

---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE HOJA DE *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum  
coca* SOLOS Y EN COMBINACIÓN SOBRE *Streptococcus  
mutans* ATCC 25175, TRUJILLO 2019**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR

**DIAZ VELASQUEZ, LUIS JOSE SEBASTIAN  
ORCID: 0000-0002-8463-8583**

ASESOR

**HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA  
ORCID: 0000-0003-0723-3491**

**TRUJILLO – PERÚ  
2022**

**1. Título de la tesis**

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE HOJA DE *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum*  
*coca* SOLOS Y EN COMBINACIÓN SOBRE *Streptococcus*  
*mutans* ATCC 25175, TRUJILLO 2019.

## **2. Equipo de trabajo**

### **AUTOR**

Díaz Velásquez, Luis José Sebastian

ORCID: 0000-0002-8463-8583

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante Pregrado, Trujillo, Perú.

### **ASESOR**

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la Salud,  
Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú.

### **JURADO**

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

ORCID: 0000-0002-9237-918X

Loyola Echeverría, Marco Antonio

ORCID: 0000-0002-5873-132X

Angeles García, Karen Milena

ORCID: 0000-0002-2441-6882

### **3. Hoja de firma del jurado y asesor**

---

Mgr. DE LA CRUZ BRAVO, JUVER JESÚS

**PRESIDENTE**

---

Mgr. LOYOLA ECHEVERRÍA, MARCO ANTONIO

**MIEMBRO**

---

Mgr. ANGELES GARCÍA KAREN MILENA

**MIEMBRO**

---

Mgr. HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

**ASESOR**

#### **4. Hoja de agradecimiento y dedicatoria**

##### **Agradecimiento**

Empezar agradeciendo a Dios por la vida y las oportunidades que me da día a día, sin él no podría lograr nada de esto y más.

Agradezco a mi madre Leli Velásquez Viloche y a mi padre José Díaz Rodríguez, por el tiempo, esfuerzo y consejos que me brindaron.

Agradezco a mi mamita Rosa Rodríguez por su fuerza, valentía y preocupación en cada etapa de mi vida. A mis abuelos Leli Viloche y Wilberto Velásquez por motivarme a ser “más que vencedor”.

Agradecerme, por creer y confiar en mí, por trabajar duro, por no tener días libres, por las traspasadas, por nunca darme por vencido, y por siempre dar lo mejor a los demás.

## **Dedicatoria**

Este trabajo lo dedico primero a Dios por la fuerza, sabiduría y paciencia que me brindó.

A mi abuelo Víctor Díaz, hasta el cielo; aunque ya no te tenga a mi lado, sé que me observas y te sientes orgulloso que este logrando lo que un día te prometí; por ser quien eras y el respeto que te ganabas a donde ibas, por ser ese ejemplo de valores y virtudes, por enseñarme a no rendirme, por demostrar que se puede salir adelante siempre a pesar de todo, por tu esfuerzo y dedicación; este trabajo es el comienzo de nuevas metas y objetivos, seguiré fuerte como el roble, siempre te llevo en mi corazón. Te quiero papito...

## 5. Resumen y abstract

### Resumen

**Objetivo:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019. **Metodología:** La presente investigación es de tipo cuantitativa, experimental, prospectivo, transversal y analítico; de nivel explicativo y de diseño experimental, experimental puro de grupos paralelos. La muestra estuvo conformada por 10 repeticiones por grupo de estudio (25% *Stevia rebaudiana*, 25%, *Erythroxylum coca* y su combinación). Con un vernier certificado con la norma ISO 9001 se midieron los halos de inhibición, siendo un total de 30 sensidiscos bajo el tratamiento realizado en la placa Petri. Se utilizó una ficha de recolección de datos. La prueba paramétrica ANOVA ( $p=0.05$ ) se utilizó para comparar el efecto antibacteriano de los grupos de estudio y el test de Turkey HSD para la comparación múltiple. **Resultados:** El promedio de los halos de inhibición obtenidos para *Stevia rebaudiana* al 25% fue 10,16 mm, para *Erythroxylum coca* al 25% fue 7,12 mm y para la combinación de ambas concentraciones fue 12,07 mm. **Conclusión:** El extracto acuoso mixto de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*, presentó un mayor efecto antibacteriano que las otras dos concentraciones (*Stevia rebaudiana* 25% y *Erythroxylum coca* 25%) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras clave:** Antibacteriano, Clorhexidina, *Coca*, *Stevia rebaudiana*, *Streptococcus mutans*.

