



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE

ODONTOLOGÍA

**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

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL

GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN

ESTOMATOLOGÍA

AUTOR

SÁNCHEZ HUAMÁN, EDWARDS GIANMARCO

ASESOR

REYES VARGAS, AUGUSTO ENRIQUE

CHIMBOTE – PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR

Dr. Elías Aguirre Siancas

Presidente

Mgtr. Adolfo San Miguel Arce

Miembro

Mgtr. Sally Castillo Blaz

Miembro

Mgtr. CD. Augusto Reyes Vargas

Asesor

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres Norma y José
por su apoyo incondicional.

A Dios y mi familia por ser la fuerza
de apoyo para culminar este proyecto.

DEDICATORIA

El presente proyecto de investigación es
dedicado a mis padres por darme la vida y
brindarme su ayuda en esta etapa de mi vida.

A mis abuelos que me
brindan su amor incondicional y colaboraron con el
desarrollo de mi carrera profesional.

RESUMEN

La presente investigación de tipo experimental, transversal, prospectivo y analítico “in vitro”. Tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense* frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%; se desarrolló en el laboratorio de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad los Ángeles de Chimbote, con el fin de buscar una nueva alternativa de prevención frente a la caries dental. El estudio se ejecutó usando el gluconato de clorhexidina al 2% (10uL, 30uL y 60uL) y tres concentraciones de extracto etanólico (25%, 50% y 75%). Se empleó la técnica de “extracción etanólica de la hoja de coca” ; para la reactivación de la bacteria se utilizó como medio de cultivo (BHI) y se realizó el método de difusión en agar Kirby Bauer; posteriormente para la comparación ,se preparó discos de papel filtro Whatman, los cuales fueron embebidos con el extracto etanólico de la hoja de coca y discos con gluconato de clorhexidina al 2% sobre las placas Petri preparados con Müller Hinton previamente sembradas con la cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados, arrojan la generación de halos inhibitorios de pequeña longitud para tres concentraciones de extracto etanólico, y la generación de halos de mayor longitud para el gluconato de clorhexidina al 2%; con lo que se llegó a la conclusión que el tratamiento más eficaz es del gluconato de Clorhexidina al 2% en volumen de 60 uL, porque nos proporciona un mayor diámetro de halo de inhibición.

Palabras Claves: Caries, hoja de *Erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense*, clorhexidina, extracto etanólico, halo inhibitorio, *streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The present investigation of experimental type, transversal, prospective and analytical "in vitro". The objective was to determine the antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaf of *Erythroxyloideae erythroxyloideae coca novogranatense* against the *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in comparison with the gluconate of chlorhexidine 2%; It was developed in the laboratory of the Faculty of Health Sciences of the Los Angeles University of Chimbote, in order to find a new alternative to prevent dental caries. The study was carried out using 2% chlorhexidine gluconate (10uL, 30uL and 60uL) and three concentrations of ethanolic extract (25%, 50% and 75%). The technique of "ethanol extraction of the coca leaf" was used; for the reactivation of the bacterium it was used as a culture medium (BHI) and the Kirby Bauer agar diffusion method was carried out; later for the comparison, Whatman filter discs were prepared, which were embedded with the ethanolic extract of the coca leaf and discs with 2% chlorhexidine gluconate on the Petri dishes prepared with Müller Hinton previously seeded with the strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The results show the generation of inhibitory haloes of short length for three concentrations of ethanolic extract, and the generation of longer halos for chlorhexidine gluconate at 2%; with which it was concluded that the most effective treatment is 2% chlorhexidine gluconate in volume of 60 uL, because it gives us a greater diameter of inhibition halo.

Key words: Caries, leaf of *Erythroxyloideae erythroxyloideae coca novogranatense*, chlorhexidine, ethanolic extract, inhibitory halo, *streptococcus mutans*.

ÌNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
TÌTULO DE LA TESIS.....	i
HOJA DE FIRMA DEL JURADO Y ASESOR.....	ii
HOJA DE AGRADECIMIENTO Y/O DEDICATORIA (OPCIONAL)	iii
RESUMEN Y ABSTRACT	v
ÌNDICE DE CONTENIDOS.....	vii
ÌNDICE DE GRÁFICOS, TABLAS Y CUADROS.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Bases teóricas de la investigación.....	8
2.2.1. Reseña Histórica de la Hoja de Coca	8
2.2.2. Coca (Erythroxylum Coca) – Propiamente Dicha	9
2.2.3. Clasificación	9
2.2.4. Sembrío de la planta de la coca	10
2.2.5. Uso en la Medicina Tradicional	10
2.2.6. Valor Nutricional	12
2.2.7. Composición Química	15
2.2.8. Estudios de la actividad antibacteriana de la hoja de coca (Erythroxylum coca)	18
2.2.9. Composición química del aceite esencial de Erythroxylum coca lam var. Coca (coca) y evaluación de su actividad antibacteriana	18

2.2.10.	Gluconato de clorhexidina al 2 % o bucoxidina 2%.....	19
2.2.11.	Componentes de la clorhexidina	19
2.3.	Marco conceptual o definición de términos	20
III.	HIPÒTESIS	21
IV.	METODOLOGÌA	21
4.1.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	21
4.2.	POBLACIÒN Y MUESTRA	22
4.3.	DEFINICIÒN Y OPERACIONALIZACIÒN DE VARIABLES E INDICADORES	22
4.3.1.	Diseño experimental.....	22
4.3.2.	Operacionalización de variables: Tipo de variable - escala de medición- valores	23
4.4.	TÈCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÒN DE DATOS.	24
4.4.1.	Recolección del material	24
4.4.2.	Desecación del material	24
4.4.3.	Características del polvo de la hoja de coca	25
4.4.4.	Obtención del extracto etanòlico de la hoja de coca.....	25
4.4.5.	Reactivación de la cepa de S. mutans ATCC 25175	30
4.4.6.	Evaluación del efecto antibacteriano mediante el Método de KirbyBauer.....	31
4.4.7.	Estandarización del inóculo de S. mutans ATCC 25175.....	31
4.4.8.	Inoculación de las placas	31
4.4.9.	Preparación de los discos con el extracto etanòlico de la hoja de erythroxyllaceae erythroxyllum “coca novogranatense y gluconato de	

clorhexidina al 2%.....	31
4.5. Plan de análisis	32
4.6. Matriz de consistencia	34
4.7. Principios éticos	37
V. RESULTADOS.....	37
5.1. Resultados.....	37
5.2. Análisis de resultados.....	41
VI. CONCLUSIONES.....	43
Aspectos Complementarios.....	44
Referencias Bibliográficas.....	45
Anexos.....	49

Índice de Tablas

	Pág.
Tabla I: Comparación, in vitro, del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de Erythroxlaceae erythroxyllum “coca novogranatense y del gluconato de clorhexidina al 2% frente a Streptococcus mutans ATCC 25175, determinado mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento, método Kirby Bauer.....	37
Tabla II: Estadísticos descriptivos de los halos de inhibición del extracto de la hoja de Erythroxlaceae erythroxyllum Coca novogranatense al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% en concentraciones de 10uL, 30uL y 60uL frente al Streptococcus mutans ATCC25175.....	38
Tabla III: Comparación del efecto medio antibacteriano de los halos de inhibición del extracto etanólico de la hoja de erythrxylaceae erythroxyllum y del gluconato de clorhexidina al 2% frente al streptococcus mutans atcc25175.....	39
Tabla IV: Estadísticos de prueba a,b	40
Tabla V: Halo de inhibición más eficaz de los efectos antibacterianos de los halos de inhibición del extracto de la hoja de Erythroxlaceae erythroxyllum Coca novogranatense al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% frente al Streptococcus mutans ATCC25175.....	41

Índice de Gráficos

	Pág.
Gráfico N° 01: Comparación de medias de los halos de inhibición del extracto de la hoja de <i>Erythroxlaceae erythroxyllum</i> al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% frente al <i>Streptococcus mutans</i> ATCC25175.....	38

I. INTRODUCCIÓN

La caries es una de las enfermedades de mayor incidencia en la población mundial que no distingue de razas, ni culturas; la organización mundial de la Salud (OMS) según estudios realizados llega a la conclusión que un aproximado de más del 99.9% de individuos en nuestro planeta han presentado y presenta caries.¹

Por ello se han venido innovando en la industria odontológica tratamientos para la prevención y eliminación de la caries; causando así diversa variedad de productos que en su mayoría de casos se hace uso de ingredientes nocivos en mínima cantidad para la salud, puesto que la OMS permite el uso de estos mismos por no considerarlos muy perjudiciales. Actualmente la industria de productos naturales viene creciendo en todos los ámbitos; en el ámbito de la medicina las personas están optando por la medicina natural.¹ La hoja de coca cuenta con innumerables beneficios, pero muy poco se conoce su aporte a la odontología ya que mayormente se le da otros usos.²

Según estudios, la hoja coca podría traer grandes beneficios en la odontología. Luego de la extracción de una pieza dental se aplicó un apósito elaborado con extracto de coca y se pudo comprobar las significativas mejoras en el tiempo promedio en la coagulación de la sangre, además también tiene propiedades para el mal de altura, dolores estomacales, energizante y revitalizante. Entre los componentes de la hoja de coca, están los aceites esenciales que presentan un efecto negativo frente a las bacterias, también a microbios patógenos, esto es gracias a su composición química que guarda.²

Nuestro País están alcanzando cifras alarmantes que indican que aproximadamente el 98% de la población, según el MINSA (Ministerio de Salud) cuenta con caries dental. En la medicina y también tanto en la odontología se tiene como fin actualmente incentivar a la población una cultura de prevención para así evitar el inicio de la enfermedad y su evolución.²

De lo anteriormente planteado surgió como inquietud desarrollar el presente trabajo de investigación, planteándonos el siguiente problema: ¿Cuál es la actividad antibacteriana “in vitro” 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% en la ciudad de Chimbote – 2018 ?, La ejecución de este proyecto es muy necesaria, puesto que la coca posee múltiples beneficios, los cuales

actuaran de forma preventiva sobre la caries dental, siendo uno de ellos su efecto antibacteriano para ser utilizado como un ungüento desinflamatorio, pastas dentales, enjuagues bucales; para ello debemos de conocer cuál es el organismo microscópico causante de las enfermedades en la cavidad bucal, como la caries dental y poder de ese modo contrarrestarla.²

El presente trabajo por ello tuvo como objetivo general: determinar el efecto antibacteriano que tiene la hoja de Erythroxyllaceae Erythroxyllum Coca Novogratense en acción al Streptococcus mutans ATCC 25175 en comparación al Gluconato de Clorhexidina al 2%, mediante un estudio experimental que se realizó en la facultad de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote y así mismo se derivó a objetivos específicos para esclarecer aún más el proyecto ejecutado: Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto Etanòlico de la hoja de Erythroxyllaceae Erythroxyllum Coca Novogratense al 25%, 50% y 75% frente al Streptococcus Mutans ATCC 25175, también el de evaluar el efecto antibacteriano del Gluconato de Clorhexidina al 2% en 10 uL, 30uL, 60uL frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 y posteriormente, comparar el efecto antibacteriano del extracto etanòlico de la hoja de Erythroxyllaceae Erythroxyllum Coca Novogratense con el gluconato de clorhexidina frente al Streptococcus mutans ATCC 25175.³

El método que se realizó fue experimental según el manejo de las variables que se llevó a estudio: Extracto etanòlico de la coca y efecto "In Vitro" del extracto etanòlico de la hoja de coca inhibitorio sobre el crecimiento del Streptococcus Mutans. Obteniendo como resultado que el efecto antibacteriano del Extracto Etanòlico de la Hoja de Erythroxyllaceae Erythroxyllum Coca Novogratense en relación con el gluconato de clorhexidina frente al Streptococcus mutans ATCC 25175 fue positivo y relativamente similar a la variable en comparación. Llegando así a la conclusión que el extracto etanòlico de la hoja de coca en concentraciones al 25%, 50% y 75% en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2% (10ul, 30ul y 60ul) es menor su efecto antibacteriano frente al streptococcus mutans ATCC 25175.

Este estudio se llevó a cabo en el periodo 2018. El presente estudio está estructurado de la siguiente forma: inicialmente se tiene la revisión de literatura, para seguidamente continuar con la hipótesis, metodología, resultados y finalmente conclusiones.

