



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE HOJAS DE *Erythroxylum coca* (COCA) FRENTE  
*Streptococcus mutans* ATCC 25175”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

**AUTORES:**

Bach. Heredia Medina, Ebert Antonio  
<https://orcid.org/0009-0002-2754-0333>

Bach. Padilla Zevallos, Gladys Luzvi  
<https://orcid.org/0009-0001-6759-1680>

**ASESOR:**

Mg. Tovar Ticse, Rosmery Dionicia  
<https://orcid.org/0000-0001-9520-5372>

LIMA – PERÚ

2023

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Heredia Medina Ebert Antonio, con DNI 33432965 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título “**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Erythroxylum coca* (COCA) FRENTE *Streptococcus mutans* ATCC 25175**”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 20 %, y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 20, de enero 2024.



---

(Nombre y Firma)

Firma del Autor: Padilla Zevallos, Gladys Luzvi



---

(Nombre y Firma)

Firma del Asesor: Tovar Ticse, Rosmery Dionicia

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Padilla Zevallos Gladys Luzvi, con DNI 41306381 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título **“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Erythroxylum coca* (COCA) FRENTE *Streptococcus mutans* ATCC 25175”**, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 20 % y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 20, de enero 2024.



(Nombre y Firma)

Firma del Autor: Padilla Zevallos, Gladys Luzvi



(Nombre y Firma)

Firma del Asesor: Tovar Ticse, Rosmary Dionicia

## APlagio TESIS UMA HEREDIA-PADILLA turnitin 11

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>20%</b>	<b>21%</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.uma.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>8%</b>
<b>2</b>	<b>repositorio.unsch.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>4%</b>
<b>3</b>	<b>repositorio.uladech.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>1library.co</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>repositorio.uss.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>8</b>	<b>repositorio.unap.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>9</b>	<b>revistas.unilibre.edu.co</b> Fuente de Internet	
<b>10</b>	<b>site1.laohavirtual.org</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>

Excluir citas  Activo  
Excluir bibliografía  Activo

Excluir coincidencias  < 1%

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo de tesis a las personas que han sido mi fuente constante de inspiración y apoyo a lo largo de este arduo viaje académico.

A mis padres, quienes siempre creyeron en mí y me alentaron a perseguir mis sueños. Su amor incondicional y sacrificio son el motor de mi éxito.

A mis amigos y seres queridos, quienes han estado a mi lado durante los momentos de alegría y de desafío. Gracias por su paciencia y comprensión.

A todos aquellos que, de una forma u otra, han influido en mi desarrollo académico y personal, les ofrezco mi más profundo agradecimiento.

Este logro no hubiera sido posible sin su apoyo constante. Esta tesis es un tributo a su confianza en mí y a su influencia positiva en mi vida. Les dedico este trabajo con gratitud y cariño.

## **Agradecimiento**

En primer lugar, agradezco a Dios, fuente de fortaleza y guía a lo largo de mi viaje académico. La fe ha sido mi refugio en los momentos de desafío y mi razón de gratitud en los momentos de éxito.

A mi asesor, Mg. Tovar Ticse, Rosmery Dionicia ya que su conocimiento experto, orientación constante y apoyo incansable han sido fundamentales en la realización de este trabajo.

A la Universidad María Auxiliadora, le agradezco por brindarme la oportunidad de cursar mis estudios en su prestigiosa institución.

A todos aquellos que, de una manera u otra, han contribuido a esta tesis, les agradezco de todo corazón. Este logro es el resultado de un esfuerzo colectivo, y estoy profundamente agradecido por el apoyo, la comprensión y la inspiración que he recibido.

*Bach. Heredia Medina, Ebert Antonio*

*Bach. Padilla Zevallos, Gladys Luzvi*

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	8
II.1. Enfoque y diseño de la investigación .....	8
II.2. Población, muestra y muestreo .....	8
II.3. Variables de investigación .....	9
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos .....	9
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos .....	10
II.6. Procesamiento del análisis estadístico .....	13
II.7. Aspectos éticos.....	13
III. RESULTADOS.....	14
IV. DISCUSIONES.....	21
4.1. Discusión .....	21
4.2. Conclusiones.....	25
4.3. Recomendaciones.....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27
ANEXOS .....	35

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A: Operacionalización de las variables .....</b>	<b>35</b>
<b>Anexo B: Instrumento de recolección de datos .....</b>	<b>36</b>
<b>Anexo C: Certificado Taxonómico .....</b>	<b>38</b>
<b>Anexo D: Informe de análisis de laboratorio .....</b>	<b>39</b>
<b>Anexo E: Certificado de Agar Mueller Hinton .....</b>	<b>40</b>
<b>Anexo F: Certificado de análisis de Cepa Streptococcus mutans ATCC 25175 .....</b>	<b>44</b>
<b>Anexo G: Evidencias fotográficas .....</b>	<b>46</b>
<b>Anexo H: Porcentaje de rendimiento.....</b>	<b>62</b>
<b>Anexo I. Constancia de recolección de muestra ¡Error! Marcador no definido.</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Prueba de solubilidad.....	14
<b>Tabla 2.</b> Halos de inhibición de ensayo microbiológico <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	15
<b>Tabla 3.</b> Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	16
<b>Tabla 4.</b> Tamizaje Fitoquímico .....	17
<b>Tabla 5.</b> Prueba de Anova .....	18
<b>Tabla 6.</b> Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	19
<b>Tabla 7.</b> Prueba de subconjuntos de Tukey.....	20
<b>Tabla 8:</b> Marcha fitoquímica del extracto etanólico.....	36
<b>Tabla 9:</b> Ensayo microbiológico.....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Muestra de tipo Hojas de <i>Erythroxylum coca</i> (COCA).....	46
<b>Figura 2.</b> Selección y limpieza .....	46
<b>Figura 3.</b> Hojas en buen estado.....	47
<b>Figura 4.</b> Selección de Tallos y hojas deterioradas .....	47
<b>Figura 5.</b> Lavado con agua potable y agua estéril .....	47
<b>Figura 6.</b> Secado .....	48
<b>Figura 7.</b> Proceso de molienda.....	48
<b>Figura 8.</b> Proceso de maceración.....	49
<b>Figura 9.</b> Proceso de filtración .....	50
<b>Figura 10.</b> Obtención de extracto seco.....	50
<b>Figura 11.</b> Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad .....	52
<b>Figura 12.</b> Resultados de prueba de solubilidad.....	52
<b>Figura 13.</b> Adición de extracto a los tubos de ensayo .....	53
<b>Figura 14.</b> Resultado de la marcha fitoquímica .....	53
<b>Figura 15.</b> Autoclave para el uso en la prueba microbiológica .....	55
<b>Figura 16.</b> Agar Saboraud Dextrosa .....	55
<b>Figura 17.</b> Placas preparadas.....	55
<b>Figura 18.</b> Rotulado de placas.....	57
<b>Figura 19.</b> Siembra de placas.....	58
<b>Figura 20.</b> Realizando pozos en agar con ayuda de un sacabocado .....	58
<b>Figura 21.</b> Pozos en agar listos para adición de sustancias experimentales.....	59
<b>Figura 22.</b> Preparación de sustancias experimentales .....	59
<b>Figura 23.</b> Incubación .....	60
<b>Figura 24.</b> Lectura de resultados .....	60
<b>Figura 25.</b> Lectura de resultados.....	61

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Materiales y métodos:** cuantitativo, experimental; la población fue *Erythroxylum coca*; por otro lado, se empleó 10 placas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Además, se realizó una marcha fitoquímica y la técnica de difusión en agar, constituida por grupos al 5 %, 35 % y 75 % frente a Clorhexidina 0,12%.

**Resultados:** las medias de los diámetros en concentraciones del 5%, 35%, 75% del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* (coca) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron más bajos (6.0 mm, 8.74 mm y 12.13 mm respectivamente) que los registrados por Clorhexidina 0,12% (21,67 mm). En la prueba estadística de ANOVA fue significativo con ( $p < 0,05$ ) para Clorhexidina en comparación con el conjunto de control. Además, en el extracto de (coca) se identificó la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, antraquinonas, terpenos y esteroides, azúcares reductores.

**Conclusión:** El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) en concentraciones de 35% y 75% demostró poseer propiedades antibacterianas frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras clave:** Efecto antibacteriano, *Erythroxylum coca*, *Streptococcus mutans*

## ABSTRACT

**Objective:** Determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of the leaves of *Erythroxylum coca* (COCA) against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Materials and methods:** quantitative, experimental; the population was *Erythroxylum coca*; On the other hand, 10 Petri dishes inoculated with *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were used. In addition, a phytochemical march and the agar diffusion technique were carried out, consisting of groups at 5%, 35% and 75% versus Chlorhexidine 0.12%.

**Results:** the means of the diameters in concentrations of 5%, 35%, 75% of the ethanolic extract of *Erythroxylum coca* (coca) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were lower (6.0 mm, 8.74 mm and 12.13 mm respectively) than those recorded by Chlorhexidine 0.12% (21.67 mm). In the ANOVA statistical test it was significant with ( $p < 0.05$ ) for Chlorhexidine compared to the control set. Furthermore, the presence of alkaloids, flavonoids, phenolic compounds,  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated lactones, tannins, anthraquinones, terpenes and steroids, reducing sugars was identified in the (coca) extract.

**Conclusion:** The ethanolic extract of the leaves of *Erythroxylum coca* (COCA) in concentrations of 35% and 75% demonstrated to have antibacterial properties against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Keywords:** Antibacterial effect, *Erythroxylum coca*, *Streptococcus mutans*

## I. INTRODUCCIÓN

La caries, es una consecuencia del proceso de descomposición de los dientes ocasionado por los ácidos bacterianos, clínicamente se diagnostican a las caries cuando aparece por primera vez una pequeña área calcificada en una superficie lisa. Las complicaciones de una caries temprana no tratada pueden agravarse gradualmente y volverse más grande, cavitada y sintomática; entre ellas tenemos malestar, sensibilidad y dolor; complicaciones adicionales inflamación del tejido pulpar o inflamación de los tejidos que envuelven el diente, infecciones agudas y crónicas, formación de abscesos, pérdida de dientes y celulitis. (1)

La caries dental es uno de los problemas más importantes de salud en muchos países industrializados que afecta mayormente a niños y adultos. La caries dental que no se llega a tratar es la que más prevalece y afecta a muchas personas en todo el mundo, generando impacto significativo en la calidad de vida y graves consecuencias para las familias, las personas y por ende la sociedad. La enfermedad se distribuye de manera desigual entre poblaciones con grandes gradientes socioeconómicos. La aparición de caries dental es el resultado de una combinación de factores fisiológicos, genéticos, conductuales y ambientales. Aunque la caries dental es una enfermedad prevenible, su prevalencia apenas ha disminuido en los últimos 30 años. (2)

La OMS publicó un informe sobre el estado que se encuentra a nivel mundial la salud bucodental; donde recolectaron datos de 194 países que demuestran que el 45% de personas de la población mundial, están sufriendo con la enfermedad bucodental, dicho informe nos revela que tres de cada cuatro personas afectadas residen en países de bajo y mediano ingreso (3), Según el estudio realizado por el Departamento de Odontología Conservadora y Periodoncia del Hospital de Estomatología y la Facultad de Medicina de la Universidad de Zhejiangen en China, nos dice que la prevalencia de caries dental es del 44%, donde las estudiantes del sexo femenino tenían un mayor nivel de caries dental que los estudiantes del sexo masculino(4), en África en un estudio de revisión sistemática se determinaron que la prevalencia general combinada de caries dental es de 45,7%, y que ser mujer y el mal hábito de cepillado es un factor independientes de caries dental (5), en Europa La prevalencia de niños de 12 años con experiencia de caries es de 98,5%

con alta severidad (6), en Alemania determinaron que el 56,6% de niños con discapacidad tienen caries tanto en los dientes temporales como permanentes en comparación con los niños no discapacitados 45,0% (7); en América Latina se realizó un estudio donde incluyeron muchos países latinoamericanos donde se evidenció mediante una encuesta nacional en México encontraron que la mayoría de los niños de 12 y 15 años tenían caries, la prevalencia fue del 58% y 68%, respectivamente; en Brasil donde observaron los datos obtenidos de adolescentes de 12 años de edad que entre los años 2003-2010 existió una reducción del 29 % en pacientes no tratados con caries y que la cantidad de niños sin caries ascendió de 31 % (2003) a 44% (2010) indicando una disminución relevante en la gravedad y prevalencia de caries; en los estudios nacionales se concentraron en Ecuador donde los niños y adolescentes entre las edades 6, 12 y 15 años, disminuyó la prevalencia de caries dental de 88,2% a 75,6% del total de la muestra(8). En nuestro país se realizaron estudios referentes a caries en dentición temporal. Entre los años 2001 al 2002, obteniendo como resultado que la prevalencia de caries en niños de 6 años fue del 87,3%, en un segundo estudio se evidencio que la prevalencia de las caries es de 76,2% en los niños que comprenden la edad de 3 a 5 años (8), esto nos demuestra que en la actualidad la caries a nivel mundial es un problema que necesita ser atendida de manera predominante de tal manera que podamos prevenir y reducir su avance.