## Abstract

**Objective:** Compare the antibacterial effect of the aqueous extract of *Stevia rebaudiana* and *Erythroxylum coca* leaf alone and in combination on *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019. **Methodology:** This research is quantitative, experimental, prospective, cross-sectional and analytical; explanatory level and experimental design, pure experimental of parallel groups. The sample consisted of 10 repetitions per study group (25% *Stevia rebaudiana*, 25% *Erythroxylum coca* and its combination). With a vernier certified with the ISO 9001 standard, the inhibition halos were measured, with a total of 30 sensidiscs under the treatment carried out in the Petri dish. A data collection form was used. The parametric ANOVA test ( $p = 0.05$ ) was used to compare the antibacterial effect of the study groups, and the Turkey HSD test was used for multiple comparison. **Results:** The average of inhibition halos obtained for *Stevia rebaudiana* at 25% was 10.16 mm, for *Erythroxylum coca* at 25% it was 7.12 mm and for the combination of both concentrations it was 12.07 mm. **Conclusion:** The mixed aqueous extract of *Stevia rebaudiana* and *Erythroxylum coca* leaves presented a greater antibacterial effect than the other two concentrations (*Stevia rebaudiana* 25% and *Erythroxylum coca* 25%) against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Key words:** Antibacterial, Chlorhexidine, *Coca*, *Stevia rebaudiana*, *Streptococcus mutans*.



## 6. Contenido

1..Título de la tesis .....	ii
2. Equipo de trabajo .....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor .....	iv
4. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract .....	vii
6. Contenido .....	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros .....	x
<b>I. Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Revisión de literatura .....</b>	<b>5</b>
2.1. Antecedentes .....	5
2.1.1. Internacionales .....	5
2.1.2. Nacionales .....	8
2.1.3. Locales .....	11
2.2. Bases teóricas .....	14
2.2.1. Caries dental .....	14
2.2.1.1. Etiología.....	14
2.2.2. <i>Streptococcus mutans</i> .....	16
2.2.3. La Clorhexidina como agente para el control de placa bacteriana .....	18
2.2.4. <i>Stevia rebaudiana</i> .....	19
2.2.4.1. Composición química .....	20
2.2.4.2. Ventajas y Usos .....	21
2.2.4.3. Efectos .....	22
2.2.4.4. Análisis fitoquímico.....	22
2.2.5. <i>Erythroxylum coca</i> .....	23
2.2.5.1. Variedades .....	23
2.2.5.2. Composición química .....	25
2.2.5.3. Métodos extractivos y principios activos.....	27
<b>III. Hipótesis.....</b>	<b>29</b>
<b>IV. Metodología .....</b>	<b>30</b>
4.1. Diseño de la investigación.....	30
4.2. Población y muestra .....	32
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	34
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	35
4.5. Plan de análisis .....	40
4.6. Matriz de consistencia .....	41
4.7. Principios éticos .....	42
<b>V. Resultados .....</b>	<b>43</b>
5.1 Resultados.....	43
5.2. Análisis de Resultados.....	46
<b>VI. Conclusiones.....</b>	<b>49</b>
Aspectos Complementarios .....	50
Referencias Bibliográficas .....	51
Anexos .....	63

## 7. Índice tablas y gráficos

### Índice de tablas

<b>Tabla 1:</b> Comparación del efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> solos y en combinación sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.....	4
--	---

<b>Tabla 2:</b> Evaluación del efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> solos y en combinación sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.....	44
---	----

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1:</b> Evaluación del efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> solos y en combinación sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.....	45
---	----