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

INTERNACIONAL:

Solano X. and colbs. Ecuador (2016). “Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* “romero”. Objetivo: Determinar la inhibición de crecimiento bacteriano in vitro de *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extractos: acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* (romero), aplicando la técnica microbiológica de difusión en disco. Tipo de Estudio: Experimental in vitro. Muestra: *S. mutans* ATCC 25175. Métodos: Se utilizó dos grupos de 15 muestras cada una en cajas Petri; siendo G1: Extracto acuoso de 1.5% y 3%, G2: Extracto oleoso 50%. Cada uno de los grupos tuvo un control positivo de Clorhexidina 0.12% y un control negativo de agua destilada. Se aplicó la prueba estadística de U Mann Whitney con un nivel de significancia de 5%. Resultados: Los extractos acuosos y el agua destilada produjeron un halo de inhibición de 0 mm. El extracto oleoso elaborado produjo una media de 11,93 mm de halo de inhibición ($p < 0.001$), versus la Clorhexidina que presentó una media de 16.13 mm ($p < 0.001$). No se encontraron diferencias entre el extracto oleoso y la clorhexidina ($p > 0.05$). Conclusión: El extracto acuoso de romero no mostró efecto antibacteriano sobre el *S. mutans* mientras que el extracto oleoso de romero mostró acción antibacteriana sobre *S. mutans*, siendo similar a la clorhexidina al 2%.

Negrete M. Bolivia (2014). “Estudio in vitro de la capacidad antibacteriana de la hoja de coca (*Erythroxylum coca* Lam) frente a bacterias atcc *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*” Objetivo: Comprobar la actividad inhibitoria bacteriana del macerado de la hoja de coca. Tipo de Estudio: Analítico y experimental. Muestra: Bacterial atcc *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Métodos: Se realizó el estudio del macerado como inhibidor bacteriano de coca seca y fresca proveniente de los departamentos de Cochabamba y La Paz. Posteriormente se prepararon macerados con tres solventes: Solución fisiológica, Alcohol (absoluto) y Cloroformo. Resultados: Se hayo resultados del macerado frente a bacterias Gram positiva (*Streptococcus mutans*); corroborando la acción antibacteriana frente a estas. Conclusión: Los macerados

preparados con alcohol absoluto de la hoja de coca (*Erythroxylum coca* Lam) frescas y secas provenientes de los departamentos de Cochabambay La Paz si presentan actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* que al compararlo con solución fisiológica y cloroformo no presentó actividad antibacteriana.

NACIONAL:

Pérez S. Trujillo. (2013). “Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. Objetivo: determinar la actividad antibacteriana de extractos etanólico de hojas de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Tipo de Estudio: El estudio fue experimental y transversal en el tiempo. Método y muestra: Los extractos se obtuvieron a partir de hojas frescas de *Stevia rebaudiana*, seis concentraciones en etanol de 70° y seis concentraciones en etanol de 30°. La concentración inhibitoria mínima se obtuvo por el método de dilución en caldo y agar y para el efecto bactericida se empleó la técnica de difusión de discos de Kirby y Bauer. Resultados: Los hallazgos de los 3 ensayos realizados en los cuales se trabajó con las 12 concentraciones del extracto para determinar la CMI y 12 concentraciones para determinar la CMB, permitieron seleccionar a la CMI en 1,07mg/mL en el extracto en etanol de 70° y la concentración de 4,28mg/ml, en el extracto en etanol de 30° y a la CMB en 10mg/mL en el extracto en etanol de 70° y la concentración de 42,8mg/mL en el extracto en etanol de 30° ($p < 0.01$) Conclusión: El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* posee efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Vergara C. Lima-Perú (2011). “Efecto in inhibitorio “in vitro” del extracto acuoso y el Extracto Etanólico de la Hoja de Coca de *Erythroxylum Novogratense* var. *Truxillense* (COCA) sobre el crecimiento del *Streptococcus Mutans*” Objetivo: determinar el efecto inhibitorio de dos tipos de extractos, acuoso y etanólico, preparados a partir de hojas de coca, sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*, con el fin de buscar nuevas alternativas para la prevención de caries dental. Tipo de Estudio: Analítico y experimental. Muestra: cuatro concentraciones de extracto acuoso (25%, 50%, 75% y 100%) y cuatro concentraciones de extracto etanólico (10%, 20%, 35% y 50%). Métodos: Cada una de las concentraciones fueron puestas en contacto con el microorganismo de estudio; para así poder determinar el efecto

sobre el crecimiento de este. Resultados: Los resultados, muestran la generación de halos inhibitorios de pequeña longitud para tres concentraciones de extracto acuoso (25%, 50% y 75%), y la generación de halos de mayor longitud para la concentración al 100% de extracto acuoso y todas las concentraciones de extracto etanólico. Conclusiones: Se concluyó que ambos extractos poseen efecto inhibitorio “in vitro” sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Al determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), realizando el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC's) de *Streptococcus mutans*, se concluyó que la CMI para el extracto acuoso es del 75%, mientras que para el extracto etanólico es la concentración al 50%.

Rojas R. Huánuco (2011). “Eficacia Antibacteriana in vitro del Extracto de Hoja de Coca en comparación con Clorhexidina frente a *Staphylococcus* y *Streptococcus* Huánuco 2011” Objetivo: Determinar la eficacia antibacteriana in Vitro del extracto de hoja de coca en comparación con la clorhexidina al 0.12 % en el tratamiento de *Staphylococcus aureus* y *streptococcus mutans* Tipo de Estudio: Analítico y longitudinal. Muestra: 20 Cepas *Staphylococcus aureus* y 20 cepas *streptococcus mutans* Métodos: 20 Cepas *Staphylococcus aureus* y 20 cepas *streptococcus mutans* de diferentes especímenes clínicos, adquiridos del banco de bacterias del laboratorio del H.R.H.V.M. Resultados: El tratamiento consistió en la aplicación de dos diferentes concentraciones del extracto seco obtenido por extracción alcohólica; el cual luego se diluyó en agua destilada en las siguientes concentraciones: 1000 µg/20 µl y 1500 µg/20 µl. Comparándolo con un antibiótico convencional como clorhexidina al 0.12 %; observándose el tamaño de los halos como medida de la inhibición bacteriana ante el extracto de coca y el del antibiótico. Conclusiones: El aumento de la concentración de extracto de coca aumenta la eficacia del tratamiento.

Mayta T. y colbs. Lima, Perú (2009). “Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa - Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)” Objetivo: El propósito del estudio fue demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo (EEP) de Oxapampa-Perú evaluando in vitro su acción antibacteriana frente al *S. mutans* y *S. aureus* para enfrentarlas a las soluciones: Propóleo 10% y 30% y compararlas con los testigos clorhexidina 0,12 y 0,05%, listerine® y agua destilada. Tipo de Estudio: fue de tipo experimental in vitro y el

tamaño muestral fue 16. Métodos: Se evaluó la actividad antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer. el análisis de los datos se utilizó la prueba t de Student. Resultados: Para el *S. aureus*, el EEP al 30% presentó mayor eficacia con una media de $11,77\text{mm}\pm 0,19$ y se encontró que las dos concentraciones de propóleo a las 24 y 48 horas mostraron diferencia significativa $p=0,007$. Además, se determinó que para el *S. mutans*, tanto el EEP al 10% y 30% a las 24 y 48 horas no mostraron diferencia significativa Conclusiones: el EEP al 30% tuvo mayor efecto antibacteriano que el Listerine® contra el *S. mutans* $p<0.001$ e igual en efectividad que la clorhexidina 0.05% frente al *S. aureus*.

Ventura G. Lima Perú (2009). “Composición Química del Aceite Esencial del *Erythroxyllum coca* Lam va. *Coca* (*Coca*) y Evaluación de su Actividad Antibacteriana” Objetivo: Determinar una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de $0,625\ \mu\text{L}/\text{ml}$ contra *Streptococcus Mutans* ATCC 35668 Tipo de Estudio: El estudio es de tipo analítico, experimental, prospectivo y longitudinal Muestra: Las hojas secas, fueron proporcionadas por la Empresa Nacional de la Coca (ENACO) Métodos: Habiéndose realizado en los laboratorios del Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” y en el Instituto de Microbiología y Parasitología “Simón Pérez Alva” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Resultados: El dentífrico que contenía 1% de aceites esenciales de coca y menta presentaron actividad frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 con halo de inhibición de 37 mm y el dentífrico a base de 1% de los aceites esenciales de coca, menta y orégano presentó actividad contra *Streptococcus mutans* ATCC 35668 con halo de inhibición de 38 mm. Conclusiones: El estudio preliminar de *Erythroxyllum coca* Lam. var. *coca* reportó, con la aplicación del método de destilación por arrastre con vapor de agua, un rendimiento de 0,08% v/p de aceite esencial al que se le determinaron algunas constantes físicas y químicas: miscibilidad, densidad e índice de refracción y que responden a las propiedades indicadas para los aceites esenciales.

Minaya P. Lima Perú (2008). “Determinación de la actividad antibacteriana" in vitro" del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense* var *Truxillense* (*coca*) frente a bacterias orales cariogénicas”. Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana del extracto de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense* var.

Truxillense frente a bacterias relacionadas directamente con caries dental, a saber, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*. Tipo de Estudio: Esta investigación fue de tipo cuasi - experimental, transversal y prospectivo. Muestra/Métodos: Se trabajó con cepas estándares de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Lactobacillus casei* ATCC 393 procedentes del American Type Culture Collection. Resultados: Los diámetros de los halos de inhibición para *S. mutans* tuvieron una media de $34.4\text{mm} \pm 2.12\text{mm}$, y para el caso de *L. casei*, $33.7\text{mm} \pm 3.40\text{mm}$. Y con respecto a la medida de los halos de inhibición del control negativo y positivo se obtuvo una medida de 00 mm en todos los cultivos para el agua destilada y de $11.4\text{mm} \pm 2.12\text{mm}$ en el caso del alcohol a 96° . Conclusiones: El extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* tuvo una mayor actividad antibacteriana que el alcohol al 96% frente a *S. mutans*. El extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* tuvo una mayor actividad antibacteriana que el alcohol al 96% frente *L. casei*.

Borrovic F. Lima Perú (2006). “Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxylum coca* sobre flora mixta salival” Objetivo: determinar la actividad antimicrobiana del extracto de la hoja de *Erythroxylum Novogranatense* var. *truxillense* frente a la flora mixta salival. Tipo de Estudio: Experimental. Muestra/Métodos: Mediante la técnica de maceración alcohólica, filtrado y evaporación a 40°C de la solución alcohólica, se obtuvo los principios activos totales del *Erythroxylum Novogranatense* var. *truxillense*. Resultados: Los diámetros de los halos de inhibición a la concentración de $250\ \mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$ tuvieron una media de 10.95 mm (+ 0.26), los diámetros de los halos de inhibición a la concentración de $500\ \mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$ tuvieron una media de 12.28 mm (+ 0.22), los diámetros de los halos de inhibición a la concentración de $1000\ \mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$ tuvieron una media de 13.46 mm (+ 0.19), los diámetros de los halos de inhibición a la concentración de $1500\ \mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$ tuvieron una media de 14.71 mm (+ 0.19) y con respecto a la medida de los halos de inhibición del control negativo se obtuvo una medida de 00 mm en todos los cultivos. Conclusiones: Se concluye que el extracto de la hoja de *Erythroxylum Novogranatense* var. *truxillense* (coca de Trujillo) tiene acción antimicrobiana frente a la flora mixta salival de las 20 muestras salivales estudiadas.

Hurtado Y. Amazonas, Perú. (2017). "Asociación entre la masticación de la hoja de coca y la prevención de la caries dental en los pobladores del caserío de Buenos Aires, Jaén-2017.". Objetivo: Determinar la asociación entre la masticación de la hoja de coca y la prevención de la caries dental en los Pobladores del Caserío. Tipo de Estudio: el estudio fue de enfoque cuantitativo, relacional de asociación de riesgo con un diseño de cortes. Fue observacional, prospectivo, longitudinal y analítico. Muestra y método: La muestra fue de 33 pobladores donde 16 fueron los casos y 17 los controles. Metodología: La recolección de datos se realizó mediante la lista de cotejo y la ficha del odontograma. Resultados: el 36.4% que mastican la hoja de la coca no presentaron caries dental mientras que el 33.3% que no mastican la hoja de la coca no presentaron caries dental; el valor del RR = 0.71, lo cual significa que la masticación de la hoja de coca es un factor protector de la caries dental. Después del estudio el 3.03% que si mastica la hoja de la coca presentó caries dental mientras que el 12.1% que no mastican si presentó caries dental, así mismo el 45.5% que mastican la hoja de la coca no presentó caries dental mientras que el 39.4% que no masticaron la hoja de coca no presentaron caries dental, el valor del RR = 0.27 significa que la masticación de la hoja de coca es un factor protector de la caries dental. Conclusión: La masticación de la hoja de coca es considerada como una medida preventiva de la caries dental.