Factores tales como el estilo de vida, la dieta y las prácticas de higiene bucal, están asociados con la creciente carga mundial de caries dental, pero se pone menos énfasis en las estructuras sociales que dan forma a estos factores de riesgo; la ansiedad dental está fuertemente asociada con comportamientos que evitan el cuidado dental y, como resultado, un aumento de los problemas bucales (9). La mala higiene bucal conlleva a la formación de caries dental, donde la superficie del esmalte dental comienza a disolverse y la porosidad del esmalte aumenta, por lo que se facilita el acceso de los ácidos a la superficie inferior del esmalte, continuando a través de los poros de la estructura del esmalte debajo de la placa acidificante, hasta llegar al proceso de desmineralización. Por lo tanto, el daño en esta etapa es causado por la difusión de los ácidos generados por la placa y la capacidad de difusión de los iones fuera del esmalte pudiendo llevar a la formación de cavidades La prevención de la caries dental incluye mantener una buena higiene

bucal, reducir el azúcar y los alimentos ricos en carbohidratos y realizarse chequeos dentales regulares para garantizar un diagnóstico temprano y un tratamiento adecuado para minimizar sus consecuencias (10)(11)

Por eso es importante implementar y fomentar la importancia del cuidado dental a la vez buscar tratamientos alternativos que puedan ser accesibles y de bajo costo, y sobre todo que sean de fuentes naturales.

En consecuencia, nos formulamos la pregunta:

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

Asimismo, generamos las siguientes sub preguntas:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro poseerá el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA)?
- ¿El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) tendrá efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en la concentración del 5%, 35% y 75%?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) comparado con clorhexidina 0,12% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

Kumar C, et al (2019), investigación hecha en Asia, donde realizaron el trabajo de evaluar las actividades fitoquímicas y fitofarmacológicas potenciales de *Erythroxylum monogynum* Roxb. Según sus resultados, hallaron que tanto las hojas, los tallos y las raíces de esta planta contienen fitoquímicos que son responsables de las diferentes propiedades medicinales tales como anticancerígenos, antimicrobianos, antioxidantes, etc. (12)

Scarpetta, L (2016), investigación hecha en Colombia, se dio el trabajo de establecer la relación existente entre el potencial activo de los metabolitos secundarios reportados para la *Erythroxylum coca* y el uso tradicional en la

comunidad Nasa. Según el resultado, se halló que hay relación entre los metabolitos secundarios encontrados en la planta de *Erythroxylum coca var. (coca)* con su uso medicinal en la población Nasa en Colombia, llegándose a identificar los principales metabolitos secundarios tales como alcaloides y flavonoides. (13)

De Wet, H (2011), investigación hecha en Sudáfrica, quien realizó un estudio etnobotánico sobre los usos de las especies sudafricanas. Según el resultado, se halló que las hojas, raíces y tallos de cinco especies sudafricanas de *Erythroxylaceae* son usados para tratar diferentes dolencias por presentar propiedades analgésicas, antidiarreicas, antibacterianas, etc. (14)

Cossío B, et al (2022), investigación hecha en la Universidad Científica del Sur, Lima, donde realizaron el trabajo de Comparar el efecto antibacteriano del extracto acuoso y alcohólico de hojas secas de *Erythroxylum coca* contra *Streptococcus mutans* ATCC®35668™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC®4356™. Según el resultado, se halló que la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y alcohólico de hojas de *Erythroxylum coca* no fue similar contra *Streptococcus mutans* ATCC®35668™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC®4356™. Donde se evidencia que el extracto alcohólico presentando mayor halo de inhibición que extracto acuoso, las cuales fueron medidas a las 48 horas de incubación en una concentración de 75 mg/mL. Se ha descubierto que tiene una actividad antibacteriana más fuerte contra *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™. (15)

Cervantes S, et al (2022), investigación hecha en la Universidad Nacional del Altiplano, Puno, donde realizaron el trabajo de comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Curcuma Longa L.* y *Erythroxylum coca var. Coca* en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% y 12,5% contra *Streptococcus mutans*. Según el resultado, los estudios han encontrado que el extracto al 100% de cúrcuma longa L. tiene mejores efectos antibacterianos que el extracto de hoja de coca (*Erythroxylum coca var. Coca*), con un halo de inhibición de 16,05 mm medido durante 48 horas de incubación. (16)

Salcedo, M (2018), investigación hecha en la Universidad Mayor de San Marcos, Lima, se dio el trabajo de determinar el efecto antibacteriano “in vitro” en el extracto etanólico de dos variedades de hoja de coca: *Erythroxylum coca var. coca* y

*Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* frente al *Streptococcus mutans*. Según el resultado, se halló que no hay similitudes en ambas variedades de hoja de coca, demostrando que el extracto de *Erythroxylum. coca* var. *coca* en concentraciones de 100% y 50% posee un mejor efecto antibacteriano que el de la variedad *truxillense* concentrada al 100%. Del mismo modo determinaron que el extracto de *Erythroxylum. coca* var. *coca* en concentración de 25 % no muestra una diferencia significativa del extracto de *Erythroxylum. novogranatense* var. *Truxillense*. (17)

Sánchez, E (2018), investigación hecha en Universidad Los ángeles de Chimbote, quien se dio el trabajo de determinar cuál es el efecto antibacteriano que tiene la hoja de *Erythroxylaceae Erythroxylum Coca Novogratense* en acción al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación al Gluconato de Clorhexidina al 2%. Según el resultado, se halló que el Gluconato de Clorhexidina al 2% tenía un efecto antibacteriano más fuerte que los extractos de hojas de *Erythroxylaceae Erythroxylum Coca novogranatense* al 25%, 50%, 75%, y hubo diferencias significativas en el diámetro del halo inhibitor. (18)

*Streptococcus mutans*. Patógenos grampositivos que normalmente está asociada con problemas de salud bucal entre ellas la caries dental. Son bacterias que tienen como peculiaridad la capacidad de metabolizar varios carbohidratos de la dieta para producir ácidos y muchas enzimas glicosiltransferasa que transforman a la sacarosa en un glucano polimérico extracelular parecido al pegamento que permite la acumulación de biopelículas mediante la unión de células a las superficies dentales y otros microorganismos orales. La síntesis de glucanos no solubles a partir de sacarosa por *Streptococcus mutans* es esencial para la formación de una matriz de biopelícula estable que promueve la colonización bacteriana en las superficies de los dientes, al mismo tiempo que actúa como una barrera de difusión que ayuda a mantener el ambiente ácido en el que se desarrollan las bacterias cariogénicas. Estos ácidos desmineralizan el esmalte dental y provocan caries. (19) (20) Por esta razón se debe prevenir y tratar de controlar su desarrollo excesivo para mantener la salud bucal y dientes libres de caries.

*Erythroxylum coca* pertenece al reino PLANTAE, Familia ERYTHROXYLACEAE, Género *Erythroxylum* (21) a través de la historia se sabe que los orígenes de

*Erythroxylum coca* es de América, fue cultivada hace unos 4000 años, puesto que se evidencian restos de hojas de coca en tumbas precolombinas a lo largo de las costas del pacífico; su uso es social, laboral, ritual y médico, se cultiva en toda la cordillera de los andes, abarcando países de Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia; donde normalmente es para el consumo local de la población, ellos mastican las hojas de coca para aliviar el esfuerzo físico, pero también lo usan para calmar dolores estomacales, dentales, etc.(22)

Los componentes químicos varían dependiendo de muchos factores como edad de la planta, variedad, zona geográfica, forma de cultivo por ende el medio ambiente, dependiendo de estos factores las hojas presenta metabolitos como son carbohidratos, proteínas, lípidos, alcaloides, taninos y flavonoides siendo el más abundante es el alcaloide. (23)

La justificación teórica del proyecto de estudio será aportar información y conocimientos sobre las propiedades fotoquímicas que contiene la planta de *Erythroxylum coca* (COCA), por medio de la identificación de sus principios activos y demostrar sus bondades terapéuticas; tales como digestivas y antiflatulento al usarse en infusiones; también queremos demostrar su actividad antibacteriana “in vitro” frente a cepas de *Streptococcus mutans* ya que son las responsables de la formación de caries dental, y así poder contar con tratamientos alternativos naturales para las infecciones bucales.

De manera práctica se pretende beneficiar tanto a la población como al personal de salud, dando a conocer nuevas alternativas terapéuticas en el tratamiento de enfermedades periodontales con fuentes naturales para la fabricación de cremas dentales, enjuagues bucales, colutorios bucales, etc. debido a que muchos de estos microorganismos bucales desarrollan mecanismos de resistencia frente a muchos fármacos generando problemas de salud pública en todo el mundo.

De manera metodológica se usará aspectos fotoquímicos en la detección de metabolitos secundarios y así mismo un análisis microbiológico Kirby-Bauer (método de difusión en agar) el cual corresponde a una prueba de sensibilidad para la identificación de las propiedades biológicas de la especie vegetal; los resultados obtenidos en este estudio servirán como guía para futuras investigaciones.

El objetivo general de investigación es:

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Los objetivos secundarios son:

- Identificar a los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) responsables del efecto antibacteriano in vitro.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en la concentración del 5%, 35% y 75%.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) con clorhexidina 0,12% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La hipótesis general de investigación es:

El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Las hipótesis secundarias de investigación son:

- El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana in vitro.
- El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en la concentración del 5%, 35% y 75%.
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) es significativamente mayor comparado con clorhexidina 0,12% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### II.1. Enfoque y diseño de la investigación

La presente investigación tuvo un enfoque cuantitativo, porque se basó en diversas mediciones numéricas aplicando datos estadísticos a los resultados obtenidos dentro del proceso de evaluación. (24)

El diseño de la investigación fue experimental porque se manipuló la variable independiente; Extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) y a su vez la variable dependiente del Efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (24).

El estudio de investigación fue analítico y explicativo puesto que hubo una relación causa-efecto (25).

Tipo de estudio transversal, ya que la recolección de datos se realizó en un solo periodo de tiempo (26).

### II.2. Población, muestra y muestreo

La población vegetal estuvo constituida por 10 kilos de hojas de *Erythroxylum coca* (COCA), siendo adquirida en el departamento de Cusco, provincia de la Convención y de distrito de Pichari, centro poblado Ccatun Rumi, comunidad Villa Real.

La población microbiológica estuvo constituida por *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Se utilizó como muestra vegetal 4450 gramos de la hoja de *Erythroxylum coca* (COCA), en el ensayo microbiológico se utilizó 10 placas petris estériles inoculadas con *Streptococcus mutans*.

#### **Criterios de inclusión:**

- Hojas frescas
- Hojas con buen estado.
- Hojas del distrito de Pichari.

### **Criterios de exclusión:**

- Flores de *Erythroxylum coca* (COCA).
- Tallos de *Erythroxylum coca* (COCA).
- Raíces de *Erythroxylum coca* (COCA).

El muestreo fue no probabilístico, porque se recogió las hojas de diferentes arbustos a criterio del investigador. (27)

### **II.3. Variables de investigación**

***Variable Independiente: Extracto etanólico de hojas de Erythroxylum coca (COCA)***

*Definición conceptual:* Extracto líquido, preparado a base de hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) macerado en alcohol etílico 96°, donde se extrae los compuestos solubles en este alcohol. (28)(29)

*Definición operacional:* Se procedió a macerar hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) en alcohol etanólico 96° por 7 días.

***Variable dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente Streptococcus mutans ATCC 25175.***

*Definición conceptual:* Capacidad de compuestos químicos, naturales o sintéticos usados para detener o destruir a las bacterias (30).

*Definición operacional:* Se empleó el método de difusión en agar en pozo (prueba de Kirby-Bauer) con el propósito de realizar la medición de los halos de inhibición de las placas inoculadas con *Streptococcus mutans* **ATCC 25175**.

### **II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos**

Este trabajo de investigación presentó dos técnicas: técnica metodológica donde se basó principalmente en la observación, y la técnica de laboratorio donde se realizó la marcha Fitoquímica y el análisis microbiológico. El análisis fitoquímico permitió determinar los principales metabolitos primarios y secundarios, presentes

en las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA). En el análisis microbiológico se usó el método de difusión de agar en pozo. (31)

Como instrumento en la recolección de datos se usó la ficha de observación donde se recolectaron los datos obtenidos en cada procedimiento (marcha fitoquímica y microbiológico) (31)

## **II.5. Plan metodológico para la recolección de datos**

**Recolección y reconocimiento de la muestra vegetal:** La muestra fue recolectada en el departamento de Cusco, provincia de la Convención y de distrito de Pichari, centro poblado Ccatun Rumi, comunidad Villa Real. Se procuró seleccionar y recolectar precavidamente las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA). Hojas con buen aspecto, frescas, no deterioradas y libre de microorganismos como hongos, insectos. Fueron colocadas en jabas y trasladadas mediante vía terrestre a la ciudad de Lima a temperatura ambiente para luego ser identificadas por un experto en taxonomía vegetal.

