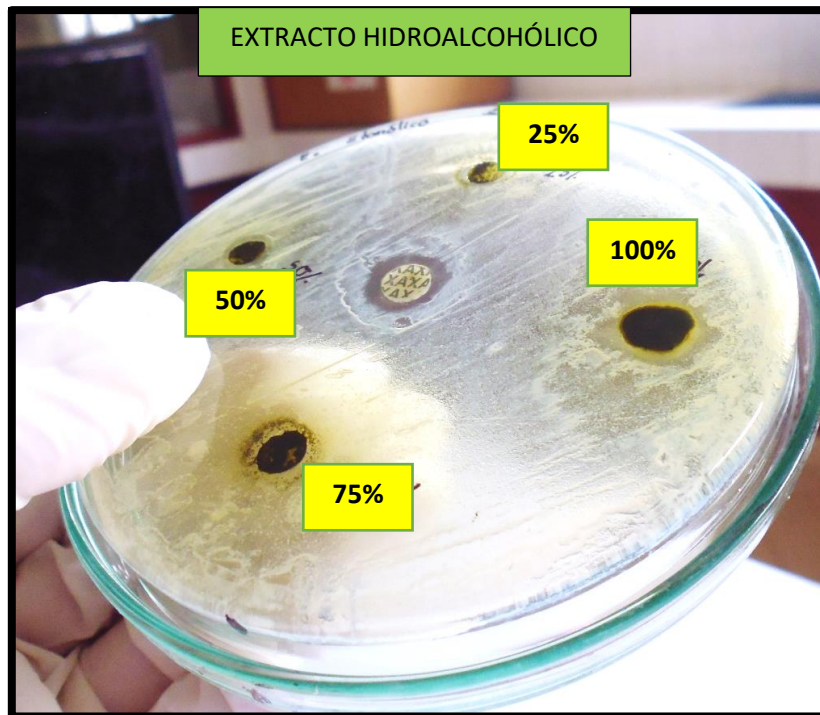




**ANEXO 7.** Determinación de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.



**ANEXO 8.** Se muestra halos de inhibición formados por los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam “coca”. Ayacucho 2020.



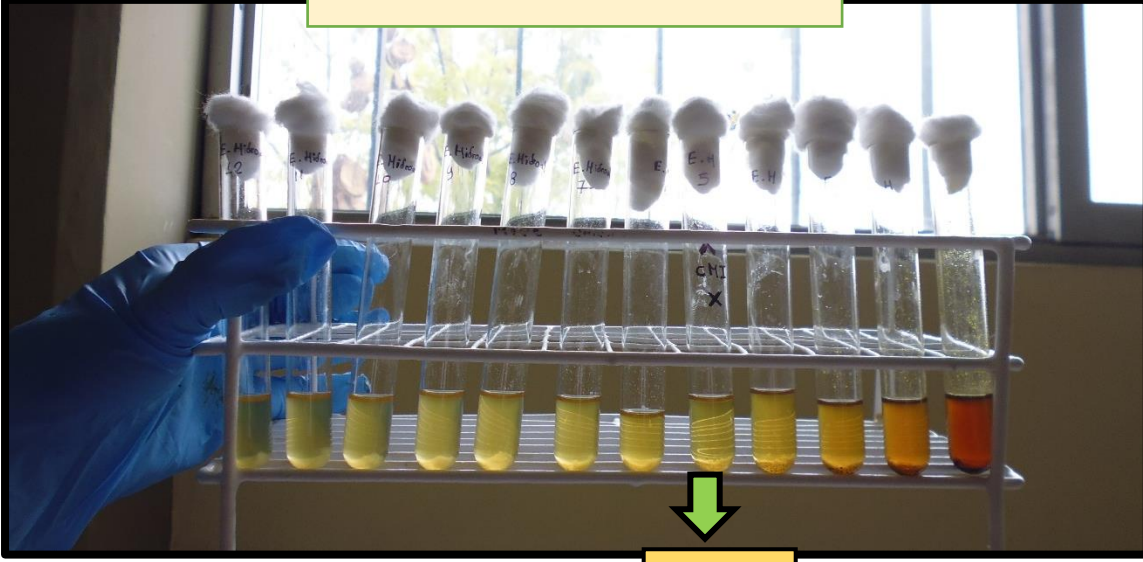


**ANEXO 9.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos hidroalcohólico y etanólico de los extractos de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca". Ayacucho 2020.



**ANEXO 10.** Tubos mostrando la Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en caldo Infusión Cerebro Corazón. Ayacucho 2020.