2.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

2.2.1 RESEÑA HISTÓRICA DE LA HOJA DE COCA

La hoja de coca es usada desde tiempos incaicos, por sus valores nutricionales, religiosos. Pero el hombre tergiverso el uso de este como estupefaciente lo que conlleva a que fuese mal visto y actualmente en algunos pobladores se siga viendo de igual forma, por el alto daño que causaba a las personas que lo consumían, se han llevado diversos actos en contra de este acto ilícito que mancha el uso de este producto natural tan beneficioso para la salud dándole un correcto uso; es por ello que a comienzos de la década de 1990, la Empresa Nacional de Coca hicieron algunos eventos para contrarrestar estos actos.

Todos estos antecedentes dieron lugar a que, en el año 1994, los presidentes del Perú y Bolivia firmaron la llamada Declaración de Ilo, donde nuevamente se revaloró la

imagen de la coca, y se le quite de la lista como número 1 de estupefaciente. La coca no solo fue, es y será alimento para el hombre andino, sino también es un elemento de tradición cultural, religiosa, medicinal y económica que se establece en el mundo andino.⁹

El estudio de esta ha sido limitado, por lo que se necesita mayor investigación. Sin embargo, estudios realizados hasta la fecha demuestran que tiene beneficios a gran escala contra la hipoglucemia y la diabetes, para los que realizan ejercicios a gran altura, tratamientos contra la anemia y para la prevención de infecciones generadas; aún faltan estudios que demuestren su real eficacia en combatir las infecciones, dolores o inflamaciones ocasionadas por patógenos bucales.⁹

Se ha demostrado que la hoja de coca contiene una rica cantidad de nutrientes, altos niveles de potasio, fósforo y vitaminas B1, B2, C y E, así como proteína y fibra. Contiene además alto contenidos de calcio aun mayor que la leche y los huevos.⁵

GENERALIDADES

Etimológicamente la palabra coca proviene del quechua “kuak” o “koka”, que debe de interpretarse según Stomi, “ku” o “ko”: parte más destacada o principal de algo, “ka” o “kau”: vivificante, que da vida, vigorosa y fuerte.²

La coca tiene diversos usos, tanto en el ámbito internacional, como por ejemplo en la utilización de gaseosas en partes del planeta, en la fabricación de anestésicos.²

Es también usado como un estimulante para la relación social, como medicina, material para revelar el porvenir, para diagnosticar enfermedades y hasta como digestivo después de las comidas.²

2.2.2 COCA (ERYTHROXYLUM COCA) – PROPIAMENTE DICHA

La coca (*Erythroxylum coca*) es una planta que crece en la sierra y amazonia. Los más acérganos están en los países andinos, aquellas denominadas Khoka por los aimaras y Kuka por los quechuas, “arbusto único y sagrado” para la gran parte de la población andina.

2.2.3 CLASIFICACIÓN

a) *Erythroxylum coca* Lam.

Planta de longitud de tres metros, con hojas en forma de elipse y elipsoide:

a.1) *Erythroxylum coca* van Lam var Coca: o también llamada (Huánuco, boliviana, boliviana blanca, cuarentana), está permitida su comercialización como producto para la masticación.

a.2) *Erythroxylum coca* Lam. Var. Ipadu Plowman también llamada coca amazónica.

b) *Erythroxylum Novogranatense* (Morris) Hieron.

Planta de una longitud aproximada de seis metros, hojas con formas oblongadas, ovoide o en forma de elipse.

b.3) *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron., var. *Novogranatense*: también conocida como coca colombiana, hayo o pajarita. Son inmunes a la falta de agua.

b.4) *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron., var. *Truxillense* (Rusby) Plowman: conocida también como coca Trujillo, es la más resistente a la falta de agua, cultivada en zonas de baja altitud y valles de la costa peruana.

2.2.4 SEMBRIO DE LA PLANTA DE LA COCA

Este arbusto es originario del Perú y Bolivia por lo tanto su cultivo se realiza a una latitud sur de 6° y 29°. Los cultivos se encuentran en zonas de praderas montañosas. El suelo en el que se siembre debe contener humus con abundante hierro y nitrógeno.

Esta planta no soporta temperaturas bajas, pero si hay algunas variedades que toleran temperaturas no tan bajas. Las variedades que se cultivan corresponden a cierto tipo de temperatura, clima y topográficos. Según Moreno (2010).

2.2.5 USOS MEDICINALES DE LA HOJA DE COCA

En la población andina mayormente la coca, es conocido ampliamente para actuar como estimulante, para contrarrestar el hambre, la sed, el mal de altura, el dolor y el cansancio.³

Los componentes de la cocaína tienen un enorme beneficio tanto en la industria farmacológica, como también terapéutico y tóxico. Se le ha encontrado propiedades anestésicas y antidepresivas; teniendo en cuenta que bajo ninguna de estas formas generara dependencia y adicción.³

Es nutritivo por concentraciones altas de la vitamina A, B y E; como también nutrientes tales como el hierro, zinc, calcio, magnesio, potasio.³

La coca tiene amplios usos legales y se utiliza normalmente desde hace muchos años, y entre ellos podemos destacar los siguientes:

- PROPIEDADES ANALGÉSICAS

La hoja de coca actúa como analgésico (dolor) de manera leve, haciendo su eficacia efectiva dependiendo de la cantidad de hojas que se consuman y la forma de ingerirse.

- PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS

Hay pocos estudios que abalen esta propiedad de la hoja coca. Un estudio realizado en Brasil de seis especies de la hoja de coca relacionada para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, se concluyó y fueron seleccionada in vitro por sus propiedades antifúngicas y antibacterianas. (Sophia, 2013).

Los estudios hasta la actualidad afirman el beneficio medicinal de las hojas de coca frente a trastornos respiratorios y gastrointestinales, enfermedades de la piel, abriendo la posibilidad aun de encontrar nuevos agentes antimicrobianos.

- Para combatir el mal de altura que soportan los nativos de los Andes.
- Como anestésico para aliviar el dolor de cabeza, reumatismo, heridas.
- Los indígenas la utilizaban para tratar úlceras, asma, hemorragias nasales, dolores de parto.
- Como afrodisíaco y para conseguir longevidad.
- En motivos religiosos desde las culturas preincas hasta nuestros días. Según Borrovic, (2006). Actualmente sus usos industriales son innumerables, y entre otros los siguientes:

- o Preparación de mate de coca, té e infusiones.
- o Fabricación de granola, galletas, caramelos.
- o Elaboración de productos cosméticos.
- o Ingrediente saborizante de diversas bebidas oscuras
- o En industria farmacéutica para obtención de drogas y analgésicos.
- También se encuentran vinos teniendo como uno de sus ingredientes la hoja de coca en algunos países del mundo, Sophia (2013).

2.2.6 VALOR NUTRICIONAL

Las cantidades estimadas de cada sustancia difieren de unos estudios a otros ya que pueden variar en función de los factores climáticos, la calidad de la tierra y abonos, época de cultivo, variedad de la hoja, etc.

Se muestran los resultados de un análisis tipificado de hojas de coca. Cada 100 gramos de hojas de coca contienen (cuadro 1):

CUADRO 1. VALOR NUTRICIONAL DE LA HOA DE COCA (ERYTHROXYLUM COCA)

COMPONENTES	VALOR	Componentes	Valor
Nitrógeno total	20.06 mg.	Magnesio	299.30 mg
Alcaloides totales no volátiles	700 mg	Potasio	1.739.33 mg
Carbohidratos	47.50 mg	Calcio	997.62 mg
Betacaroteno	9.40 mg	Niacina (factor p.p)	8.37 mg
Alfa caroteno	2.76 mg	Riboflavina (Vitamina B12)	0.88 mg.
Vitamina C	6.47 mg	Sodio	39.41 mg
Vitamina E	40.17 mg.	Aluminio	17.39 mg
Tiamina (vitamina B1)	0.73 mg	Bario	6.18 mg
Hierro	136.6 mg	Estroncio	12.02 mg

Boro	6.75 mg	Cobre	1.22 mg
Zinc	2.21 mg	Cromo	0.12 mg
Manganeso	9.15 mg	Agentes Alucinógenos	3.71 mg

FUENTE: Viguera, (2010)

Al discutir el valor nutricional de la hoja de coca, es importante tener en cuenta la observación de la revisión de 2009 de los mitos de la coca, publicado por el Instituto Transnacional. Dado que el aumento de la popularidad de la harina de coca como fuente de alimentación, al mismo tiempo, la investigación química en los valores de vitamina y minerales en diferentes variedades de la hoja de coca sigue siendo limitada.

El estudio más conocido y ampliamente reconocida sobre este tema fue realizado por Duke, Aulik y el labrador, y publicado en 1975 por la Universidad de Harvard, este estudio concluye que cada 100 gramos de hoja de coca contienen los siguientes valores nutricionales (Cuadro 2):

CUADRO 2. VALOR NUTRICIONAL DE LA HOA DE COCA – ESTUDIO HARVADA (DUKE, AULICK, PLOWMAN 1975)

	COCA (100 grs.)	PROMEDIO DE NUTRIENTES DE 30 HOJA (100 grs)
CALORIAS	305	279
PROTEÍNAS	19.9 g.	11.4 g.
GRASAS	3.3 g.	7.9 g.
CARBOHIDRATOS	44.3 g.	37.9 g.
CALCIO (mg)	1749	99
FOSFORO (mg)	637	270
HIERRO (mg)	26.8	3.6
VITAMINA A	10000	135
VITAMINA B1 (mg)	0.58	0.58
VITAMINA C (mg)	1.4	13.0
VITAMINA B2 (mg)	1.73	0.18

De acuerdo con este estudio, afirma que el consumo de coca como suplemento alimenticio en forma de harina es impracticable y que carece de los valores de proteínas que se encuentran en la hoja fresca.

Un estudio realizado en Perú en 1968 afirmó que la masticación de coca es la causa de la desnutrición entre los residentes del país. Pero por consenso general es que la coca es una fuente fiable de modesto pero valiosos micronutrientes (Harvard).

HARINA DE COCA

La harina de coca es el polvo obtenido de la trituración de las hojas de coca. Debido a que las hojas contienen más calcio que la leche y los huevos, y más proteínas que las carnes, también alto valor en la vitamina A, la harina de coca es recomendada como suplemento nutricional para pacientes de la tercera edad, muchos de los cuales son intolerantes a los componentes de las leches.

En un artículo publicado en septiembre de 2004, el periódico del Perú La República, dio varios ejemplos de tratamiento eficaz para varias enfermedades geriátricas tales como anemia crónica, depresión, osteoartritis, infecciones urinarias, y como general inmunidad / defensa potenciador, La República - Perú (2004).

ACEITE ESENCIAL

El Salicilato de Metilo es un aceite esencial utilizado mayormente para tratar el dolor muscular, agente saborizante y como un agente que alivia el dolor.

También su uso se extiende a varios antisépticos en enjuague bucal Listerine producto de Johnson & Johnson.

De acuerdo con la Base de Datos Fitoquímicos del Departamento Americano de Agricultura, *Erythroxylum Novogranatense* var (hoja de coca), contiene cantidades apreciables de este aceite esencial.

LOS ANTIOXIDANTES

Entre los antioxidantes presentes en las hojas de coca son las vitaminas C, E y provitamina A, así como agentes de selenio, zinc, cobre y otros vegetales. Hay quienes abogan por el uso de la hoja de coca como un antioxidante debido a los altos niveles

de vitaminas C y E. Sin embargo, CEDRO argumenta en contra de este uso, ya que hay otras fuentes de estas vitaminas, que no expongan a las personas alcaloides como la cocaína.⁵

2.2.7 COMPONENTES QUIMICOS

Los diversos componentes químicos de la hoja de coca en cultivo no son homogéneos, dependiendo de causas intrínsecas entre los que están la edad de la planta, la identidad de la multiplicidad, el estado de las hojas y como factores extrínsecos las zonas geográficas, el medio ambiente principalmente y la forma de cultivo.⁵

La hoja de coca contiene carbohidratos, proteínas y lípidos (metabolitos primarios); y taninos, alcaloides, glicósidos y aceite esencial (metabolitos secundarios). Los constituyentes principales son los alcaloides, sobresaliendo entre ellos la cocaína, siendo para *Erythroxylum coca* Lam. Var. *Coca*, conocida como “coca Huánuco” tener una media de cocaína de 1,1%.

a) Los Alcaloides

Los alcaloides son sustancias nitrogenadas de origen vegetal y de acción fisiológica intensa a bajas dosis. Actúan sobre el sistema nervioso central, aunque algunos también ejercen su influencia en el sistema parasimpático.