**Preparación de la muestra:** Se realizó en el laboratorio Santa Rosa donde se seleccionaron las hojas eliminando aquellos que presentan daños físicos (deshidratadas, maltratados, etc), posteriormente se procedió a lavarlos con agua potable y destilada así mismo se procedió a realizar la deshidratación en la estufa a una temperatura de 40°C por un estimado de 24 horas, seguidamente se procedió a moler en el mortero, y se colocaron en un frasco ámbar con el fin de evitar la fotooxidación protegiendo de tal manera el valor del extracto y la frescura. (32)

**Preparación del extracto fluido:** Se procedió a macerar las hojas trituradas con alcohol 96° por 7 días donde se fue agitando 2 veces al día. Culminado la maceración se pasó a filtrar el extracto fluido con la ayuda del papel filtro Whatman número 1. (33)

**Obtención del extracto seco:** Al finalizar el filtrado se llevó a secar el extracto fluido en la estufa a una temperatura de 40°C por 48 horas para la obtención del extracto seco. (33)

Porcentaje de rendimiento: se halló mediante la fórmula:(34)

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

- %E= Porcentaje de rendimiento
- Pf = Peso final (Extracto seco)
- Pi = Peso inicial (muestra molida)

**Prueba de Solubilidad:** Se colocaron 0.5 gramos de extracto seco en cada uno de los 8 tubos de ensayos, posteriormente se adicionó 2 mililitros de solventes correspondientes a cada tubo (éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, metanol, etanol 96°, etanol 70°, butanol y finalmente agua destilada) (35)

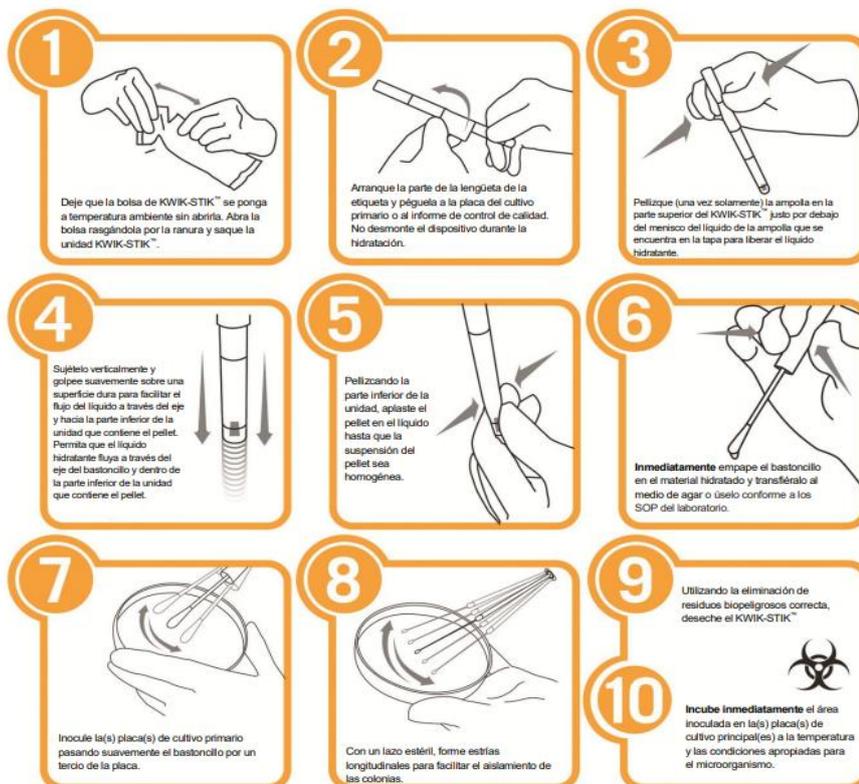
**Prueba Fitoquímica:** Se usó el método colorimétrico cualitativa por Olga Lock. donde se colocó 1mL de extracto etanólico de *Erythroxylum coca* (COCA) en cada uno de los 14 tubos de ensayos, seguidamente se adicionaron los reactivos correspondientes para cada ensayo, las reacciones obtenidas nos permitieron determinar los diferentes metabolitos secundarios y primarios presentes. (36)

- Benedict: Azucares reductores.
- Fehling A y B: Azucares reductores.
- NaOH 10%: Antocianinas.
- Cloruro Férrico: Compuestos Fenólicos.
- Wagner: Alcaloides.
- Dragendorft: Alcaloides.
- Shinoda: Flavonoides.
- Baljet: Lactonas alfa y beta insaturados.
- Borntrager: Antraquinonas.
- Liebermann-Burchard: Terpenos y Esteroides.
- Mayer: Alcaloides.
- Espuma: Saponinas.
- Gelatina: Taninos.
- Gelatina-sal: Taninos.

**Análisis microbiológico:** Primero se preparó un estándar McFarland 0.5, donde se preparó una solución de cloruro de bario 0.048 M utilizando 0.499 g de sal disuelta en una fiola de 50 mL que contenía agua destilada. Simultáneamente, en otra fiola de 100 mL, se preparó una solución de ácido sulfhídrico 0.18 M, a la cual se le agregó 1.01 mL de extracto seco. Por último, se disolvió 0,5 y 95.5 mL de la solución de ácido sulfhídrico 0,048 M y ácido sulfúrico 0,18 M, respectivamente, para obtener el estándar (37).

**Activación de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175:** Se realizó mediante instrucciones del proveedor. Donde nos dice que debemos colocar el KWIK-STIK™ a temperatura ambiente, se colocó el pellet en 0,5 mL de agua estéril o solución salina, tapamos el vial y se procedió a aplastar el pellet con un hisopo estéril hasta obtener una suspensión homogénea. Embeber el mismo hisopo en el material hidratado y pasarlo al medio de agar Mueller Hinton para su inoculación; seguidamente se procedió a incubar a temperatura 37° C. (38)

**INSTRUCCIONES ILUSTRADAS**



**Fuente: Microbiologics® A safer, healthier world.**

<https://durviz.com/wp-content/uploads/2018/03/Spanish-European-LYFO-DISK-KWIK-STIK-KWIK-STIK-Plus-Instructions-For-Use.pdf>

Una vez activada la cepa se ajustó la suspensión la escala de McFarland; seguidamente se procedió a sembrar en Agar Mueller Hinton estriando con el hisopo en diferentes direcciones para distribuir el inóculo de manera uniforme. (39)

**Preparación de los pozos:** Se colocó 30 uL de cada concentración preparada de extracto en un pozo estéril, las cuales fueron distribuidas de la siguiente forma:

1. Pozo con extracto de hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) al 5%
2. Pozo con extracto de hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) al 35%
3. Pozo con extracto de hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) al 75%.
4. Control positivo clorhexidina 0,12%
5. Control negativo etanol al 96°.

Finalizado el procedimiento se colocó las placas en la incubadora a temperatura de 37° C. y se procedió a realizar la medición de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas. (40)

## **II.6. Procesamiento del análisis estadístico**

La información obtenida durante el ensayo microbiológico se ingresó al programa Excel 2019 para la obtención de tablas estadísticas las cuales permitieron reforzar y solidificar toda la información reunida de las muestras estudiadas. Del mismo modo se empleó la estadística descriptiva para detallar las variables de estudio y además se empleó el uso de la estadística inferencial para la comprobación de hipótesis determinando el efecto mediante el uso de la prueba de ANOVA.

## **II.7. Aspectos éticos**

En el presente trabajo de investigación se utilizó la cepa bacteriana cumpliendo las normativas éticas de buenas prácticas de laboratorio y de bioseguridad para ello se utilizó el Manual correspondiente tanto dentro como fuera de los ambientes donde se realizaron los ensayos. (41)

La muestra utilizada de origen vegetal se llevó a cabo cumpliendo las normas correspondientes. (42)

### III. RESULTADOS

#### III.1. Prueba de solubilidad

Tabla 1. Prueba de solubilidad

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	+
N° 2	Diclorometano	+
N° 3	Cloroformo	+
N° 4	Butanol	+++
N° 5	Etanol 96	+++
N° 6	Etanol 70	+
N° 7	Metanol	++
N° 8	Agua destilada	-

El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) mostró una alta solubilidad en Butanol y Etanol 96°, medianamente soluble en metanol y poco soluble en Éter de petróleo, Diclorometano, Cloroformo y Etanol 70°. En contraste, se observó que era completamente insoluble en agua destilada.

#### III.2. Contrastación de hipótesis general

##### Hipótesis estadística

**H0:** El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) no presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**H1:** El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se realizaron análisis estadísticos descriptivos con el propósito de poner a prueba la hipótesis formulada. Los resultados arrojaron que los valores observados en cada grupo de estudio se situaban dentro de los intervalos de confianza predefinidos, lo cual respalda la validez de la hipótesis planteada en el contexto de esta investigación.

En la Tabla 2 se presentan los resultados correspondientes a los halos de inhibición obtenidos en el análisis microbiológico.

**Tabla 2.** Halos de inhibición de ensayo microbiológico *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	35%	5%	Clorhexidina	ETANOL
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	12.11	8.78	6	21.68	6
	12.17	8.78	6	21.73	6
	12.13	8.72	6	21.68	6
	12.07	8.69	6	21.59	6
	12.15	8.75	6	21.71	6
	12.11	8.70	6	21.64	6
	12.10	8.67	6	21.58	6
	12.14	8.75	6	21.70	6
	12.12	8.74	6	21.69	6
	12.17	8.77	6	21.72	6
<b>Media</b>	<b>12.13</b>	<b>8.74</b>	<b>6</b>	<b>21.67</b>	<b>6</b>

En la Tabla 2 se presentan los resultados del ensayo microbiológico in vitro. Estos resultados revelan que el grupo que utilizó Clorhexidina obtuvo el mayor halo de inhibición promedio, con un valor de 21,67 mm en respuesta a la cepa de *Streptococcus mutans*. Por otro lado, el grupo experimental al 75% demostró un halo de inhibición promedio de 12,13 mm, seguido por el extracto al 35%, que presentó valores de 8,74 mm respectivamente.

**Tabla 3.** Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175

95% de intervalo de confianza para la media						
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite inferior	Límite superior
Etanol	10	6,0000	0,00000	0,00000	6,0000	6,0000
Ext. 5%	10	6,0000	0,00000	0,00000	6,0000	6,0000
Ext. 35%	10	8,7350	0,03866	0,01222	8,7073	8,7627
Ext. 75%	10	12,1270	0,03164	0,01001	12,1044	12,1496
Clorhexidina	10	21,6720	0,05224	0,01652	21,6346	21,7094

Los resultados presentados en las tablas 2 y 3 indican la respuesta de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a diferentes concentraciones de los extractos evaluados. Primeramente, se observó que el Etanol y las concentraciones de extracto de coca al 5% no presentaron actividad antibacteriana, con medias de 6.0000 mm y 6.0000 mm respectivamente.

Por otro lado, se observó que las concentraciones de extracto de coca al 35% y 75% mostraron una sensibilidad baja, con medias de 8.7350 mm y 12.1270 mm, respectivamente. Aunque estas concentraciones demostraron cierta actividad antibacteriana, la sensibilidad bacteriana a los extractos fue sumamente sensible en comparación con el control positivo, que en este caso fue la Clorhexidina, con una medida de 21.6720 mm.

### III.3. Contrastación de hipótesis específicas

#### a) Hipótesis Específica N° 01

**H0:** El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) no posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana in vitro.

**H1:** El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana in vitro.

**Tabla 4.** Tamizaje Fitoquímico

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	+
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	++
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	+
N° 4	Baljet	Lactonas $\alpha$ , $\beta$ -insaturadas	++
N° 5	Gelatina-sal	Taninos	+
N° 6	Gelatina	Taninos	++
N° 7	NaOH 10%	Antocianinas	-
N° 8	Mayer	Alcaloides	-
N° 9	Wagner	Alcaloides	++
N° 10	Dragendorff	Alcaloides	+++
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	-
N° 12	Fehling A y B	Azúcares reductores	+
N° 13	Espuma	Saponinas	-
N° 14	Shinoda	Flavonoides	+++

En la tabla 4 se evidenció una abundante presencia en las pruebas de Dragendorff y Shinoda, hallándose alcaloides y flavonoides. Se observó una mediana presencia en las pruebas de los ensayos Cloruro férrico, Baljet, Gelatina y Wagner, donde se encontraron compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos y alcaloides. Además, se encontró una mínima presencia en las pruebas de Borntrager, Liebermann-Burchard, Gelatina-sal y Fehling A y B, revelando la presencia de antraquinonas, terpenos y esteroides, así como taninos y azúcares reductores. Estos resultados indican la diversidad de compuestos químicos presentes en el extracto, lo que puede ser relevante para futuras investigaciones farmacológicas.

## b) Hipótesis Específica N° 02

**H0:** El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) no presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en la concentración del 5%, 35% y 75%.

**H1:** El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en la concentración del 5%, 35% y 75%.

**Tabla 5.** Prueba de Anova

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b><i>Streptococcus mutans</i></b>	Entre grupos	1702,485	4	425,621	407336,389	0,000
<b>ATCC 25175</b>	Dentro de grupos	,047	45	,001		
<b>Total</b>		<b>1702,532</b>	<b>49</b>			

Se utilizó la prueba de ANOVA para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos al comparar sus respectivas medias. En la Tabla 5, se puede observar un resultado con un valor de  $p < 0.05$  (sig), lo que indica la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos aplicados frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Para identificar de manera específica estas diferencias entre los distintos medios, se realizó un análisis POST HOC mediante el procedimiento de Tukey.