## I. Introducción

Entre las enfermedades bucodentales más comunes que afectan al ser humano se identifica a la caries dental, la cual es un desorden de la función normal o una enfermedad infectocontagiosa, que se asocia a malos hábitos de higiene alimentaria, mal oclusiones y bacterias patógenas en la boca. Esta infección presenta diversos microorganismos, entre ellos, bacterias como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* y/o *Actinomyces*. Las bacterias primarias en el biofilm dental generan un aumento de la acidificación, lo que produce una destrucción gradual del diente que, si no se trata adecuadamente, puede conducir al total deterioro y pérdida de la corona dentaria.<sup>1</sup>

*Streptococcus mutans* es una de las primeras bacterias ubicadas en la cavidad inmediatamente después de la erupción de los dientes de leche, el cual se adhiere y multiplica en las superficies dentales.<sup>1</sup> Su propiedad de adhesión tiene dos etapas, la primera relacionada con el contacto inicial del organismo con las superficies dentales cubiertas con saliva, la cual lo hace reversible; la segunda etapa es irreversible puesto que ya se visibiliza el glucano insoluble, sintetizado a partir de la sacarosa producida por la actividad de la enzima glucosiltransferasa.<sup>2</sup>

Se registra a *Stevia rebaudiana* como planta de origen en América del Sur, cuyas hojas son fuente de edulcorante natural con glucósidos con 0% de calorías, siendo más edulcorado que la sacarosa, permitiendo la baja hasta 35% de glucosa en sangre y se ha popularizado la demanda en diversas presentaciones comerciales en países como, Corea, Taiwán, Japón, China, Israel, Brasil, Paraguay y Uruguay.<sup>3</sup>

El género *Erythroxylum* es conocido por su nombre vulgar como COCA, arbusto de origen andino, el mismo que cuenta con un aproximado de 90 especies, sobresale entre ellos la especie *Erythroxylum coca* var. por la presencia alta en alcaloides en su contenido. El aprovechamiento de este arbusto radica en el uso de sus hojas cuya cosecha se realiza de 3 a 4 veces al año.<sup>4</sup>

Dentro de los componentes identificados en las hojas de coca se evidencia lípidos (metabolitos primarios), carbohidratos y proteínas: también se encuentran alcaloides, taninos, flavonoides, glicósidos, y aceite esencial (metabolitos secundarios); de estos, la presencia de alcaloides y flavonoides en la planta demuestra una función antifúngica y antibacteriana.<sup>5</sup>

Por lo antes expuesto, se formuló como problema de investigación: ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto acuoso mixto de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019?

El estudio se propuso como objetivo general: Comparar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019. Los objetivos específicos: Evaluar el efecto antibacteriano al 25% de extracto acuoso de *Erythroxylum coca* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019. Evaluar el efecto antibacteriano al 25% de extracto acuoso de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019. Evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso mixto de hoja de *Stevia rebaudiana* al 25% y *Erythroxylum coca* al 25% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo

2019.

El valor de la investigación se basa en identificar las propiedades de los productos naturales y el correcto uso en enfermedades orales lo que permitiría la industrialización y diversificación en el uso de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxyllum coca* con fines odontológicos. Las propiedades antibacterianas de *Stevia rebaudiana* y de *Erythroxyllum coca* también se reflejan en el tratamiento de la caries dental, considerada como una de las enfermedades bucales más comunes, donde el principal factor de prevalencia se asocia a la presencia de microorganismos cariogénicos como *Streptococcus mutans* ATCC 25175 . Además, *Stevia rebaudiana* es un edulcorante y *Erythroxyllum coca* se utiliza como tratamiento digestivo y analgésico, con el siguiente estudio se llegó a comprobar las propiedades antimicrobianas lo cual le da un valor agregado a su uso.