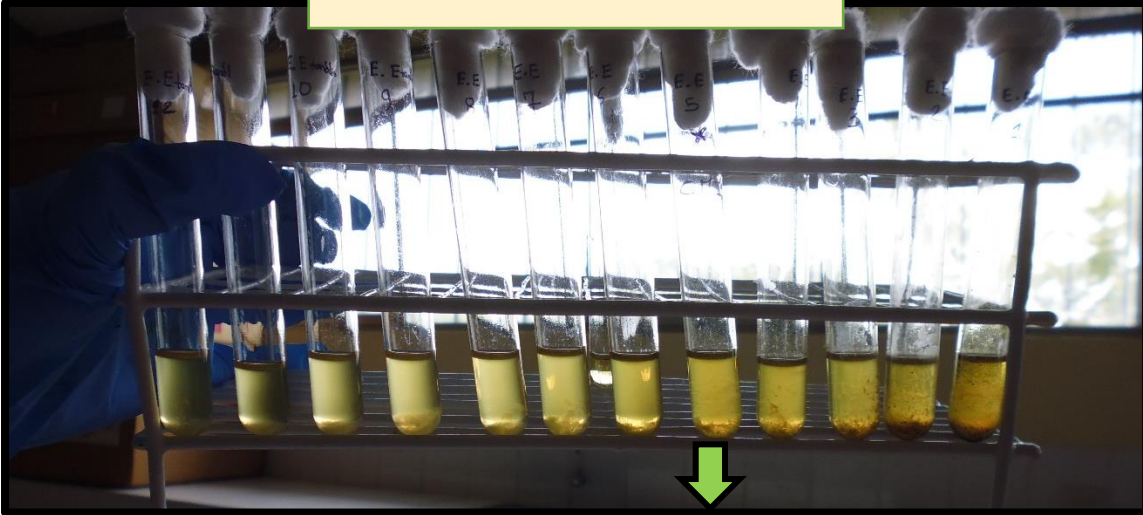
**EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO**