CUADRO 3. Alcaloides de la hoja de coca (*Erythroxylum coca*)

CUADRO 3. Alcaloides de la hoja de coca (*Erythroxylum coca*)

ALCALOIDES DE LA HOJA DE COCA	
Cocaína	Ecgnonina
Benzoina	Quinolina
Reserpina	Papaína
Inulina	Cocamina
Globulina	Piridina
Higrina	Atropina
Pectina	Conina

FUENTE: García, (2006)

El contenido nutricional y los alcaloides existentes en la hoja de coca la convierten en uno de los alimentos naturales más completos debido a su abundancia en minerales (especialmente calcio), su gran aporte proteico, vitaminas A y B, y aminoácidos. Algunos estudios aseguran que 100 gramos diarios de estas hojas cubren los requerimientos nutritivos. La hoja de coca posee alcaloides naturales.

b) Aceites esenciales de la hoja de coca (*Erythroxylum coca*)

Son resultados de mezclas de diversas sustancias orgánicas químicamente que estarán constituidas por terpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos que se localizan en definidos órganos de la planta como flores, hojas, frutos; y se les obtienen por una destilación necesitando del método y la condición del vegetal, destacándose entre ellos el de arrastre con vapor de agua. Son líquidos en estado soluble, insolubles en agua y en solventes orgánicos (cuadro 4).

CUADRO 4. ANÁLISIS PRELIMINAR

DETERMINACIONES	RESUTADOS
Organoléptico análisis	Es líquido, aceitoso, parecido al amarillo, con aroma, agradable y sumamente inflamable, algo picante y con un pH de 6.5
Análisis Solubilidad	No se disuelve en agua y etanol, en casi un 50% es soluble en etanol, si soluble en etanol al 100% y éter etílico.

Fuente: Castro, (2008)

Se acordó que el aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. Var. *Coca*, evidencia ocupada antibacteriana a los microorganismos Gram positivo: *Bacillus subtilis* cepa clínica, *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica y *Staphylococcus aureus* ATTC 25923, destacándose sobre este último una mayor actividad antibacteriana (Ventura et al., 2009). Otros estudios afirman que los aceites esenciales inhiben el crecimiento bacteriano a concentraciones mínimas variables e inferiores a las de los extractos alcohólicos. Los resultados mostraron que los componentes químicos más abundantes en los extractos fueron el etil éster ácido hexadecanoico, fitol, cariofilenos, timol y paracimeno. Los compuestos estudiados tienen una aplicación potencial como antibacterianos por lo que se sugiere medir sus propiedades farmacéuticas para establecer su uso como agentes terapéuticos.¹¹

d) Actividad antibacteriana

Las acciones biológicas evaluadas con mayor frecuencia con actividad antibacteriana y la actividad antiviral son las especies de *Erythroxylum argentinum*, *Erythroxylum mon-ogynum*, y *Erythroxylum coca*. Los órganos más estudiados de las especies del género (*Erythroxylum*) fueron las partes aéreas secas, hojas secas, planta entera fresca, corteza seca y semillas.¹²

En relación con el estudio de la actividad antimicrobiana, es importante señalar que los extractos de las hojas de *Erythroxylum* frente a bacterias como *Escherichia coli*,

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris* es positiva.¹³

2.2.8. ESTUDIOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA HOJA DE COCA (*ERYTHROXYLUM COCA*)

El aceite esencial de *Erythroxyllum novogranatense* (Morris) Coca var. *Truxillense* presenta un espectro significativo frente a *Estreptococos mutans*. Relacionándolo con el estudio en el extracto acuoso y en alcohol de las hojas, se demuestra que evitan la proliferación de hongos oportunistas. (Borrovic, 2006).

En otros trabajos de investigación sustentadas con el extracto alcohólico de las hojas de coca (Morris), se concluye que tienen efecto bactericida frente a la flora mixta salival.⁸

2.2.9. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *ERYTHROXYLUM COCA* LAM VAR. COCA (COCA) Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Las cepas utilizadas para el análisis microbiológico fueron:

- Grampositivos *Bacillus subtilis* (Cepa clínica), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (Cepa clínica).
- Gramnegativos *Escherichia coli* (Cepa clínica), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

El estudio de la actividad antibacteriana in vitro, utilizando el método de excavación placa cultivo a concentraciones de 10 y 50% del aceite, mostró mayor actividad a *Staphylococcus aureus* cepa ATCC 25923, que frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Pseudomonas aeruginosa* cepa ATCC 27853. Se determinó que los componentes químicos del aceite esencial de *Erythroxyllum coca* Lam. Var coca (Coca) poseen actividad antibacteriana contra *Estreptococos Mutans*.¹⁴

Varios estudios han encontrado acción inhibitoria sobre *My-cobacterium tuberculosis* y otras especies de *My-cobacterium*, gramnegativos multirresistentes, frente a bacterias gramnegativas y Grampositivos.¹⁴

STREPTOCOCCUS DEL GRUPO MUTANS:

Esta especie fue descrita por Clarke en 1924, luego de realizar un estudio sobre la caries de dentina.⁹

Estas bacterias infectan el diente de las personas a nivel superficial, así como también la podemos encontrar en las fauces. Estos aparecen por el alto contenido de sacarosa en la dieta. Estos datos han sido recolectados luego de un estudio realizado en la parte de la boca de animales sin lesiones cariosas.⁹

Se ve una disminución de estas con la aplicación de la clorhexidina y se vio una decreción en la población de s. mutans y una disminución del número de caries.

Diversos estudios epidemiológicos se han descubierto una relación ligada entre el S. mutans y la caries dental. Actualmente esta relación se usa para adivinar caries dental a partir de S. mutans recuperado de saliva. (Minaya, 2008, p. 14).

2.2.10. GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2 % o Bucoxidina 2%

Se desarrollo en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por estudiados que buscaban la cura contra la malaria. En ese tiempo los científicos fueron capaces de descubrir un grupo de elementos llamados polibinguanido en 1954 como antiséptico con fines de curar heridas en la piel humana.²⁰

Posteriormente se usó en un inicio en la medicina y post quirúrgicos tanto para el paciente como el médico. En el campo odontológico se usó en un inicio en la desinfección de la boca y endodoncia.¹⁰

2.2.11. COMPONENTES DE LA CLORHEXIDINA

Tiene una base dicatiónica a pH superior a los 3,5 con cargas positivas en cada borde del puente de hexametileno, dos por cada parte.¹¹

100 ml contiene:

- Gluconato de clorhexidina.....0.12g.
- CSP (excipientes)100 ml.
- ACCION TERAPEÛTICA: Antiséptico. Bactericida.
- MECANISMO DE ACCIÒN:

El efecto bactericida es consecuencia de la unión de dicha molécula catiónica con la pared bacteriana (que posee carga negativa) y la formación de complejos extra microbianos. En concentraciones pequeñas ello origina una alteración del equilibrio osmótico de la bacteria y salida de potasio y fósforo, y así logra el efecto bacteriostático: en altas concentraciones hace que se precipite el contenido citoplasmático de la bacteria y esta muera. La clorhexidina es activa contra microorganismos grampositivos y gramnegativos, anaerobios facultativos, anaerobios y levaduras.

INDICACIONES: Buches: antiséptico bucal, mucositis. Clorhexidina alcohólica (jeringa): habilitación de catéteres.

REACCIONES ADVERSAS: Uso oral: irritación de la lengua y la mucosa de la boca, intensificación del sarro dental, manchas en la superficie de la boca.

PRESENTACIONES: Buches: solución 0,12%. Clorhexidina alcohólica jeringa: solución 2 %.⁷

Clorhexidina para aplicación tópica: utilizar una gasa o algodón para tratar el área deseada. Evitar el contacto con los ojos, los oídos y la boca. Si esto ocurriera, enjuagar inmediatamente con agua abundante. La clorhexidina se debe mantener fuera de la luz, evitando temperaturas extremas.¹¹

2.3.MARCO CONCEPTUAL O DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- a. Etimológicamente la palabra coca proviene del quechua “kuak” o “koka”, que debe de interpretarse según Stomi, “ku” o “ko”: parte más destacada o principal de algo, “ka” o “kau”: vivificante, que da vida, vigorosa y fuerte.
- b. Khoka - Kuka: “arbusto único y sagrado”.⁵
- c. **EXTRACTO ETANÓLICO:** Un extracto es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua. (Gran Diccionario de la Lengua Española;2016)
- d. **OBLONGO:** que es más largo que ancho. (Gran Diccionario de la Lengua Española;2016)

- e. HUMUS: es el componente orgánico del suelo, que se forma por la descomposición de restos de animales y vegetales con el fin de mejorar los suelos. (Gran Diccionario de la Lengua Española;2016)
- f. ANTIOXIDANTES: que impide la oxidación. (Gran Diccionario de la Lengua Española;2016).

III. HIPÓTESIS

3.1.Hipótesis de Investigación

El extracto etanólico de la hoja de erythroxlaceae erythroxyllum coca novogranatense al 75% presenta mayor efectividad frente al Streptococcus Mutans en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, en volúmenes de 10 uL, 30 uL y 60 uL.

3.2.Hipótesis Estadística

Hipótesis Nula (H0): El extracto etanólico de la hoja de erythroxlaceae erythroxyllum coca novogranatense al 25%,50% y 75% no es efectivo frente al streptococcus mutans en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, en volúmenes de 10uL, 30uL y 60uL.

Hipótesis Alternativa (H1): El extracto etanólico de la hoja de erythroxlaceae erythroxyllum coca novogranatense al 25%, 50% y 75% es efectivo frente al Streptococcus Mutans en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, en volúmenes de 10uL, 30uL y 60uL.

IV. METODOLOGIA

4.1. Diseño de la Investigación

El tipo de investigación del trabajo presente es:

- Según la intervención del investigador: Experimental: Pre-experimental; puesto que se analizó el efecto producido por el extracto etanólico de la hoja de erythroxyllum coca frente al streptococcus mutans en comparación del gluconato de clorhexidina al 2%. (Hernández S. R. (2010, p. 78)
- Según el enfoque de la investigación: Cuantitativo; las variables de la investigación se pueden contabilizar en cantidades exactas. (Hernández S.

R. (2010, p. 78)

- Según la planificación en la toma de datos: Prospectivo; ya que los datos de la investigación se irán adjuntando a medida que la investigación se vaya realizando. (Hernández S. R. (2010, p. 78)
- Según el número de ocasiones en que mide la variable: Transversal; todas las variables fueron medidas en un solo tiempo y/o ocasión. (Hernández S. R. (2010, p. 78)
- Según el número de variables de interés: Analítico; porque plantea y propone hipótesis. (Hernández S. R. (2010, p. 78)

4.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.

La población estuvo conformada por cepas estándar del streptococcus mutans ATCC 25175, procedentes del laboratorio GenLab del Perú.

La técnica de muestreo fue no probabilística por conveniencia, la cual estuvo conformada por 10 placas Petri Agar TSA, los cuales se desarrollaron en las instalaciones del laboratorio de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Los Ángeles de Chimbote – Chimbote.

4.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

4.3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el presente trabajo de investigación se hará uso de 10 placas petry, por lo que se tuvo que realizar el mismo número de repeticiones con el extracto etanólico de la hoja de coca al 25%, 50% y 75%, además del gluconato de clorhexidina al 2% en cantidades de 10ul, 30ul y 60ul, por lo que se tendrá en cuenta el siguiente esquema:

G1 Muestra de estudio recibirá tratamiento del extracto etanólico de hoja de coca al 25% frente al streptococcus mutans.

G2 Muestra de estudio recibirá tratamiento del extracto etanólico de hoja de coca al 50% frente al streptococcus mutans.

G3 Muestra de estudio recibirá tratamiento del extracto etanólico de hoja de coca al 75% frente al streptococcus mutans.

G4 Las cepas de Streptococcus mutans recibirá tratamiento con la clorhexidina al 2% en un volumen de 10 uL.

G5 Las cepas de Streptococcus mutans recibirá tratamiento con la clorhexidina al 2% en un volumen de 30 uL.

G6 Las cepas de Streptococcus mutans recibirá tratamiento con la clorhexidina al 2% en un volumen de 60 uL.

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE LA HOJA DE COCA (ERYTHROXYLUM COCA)

El método que utilice para poder obtener de los aceites esenciales está sujeto a la morfología que presenta la especie vegetal, su variedad de la especie y su amplia proporción de rendimiento.

Entre los procedimientos de extracción se examinan a los siguientes: destilación con vapor de agua, hidro destilación con arrastre de vapor de agua a presión y temperatura controlada, columna de destilación discontinua, extracción por fluidos supercríticos, extracción por extracción y expresión con solventes orgánicos.