El marco metodológico de la presente investigación está dado por el tipo de estudio el cual es cuantitativo, prospectivo, transversal y analítico; cuenta con un nivel de investigación explicativo y con un diseño experimental, experimental puro de grupos paralelos. La población estuvo determinada por las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a partir del cual se obtuvo como muestra 10 repeticiones por grupo de estudio (25% *Stevia rebaudiana*, 25% *Erythroxyllum coca* y su combinación). Para realizar la medida de los halos de inhibición se consideró 30 sensidiscos con el tratamiento aplicado en la placa Petri con un vernier certificado bajo la norma ISO 9001 y una ficha de recolección de datos. La prueba paramétrica utilizada para la comparación del efecto antibacteriano de los grupos de estudio fue ANOVA ( $p = 0.05$ ) , a su vez se utilizó el test de Turkey HSD para la comparación

múltiple. Los resultados promedio de los halos de inhibición obtenido para *Stevia rebaudiana* al 25% fue 10,16 mm, para *Erythroxyllum coca* al 25% fue 7,12 mm y para la combinación de ambas concentraciones fue 12,07 mm. Se concluyó que el extracto acuoso mixto presenta un mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación de los extractos acuosos al 25% de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxyllum coca*.

La presente investigación se rige según el esquema establecido en el Reglamento de Investigación de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, iniciando por la introducción que incluye el enunciado del problema, los objetivos, tanto general como específicos y la justificación de la investigación. También se presenta la revisión de la literatura (antecedentes y bases teóricas). La hipótesis de la investigación. Seguido por la metodología precisando el tipo, nivel y diseño de investigación; la población y muestra, la operacionalización de variables; la técnica e instrumento de recolección de datos, el plan de análisis, la matriz de consistencia y los principios éticos pertinentes. Luego se presentan los resultados guardando relación con los objetivos de la investigación; el análisis de resultados, que permitió realizar la discusión de los hallazgos con las teorías y antecedentes de las variables de estudio. Finalmente, se redactan las conclusiones y las recomendaciones.

## II. Revisión de la literatura

### 2.1 Antecedentes

#### 2.1.1 Internacionales

**Acosta A, Pérez M, Ramos N, Pérez L.<sup>6</sup> (Venezuela, 2017).** Efecto de glucosa y de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* en medio de cultivo axénico. **Objetivo:** Comparar los efectos de la glucosa y *Stevia rebaudiana* sobre el aumento del *Streptococcus mutans* y la concentración del pH extracelular en un medio axénico. **Metodología:** La muestra del estudio fue de 12 sensidiscos para cada grupo de estudio. Se conformó tres grupos de cultivos de *Streptococcus mutans* en caldo BHI donde al grupo 1 se añadió 8ml de edulcorante comercial de extracto de hoja de *Stevia rebaudiana*, al grupo 2 se añadió glucosa 8ml y el último grupo siendo el de control no se añadió suplemento. **Resultados:** Los resultados evidenciaron que al grupo que se añadió glucosa hubo un mayor crecimiento de *Streptococcus mutans*, a diferencia con el grupo 1 donde se añadió un edulcorante comercial a base de *Stevia* donde hubo menor crecimiento y que a su vez presentó menor pH. **Conclusión:** *Stevia rebaudiana* inhibe el crecimiento del *Streptococcus mutans*, pero reduce el nivel de pH y podría favorecer la desmineralización del esmalte in vivo.



**Guevara E.<sup>7</sup> (Ecuador, 2017).** Análisis Del Efecto Inhibitorio De *Stevia* En Diferentes Concentraciones Sobre *Streptococcus mutans*, Estudio In Vitro. **Objetivo:** Demostrar la proliferación del *Streptococcus mutans*, in vitro, mediante el extracto hidroalcohólico de *Stevia*, para lo cual utilizó la técnica microbiológica de difusión de discos. **Metodología:** El diseño de investigación utilizado fue el experimental, estableciendo controles: positivo Clorhexidina al 0.12% y control negativo suero fisiológico, realizando 15 repeticiones por extracto en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. **Resultados:** Los resultados obtenidos para el extracto de *Stevia* al 25% y 50% no produjeron halos de inhibición, mientras que al 75% produjo una media de 6,47 mm y al 100% produjo una media de 9,33 mm de halos de inhibición. **Conclusión:** El extracto de *Stevia* no tiene efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* en ninguna de las concentraciones por lo que sugiere no usar el extracto de *Stevia* como agente microbiano ante esta bacteria.