**Tabla 6.** Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Comparaciones múltiples						
(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
<b>Clorhexidina</b>	Etanol	15,67200*	,01446	0,000	15,6309	15,7131
	5%	15,67200*	,01446	0,000	15,6309	15,7131
	35%	12,93700*	,01446	0,000	12,8959	12,9781
	75%	9,54500*	,01446	0,000	9,5039	9,5861
<b>Etanol</b>	Clorhexidina	-15,67200*	,01446	0,000	-15,7131	-15,6309
	5%	,00000	,01446	1,000	-,0411	,0411
	35%	-2,73500*	,01446	0,000	-2,7761	-2,6939
	75%	-6,12700*	,01446	0,000	-6,1681	-6,0859

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Se constató que  $p < 0.05$  en comparación de (Clorhexidina) y los grupos experimentales al 5%, 35% y 75%, lo que evidencia que la Clorhexidina muestra un efecto inhibitorio significativamente mayor que los experimentales en todas las concentraciones frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Por otro lado, se observa que  $p > 0.05$  entre (Etanol) y los grupos experimentales al 5%, lo cual evidencia que no existen diferencias significativas en esta concentración. Sin embargo, al 35% y 75%, se evidenció  $p < 0.05$  en comparación con el (Etanol), lo que indica que existen diferencias estadísticas significativas en estas concentraciones particulares. Estos resultados proporcionan información valiosa sobre la eficacia relativa de Clorhexidina y Etanol en la inhibición de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en diferentes concentraciones.

### c) Hipótesis Específica N° 03

**H0:** El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) no es significativamente mayor comparado con clorhexidina 0,12% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**H1:** El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) es significativamente mayor comparado con clorhexidina 0,12% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se observa que, en el caso de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las medias de los diámetros de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las de *Erythroxylum coca* (coca) son menores en comparación con los valores obtenidos para la Clorhexidina utilizada como referencia positiva. Esto resalta que el agente antibacteriano de referencia muestra una zona de inhibición más extensa, con un promedio de 21.6720 mm, en contraste con los grupos experimentales.

**Tabla 7.** Prueba de subconjuntos de Tukey

HSD Tukey <sup>a</sup>					
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Etanol	10	6,0000			
5%	10	6,0000			
35%	10		8,7350		
75%	10			12,1270	
Clorhexidina	10				21,6720
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

En consecuencia, no se procede al rechazo de la hipótesis nula (H0). En otras palabras, no se ha encontrado evidencia de que el extracto posea una actividad antibacteriana significativamente superior a la Clorhexidina frente a esta cepa particular de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## IV. DISCUSIONES

### 4.1. Discusión

*Streptococcus mutans* es una bacteria grampositiva que es conocida por su papel en la caries dental y la enfermedad dental. Esta bacteria es capaz de metabolizar carbohidratos y producir ácidos que pueden dañar el esmalte dental, lo que contribuye a la formación de caries. Factores como la exposición prolongada y el uso indiscriminado de antibióticos contribuyen a la resistencia bacteriana, lo cual presenta un desafío en la prevención y control de las caries dentales. Esta situación plantea un problema significativo en la salud bucal a nivel global.

De acuerdo con el objetivo general de la investigación, se identificó en la tabla 1 y 2 que el extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) presentó actividad bactericida en las concentraciones del 35% y 75% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Sin embargo, esta actividad se caracterizó por una sensibilidad baja, con valores de inhibición de 8,7350 mm y 12,1270 mm, respectivamente. El mismo que coincide con Salcedo M (2018) quien en su resultado observado en cuanto a los halos de inhibición es notable en el estudio. El extracto etanólico de *Erythroxylum coca*, en particular en concentraciones del 100% y 50%, mostró un halo de inhibición significativamente mayor en comparación con el extracto etanólico de *Erythroxylum novogranatense*. Los valores de  $18,65 \pm 2,434$  mm y  $17,10 \pm 2,654$  mm para *Erythroxylum coca*, en contraste con los valores de  $15,30 \pm 1,895$  mm y  $14,05 \pm 1,932$  mm para *Erythroxylum novogranatense*, subrayan la mayor capacidad de inhibición de crecimiento bacteriano del primero. Estos resultados sugieren que el extracto etanólico de *Erythroxylum coca* podría contener compuestos con propiedades antibacterianas más potentes en comparación con *Erythroxylum novogranatense* (17). En ambos estudios, se observa una mayor actividad inhibidora en concentraciones más altas de los extractos, lo que sugiere la importancia de la concentración en la actividad antibacteriana. La baja sensibilidad observada en ambos casos podría deberse a la naturaleza de las cepas bacterianas utilizadas y su posible resistencia. La presencia de un control positivo (como la Clorhexidina) en ambos estudios proporciona una referencia para la actividad antibacteriana, mientras que un control negativo garantiza que los resultados no se deban a factores externos. La diferencia

en la capacidad de inhibición entre *Erythroxylum coca* y *Erythroxylum novogranatense* sugiere que los compuestos presentes en *Erythroxylum coca* podrían ser más efectivos en esta actividad, esto resalta la importancia de continuar investigando y caracterizando estos compuestos, lo que podría tener implicaciones en la búsqueda de nuevos agentes antibacterianos.

De acuerdo con el objetivo específico 1, en la tabla 4, se realizó la marcha fitoquímica revelando el notable cambio de color y precipitación en los tubos de ensayo que correspondió a los alcaloides y flavonoides mediante el reactivo Dragendorff y Shinoda, compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas y taninos. Semejante al estudio de Cossio B (2022) en su investigación en sus resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico entre *Erythroxylum novogranatense* y *Erythroxylum coca* revela diferencias significativas, *Erythroxylum novogranatense* muestra una mayor presencia de alcaloides, flavonoides, fenoles y taninos en comparación con *Erythroxylum coca*. Específicamente, el extracto acuoso de *Erythroxylum novogranatense* exhibe una concentración más alta de alcaloides, flavonoides y taninos en relación con *Erythroxylum coca*, estos resultados subrayan la diversidad química entre ambas especies y destacan el potencial de *Erythroxylum novogranatense* como una fuente rica en compuestos bioactivos. (15) La coincidencia en ambas investigaciones puede deberse a varios factores. En primer lugar, estas dos especies, *Erythroxylum coca* y *Erythroxylum novogranatense*, comparten ciertas características botánicas y genéticas, lo que sugiere que pueden contener compuestos químicos similares en su composición. Sin embargo, como se observa, también hay diferencias significativas en la cantidad y tipo de compuestos presentes en estas especies, lo que resalta la diversidad química que puede existir entre diferentes variedades de plantas, en el caso de la marcha fitoquímica, los reactivos utilizados, como el Dragendorff y Shinoda, son ampliamente reconocidos por su capacidad para detectar alcaloides y flavonoides, así como otros compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas y taninos. La respuesta positiva a estos reactivos en ambas investigaciones sugiere que estos compuestos están presentes en ambas especies y pueden desempeñar un papel en sus propiedades bioactivas.

Es importante recordar que la actividad antibacteriana y las propiedades biológicas de un extracto vegetal no dependen solo de la presencia de compuestos químicos,

sino también de su concentración, su combinación y su interacción con otros compuestos.

De acuerdo con el objetivo específico 2 de la investigación, los resultados presentados en la tabla 6 indican que el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* exhibió efecto antibacteriano significativo en la concentración del 75%, con un diámetro de inhibición de 12.1270 mm, estos resultados destacaron la capacidad de este extracto para inhibir el crecimiento bacteriano, particularmente a una concentración más alta. Además, se observó que existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en las comparaciones entre la Clorhexidina y los grupos experimentales. Este resultado indica que la Clorhexidina muestra un efecto inhibitorio significativamente mayor en comparación con los grupos experimentales, lo que sugiere que este agente antibacteriano de referencia es más efectivo en la inhibición del crecimiento bacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Coincide con el estudio de Salcedo, M (2018) en sus resultados revelan que el valor promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* frente al extracto etanólico de *E. novogranatense var. truxillense* es más significativo en concentraciones más altas. En particular, a la concentración del 100%, se obtiene un valor promedio de  $15.3 \pm 1.89$  mm, mientras que a la concentración del 50%, se observa un valor promedio de  $14.05 \pm 1.93$  mm. Estas concentraciones más elevadas demuestran un mayor efecto antibacteriano en comparación con los extractos de menor concentración. Sin embargo, es importante destacar que el valor promedio del halo de inhibición para todas las concentraciones de este extracto es menor en comparación con el control positivo (Clorhexidina al 0.12%) (17). Esto se debería a que ambos estudios utilizaron extractos de plantas para evaluar su actividad antibacteriana, lo que sugiere que los compuestos presentes en estas plantas podrían compartir características similares en términos de su capacidad para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, se observa que las concentraciones más altas de los extractos muestran un mayor efecto antibacteriano en comparación con las concentraciones más bajas. Esto podría deberse a una concentración más alta de compuestos bioactivos en los extractos a concentraciones superiores, lo que les permite ejercer un mayor impacto en la inhibición del crecimiento bacteriano.

Los resultados presentados en la tabla 7, de acuerdo con el objetivo específico 3 de la investigación, resaltan que las medias de los diámetros de inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obtenidas a partir de diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (coca), fueron inferiores en comparación con los valores logrados por la Clorhexidina, utilizada como referencia positiva. Específicamente, se observó que la Clorhexidina presentó un diámetro de inhibición mayor, con un valor promedio de 21.6720 mm. Esto indica que la Clorhexidina fue más efectiva en la inhibición del crecimiento bacteriano en comparación con el extracto de *Erythroxylum coca* a todas las concentraciones evaluadas. Semejante con el estudio de Sánchez, E (2018), quien en sus resultados obtenidos de la investigación revelan que el extracto de la hoja de *Erythroxylaceae erythroxylum Coca novogranatense* a diferentes concentraciones (50%, y 75%) generó halos promedio de inhibición frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 de 17.6 mm y 24.5 mm, respectivamente. Estos valores resultan inferiores en comparación con los obtenidos por Scarpetta, L (2016). En el estudio previamente mencionado, los diámetros de los halos de inhibición para *Streptococcus mutans* tuvieron una media de 34.4 mm (18). La coincidencia de los resultados entre la investigación actual y los estudios previamente mencionados puede atribuirse a varias razones, es importante considerar que la eficacia de un agente antibacteriano, ya sea la Clorhexidina o los extractos de *Erythroxylum coca*, puede variar en función de las condiciones específicas de cada experimento, como las concentraciones utilizadas, las cepas bacterianas probadas y las técnicas de evaluación. Esto puede explicar por qué en ambas investigaciones se observa que la Clorhexidina resulta en halos de inhibición bacteriana mayores en comparación con los extractos de *Erythroxylum coca* a las concentraciones específicas analizadas, la variabilidad en los resultados también puede estar relacionada con las diferencias en las propiedades químicas y la composición de los extractos de *Erythroxylum coca* utilizados en los estudios, así como con la posible influencia de otros factores, como la calidad de las muestras, el método de extracción y la estabilidad de los compuestos antibacterianos.

## 4.2. Conclusiones

- El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) en concentraciones de 35% y 75% demostró poseer propiedades antibacterianas frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- En el extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA), se identificaron varios tipos de metabolitos secundarios con abundante presencia (+++), hallándose alcaloides y flavonoides. También se encontraron compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos y alcaloides en menor cantidad.
- El extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) mostró efecto antibacteriano contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a concentraciones del 35% y 75%, por otro lado, no presentó actividad al 5%.
- Las concentraciones del 5%, 35% y 75% del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* (COCA) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 no superaron el efecto inhibitor del control positivo clorhexidina 0.12% que obtuvo un halo promedio de 21,67 mm.