4.3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADOR	TIPO	ESCALA DE DIMENSIONES	VALORES
<p>Variables Independientes</p> <p>*Extracto etanólico de la hoja de erythroxlaceae erythroxyllum coca novogranatense</p>	<p>Un extracto es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua.²⁷</p> <p>La clorhexidina es una sustancia desinfectante de acción bactericida y fungicida.²⁸</p>	<p>Concentración de la sustancia</p> <p>Concentración de la sustancia</p>	CUANTITATIVA	ORDINAL	<p>Solución al 25% de ambas variables independientes</p> <p>Solución al 50% de ambas variables independientes</p> <p>Solución al 75% de ambas variables independientes</p> <p>Volumen de 10 uL de clorhexidina al 2%</p> <p>Volumen de 30 uL de clorhexidina al 2%</p> <p>Volumen de 60 uL de clorhexidina al 2%</p>

<p>Variable Dependiente</p> <p>*Efecto inhibitorio sobre Streptococcus Mutans</p>	<p>Capacidad inhibitoria del crecimiento del Streptococcus mutans por acción de las sustancias en estudio de cultivos en placas Petri del Streptococcus mutans, bacterias obtenidas de laboratorio.²⁹</p>	<p>Diámetro de Halo de Inhibición</p>	<p>CUANTITATIVA</p>	<p>ORDINAL</p>	<p>MILÍMETROS</p>
--	--	---------------------------------------	---------------------	----------------	-------------------

4.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

4.4.1. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL

La hoja de Erythroxyllum coca tendrá su procedencia de la Empresa Nacional de la Coca (ENACO S.A) con filial en la ciudad de Trujillo – Perú. Se obtuvo por medio de la empresa aproximadamente 550 gramos de la hoja de coca.



Figura 6: Muestras de la Hoja de Coca de Erythroxyllaceae erythroxyllum “coca novogranatense” distribuido por el ENACO – Trujillo.

4.4.2. DESECACIÓN DEL MATERIAL

-Se llevo los 550 gramos de hoja de coca a la estufa por un tiempo de dos horas para extraer todo el líquido, para obtener las hojas secas.



Figura 7: Hojas de Coca Erythroxylaceae erythroxyllum “coca novogranatense” en la Estufa del Laboratorio de Microbiología de la ULADECH – Chimbote.

4.4.3. CARACTERISTICAS DE LA HOJA DE COCA EN POLVO

El polvo presenta un color natural, verdusco, olor característico y sabor amargo.

-Se llevo las hojas secas a una licuadora para tritararlo hasta obtener un polvo. El polvo presenta un color natural, verdusco, olor característico y sabor amargo.(El polvo de la hoja de coca pulverizada que se obtuvo fue 300 gramos, el código que se le dio en el laboratorio es de “ECH”)



Figura 8: Hoja de Coca Erythroxylaceae erythroxyllum “coca novogranatense” pulverizada y con código para su posterior almacenamiento en el laboratorio de Microbióloga de la ULADECH – Chimbote.

4.4.4. OBTECIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA HOJA DE COCA

-La cantidad de 100.27 g de material vegetal secado y molido, será extraído con etanol

al 80% mediante maceración a temperatura ambiente durante 7 días en un ambiente oscuro.



Figura 9: Peso exacto de la hoja de Coca *Erythroxylaceae erythroxyllum* “coca novogranatense” mediante una balanza electrónica en el Laboratorio de Microbiología de la ULADECH – Chimbote.



Figura 10: Materiales e insumos usados para la obtencion del extracto etanolico de la Hoja de Coca *Erythroxylaceae erythroxyllum* “coca novogranatense” en el Laboratorio de Microbiología de la ULADECH – Chimbote.



Figura 11: Cantidad exacta del alcohol de 96^a grados para bajar su concentración al requerido (80^a grados).

- El medio de extracción utilizado es el “Método de maceración alcohólica”. En un envase de vidrio estéril (2 litros de capacidad) de color oscuro, se colocó en su interior el macerado con alcohol rectificado al 80°, se dejó reposar por 7 días (se agito la botella 3 veces al día).



Figura 12: Obtención del macerado etanólico de la hoja de coca *Erythroxylaceae erythroxylum* “coca novogranatense” en un frasco oscuro para su posterior almacenamiento durante 7 días.

- PASADO LOS 7 DÍAS SE OBTUVO:

✚ Se extrajo el macerado guardado por 7 días y se filtró:



Figura 13: Materiales y el extracto de la Hoja de Coca *Erythroxylaceae erythroxylum* “coca novogranatense” para su posterior filtración por medio de la vibración en el Laboratorio de Microbiología de la ULADECH – Chimbote.



Figura 14: Prensado del macerado por medio de una cuchareta para su mejor filtración por medio de la vibración del extracto etanólico de la hoja de Coca *Erythroxylaceae erythroxylum* “coca novogranatense”

- ✚ Se observa en las imágenes la extracción del macerado en una fiola por separado y envasado del producto: transcurrido el tiempo de destilación, se suspendió el calentamiento, se recogió el producto en un tubo de ensayo.



Figura 15: Obtención del Extracto Etanòlico de la Hoja de Coca *Erythroxylaceae erythroxylum* “coca novogranatense”

- ✚ Luego estos extractos serán agitados a 200 rpm durante 90 minutos sobre un baño María, a una temperatura de 50 ° C; se filtran al vacío y se concentraran a presión reducida a una temperatura no mayor de 40 ° C. El residuo se llevará a un volumen de 10 ml con el solvente empleado, llamándose a este extracto concentrado y a partir del mismo se preparará una dilución de 9:10.(Técnica empleada: Hidrodestilación con arrastre de vapor de agua a presión y temperatura controlada – extracción de los aceites esenciales).



✚ El producto fue envasado en recipientes y refrigerado para su conservación.



Figura 16: Producto final del Extracto Etanólico de la Hoja de Coca *Erythroxylaceae erythroxylum* “coca novogranatense”

4.4.5. Reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.

Para este estudio se utilizará cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La reactivación se realizará sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubará a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembrará por estría en Agar TSYB e incubará a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se elegirá una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración gran.²³

A partir de una colonia se sembrará en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservará hasta su posterior empleo.

4.4.6. Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de KirbyBauer³¹.

La evaluación del efecto antibacteriano, del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllaceae erythroxyllum* “*coca novogranatense* y gluconato de clorhexidina al 2% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se realizará mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar³¹.

Para lo cual se procederá de la siguiente manera:

4.4.7. Estandarización del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175.

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembrará en Agar TSA, se incubará bajo condiciones de microanaerobiosis a 37°C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluirá en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 ufc/mL)

4.4.8. Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomará una alícuota de 100µl y se colocará en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuirá la suspensión bacteriana en varias direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejará secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido³¹.

4.4.9. Preparación de los discos con el extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum* “*coca novogranatense* y gluconato de clorhexidina al 2%

Se prepararán discos de papel filtro Whatman número 3 estériles, los cuales serán embebidos con 30 uL del extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae*

erythroxyllum “*coca novogranatense* y discos con 10, 30 y 60 uL del gluconato de clorhexidina al 2%

Luego, con una pinza estéril, cada uno de los discos con extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum* “*coca novogranatense* y gluconato de clorhexidina al 2% serán colocados sobre las placas de Petri con Müller Hinton sembradas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

- **Incubación:**

Se incubarán las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 24 y 48 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

- **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinará cada placa se medirán los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. para lo cual se utilizará regla milimetrada, abarcando el diámetro del halo. ³¹

4.5. Plan de análisis.

Para medir el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense* frente al *streptococcus mutans atcc 25175* en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2% se utilizará:

- Para reactivar las cepas del *streptococcus mutans* ATCC 25175 se utilizó, un cultivo liofilizado de la cepa y BHI (Caldo Brain Heart Infusión).
- Para analizar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense* frente al *streptococcus mutans atcc 25175* en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, se utilizó:
 - Estadística descriptiva, los valores promedio de los halos de inhibición de cada grupo.
 - Estadística inferencias, comparación entre los grupos entre sí, con anova po kruskall Wallis.
 - Prueba posthoc para ver la jerarquía de efecto inhibitorio.

-Los datos se analizarán utilizando el programa SPSS (IBM SPSS Statistics® versión 19), y para la construcción de tablas se utilizará el programa Microsoft® Office Excel 2016.

4.6. Matriz de consistencia

Planteamiento del Problema	Objetivos	Marco Teórico Conceptual.	Hipótesis.	Variables	Metodología
<p>Caracterización del Problema</p> <p>Actualmente la medicina natural viene siendo una alternativa no convencional frente a los diversos efectos no deseados de las medicinas generales, ya que actualmente se viene mostrando un incremento en enfermedades como el cáncer que es producto muchas veces de este tipo de fármacos que, a su vez de curar una enfermedad, traen consigo otras más.</p> <p>Es por ello por lo que se estudiará el efecto antibacteriano del Streptococcus Mutans causante de la caries dental y patologías bucales actualmente en crecimiento y mayor incidencia en la población; buscando así disminuir su</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de coca (Erythroxyllum coca Lam) frente al Streptococcus mutans en comparación al Gluconato de Clorhexidina al 2%.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> •Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de coca (Erythroxyllum coca) al 25 % frente al Streptococcus Mutans. •Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de coca (Erythroxyllum coca) al 50 % frente al 	<p>-Negrete M. (2014). Averiguo sobre la actividad antibacteriana del macerado de la hoja de coca seca y fresca proveniente de los departamentos de Cochabamba y La Paz. Posteriormente se prepararon macerados con tres solventes: Solución fisiológica, Alcohol (absoluto) y Cloroformo. Luego se determinó la actividad antibacteriana del macerado frente a bacterias Gram positiva (Streptococcus mutans) corroborando la acción antibacteriana frente a estas.</p> <p>-Vergara C. (2011) Elaboró la presente investigación de tipo experimental “in vitro”, tuvo</p>	<p>HIPÒTESIS GENERAL</p> <p><u>Hipótesis de Investigación</u></p> <p>El extracto etanólico de la hoja de erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense al 75% presenta mayor efectividad frente al Streptococcus Mutans en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, en volúmenes de 10 uL, 30 uL y 60 uL.</p> <p><u>Hipótesis Estadística</u></p> <p>Hipótesis Nula (H0):</p> <p>El extracto etanólico de la hoja de erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense al 25%,50% y 75% no es efectivo frente al streptococcus mutans en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%,</p>	<p>Para demostrar y comprobar la hipótesis anteriormente formulada, la operacionalizamos, determinando las variables e indicadores que a continuación se mencionan:</p> <p>Variables Independientes</p> <p>-Extracto etanólico de la hoja de erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense</p> <p>Variable Dependiente</p> <p>- Efecto inhibitorio del Extracto Etanólico de la Hoja de Coca sobre el crecimiento del</p>	<p>Tipo de Investigación</p> <p>Por el tipo de investigación, el presente estudio reúne las condiciones metodológicas de una investigación experimental.</p> <p>Nivel de la Investigación</p> <p>acuerdo con la naturaleza del estudio de la investigación, reúne por su nivel las características de un estudio cuantitativo.</p> <p>Diseño de la Investigación:</p> <p>Experimental, transversal, prospectivo y analítico</p> <p>Muestreo</p> <p>La muestra será la misma que la población y estará conformada por 10 placas Petri Agar en las instalaciones del Laboratorio de la ULADECH.</p>