**Massón M, Armas A.<sup>8</sup> (Ecuador, 2016).** Comparación De La Efectividad Antibacteriana de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. **Objetivo:** Comparar la efectividad antibacteriana de la *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. **Metodología:** Trabajaron con 15 placas Petri con Agar Muller Hilton adicionado 5% de sangre de cordero, una vez activadas las cepas se dio paso al sembrado y cultivo por 48 horas. Para evaluar cada una de las concentraciones de *Stevia rebaudiana* se utilizaron discos de fieltro mojados correspondientemente y se colocaron

en cada placa Petri, tras los tiempos definidos para el crecimiento, la evaluación realizada por el autor se llevó a cabo con la medición de halos de inhibición. **Resultados:** La fórmula comercial de *Stevia* logró inhibir el crecimiento del *Streptococcus sanguis* en un promedio de 9,5 mm en sus halos de inhibición, y sobre *Streptococcus mutans* con halos en promedio de 11,3 mm. **Conclusión:** *Stevia rebaudiana* tiene un efecto inhibidor de crecimiento sobre las cepas de los microorganismos evaluados.

**Vitery G, Escribano S, Gamboa F, Chavarria N, Gómez R.<sup>9</sup>** (Colombia, 2010) Actividad Inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* sobre el *Lactobacillus acidophilus* y el *Streptococcus mutans*. **Objetivo:** Demostrar la actividad inhibitoria de *Stevia rebaudiana* sobre *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans*. **Metodología:** Se realizó una investigación de carácter experimental, en donde a través de un estudio in vitro se comparó el efecto, en diferentes concentraciones, de extractos de *Stevia rebaudiana*, obtenidos con solventes como agua, metanol, etanol, acetato de etilo y hexano, sobre el crecimiento de cepas de *S. mutans* y *L. acidophilus*, utilizando la técnica de difusión en Agar Mueller Hinton, como controles positivos Clorhexidina, Vancomicina y Penicilina, y como controles negativos cada uno de los solventes. Se utilizaron 7 sensidiscos para cada grupo de estudio. **Resultados:** El extracto acuoso, el etanólico y el extracto metanólico en concentración mínima de 400 mg/mL produjeron un efecto inhibitorio con halo de 9 mm, 12.17mm y 11,5 mm respectivamente. Con el extracto de acetato de

etilo, la concentración mínima que requirió fue de 200 mg/ml. y formó un halo de inhibición de 11,5 mm en promedio. El extracto hexanólico se obtuvo mejores resultados con una concentración de 50mg/mL, con un halo de inhibición de 14,5 mm de diámetro. Los controles positivos en los que se utilizó una dilución de 7 sensidiscos de Vancomicina de 30 ug en un mL, generó un halo de 16,5 mm de diámetro en promedio, la clorhexidina al 0,2% mostró un halo de 15 mm de diámetro, la penicilina (disco de 10 mg) no generó ninguna actividad. **Conclusión:** Existe un efecto antibacteriano de *Stevia rebaudiana* sobre *S. mutans* y *L. acidophilus* y el posible potencial anticariogénico de este endulzante natural.

### 2.1.2 Nacionales

**Loyola D.<sup>10</sup> (Lima, 2019).** Actividad Antibacteriana De Hojas De *Erythroxylum coca lam.* (Coca) Y *Schinus molle l.* (Molle) Frente A *Streptococcus mutans* Cepa ATCC 25175. **Objetivo:** Evaluar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de coca y molle al 50% y 75% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:** Estudio de tipo experimental, comparativo, prospectivo y longitudinal. A través de extracto etanólico obtenido por filtración al vacío en concentraciones de 50% y 75% comparándolo con clorhexidina al 0.12%(+). Luego se aislaron las cepas del microorganismo en Agar Mitis Salivarius. A través del método de difusión en disco (Kirby-Bauer) dentro de Agar Mueller Hinton con el objetivo de medir las pruebas de sensibilidad bacteriana. **Resultados:** De la muestra de 15 placas Petri por