### 4.3. Recomendaciones

- Realizar estudios adicionales para profundizar en la investigación del extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* (coca) en cuanto a su actividad antibacteriana, considerando diferentes cepas bacterianas y condiciones experimentales.
- Ampliar el alcance de la investigación para explorar otras propiedades potenciales de los componentes del extracto, como su actividad antioxidante o antiinflamatoria, lo que podría tener aplicaciones terapéuticas más amplias.
- Realizar pruebas de sinergia entre el extracto y otros agentes antibacterianos conocidos para evaluar la posibilidad de mejoras en la eficacia antibacteriana.
- Continuar investigando las posibles aplicaciones médicas y farmacéuticas del extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* (coca) en el contexto de la lucha contra infecciones bacterianas, particularmente frente a cepas resistentes a antibióticos convencionales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wong H. Childhood Caries Management. En t. J. Medio Ambiente. Res. Salud Pública 2022, 19, 8527. [Internet]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijerph19148527>
2. Nigel B, et al. Understanding dental caries as a non-communicable disease. BRITISH DENTAL JOURNAL. Volume 231 N°. 12 - 17 December 2021. [Internet]. Disponible en: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>
3. La OMS destaca que el descuido de la salud bucodental afecta a casi la mitad de la población mundial [Internet]. www.who.int. citado 18 de agosto de 2023. [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/18-11-2022-who-highlights-oral-health-neglect-affecting-nearly-half-of-the-world-s-population>
4. Hui CH. Dental Caries Status and Caries Risk Factors in Students Ages 12–14 Years in Zhejiang, China. Med Sci Monit, 2018; 24: 3670-3678 DOI: 10.12659/MSM.907325. [Internet]. Medscimonit.com. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://medscimonit.com/abstract/index/idArt/907325>
5. Teshome A, Muche A, Girma B. Prevalence of dental caries and associated factors in East Africa, 2000–2020: Systematic review and meta-analysis. Front Public Health 9:645091. doi: 10.3389/fpubh.2021.645091 [Internet]. 2021;9. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2021.645091>
6. Maldupa I, et al. Caries Prevalence and Severity for 12-Year-Old Children in Latvia. Sciencedirectassets.com. International Dental Journal Volume 71, Issue 3, June 2021, Pages 214-223. [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002065392036528X>

7. Schmidt P, et al. "Caries prevalence in 6- to 10-year-old German schoolchildren with and without disability." *Community dental health* vol. 37,4 281-286. 30 Nov. 2020, doi:10.1922/CDH\_4654Schmidt06. [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: [https://doi.org/10.1922/CDH\\_4654Schmidt06](https://doi.org/10.1922/CDH_4654Schmidt06)
8. Paiva sm, et al. Dental caries experience and its impact on quality of life in Latin American and Caribbean countries. *Braz oral res* [Internet]. 2021;35:e052. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0052>
9. Castillo J, Palma C, Cabrera A. Early childhood caries in Peru. *Front Public Health*. Volume 7 - 2019 [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2019.00337>
10. Abdel M, et al. Epidemiology of dental caries in permanent dentition: evidence from a population-based survey in Egypt. *BMC Public Health* 2022;22:2438. [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12889-022-14844-99>
11. Zewdu T, et al. Dental caries and associated factors in Ethiopia: systematic review and meta-analysis. *Environ Health Preventive Medicine* 2021.26, 21 [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12199-021-00943-3>
12. Kumar C, et al. Evaluation of Potential Phytochemicals and Phyto Pharmacological Activities of *Erythroxylum Monogynum* Roxb. *Biosci Biotech Res Asia* 2019; Vol. 16(2), p. 441-449. [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2759>
13. Scarpetta, L. Reconocimiento Fitoquímico y etnobotánico de *Erythroxylum coca* en la población Nasa del Departamento del Cauca – Colombia. *Revista Criterio Libre Jurídico* 14(1), 12-21 [Internet]. 1 de enero de 2017 [citado 18 de agosto de 2023];14(1):10-9. Disponible en:

<https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/criteriojuridico/article/view/1601>

14. De Wet H. Antibacterial activity of the five South African Erythroxylaceae species. African Journal of Biotechnology Vol. 10(55), pp. 11511-11514, 21 September, 2011 [Internet]. [citado el 28 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/96171>
15. Cossio B. Efecto antibacteriano de dos extractos de *Erythroxylum coca* frente a *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. Revista Cubana de Medicina Militar 2022;51(3):e02202028 [Internet]. [citado el 18 Agosto 2023]. Disponible en: <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2028>
16. Cervantes S, et al. Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico de *Curcuma longa* L. y *Erythroxylum coca* var. *Coca* a Diferentes Concentraciones Contra *Streptococcus mutans* : Estudio Comparativo In Vitro. In. Proceedings of the 8th Brazilian Technology Symposium (BTSym'22) pp 530–539. Smart Innovation, Systems and Technologies, vol 353. Springer. Internet]. [citado el 18 Agosto 2023]. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-3-031-31007-2\\_50](https://doi.org/10.1007/978-3-031-31007-2_50)
17. Salcedo M. Efecto del extracto etanólico *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* y *Erythroxylum coca* var. *coca* frente al *Streptococcus mutans*. Rev Estomatol Herediana. 2022 Oct-Dic;32(4):365-370 [Internet]. Edu.pe. [citado el 28 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/4376/4911>
18. Sánchez E. Evaluación "In Vitro" del Efecto Antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de Erythroxylaceae *Erythroxylum coca* Novogranatense frente al *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 en comparación con el Gluconato de Clorhexidina al 2% Chimbote 2018. [Internet]. Edu.pe. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/13446/Art%20c3%adculo%20cient%20c3%adfico%201.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

19. Tao Cui, et al. Progress of Antimicrobial Discovery Against the Major Cariogenic Pathogen *Streptococcus mutans*. *Curr. Issues Mol. Biol.* (2019) 32: 601-644. [Internet]. 2018;29(7–8):558–76. Disponible en: <https://www.caister.com/cimb/vb/v32/601.pdf>
20. JA Lemos, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr.* Enero-2019. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018. [Internet]. 2018;29(7–8):558–76. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0051-2018>
21. Villena C, Sauvain M. Usos de la Hoja de Coca y Salud Pública. La Paz-Bolivia: Instituto Boliviano de Biología de Altura; 1997. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: [https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/divers13-08/010057947.pdf](https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers13-08/010057947.pdf)
22. Chulver P, et al. Hoja de Coca: Antecedentes y perspectivas para su exportación. Fundación Acción Semilla. Conchitas 20 de octubre N° 414. La Paz, Bolivia, 2020. [Internet]. Tni.org. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: [https://www.tni.org/files/publication-downloads/libro\\_hoja\\_de\\_coca\\_-\\_accion\\_semillaweb.pdf](https://www.tni.org/files/publication-downloads/libro_hoja_de_coca_-_accion_semillaweb.pdf)
23. Peña L, Millones P. La hoja de coca peruana, la medicina milenaria de los incas. *Medicina naturista*, ISSN 1576-3080, Vol. 16, N° 2, 2022, págs. 28-31. [Internet]. [citado el 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8491412>
24. Bernal C. Metodología de la investigación administración, economía, humanidades y ciencias sociales. Tercera edición. PEARSON EDUCACIÓN, Colombia, 2010 ISBN: 978-958-699-128-5. Páginas: 320. [Internet]. [citado el 24 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://abacoenred.com/wp-content/uploads/2019/02/El-proyecto-de-investigaci%C3%B3n-F.G.-Arias-2012-pdf.pdf>

25. Perez R, et al. Metodología de la investigación científica. Editorial Maipue, 2020. Digitalia, Buenos Aires - Argentina. [Internet]. [citado el 24 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.digitaliapublishing.com/a/80790>
26. Hernández L. Metodología de la investigación en ciencias de la salud. Guía práctica. Ecoe Ediciones, 2012. Digitalia, Bogotá - Colombia 134 pag. [Internet]. [citado el 24 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.digitaliapublishing.com/a/30002>
27. D'Aquino M, Barrón V. Proyectos y metodología de la investigación. Editorial Maipue, 2020. Buenos Aires - Argentina. 128 pag. Digitalia. [Internet]. [citado el 24 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.digitaliapublishing.com/a/80797>
28. Mestres L. Aceite Esencial Y Extracto Alcohólico ¿tienen Las Mismas Propiedades? [Internet]. AromaTraining. 2015 [citado el 24 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://aromatraining.com/aceite-esencial-y-extracto-alcoholico-tienen-las-mismas-propiedades/>
29. Extractos vegetales: qué tipos hay, diferencias y cómo se usan [Internet]. Blog de Gran Velada. Granvelada.com; 2021 [citado el 24 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.granvelada.com/blog/diferencias-tipos-extractos-vegetales/>
30. Sacsquispe R, Velásquez J. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN. Instituto Nacional de Salud. Serie de Normas Técnicas N° 30 Lima - 2002 [Internet]. Gob.pe. [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: [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)

31. Supo J. Cómo empezar una tesis – Tu proyecto de investigación en un solo día. Primera edición: Enero del 2015. Perú. [Internet]. [citado el 29 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://asesoresenturismoperu.files.wordpress.com/2016/03/107-josc3a9-sup0-cc3b3mo-empezar-una-tesis.pdf>
32. Campwala M. Importance of Amber Glass Bottle in a science lab [Internet]. Science Equip Pty Ltd. 2022 [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.scienceequip.com.au/blogs/news/amber-glass-bottle-importance-in-a-science-lab>
33. Castro C, et al. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre microorganismos de importancia clínica. *Gac médica bol* 2021/01/ene-jun2021;44(1):29–33. [Internet]. [citado el 25 de agosto de 2023] Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=152241287&lang=es&site=ehost-live>
34. Valenzuela C, et al. Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda. *Rev Colomb Cienc Quím Farm* 2019;48(1):94–111. [Internet]. [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80068>
35. Ramos A, Rivera M. “EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL MESOCARPIO DE *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) FRENTE A *Proteus mirabilis* ATCC 29906. 2023. Edu.pe. [Internet]. [citado el 30 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1482/TESIS%20RAMOS-RIVERA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

36. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos En El Estudio De Productos Naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad Católica del Perú; 2016. 287. [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.worldcat.org/es/title/investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales/oclc/1006393217>
37. Lake K, et al. In vitro efficacy of 0.2% and 0.4% sodium oxychlorosene against meticillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius. Veterinary Dermatology [Internet]. 2023 Feb [citado el 25 de agosto de 2023];34(1):33–9. Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=161104432&lang=es&site=ehost-live>
38. Microbiologics® A safer, healthier world. INSTRUCCIONES DE USO. PI.194.SPAN.EU Rev. B2016.JULY.05 [Internet]. Durviz.com. [citado el 30 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://durviz.com/wp-content/uploads/2018/03/Spanish-European-LYFO-DISK-KWIK-STIK-KWIK-STIK-Plus-Instructions-For-Use.pdf>
39. Sacsquispe R, Velásquez J. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN. Instituto Nacional de Salud. Serie de Normas Técnicas N° 30 Lima - 2002 [Internet]. Gob.pe. [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: [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)
40. Corvianindya Y, Sabir A, Setyorini D. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF RED DRAGON FRUIT EXTRACT (HYLOCEREUSPOLYRHIZUS) ON STREPTOCOCCUSMUTANS. International Journal of Applied Pharmaceutics. Vol 11. 60-63. 10.22159/ijap.2019.v11s4.35293. [Internet]. [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://journals.innovareacademics.in/index.php/ijap/article/view/35293/20613>

41. Agencia Nacional, Medicamentos D. PRINCIPIOS DE BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO PARA LA REALIZACION DE ESTUDIOS PRECLINICOS. Ispch.cl. Chile-Diciembre 2014 [Internet]. [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.ispch.cl/sites/default/files/PRINCIPIOS%20DE%20BUENAS%20PRACTICAS%20DE%20LABORATORIO%20PARA%20LA%20REALIZACION%20DE%20ESTUDIOS%20PRECLINICOS.pdf>
  
42. Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA. MANUAL DE BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO. INIA-Perú. Jun 2021. ISBN: 978-9972-44-076-2. [Internet]. [citado el 25 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/1375/1/MANUAL%20DE%20BUENAS%20PR%C3%81CTICAS%20DE%20LABORATORIO.pdf>

## ANEXOS

### Anexo A: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto etanólico de hojas de <i>Erythroxylum coca</i> (COCA)</p>	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	14	<p>(-) Ausente</p> <p>(+) Leve</p> <p>(++) Moderado</p> <p>(+++) Abundante</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Efecto antibacteriano in vitro frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Microbiológico</p> <p>(Método de difusión en agar)</p>	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<p>&lt;8 mm: nulo (-)</p> <p>8 – 14 mm: Sensibilidad baja o límite (+)</p> <p>14 – 20 mm: Sensibilidad media (++)</p> <p>&gt;20 mm: Sumamente sensible (+++)</p>

## Anexo B: Instrumento de recolección de datos

**Tabla 8:** Marcha fitoquímica del extracto etanólico

<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>REACTIVOS</b>	<b>RESULTADO</b>
Quinonas	Borntrager	
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	
Flavonoides	Shinoda	
Antocianinas	NaOH 10%	
Taninos	Gelatina	
Taninos	Gelatina Sal	
Alcaloides	Dragendorff	
Alcaloides	Wagner	
Alcaloides	Mayer	
Triterpenos y Esteroides	Liebermann Burchard	
Lactonas $\alpha$ , $\beta$ insaturadas	Baljet	
Saponinas	Espuma	
Azucares reductores	Benedic	
Azucares reductores	Fehling A y B	

### Leyenda:

**(-) Ausente**

**(++) Leve**

**(++++) Abundante**

**(+) Escaso**

**(+++ Moderado**

**Tabla 9:** Ensayo microbiológico

<b>Frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</b>					
<b>N°</b>	<b>Control negativo</b>	<b>Control positivo</b>	<b>Ext. 5%</b>	<b>Ext. 35%</b>	<b>Ext. 75%</b>
<b>1</b>					
<b>2</b>					
<b>3</b>					
<b>4</b>					
<b>5</b>					
<b>6</b>					
<b>7</b>					
<b>8</b>					
<b>9</b>					
<b>10</b>					

## Anexo C: Certificado Taxonómico

José R. Campos de la Cruz  
CONSULTOR BOTÁNICO  
C. B. P. 3796  
Cel: 963689079  
Email: jocamde@gmail.com



### CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA – RESOLUCIÓN DIRECTORAL Nº 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

#### CERTIFICA:

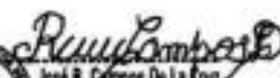
Que, los Bachilleres HEREDIA MEDINA, EBERT ANTONIO y PADILLA ZEVALLOS, GLADYS LUZVI, tesis de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación para desarrollar el proyecto de tesis titulado: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Erythroxylum coca* (COCA) FRENTE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente del departamento del Cusco, provincia de la Convención, distrito de Pichari, Fundo Villareal, donde es conocida con el nombre vulgar de "coca", la muestra ha sido identificada como *Erythroxylum coca* Lam. Según la base de datos W<sup>3</sup>Tropicos del Missouri Botanical Garden, que siguen el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009), actualizado por APG IV (2016), el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Chase & Reveal en APG III (2009) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de W<sup>3</sup>Tropicos, APG III y APG IV, para la especie identificada se adapta las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae  
División: Angiospermas  
Clase: Equisetopsida  
Subclase: Magnoliidae  
Superorden: Rosanae  
Orden: Malpighiales  
Familia: Erythroxylaceae  
Género: *Erythroxylum*  
Especie: *Erythroxylum coca* Lam.