**CIM  
18.75  
mg/mL**

**Tubo N° 5**

**EXTRACTO ETANÓLICO**

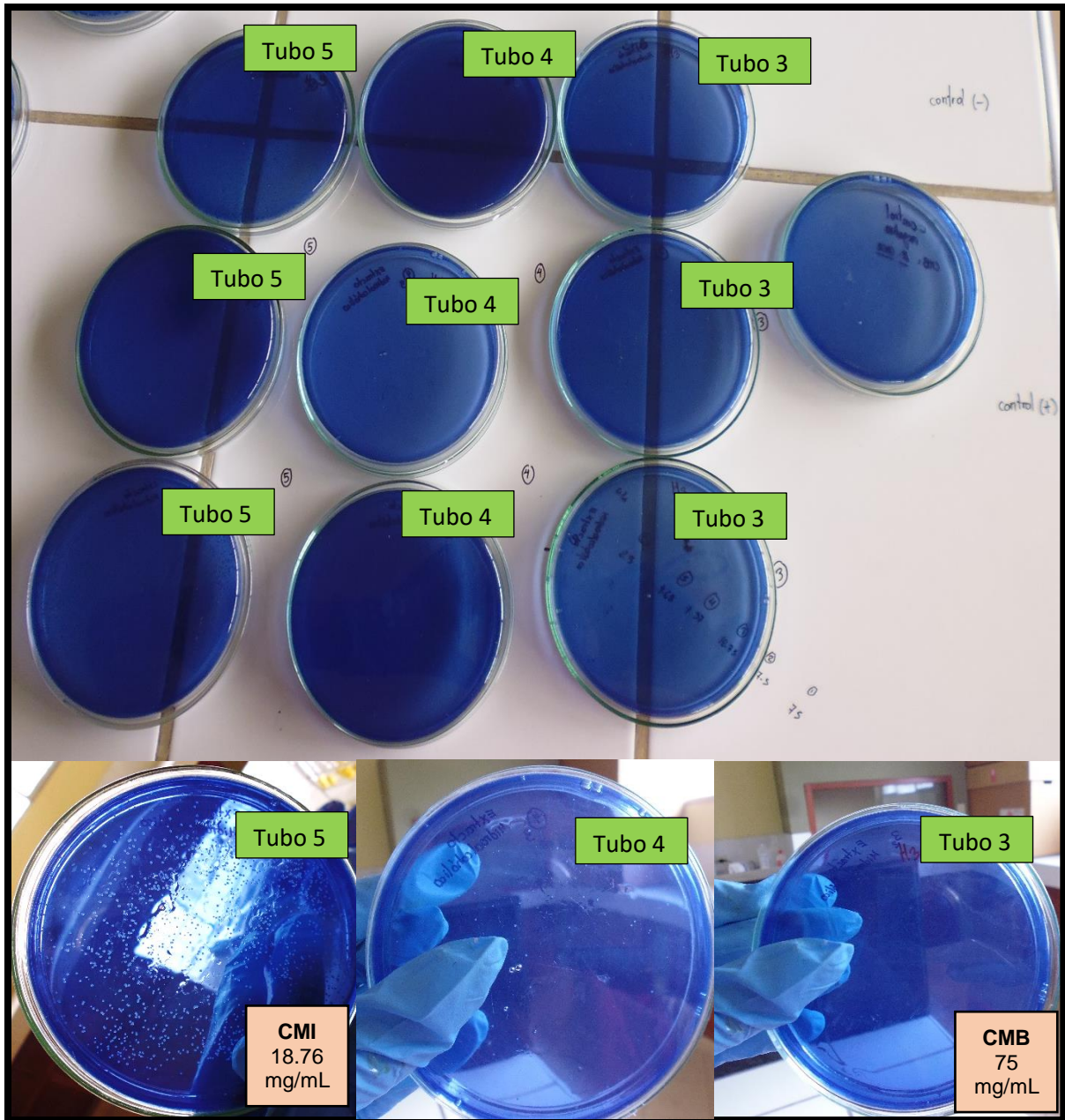


**CIM  
18.75  
mg/mL**

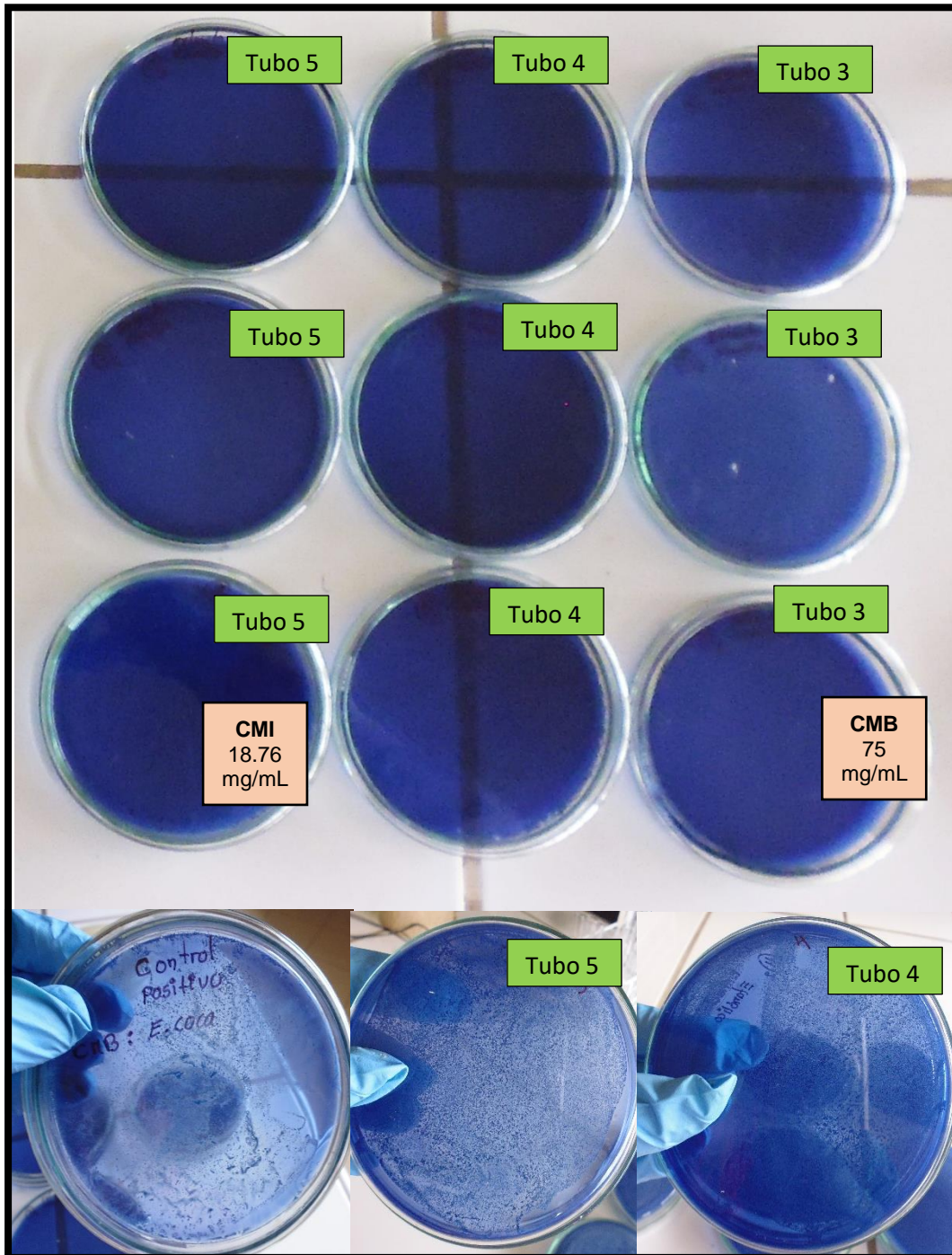
**Tubo N° 5**



**ANEXO 11.** Placas Petri mostrando la Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en Agar Mitis Salivarius. Ayacucho 2020.



**ANEXO 12.** Placas Petri mostrando la Concentración Mínima Bactericida del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en Agar Mitis Salivarius. Ayacucho 2020.



**ANEXO 13.** Prueba P de normalidad de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

Concentración del extracto	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Valor P
25%	0,881	3	0,328
50%	0,923	3	0,463
75%	0,907	3	0,407
100%	0,964	3	0,637
Control (Clorhexidina 0,12%)	0,964	3	0,637

El valor de  $P > 0,05$  nos indica una distribución normal de la muestra.

**ANEXO 14.** Análisis de Varianza de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Valor P
Entre grupos	408,309	4	102,077	280,432	0,000
Dentro de grupos	3,640	10	0,364		
Total	411,949	14			



**ANEXO 15.** Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

Factor	N	Agrupación			
		D	C	B	A
25%	3	7,67			
50%	3	8,70	8,70		
75%	3		9,47		
100%	3			12,13	
Control (Clorhexidina 0,12%)	3				22,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Las medias que no comparten una letra son estadísticamente diferentes.

**ANEXO 16.** Prueba de normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

Concentración del extracto	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Valor P
25%	0,964	3	0,637
50%	0,812	3	0,144
75%	0,832	3	0,194
100%	1,000	3	1,000
Control (Clorhexidina 0,12%)	0,893	3	0,363

El valor de  $P > 0,05$  nos indica que la muestra tiene una distribución normal.

**ANEXO 17.** Análisis de Varianza de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Valor P
Entre grupos	172,097	4	43,024	50,028	0,000
Dentro de grupos	8,600	10	0,860		
Total	180,697	14			

**ANEXO 18.** Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* Lam "coca" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ayacucho 2020.

Factor	N	Agrupación		
		C	B	A
T1 (25%)	3	11,67		
T2 (50%)	3	12,77	12,77	
T3 (75%)	3		14,43	
T4 (100%)	3		15,00	
Control (Clorhexidina 0,12%)	3			21,40

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Las medias que no comparten una letra son estadísticamente diferentes.