grupo de estudio se obtuvo lo siguiente: a las 24 horas, la clorhexidina al 0,12% presentó la mayor media de halo inhibitorio (14,13 mm) y la coca al 50%, la menor (10,13 mm); a las 48 horas, la clorhexidina al 0,12% también obtuvo la mayor media (14,26 mm) y, asimismo, la coca al 50% obtuvo la menor (10,50 mm). Se observó que la clorhexidina al 0,12% presentó mayor diferencia de media del halo inhibitorio a las 24 y 48 horas al compararlo con el resto de grupos de estudio ( $p=0,000$ ). Existe correlación positiva, es decir, la media del halo inhibitorio es mayor a las 48 horas (0,977). **Conclusión:** El extracto etanólico de hojas de coca y molle al 50% y 75% presentan una acción antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Salcedo M.<sup>11</sup> (Lima, 2018).** Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Erythroxylum novogranatense var. truxillense* y *Erythroxylum coca var. Coca* frente al *Streptococcus mutans*. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano “in vitro” de los extractos etanólico de dos variedades de hoja de coca : *Erythroxylum coca var. coca* y *Erythroxylum novogranatense var. truxillense* sobre el *Streptococcus mutans* y ver si existe diferencia entre estas dos. **Metodología:** Se utilizaron 20 cultivos de *Streptococcus mutans* con el método de difusión por discos, el cual fue utilizado en esta investigación procediendo a la aplicación de los extractos etanólicos en concentraciones de 100%, 50, 25% , 12.5% y los controles tanto positivos como negativos en los cultivos de *Streptococcus mutans*, la cual fue sembrada en Agar Tripticasa soya. El tiempo de incubación se dio entre 24-48 horas a una

temperatura de 37°C en condiciones de anaerobiosis parcial. **Resultados:** Los promedios obtenidos de las medidas de los halos de inhibición para *E. coca var. coca* al 100% fue 18.65 mm, al 50% fue 17.10 mm, al 25% fue 15.45 mm y al 12.5% fue 13.05 mm; para *E. novogranatense var. Truxillense* al 100% fue 15.30 mm, al 50% fue 14,05 mm, al 25% fue 12,65 mm y al 12.5% fue 11.79 mm. **Conclusión:** La variedad *Erythroxyllum coca var. Coca* al 100% y 50% posee mayor efecto antibacteriano ante *Streptococcus mutans* que la variedad *Erythroxyllum novogranatense var. truxillense* al 100% frente *Streptococcus mutans*.

**Cáceres N.<sup>12</sup> (Puno, 2017).** Efecto Antimicrobiano In Vitro Del Extracto De *Stevia rebaudiana* Sobre *Streptococcus mutans*. **Objetivo:** Determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto acuoso de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans*; para ello utilizaron 36 placas Petri donde se aplicó muestras de *Streptococcus mutans* para luego colocar extracto de *Stevia rebaudiana* en concentraciones al 25%, 50% y 100%. **Metodología:** El método que usó el investigador fue el propuesto por INS de Kyrby – Bauer para determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana*. **Resultados:** El extracto de *Stevia rebaudiana* tiene efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* en la concentración al 25% con un promedio del halo de inhibición de 10.47 mm; al 50% de 12.46 mm y al 100% de 13.49 mm de lo que se constituye en mejor efecto antimicrobiano. **Conclusión:** Se concluye que el extracto de las hojas secas de *Stevia rebaudiana* obtenido

por el método de destilación agua-vapor tiene efecto antimicrobiano in vitro sobre los cultivos de la bacteria *Streptococcus mutans*.