Nombre vulgar: Coca

Se expide la presente certificación para fines de investigación científica.

Lima, 24 de octubre del 2023

  
José R. Campos De La Cruz  
BIOLOGO  
C.B.P. 3796

## Anexo D: Informe de análisis de laboratorio



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

### Informe de Resultados

Solicitado por: Bach. Heredia Medina, Eber Antonio  
Bach. Padilla Zevallos, Gladys Luzvi  
Muestra: Extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca*  
Fecha de ensayo: 07-10-2023

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	35%	5%	Clorhexidina	ETANOL
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	12.11	8.78	6	21.68	6
	12.17	8.78	6	21.73	6
	12.13	8.72	6	21.68	6
	12.07	8.69	6	21.59	6
	12.15	8.75	6	21.71	6
	12.11	8.70	6	21.64	6
	12.10	8.67	6	21.58	6
	12.14	8.75	6	21.70	6
	12.12	8.74	6	21.69	6
	12.17	8.77	6	21.72	6

\*Tamaño de pozo: 6mm, por lo que al reportarse 6 mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

\*Concentración del inoculo:  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez

CTMP. 10808

## Anexo E: Certificado de Agar Mueller Hinton



Certified : ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP

**HiMedia Laboratories Private Limited**  
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,  
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,  
 Email : info@himedialabs.com

### Certificate of Analysis, Quality and Conformity

<b>Material Code :</b> M173	<b>Material Name :</b> Mueller Hinton Agar	<b>Lot No</b> : 0000357521
<b>Report No.:</b> 040000849057	<b>Date of Release &amp; Report :</b> 2018-09-24	<b>Expiry Date :</b> 2023-09

**Appearance**

Cream to yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow

**Gelling**

Firm, comparable with 1.7% agar gel.

**Colour and Clarity of prepared medium**

Light amber coloured clear to slight opalescent gel forms in Petri plates.

**Reaction**

Reaction of 3.8% w/v aqueous solution at 25°C.

**pH**

pH Range :7.20-7.40 Observed : 7.39

**Cultural Response**

Cultural characteristics observed after incubation at 30-35°C for 18 -24 hours for bacterial cultures. For testing *S.pneumoniae* : The medium was supplemented with 5% Sheep blood and incubated at 35°C for 16-18 hours at 5% CO<sub>2</sub> For testing *H.influenzae* : Yeast extract & 2 vials /l of Haemophilus Growth Supplement (FD117 containing 15 mg/l of Haematin + 15 mg/l of NAD) and incubated at 35°C for 20-24 hours at 5% CO<sub>2</sub>

**Antibiotic Sensitivity test**

Various discs were tested for standard ATCC strains and zone of inhibition were measured after an incubation 30-35°C for 18 hours. (As per the latest CLSI Protocol M6 & Standards as per the current CLSI M100)

**Thymine/Thymidine Content**

# The zones for these discs are indicative of the Thymine/Thymidine content of the medium.

**Divalent Cation Content**

\* The zones for these discs are indicative of the Divalent Cation content of the medium

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Observed Lot value (CFU)	Recovery	Standard Zone	Zone of inhibition Observed
<b>Escherichia coli ATCC 25922</b>						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	72	84%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	22mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	16-22 mm	21mm
<i>Cefotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	29-35 mm	33mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	15-21 mm	20mm

**HiMedia Laboratories Private Limited**  
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,  
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,  
 Email : info@himedialabs.com

**Certificate of Analysis, Quality and Conformity**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name :</b> Mueller Hinton Agar	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No. : 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

<i>Chloramphenicol C 30 mcg</i>	-	-	-	-	21-27 mm	26mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	30-40 mm	38mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg</i>	-	-	-	-	19-26 mm	24mm
<i>Sulphafurazole SF 300 mcg</i>	-	-	-	-	15-23 mm	21mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-25 mm	24mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg <sup>g</sup></i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

**Staphylococcus aureus ATCC 25923**

<i>Growth promoting</i>	76	luxuriant	64	84%	-	-
<i>Amoxycylav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	28-36 mm	35mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	36mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	35mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	29mm
<i>Erythromycin E 15 mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	28mm
<i>Linezolid LZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	25-32 mm	31mm
<i>Oxacillin OX 1mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Pristinomyacin RP 15 mcg</i>	-	-	-	-	21-28 mm	27mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-21 mm	20mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg <sup>g</sup></i>	-	-	-	-	24-32 mm	31mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm

**Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

<i>Growth promoting</i>	83	luxuriant	71	85%	-	-
<i>Amikacin AK 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-26 mm	25mm
<i>Aztreonam AT 3mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm
<i>Cephotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-22 mm	21mm
<i>Ceftazidime CAZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	22-29 mm	27mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg *</i>	-	-	-	-	16-21 mm	20mm
<i>Imipenem IPM 10 mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid FCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Tobramycin TOB 10 mcg *</i>	-	-	-	-	19-25 mm	23mm

**Escherichia coli ATCC 35218**

**HiMedia Laboratories Private Limited**

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,  
Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,  
Email : info@himedialabs.com

**Certificate of Analysis, Quality and Conformity**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name : Mueller Hinton Agar</b>	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

<i>Growth promoting</i>	75	luxuriant	63	84%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-22 mm	21mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	13-19 mm	18mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	12-18 mm	16mm
<i>Piperacillin/Tazobactam PIT 100/10 mcg</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Ticarcillin TI 75 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	21-25 mm	23mm

**Enterococcus faecalis ATCC 29212**

<i>Growth promoting</i>	69	luxuriant	58	84%	-	-
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm (Clear zone)	23mm
<i>Trimethoprim TR 5 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm	21mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	# 17 mm	22mm

**Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA)**

<i>Growth promoting</i>	88	luxuriant	76	86%	-	-
<i>Oxacillin OX 1 mcg</i>	-	-	-	-	Very Hazy to No Zone	No zone

**Sterptococcus pneumoniae ATCC 49619 (On Medium with 5% Sheep Blood)**

<i>Growth promoting</i>	80	luxuriant	69	86%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

**Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226 (Incubated w/5% CO2)**

<i>Growth promoting</i>	71	luxuriant	63	88%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

**Haemophilus influenzae ATCC 49247 (On medium w/ Y.E.,NAD & Hematin)**

<i>Growth promoting</i>	84	luxuriant	72	85%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

- . ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection
- . NCTC and National Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency

**Control Media :**

- . For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
- . For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

- . All ISO 11133 : 2014( E ) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is Certified for ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP

**HiMedia Laboratories Private Limited**

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,

Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,

Email : info@himedialabs.com

**Certificate of Analysis, Quality and Conformity**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name :</b> Mueller Hinton Agar	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH  $\leq$  7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

**STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED**

This is to certify that this lot passes and it confirms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

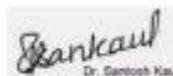
**This document has been produced electronically and is valid**



Chetana Shewale  
Microbiologist/Sr.Executive  
Microbiologist



Ujjwala M. Kokate  
Asst./Dy/QC Manager



Dr. Santosh Kaul  
Dy/QA Manager

24.09.2018

## Anexo F: Certificado de análisis de Cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>SPECIFICATIONS:</b></p> <p><b>Product Name:</b> Streptococcus mutans</p> <p><b>Catalog Number:</b> 0266</p> <p><b>Lot Number:</b> 266-35**</p> <p><b>Reference Number:</b> ATCC® 25175™*</p> <p><b>Passage from Reference:</b> 3</p> <p><b>Expiration Date:</b> 2024/03/31</p>	<p><b>RELEASE INFORMATION:</b></p> <p><b>Quality Control Technologist:</b> Jacob A Lohman</p> <p><b>Release Date:</b> 2022/05/12</p>
--	--

Performance	
<p><b>Macroscopic Features:</b></p> <p>Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.</p> <p><b>Microscopic Features:</b></p> <p>Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains</p>	<p><b>Medium:</b></p> <p>SBAP</p> <p><b>Method:</b></p> <p>Gram Stain (1)</p>
<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p>	
<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b></p> <p>(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> <p>Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE</p> </div>	
<p><small>**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.</small></p> <p><u>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</u></p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <p>TESTING CERT #2655.01</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><small>(*) 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.</small></p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;"> <p>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</p> </div> </div>	

## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

### Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2022-05-05T11:43:00.478 JAL

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G6 (+++) (A)	266-35	Streptococcus mutans	2.05

Comments:

N/A

## Anexo G: Evidencias fotográficas

### PROCESAMIENTO DE MUESTRA

Muestra:



Figura 1. Muestra de tipo Hojas de *Erythroxylum coca* (COCA)



Figura 2. Selección y limpieza

## PROCESO DE SELECCIÓN



**Figura 3.** Hojas en buen estado



**Figura 4.** Selección de Tallos y hojas deterioradas

### b) Lavado



**Figura 5.** Lavado con agua potable y agua estéril

**c) Secado**



**Figura 6. Secado**

**d) Molienda**



**Figura 7. Proceso de molienda**

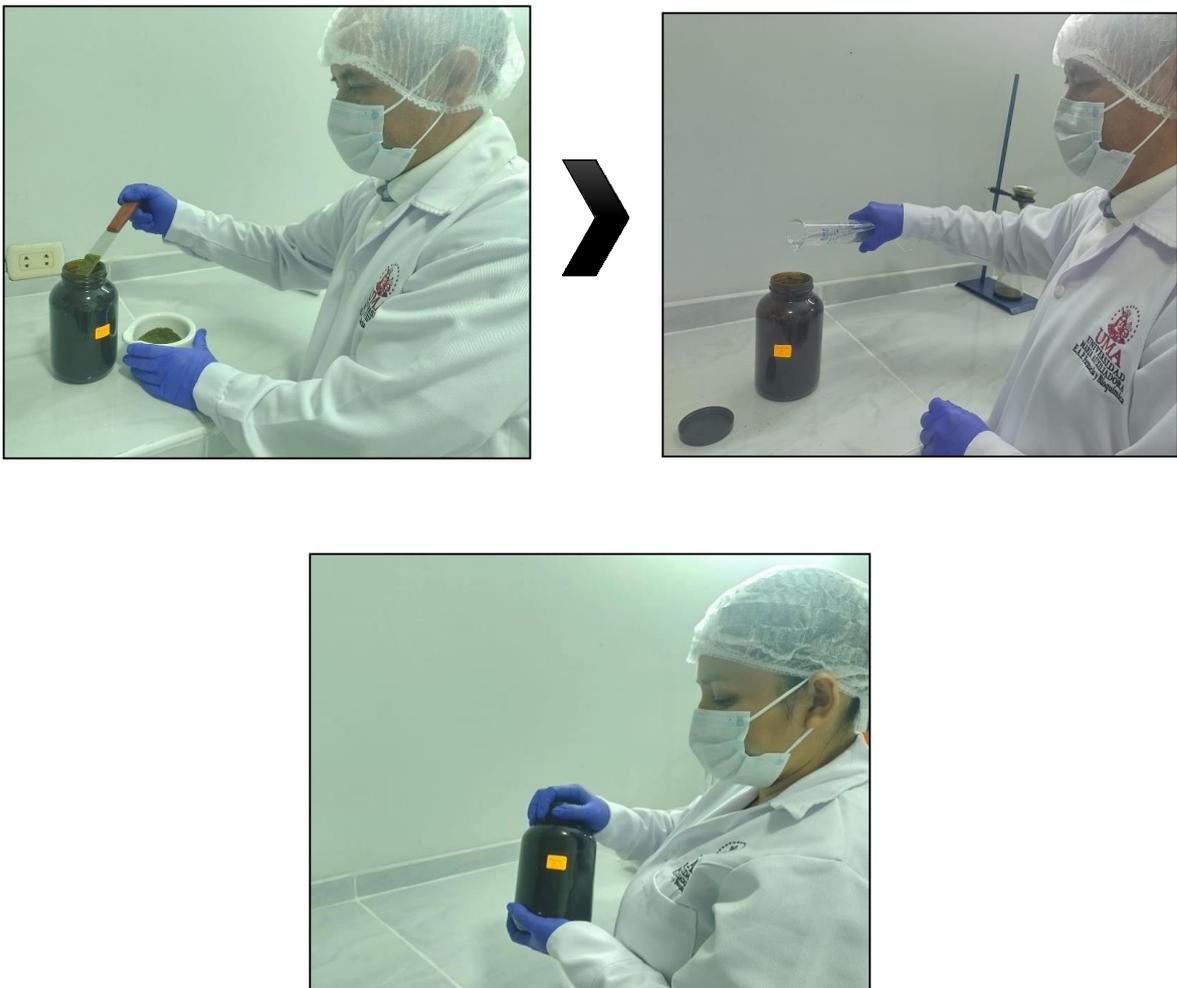
**Proceso de molienda**

## 1.2. Extracción

### a) Macerado

El proceso de extracción se realizó macerando, dentro de un frasco ámbar, el material obtenido luego de la molienda con etanol de 96°. El proceso de maceración se realizó durante 7 días, sometiéndolo a agitación mecánica cada 12 horas.