Anexo 19. Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
Efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	¿Los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" tendrán efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 ?	<p><b>Objetivo General</b>                      Evaluar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p><b>Objetivos específicos</b>                      Determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca".                      -Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.                      -Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.                      -Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p><b>2.1. Antecedentes</b>  <b>2.2. Marco conceptual</b>                      2.2.1. <i>Erythroxylum coca</i>                      2.2.2. <i>Streptococcus mutans</i>                      2.2.3. Caries dental                      2.2.4. Metabolitos secundarios                      2.2.5. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos.</p>	Los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca" tienen efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	<p><b>Variable independiente</b>                      Extracto hidroalcohólico y etanólico de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca"  <b>Indicadores</b>                      Concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%.  <b>Variable dependiente</b>                      Efecto antibacteriano  <b>Indicadores</b>                      -Halo de inhibición (mm)                      - Concentración Mínima Inhibitoria (mg/mL)                      - Concentración Mínima Bactericida (mg/mL)</p>	<p><b>Tipo de investigación</b>                      Básica  <b>Nivel de investigación</b>                      Experimental  <b>Diseño</b>                      Diseño completamente aleatorizado  <b>Muestra</b>  <b>Muestra vegetal</b>                      -1 Kg de Hojas de <i>Erythroxylum coca</i> Lam "coca"  <b>Cepa bacteriana</b>                      -Cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175  <b>Técnicas</b>                      Observación – Experimentación  <b>Diseño</b>                      Experimental  <b>Método</b>                      -Método del antibiograma disco – placa                      - Método de Macrodilución en caldo                      - Método de siembra en placa</p>