<p>crecimiento en la flora bucal o su eliminación.</p> <p>Enunciado del Problema</p> <p>¿CUÁL ES LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL A “IN VITRO” DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA HOJA DE ERYTHROXYLUM COCA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS EN COMPARACIÓN CON EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%?</p>	<p>Streptococcus Mutans.</p> <ul style="list-style-type: none"> •Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de coca (Erythroxyllum coca) al 75 % frente al Streptococcus Mutans. •Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de coca al 75% con el gluconato de clorhexidina al 2% en volumen de 10uL. •Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de coca al 75% con el gluconato de clorhexidina al 2% en volumen de 30uL. •Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de coca al 75% con el gluconato de clorhexidina al 2% en 	<p>como propósito determinar el efecto inhibitorio de dos tipos de extractos, acuoso y etanólico, preparados a partir de hojas de coca, sobre el crecimiento de Streptococcus mutans. El estudio se realizó utilizando cuatro concentraciones de extracto acuoso y cuatro concentraciones de extracto etanólico; con lo que se concluyó que ambos extractos poseen efecto inhibitorio “in vitro” sobre el crecimiento de Streptococcus Mutans.</p> <p>-Rojas R. (2011). Elaboraron un extracto con el Erythroxyllum coca en el tratamiento de Staphylococcus Aureus y Streptococcus Mutans, obteniendo como resultados que existe un efecto antimicrobiano</p>	<p>en volúmenes de 10uL, 30uL y 60uL.</p> <p>Hipótesis Alternativa (H1):</p> <p>El extracto etanólico de la hoja de erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense al 25%, 50% y 75% es efectivo frente al Streptococcus Mutans en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, en volúmenes de 10uL, 30uL y 60uL.</p>	<p>Streptococcus Mutans</p>	<p>Definición y Operacionalización de variables</p> <p>-Ungüento de la hoja de coca</p> <p>Técnicas de Recolección de Datos</p> <ol style="list-style-type: none"> Recolección del Material Desecación del Material Características de la hoja de coca en polvo Reactivación de las cepas del Streptococcus Mutans ATCC 25175. Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método Kirby Bauer. Incubación. Lectura de resultados. <p>Plan de Análisis</p> <p>Para reactivar las cepas del streptococcus mutans ATCC 25175 se utilizó, un cultivo liofilizado de la cepa y BHI (Caldo Brain Heart Infusión).</p> <p>b. Para analizar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense frente al streptococcus</p>
--	--	--	---	-----------------------------	---

	volumen de 60uL.	<p>positivo a las concentraciones de 1000 y 1500 µg/ 20 µl del extracto de Erythroxyllum coca y que a mayor concentración del extracto mayor efecto antimicrobiano.</p> <p>-Borrovic F. (2006) Hallo efecto antibacteriano que se incrementaba a mayor concentración del extracto alcohólico de la hoja de coca, sobre cultivos de flora mixta salival.</p>			<p>mutans atcc 25175 en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, se utilizó:</p> <p>-Estadística descriptiva.</p> <p>-Estadística inferencias, comparación entre los grupos entre sí, con anova po kruskall Wallis.</p> <p>-Prueba posthoc para ver la jerarquía de efecto inhibitorio.</p> <p>-Los datos se analizarán utilizando el programa SPSS (IBM SPSS Statistics® versión 19)</p> <p>-Microsoft® Office Excel 2016.</p>
--	------------------	---	--	--	--

4.7. Principios éticos

De acuerdo con los principios establecidos en el Manual de Metodología de Investigación Científica (MIMI) y en base a todos los principios éticos establecidos por el comité calificador de la ULADECH, el presente trabajo se realizó en base a cuatro principios éticos: principio de autonomía, principio de no maleficencia, principio de justicia y principio de beneficencia; respetando además las leyes establecidas.

V. RESULTADOS

5.1. RESULTADOS

Tabla 01. Comparación, *in vitro*, del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllaceae erythroxyllum* “*coca novogranatense* y del gluconato de clorhexidina al 2% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, determinado mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento, método Kirby Bauer.

Repeticiones	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento (mm)					
	Concentración de las sustancias					
	<i>Erythroxyllaceae erythroxyllum</i> “ <i>coca novogranatense</i> ”			<i>del gluconato de clorhexidina</i> al 2%		
	25%	50%	75%	10uL	30 uL	60 uL
1.	17	20	28	26	32	40
2.	13	15	22	26	33	36
3.	13	18	25	26	28	40
4.	13	17	25	25	35	40
5.	13	15	25	28	30	38
6.	13	18	23	25	30	38
7.	13	15	22	25	30	40
8.	15	20	25	27	30	36
9.	14	18	25	25	30	35
10.	15	20	25	25	30	35

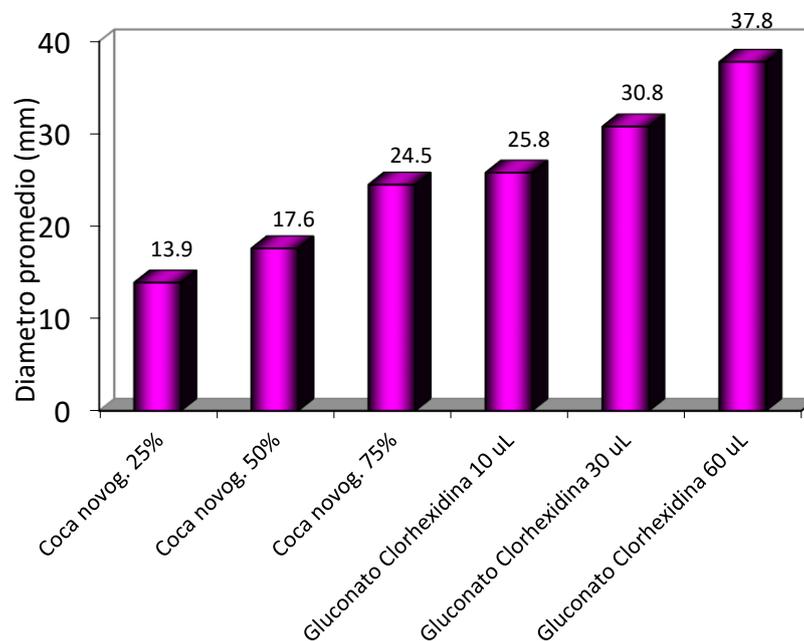
Fuente: Ficha de Recolección de datos

TABLA N° 02: Estadísticos descriptivos de los halos de inhibición del extracto de la hoja de Erythroxlaceae erythroxlum Coca novogranatense al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% en volúmenes de 10uL, 30uL y 60uL frente al Streptococcus mutans ATCC25175.

	Erythroxlaceae erythroxlum Coca novogranatense			Del gluconato de Clorhexidina al 2%		
	25%	50%	75%	10 uL	30 uL	60 uL
Media Aritmética	13,9	17,6	24,5	25,8	30,8	37,8
Desviación Estándar	1,37	2,06	1,78	1,03	1,99	2,15
Valor Mínimo	13	15	22	25	28	35
Valor Máximo	17	20	28	28	35	40
Total	10	10	10	10	10	10

Fuente: Tabla N° 1 / Ficha de recolección de datos

Gráfico N° 01: Comparación de medias de los halos de inhibición del extracto de la hoja de Erythroxlaceae erythroxlum al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% frente al Streptococcus mutans ATCC25175



Fuente: Tabla N° 02

INTERPRETACION GRAFICO N.º 01

En el gráfico N° 01, observamos que el gluconato de Clorhexidina al 2% arroja los diámetros promedios de halo de inhibición más altos (25,8; 30,8 y 37,8) que del extracto de la hoja de Erythroxyllaceae erythroxyllum al 25%, 50%, 75%, frente al Streptococcus mutans ATCC25175.

COMPARACIÓN DEL EFECTO MEDIO ANTIBACTERIANO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA HOJA DE ERYTHRXYLACEAE ERYTHROXYLLUM Y DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC25175.

Primero se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas

Prueba de normalidad: Para comprobar la hipótesis nula (Ho) de que las muestras han sido extraídas de una población con distribución normal se aplicó la prueba de Kolmogorov y se obtuvo el siguiente resultado con SPSS:

TABLA N° 03: Comparación del efecto medio antibacteriano de los halos de inhibición del extracto etanólico de la hoja de Erythroxyllaceae Erythroxyllum y del gluconato de clorhexidina al 2% frente al streptococcus mutans atcc25175.

Pruebas de normalidad	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
“Coca novogranatense” 25%	,344	10	,001	,727	10	,002
“Coca novogranatense” 50%	,196	10	,200*	,848	10	,056
“Coca novogranatense” 75%	,311	10	,007	,828	10	,032
Del gluconato de Clorhexidina 10U1	,281	10	,025	,791	10	,011
Del gluconato de Clorhexidina 30uL	,356	10	,001	,829	10	,032
Del gluconato de Clorhexidina 60uL	,247	10	,085	,826	10	,030

Fuente: Ficha de Recolección de datos

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Según los resultados obtenidos las muestras no provienen de poblaciones normales ($P < 0.05$). Por lo tanto, para comparar el efecto antibacteriano entre los grupos lo hacemos con la prueba H de Kruskal-Wallis.

Hipótesis

$$H_0: M_1 = M_2 = M_3 = M_4 = M_5 = M_6$$

H₁: Al menos un efecto antibacteriano es diferente

Con el software SPSS se obtiene:

Tabla N° 04: Estadísticos de prueba

a,b

	Diametros_halo
H de Kruskal-Wallis	56,139
Gl	5
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Grupos

Como $P = 0,000 < 0,05$, se rechaza H_0 . Por tanto, existe diferencia estadísticamente significativa entre los efectos antibacteriano de los halos de inhibición del extracto de la hoja de Erythroxlaceae erythroxyllum Coca novogranatense al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% frente al Streptococcus mutans ATCC25175.

Tabla N° 05: Halo de inhibición más eficaz de los efectos antibacterianos de los halos de inhibición del extracto de la hoja de *Erythroxyllaceae erythroxyllum Coca novogranatense* al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% frente al *Streptococcus mutans* ATCC25175.

Diametros_halo: Medianas						
Grupos	N					
		1	2	3	4	5
Coca novogranatense al 25%	10	13,000				
Coca novogranatense al 50%	10		18,0000			
Coca novogranatense al 75%	10			25,0000		
Gluconato de Clorhexidina 10uL	10			25,5000		
Gluconato de Clorhexidina 30uL	10				30,0000	
Gluconato de Clorhexidina 60uL	10					38,0000

Fuente: Ficha de Recolección de datos.

- Se visualizan las medianas para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La presente investigación de tipo experimental “In vitro”, tuvo como propósito determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de coca (*Erythroxyllum coca* Lam) frente al *Streptococcus mutans* en comparación al Gluconato de Clorhexidina al 2%, lo que quedó comprobado por medio del análisis estadístico, ya que se encontró diferencia significativa entre los efectos antibacteriano de los halos de inhibición del extracto de la hoja de *Erythroxyllaceae Erythroxyllum Coca novogranatense* al 25%, 50%, 75% y del gluconato de Clorhexidina al 2% frente al *Streptococcus mutans* ATCC25175, siendo el tratamiento más eficaz es del gluconato de Clorhexidina al 2% en volumen de 60 uL, porque nos proporcionó un mayor diámetro de halo de

inhibición (Me=38 mm.), este resultado sustenta a las investigaciones de Negrete M. Bolivia (2014). Vergara C. Lima-Perú (2011). Rojas R. Huánuco (2011). Ventura G. Lima Perú (2009). Minaya P. Lima Perú (2008) quienes concluyeron que la coca novogranatense tiene efecto inhibitorio frente al *Streptococcus mutans*.

Asimismo, Hurtado Y. Amazonas, Perú. (2017), en su investigación cuyo objetivo fue determinar la asociación entre la masticación de la hoja de coca y la prevención de la caries dental en los Pobladores del Caserío, concluyó que, la masticación de la hoja de coca es considerada como una medida preventiva de la caries dental.

Por otro lado, Rojas R. Huánuco (2011). realizó una investigación casi similar a este, al determinar la eficacia antibacteriana in Vitro del extracto de hoja de coca en comparación con la clorhexidina al 0.12 % en el tratamiento de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*, en la cual concluyó que el aumento de la concentración de extracto de coca aumenta la eficacia del tratamiento, conclusión que es sustentada por la presente investigación, ya que al evaluar el efecto inhibitorio del extracto de la hoja de *Erythroxylaceae Erythroxylum Coca novogranatense* al 25%, 50% y 75% se encontró que estas concentraciones generaron halos promedios de inhibición de 13,9mm., 17,6mm. y 24,5 mm. respectivamente frente al *Streptococcus mutans* ATCC25175, llegando a la misma conclusión. Sin embargo, estos promedios son inferiores a lo encontrado por Minaya P. Lima Perú (2008). Cuyos diámetros de los halos de inhibición para *S. mutans* tuvieron una media de 34.4mm±2.12mm, y para el caso de *L. casei*, 33.7mm±3.40mm.

Evaluando el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de coca al 75% se encontró un halo promedio de inhibición de 24,5 mm, inferior al del gluconato de clorhexidina al 2% en volúmenes de 10uL, 30uL y 60uL cuyos halos promedios fueron: 25,8mm., 30,8mm. y 37.8 respectivamente, estos resultados son superiores a lo encontrado por Solano X. and colbs. Ecuador (2016), donde el control positivo de la Clorhexidina presentó una media de 16.13 mm frente al *Streptococcus mutans*

Al igual que Solano X. and colbs. Ecuador (2016), quienes probaron que el extracto acuoso de romero no mostró efecto antibacteriano sobre el *S. mutans* mientras que el extracto oleoso de romero mostró acción antibacteriana sobre *S. mutans*, siendo similar a la clorhexidina al 2%, en el presente estudio se encontró que el extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllaceae Erythroxyllum coca novogranatense* al 75% y el gluconato de clorhexidina al 2% en concentración de 10uL tienen el mismo efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans atcc 25175*.