- Cantidad de muestra a macerar: 1000 g
- Solvente : etanol 96°
- Cantidad de solvente: 4600 mL
- Días de macerado: 7 días



**Figura 8.** Proceso de maceración

## b) Filtrado

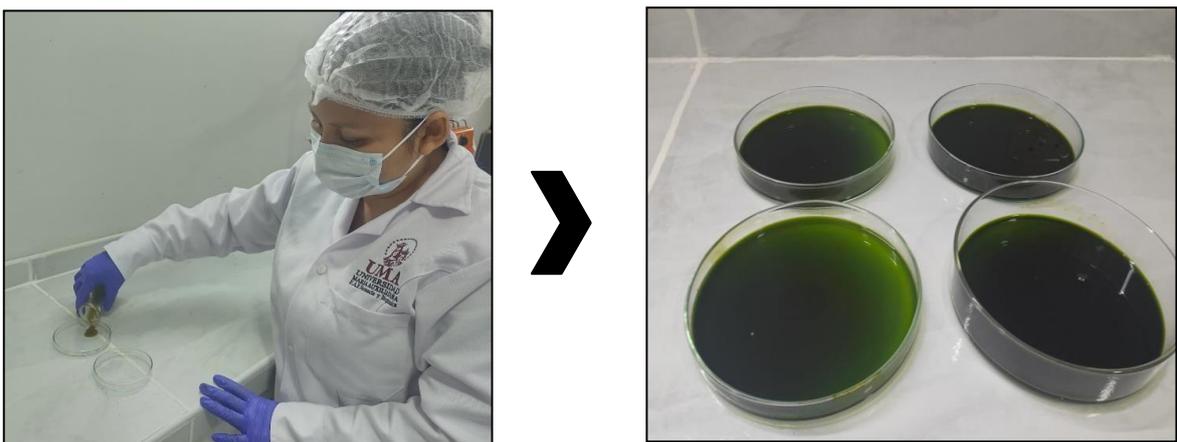


**Figura 9.** Proceso de filtración

## c) Obtención extracto seco

Para facilitar la evaporación del disolvente, el líquido filtrado fue vertido sobre placas Petri de vidrio y fue llevado a estufa de aire re circulante a una temperatura de 40°C hasta sequedad.

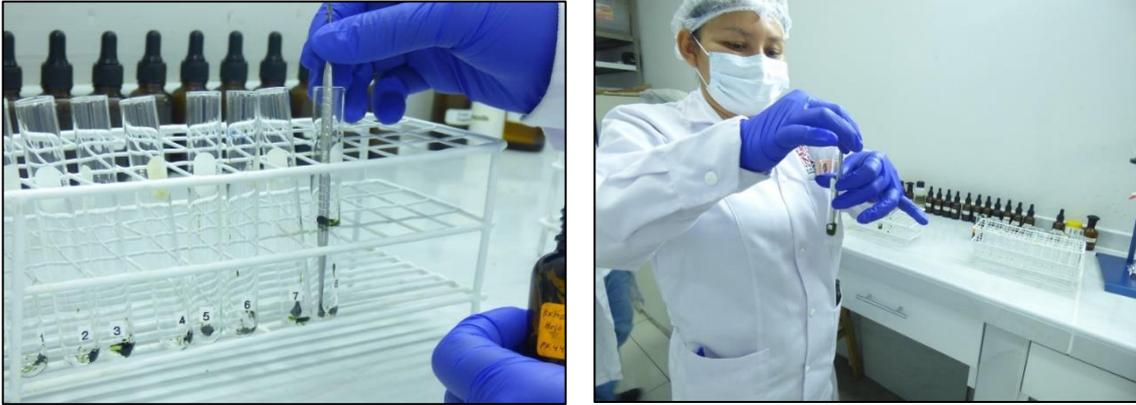
- Temperatura : 40°C
- Tiempo de secado: 48 horas
- Cantidad extracto obtenido: 33.3 g



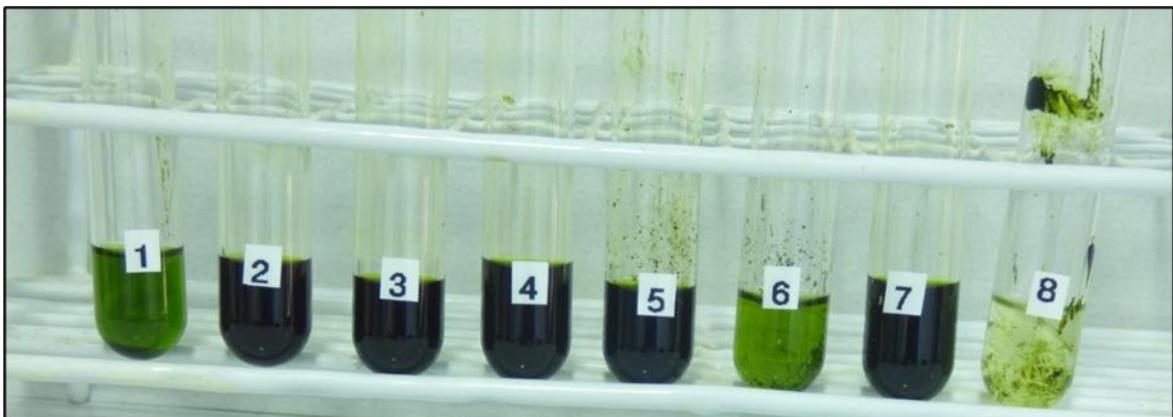
**Figura 10.** Obtención de extracto seco



## PROCEDIMIENTO DE ANALISIS DE SOLUBILIDAD



**Figura 11.** Adición de extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad

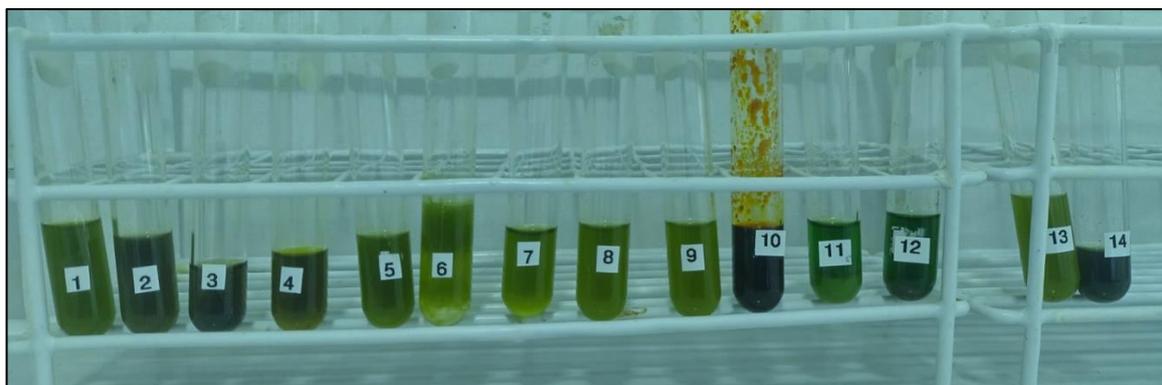


**Figura 12.** Resultados de prueba de solubilidad

## PROCEDIMIENTO DE MARCHA FITOQUIMICA



**Figura 13.** Adición de extracto a los tubos de ensayo



**Figura 14.** Resultado de la marcha fitoquímica

# ENSAYO MICROBIOLÓGICO

## I. MÉTODO

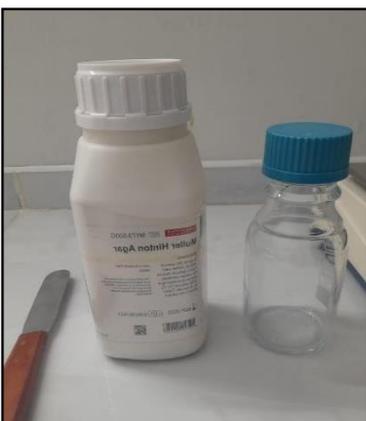
### Método de difusión en pozos (Kirby Bauer modificado)

Consiste en depositar dentro de pozos elaborados sobre la superficie de una placa con agar previamente inoculada con el microorganismo, diferentes sustancias a evaluar.

#### 1. Preparación de Medio de Cultivo

##### 1.1 Agar Mueller Hinton

- El medio de cultivo fue preparado partiendo de la base deshidratada y siguiendo las indicaciones proporcionadas por el fabricante.
- Se pesó 7.6 gr. de la base deshidratada y se adicionó 200 ml de agua destilada, a continuación, se procedió a calentar con agitación frecuente hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último, se esterilizó en autoclave sometiéndolo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
- Una vez terminado el proceso en la autoclave, se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C y se distribuyó en placas Petri estériles de 90 x 15 mm.



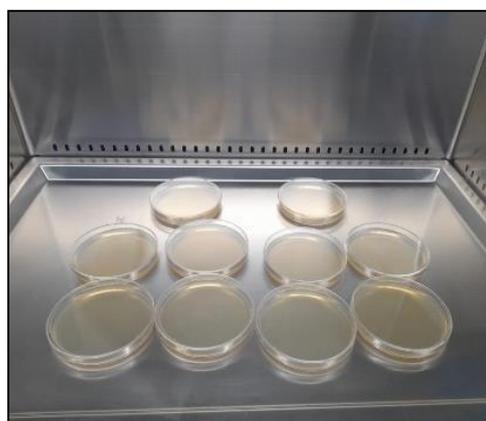
**Activación de la cepa : Kwik-stik microbiológica - Streptococcus mutans**



**Figura 15.** Autoclave para el uso en la prueba microbiológica



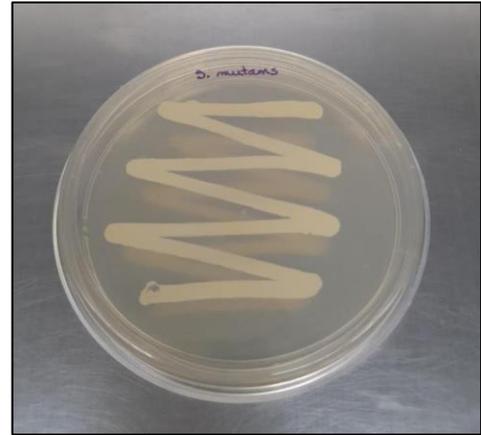
**Figura 16.** Agar Sabouraud Dextrosa



**Figura 17.** Placas preparadas

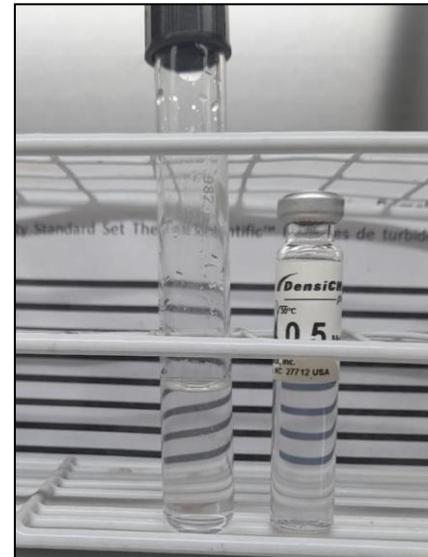
## Método de preparación del inóculo

- a) Se realizó la suspensión directa, en solución salina (cloruro de sodio 0.9%), de colonias obtenidas de la placa anteriormente incubada.