VI. CONCLUSIONES

- El tratamiento más eficaz es del gluconato de Clorhexidina al 2% en volumen de 60 uL, porque nos proporciona un mayor diámetro de halo de inhibición.
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense* al 25% frente al *streptococcus mutans atcc 25175* es el más bajo, con un halo de inhibición de 13.9 mm.
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense* al 50% frente al *streptococcus mutans atcc 25175*, generó un halo de inhibición de 17.6 mm.
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense* al 75% frente al *streptococcus mutans atcc 25175* presenta gran significancia bactericida, con un halo de inhibición de 24.5 mm.
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *erythroxyllaceae erythroxyllum coca novogranatense* al 75% frente al *streptococcus mutans atcc 25175* tiene menor efecto que el gluconato de clorhexidina al 2% en volúmenes de 30uL y 60uL.
- Existe diferencia estadísticamente significativa entre los efectos antibacteriano de los halos de inhibición del extracto de la hoja de *Erythroxyllaceae erythroxyllum Coca novogranatense* al 25%, 50%, 75% y

del gluconato de Clorhexidina al 2% frente al *Streptococcus mutans* ATCC25175,

- El extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylaceae erythroxylum coca novogranatense* al 75% frente al *Streptococcus mutans* atcc 25175 tiene el mismo efecto que el gluconato de clorhexidina al 2% en volumen de 10uL.
- A mayor concentración, la coca novogranatense genera un mayor diámetro de halo de inhibición frente al *Streptococcus mutans* atcc 25175.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS:

Recomendaciones:

- La hoja de coca (*Erythroxylaceae erythroxylum coca novogranatense*), podría ser una alternativa para el tratamiento en infecciones microbianas en el futuro, siempre y cuando se realicen estudios clínicos en pacientes con diferente patología clínica, evaluando parámetros clínicos como microbiológicos.
- Se recomienda realizar más trabajos de investigación sobre el efecto antibacteriano de la hoja de coca en comparación con el gluconato de clorhexidina al 2%, puesto que no se ha encontrado mucha información con respecto al tema con el fin de evaluar el efecto antibacteriano de la hoja de coca (*Erythroxylaceae erythroxylum coca novogranatense*) frente a otros microorganismos patógenos causantes de la caries dental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Organismo Mundial de la Salud [Internet]. 24 de febrero de 2004 / Ginebra. La OMS publica un nuevo informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales. [10, julio, 2018]. Disponible en:
<https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/es/#>
2. Ministerio de Salud del Perú [Internet]. N. d. Plan de Salud Bucal 2005. [10, julio, 2018]. Disponible en:
<http://www.minsa.gob.pe/portal/campanas/SBucal/documentos.asp>
3. Hurtado Gonzáles, Yeny Judith. "Asociación entre la masticación de la hoja de coca y la prevención de la caries dental en los pobladores del caserío de Buenos Aires, Jaen-2017." Tesis para optar el grado de Bachiller. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Perú, Amazonas. (2017).
4. Danitza E. y Daysi D. "Efecto coagulante del apósito con extracto de erithroxylum coca (hoja de coca) sobre alveolos post exodoncia en molares permanentes". Premio Hipólito Unanue al mejor trabajo de Investigación Científica. Peru;2005.
5. Negrete M. "Estudio in vitro de la capacidad antibacteriana de la hoja de coca (erythroxyllum coca lam) frente a bacterias atcc Staphylococcus Aureus, escherichia coli y pseudomonas aeruginosa". Univ. Cienc. Soc. [revista en la Internet]. 2015 Dic [citado 2018 Oct 02] ; (15): 38-47. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S8888-88882015000200007&lng=es.
6. Pérez S. "Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre Streptococcus mutans ATCC 25175." Universidad Nacional de Trujillo, Escuela de Estomatología. Trujillo, Perú. (2013).
7. Vergara Pastor, C. B. Efecto inhibitorio" in vitro" del extracto acuoso y el extracto etanólico de la hoja de Erythroxyllum novogranatense var. truxillense (Coca) sobre el crecimiento de Streptococcus mutan. [Tesis para optar el grado Bachiller en Estomatología] (2011).
8. Rojas R. Eficacia Antibacteriana in Vitro del Extracto de Hoja de Coca en Comparación Con Clorhexidina Frente a Staphylococcus Y Streptococcus Huánuco 2011. [Tesis para optar el grado de Bachiller]. Universidad de Huánuco Facultad de Ciencia de la Salud E.A.P Odontología. Huánuco; 2011.

9. Mayta T., Frank R., Sonia S. "Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa - Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)". Revista Estomatológica Herediana, vol. 20, núm. 1, enero-marzo, Lima Perú. 2010.
10. Ventura G., A. Castro, M. Roque, & J. Ruiz. "Composición química del aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam var. *Coca* y evaluación de su actividad antibacteriana." Ciencia e Investigación. Lima, Perú, 2009.
11. Minaya P. Determinación de la actividad antibacteriana" in vitro" del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var *truxillense* (coca) frente a bacterias orales cariogénicas. [Tesis para optar el grado Cirujano Dentista]. Universidad Nacional Mayor de San Marco facultado de Odontología. Lima; (2008).
12. Borrovic F. Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxylum Novogranatense* var. *truxillense* (coca) sobre flora mixta salival. [Tesis para optar el grado Bachiller]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Odontología. Lima, Perú; 2006.
13. World Health Organization – WHO. Oral Health in All Societies, Integration of oral health and general health. Geneva, 2006.
14. Ramos A. "Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio in vitro". [Tesis para optar el grado profesional de Cirujano Dentista] ;2012.
15. Vadillo G. "Estudio comparativo de la respuesta tisular al relleno alveolar a base de Aloe vera y *Croton lechleri*, en Alvéolos post exodoncia en incisivos de *Cavia porcellus*". [Tesis para optar el grado profesional de Cirujano Dentista] ;(2009).
16. Hernández Sampieri, Roberto, Carlos Fernández Collado, and Pilar Baptista Lucio. Metodología de la investigación. Vol. 3. México: McGraw-Hill, 2006.
17. Payé E. "Prevalencia de caries dental en consumidores de *Erythroxylum coca* con y sin llipta en la comunidad de ccatacha-puno, 2014". [Tesis para optar el grado profesional de Cirujano Dentista] ;2014.
18. Espinel G., Guzmán I. "Separación y Determinación de los Alcaloides de *Erythroxylum Coca* Variedad *Novogranatensis* por Métodos Cromatográficos".

- [Tesis para optar el grado profesional de Químico Farmacéutico], Colombia; 2008.
19. Castro A., Suárez S., Ramos N., Carhuapoma M., Ruiz J., Gonzales S., Inostroza L., Santa María O., Lucas R., Vicente W. "Evaluación química y antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Erythroxyllum coca* Lam. Var. "Coca Huánuco": diseño de una formulación farmacéutica". Theorema UNMSM Volumen I – N°1-junio, Lima – Perú; 2014.
 20. Enciso C. "Estudio in vitro de la actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxyllum coca* sobre bacilos negro Pigmentantes". [Tesis para optar el grado profesional de Cirujano Dentista]; 2016.
 21. Apolinario Serva S, Quinte Silva W. "Eficacia inhibitoria in vitro del extracto hidroalcohólico de *erythroxyllum coca* y la clorhexidina frente al *Streptococcus* y *Staphylococcus*". Universidad Peruana los Andes Facultad de Ciencias de la Salud, Perú; 2014.
 22. Solórzano E, Dávila L, Premoli G. Estudio Invitro sobre los efectos de la cocaína sobre los tejidos duros. Rev cubana Estomatol, 2008; 45(1):3-4. Ciudad de la Habana, Cuba; 2008.
 23. Moromi H., Martínez E. Ramos D. Anti bacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Artículo de Revisión Odontología Sanmarquina; 2005.
 24. Solano X.; Moya T. y Zambrano M. "Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* "romero". Revista Científica. "Odontología" Vol. 19, N° 2. Ecuador; 2016.
 25. Utria-Hoyos J, Pérez-Pérez E, Rebolledo-Cobos M, Vargas-Barreto A. Características de las soluciones de clorhexidina al 2% y al 0,2% en preparaciones cavitarias en odontología: una revisión. Duazary. Colombia, Barraquilla;2018.
 26. Abanto Vilca, Magaly. "Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus Mutans* ATCC 25175."; 2016.
 27. Huacasi S. *Erythroxyllum coca* Lam.Vs. *Uncaria tomentosa* (Willd.), en la respuesta tisular de alveolos post-exodoncia en *Cavia porcellus*. Revista estomatológica del altiplano, Boloivia;2009.

28. Instituto Boliviano de Biología de altura. Usos de la hoja de coca y la salud pública. Ed. 1ra, La Paz (Bolivia). 1997.
29. Condori R., Panozo M., Vilca N. y Santa Cruz A. Estudio microbiológico en la hoja de coca Chapareña y Yungueña en Bolivia. Universidad Estomatológica del Altiplano. La Paz; 2015
30. Centurión V. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Tesis grado de maestro en estomatología. Universidad Antenor Orrego. 2015
31. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); M100-S23. Vol 33 (1). United States, 2013.
32. Walsh T, Oliveira-Neto JM, Moore D. Chlorhexidine treatment for the prevention of dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015, Issue 4. Art. No.: CD008457. DOI: 10.1002/14651858.CD008457.pub2.

ANEXOS



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

"Año del Dialogo y Reconciliación Nacional"

Chimbote, 19 de Abril del 2018

CARTA N° 045-2018- DIR-EPOD-FCCS-ULADECH Católica

Sr.:
Mg. Q. F. Edison Vásquez Corales
Jefe de Laboratorio de Farmacia y Bioquímica
Presente.

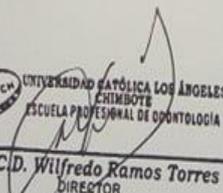
A través del presente, reciba Ud. el cordial saludo en nombre de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en esta ocasión en mi calidad de director de la Escuela Profesional de Odontología, para solicitarle lo siguiente:

En cumplimiento del Plan Curricular del programa de Odontología, el estudiante viene desarrollando la asignatura de Taller de Investigación, a través de un trabajo de investigación denominado "DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA HOJA DE ERYTHROXYLUM COCA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS EN COMPARACIÓN DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%".

Para ejecutar su investigación, el alumno ha seleccionado la institución que Ud. dirige, por lo cual, solicito brindarle las facilidades del caso al Sr. **Edwards Sánchez Huamán**; a fin de realizar el presente trabajo.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente;


Mg. C.D. Wilfredo Ramos Torres
DIRECTOR


Mg. Q.F. Edison Vásquez Corales
JEFE LAB. QUÍMICO Y B

23/04/18



ENACO S.A.
EMPRESA NACIONAL DE LA COCA S.A.
AGENCIA TRUJILLO

EL ADMINISTRADOR DE LA AGENCIA TRUJILLO DE ENACO S.A.

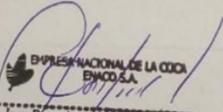
CERTIFICA

Que, los 0.5 Kg. de hoja de coca, entregado al Sr. Edwards Gianmarco Sánchez Huamán para fines de investigación, corresponden, a la Familia Erythroxylaceae, Genero Erythroxylum, Especie Erythroxylum Coca, Variedad Novogranatense.

Se entrega el presente documento para determinar el origen de la muestra de hoja de coca que se utilizara en la ejecución de la Tesis denominada "DETERMINACION DE ACTIVIDAD BACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA HOJA DE ERYTHROXYLUM COCA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS EN COMPARACIÓN DEL GLUCANATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%".

Se expide en la ciudad de Trujillo a los (02) días del mes de mayo del año dos mil dieciocho.

Atentamente,


EMPRESA NACIONAL DE LA COCA
ENACO S.A.

Ing. Francisco Cárdenas López
ADMINISTRADOR DE AG. TRUJILLO



ENACO S.A.
EMPRESA NACIONAL DE LA COCA S.A.
AGENCIA TRUJILLO

N° REG. : 92289

N° EXP. : 69519

CARTA N° 005 -2018-ENACO S.A./ATRU-JEF

Trujillo, 03 de mayo de 2018

SR. EDWARDS GIANMARCO SANCHEZ HUAMAN
Ciudad.

ASUNTO: ENTREGA DE MUESTRA DE HOJA DE COCA

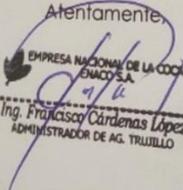
Estimado señor:

Mediante el presente expreso mi cordial saludo y a la vez lo insto a continuar con la investigación que viene realizando, utilizando hoja de coca.