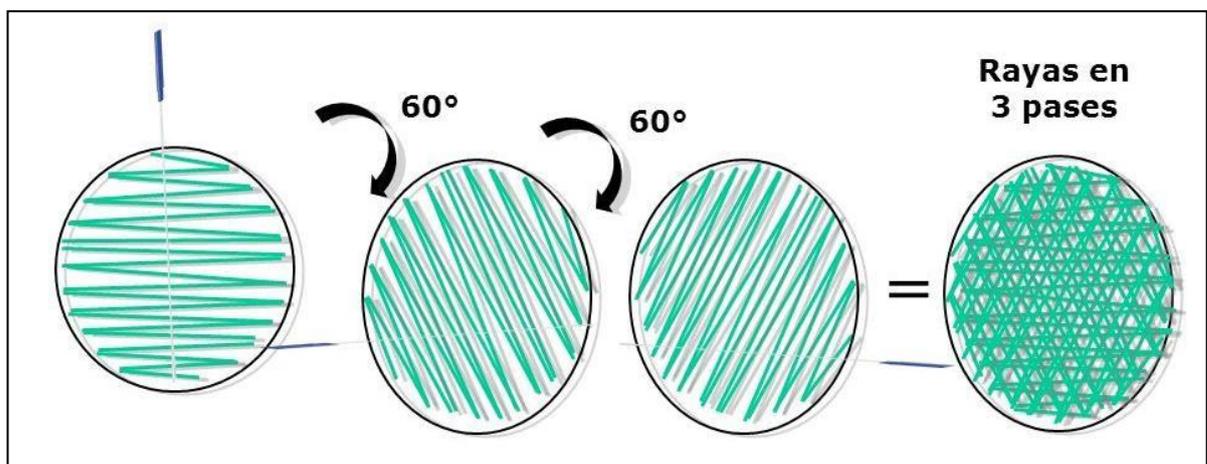


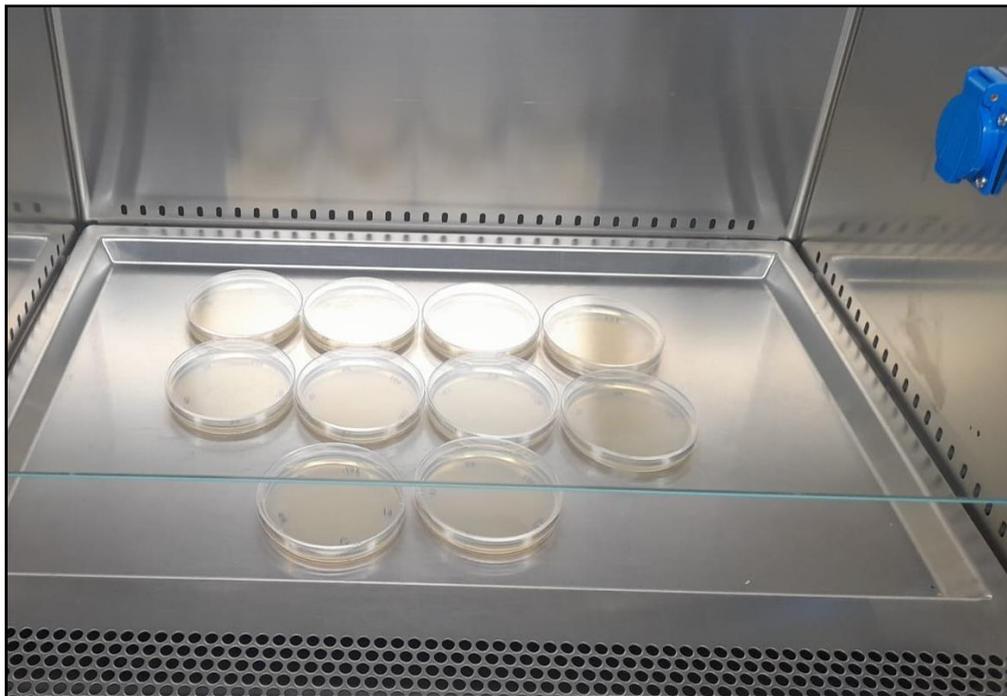
## *Streptococcus mutans* ATCC 25175

- b) La turbidez resultante fue inmediatamente ajustada comparándola de manera visual con la turbidez del estándar 0.5 de Mc. Farland.

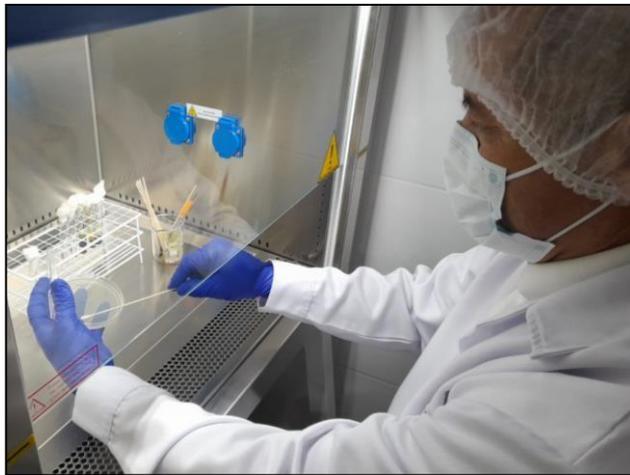
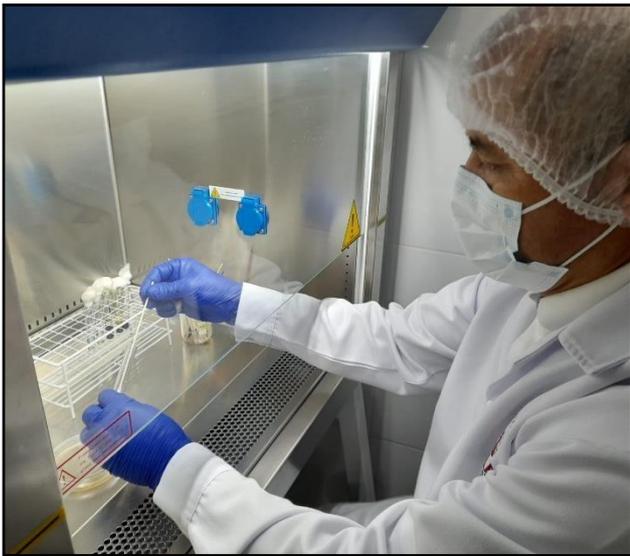


## 4. Inoculación de placas





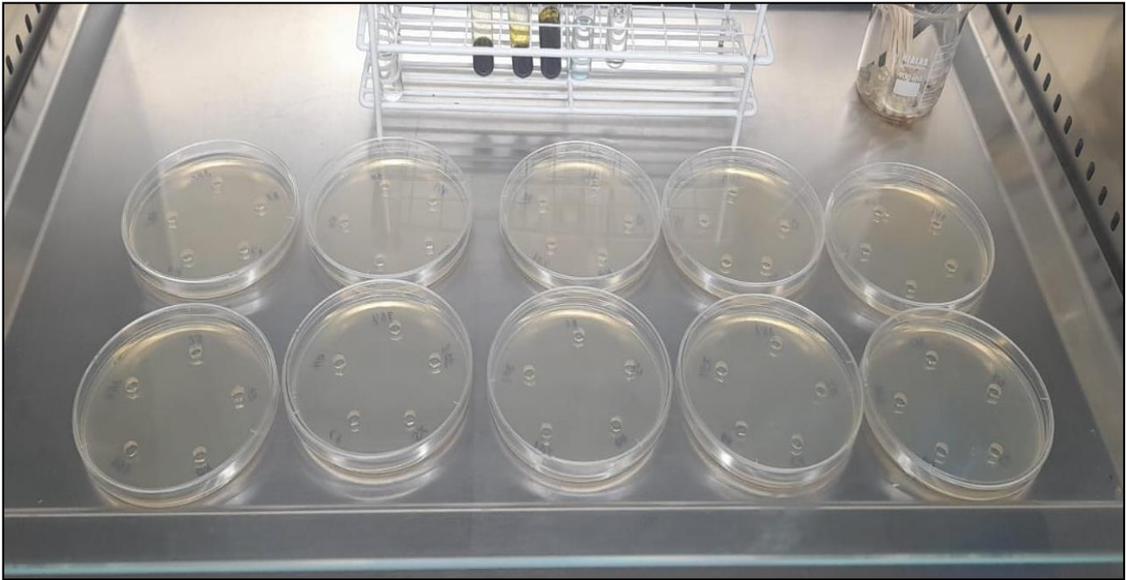
**Figura 18.** Rotulado de placas



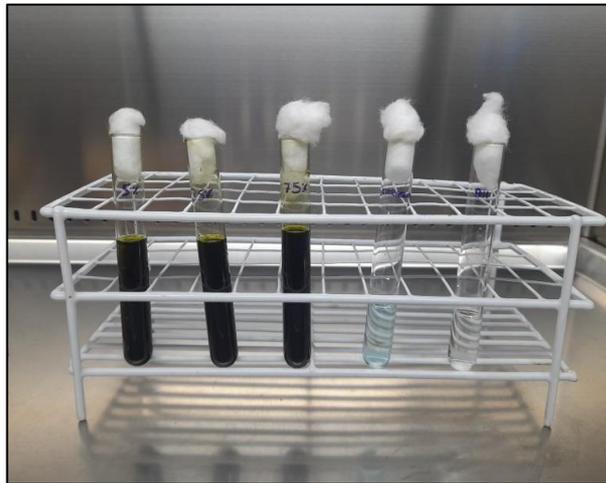
**Figura 19. Siembra de placas**



**Figura 20. Realizando pozos en agar con ayuda de un sacabocado**



**Figura 21.** Pozos en agar listos para adición de sustancias experimentales



**Figura 22.** Preparación de sustancias experimentales

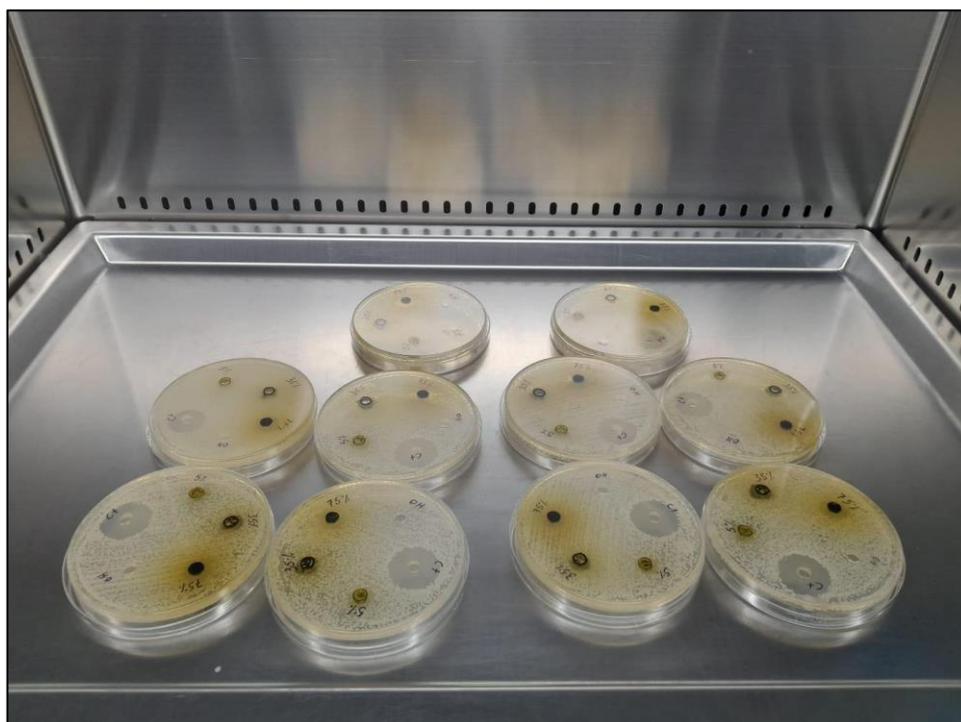




**Figura 23. Incubación**

## **5. Lectura de resultados**

Halos de inhibición de los 5 grupos fueron medidos empleando un vernier.



**Figura 24. Lectura de resultados**

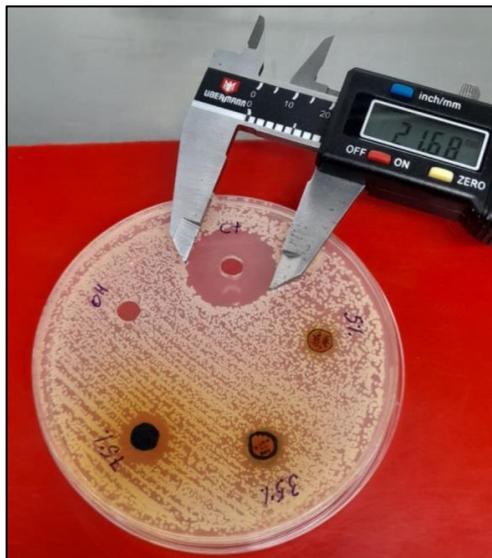
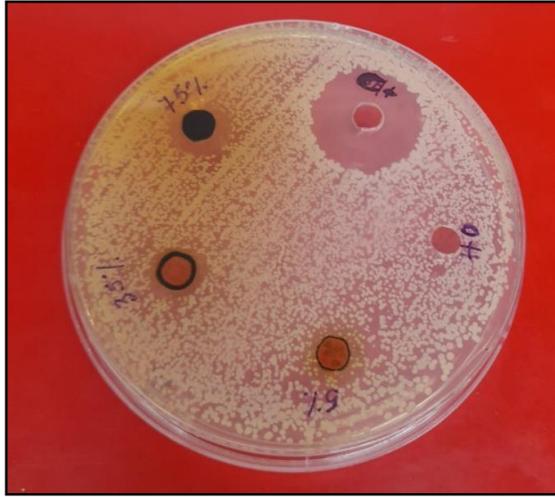


Figura 25. Lectura de resultados

## Anexo H: Porcentaje de rendimiento

### Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

**Dónde:** %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

Fuente : Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda

<http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v48n1/0034-7418-rccqf-48-01-94.pdf>

### Extracción por maceración

$$\%E = \frac{33.3g}{1000g} \times 100 = 3.33\%$$

Pf= 33.3 g. extracto seco obtenido

Pi = 1000g muestra molida

## Anexo I. Constancia de recolección de muestra

### CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Yo, Sra. VILMA QUISPE LLACTAHLIAMAN con  
DNI 25019159, en calidad de administrador del fundo  
VILLAREAL, ubicado en el departamento del Cusco  
provincia de la Convención distrito de Pichari.

Autorizo a los estudiantes de la Universidad María Auxilladora, de la facultad de FARMACIA Y BIOQUÍMICA, Bach. Heredia Medina, Eber Antonio y Bach. Padilla Zevallos, Gladys Luzvi, con título de proyecto de investigación, "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Erythroxylum coca* (COCA) FRENTE *Streptococcus mutans* ATCC 25175", para que puedan recolectar la muestra de hojas de Coca para fines de investigación científica.

Cuzco, 09 de setiembre del 2023

Vilma Quispe H.

Firma