Se le hace llegar una muestra de 0.5 kilogramos de hoja de coca *Erythroxylum coca* variedad novogranatense. Esta variedad de coca se cultiva en la zona norte del Perú. La muestra que se le hace llegar fue producida en el Sector de Rancho Grande, del distrito de Sayapullo, Provincia Gran Chimú, departamento La Libertad.

Se adjunta certificado de variedad de la hoja de coca que se entrega con fines de investigación.

Esperamos que, de ser posible, al culminar su investigación nos haga llegar los resultados obtenidos.

Atentamente,

EMPRESA NACIONAL DE LA COCA
ENACO S.A.
Ing. Francisco Cárdenas López
ADMINISTRADOR DE AG. TRUJILLO

cc.
Archivo



RAZON SOCIAL: GEN LAB DEL PERU S.A.C.

Jr. Cápac Yupanqui N° 2434 Lince, Lima - PERU (Alt.Ctra. 8 Av. 2 de Mayo San Isidro)
Av. Las Flores de Primavera N° 849 Urb. Las Flores San Juan de Lurigancho, Lima, Lima
Central Telef. 203-7500 Telefax: (51-1) 203-7501
e-mail: ventas@genlabperu.com web: www.genlabperu.com

R.U.C. 20501262260

FACTURA

0003- N° 0004085

Fecha	Vencimiento	Condiciones de Pago	A.C.
22/01/2018	22/01/2018	CONTADO	56

Sr(es): UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE

Dirección: JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO - CHIMBOTE SANTA ANCA

R.U.C. 20319956043

N° de Guía de Remisión

Ped N°: 018510

N° de O.C.:

Att.:

N° Pedido

COD.	DESCRIPCION	CANT.	P. UNIT.	IMPORTE
H0566-A	Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	288.98305	288.98

PEPEGRAF. S.A. R.U.C. 20372514280 SERIE 0003 DEL 4001 al 5000 SUNAT N° 13185286023 F.L. 17-11-2017

SON: TRESCIENTOS CUARENTA Y UNO CON 00/100 SOLES S.E.U.O.

O/P:
NOTA: DESPUÉS DE VENCIDO EL PLAZO DE CANCELACIÓN, SE RECARGARA EL INTERÉS LEGAL POR EL TIEMPO QUE TRASCURRA PARA LA CANCELACIÓN DE ESTA FACTURA. LOS CHEQUES DEBERÁN SER GIRADOS ÚNICA Y EXCLUSIVAMENTE GEN LAB DEL PERU S.A.C.

CANCELADO / CANJEADO
Lima, 22 de 01 de 2018

p. GEN LAB DEL PERU S.A.C.

SUB TOTAL	S/ 288.98
I.G.V. (15%)	S/ 52.02
TOTAL	S/ 341.00

ADQUIRENTE O USUARIO



RAZON SOCIAL: GEN LAB DEL PERU S.A.C.
 J. Cápac Yupanqui N° 2434 Lima, Lima - PERU (At. Cda. 8 Av. 2 de Mayo San Isidro)
 Av. Las Flores de Primavera N° 849 Urb. Las Flores San Juan de Lurigancho, Lima, Lima
 Central Tel.: 303-7500 Telexfax (51-1) 203-7501
 e-mail: ventas@genlabperu.com web: www.genlabperu.com

R.U.C. 20501262260
GUIA DE REMISION
REMITENTE
0002- N° 0027059

Fecha	Comprobante de Pago N°
06/02/2018	0030004005

Sr(es): **UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE**
JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANAC
CHIMBOTE SANTA ANCAH
 Punto de Llegada: **OLVA TRUJILLO**
 Punto de Partida: **Av. Las Flores de Primavera 849-A Lima 36**

R.U.C.: 20319956043
 Cod. Cliente: 001513
 Orden de Compra: GL - 18 / 025700
 Numero de Pedido: 018510
 Tipo de Movimiento: VENTAS
 Fecha de Traslado: 06/02/2018

Unidad de Transporte y Conductor
 Marca y Placa :
 N° Licencia de Conducir :

Empresa de Transporte
 Sr(es):
 R.U.C.:

MOTIVO DEL TRASLADO

Ventas Compras() Consignación() Ventas con Entrega a Terceros() Ventas Sujeta a Confirmación por el Proveedor() Traslado entre Establecimientos de la misma Empresa() Devolución() Otros()

GOD	CANT.	UNIT	DESCRIPCION
HD5666-A	1		Streptococcus mutans derived from ATCC@ 25175™ LOTE: 266-24-4 / Vencimiento: 30/06/2019

PEPEGRAF S.A. R.U.C. 20372514200 SERIE 0002 DEL 26851 al 27050 SUNAT N° 0443771821 F.I.: 16-01-2018

BIENES TRANSPORTADOS : Una vez recepcionada la mercadería no habrá lugar a devoluciones. Firma y Sello

A.C.

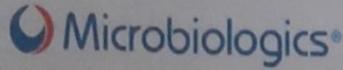
 p. GEN LAB DEL PERU S.A.C.
 Despachador

N. J. J. J.

 p. GEN LAB DEL PERU S.A.C.
 Almacén

RECIBI CONFORME

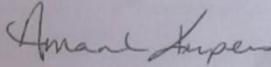
 DESTINATARIO



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-24 Reference Number: ATCC® 25175™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2019/6/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2017/8/1
---	--

Macroscopic Features: Two colony types: small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	Method: Gram Stain (1)

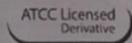
ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
	 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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



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

TESTING CERT #2655.01

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)	High consistency: 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)	Low consistency: 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 the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus mutans
 Sample Description: 0266
 Sample ID: 266-24
 Sample Creation Date/Time: 2017-08-01T11:03:23.741 CC
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
F2 (+++)(A)	266-24	Streptococcus mutans	2.17

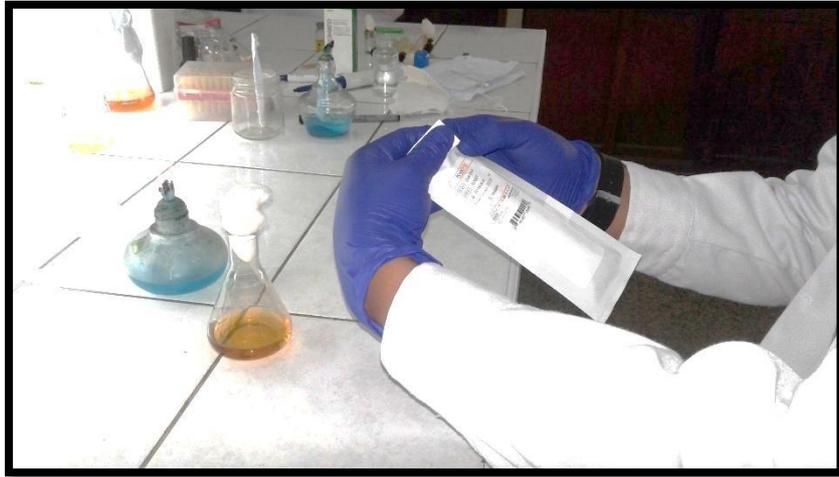
Comments:

N/A

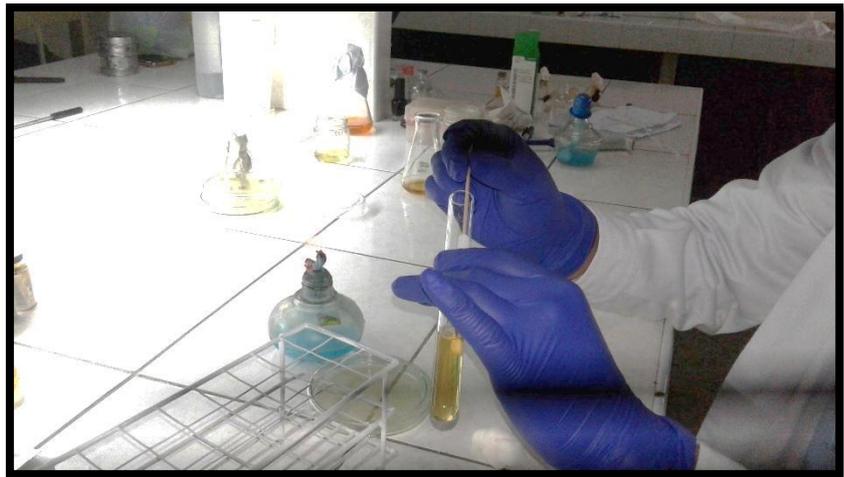
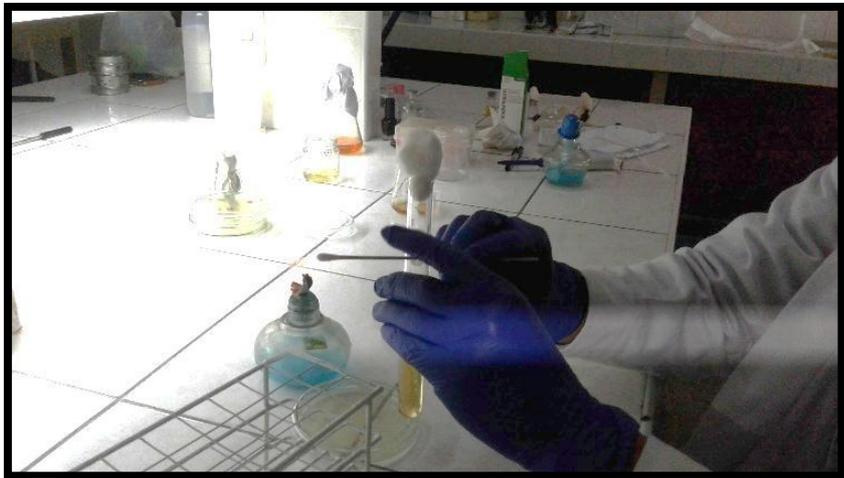
ANEXOS 2:

**EVIDENCIAS DE LA EXPERIMENTACIÓN “IN VITRO” EN EL
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA ULADECH - CHIMBOTE**

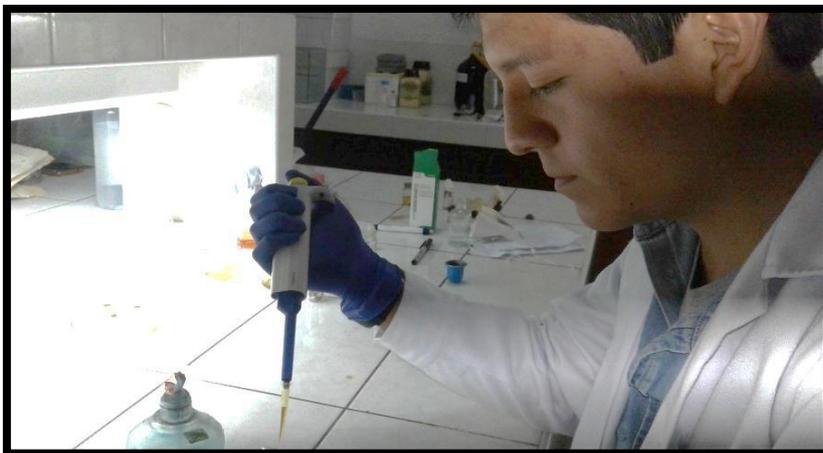


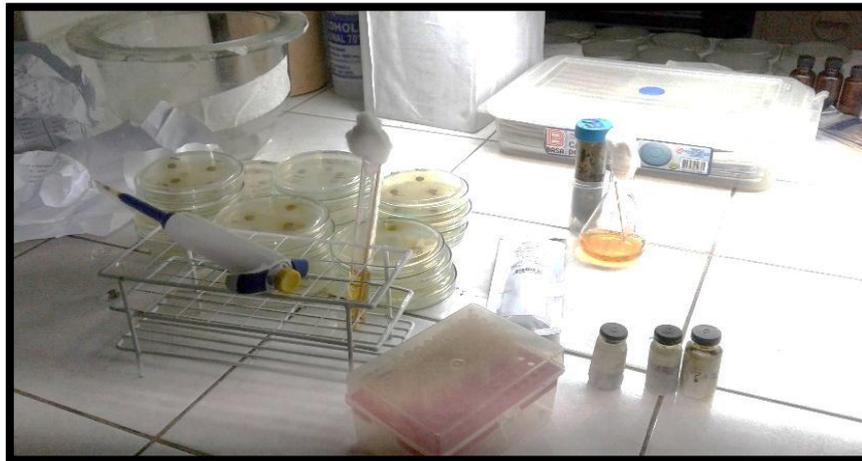












ANEXO 3:

RESULTADOS