### 2.1.2 Locales

**Castañeda L.<sup>13</sup> (Trujillo 2017).** Efecto Antibacteriano “In Vitro” Del Extracto Etanólico De La Hoja De *Erythroxylum novogranatense* (COCA) Y La Clorhexidina Frente A *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* y la clorhexidina al 2% frente a *Streptococcus mutans* ATCC25175. **Metodología:** El efecto antibacteriano se determinó mediante la prueba de susceptibilidad utilizando el método de Kirby-Bauer. Se realizó 23 repeticiones para cada tratamiento (extracto etanólico de la hoja de coca a diferentes concentraciones y para el grupo control clorhexidina al 2%). Las cepas de *Streptococcus mutans* fueron sembradas en placas que contenían medio de cultivo Mueller Hinton, se colocaron discos con las diferentes concentraciones de extracto etanólico de la hoja de coca, luego las placas se incubaron a 37°C en micro anaerobiosis, midiéndose los halos con una regla milimetrada después de 24 horas. **Resultados:** Los promedios de halo de inhibición fueron 8,70 mm; 9,96 mm; 10,96 mm; 13,04 mm y 24.70 mm correspondientes a las concentraciones 10%,25%,50% y 75% respectivamente. El análisis estadístico de los datos reveló diferencia estadística altamente significativa entre los diferentes grupos (ANOVA: P<0,01). El promedio de unidades formadoras de colonias para el grupo de la concentración del 10% fue 0.04x10<sup>1</sup> y para los grupos de las

concentraciones de 25%,50% y 75% fue 0 UFC. **Conclusión:** El extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense* y la clorhexidina al 2% tienen efecto antibacteriano in vitro sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC25175.

**Pérez S.<sup>14</sup> (Trujillo, 2013)** Efecto Antibacteriano In Vitro Del Extracto Etanólico De *Stevia rebaudiana* Sobre *Streptococcus mutans*. **Objetivo:**

Determinar la actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Metodología:** Los extractos se extrajeron de hojas frescas, seis concentraciones en etanol de 70° y seis concentraciones en etanol de 30°. Para obtener la concentración inhibidora mínima se usó el método de dilución en caldo y agar, y para el efecto bactericida se aplicó la técnica de difusión de discos de Kirby y Bauer. Se realizaron tres ensayos utilizando las 12 concentraciones del extracto con el objetivo de determinar la CMI y 12 concentraciones para determinar la CMB.

**Resultados:** Se permitió seleccionar a la CMI en 1,07 mg/ml en el extracto en etanol 70° y la concentración de 4,28 mg/ml, en el extracto en etanol de 30° y a la CMB en 10 mg/ml en el extracto en etanol de 70° y la concentración de 42,8 mg/ml en el extracto en etanol de 30°.

**Conclusión:** El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* posee efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Vergara B.<sup>15</sup> (Trujillo, 2011).** Efecto Inhibitorio "In Vitro" Del Extracto Acuoso Y El Extracto Etanólico De La Hoja De *Erythroxylum novogranatense* Var. *truxillense* (Coca) Sobre El Crecimiento De *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. **Metodología:** El estudio se realizó utilizando cuatro concentraciones de extracto acuoso (25%, 50%, 75% y 100%) y cuatro concentraciones de extracto etanólico (10%, 20%, 35% y 50%); con un mínimo de observaciones de 8 para cada concentración, las cuales fueron puestas en contacto con el microorganismo de estudio; para así poder determinar el efecto sobre el crecimiento de este. **Resultados:** Respecto al efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso, se halló que el promedio de diámetro de los halos para las concentraciones al 25% fue 6.75mm, al 50% fue 6.93 mm, al 75% fue 8mm y al 100% fue 12.12 mm; respecto al extracto etanólico se obtuvo el promedio de diámetro de los halos para las concentraciones al 10% fue 11.43mm, al 20% fue 12.12 mm, al 35% y 50% fue de 12.5mm y 12.31mm respectivamente. **Conclusión:** Al determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), realizando el conteo se llegó a la conclusión que ambos extractos en sus diferentes concentraciones poseen efecto antibacteriano frente *Streptococcus mutans*, además la CMI para el extracto acuoso es del 75%, mientras que para el extracto etanólico es la concentración al 50%.



## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Caries Dental**

Enfermedad asociada a diversos factores en los que interactúan las superficies dentales, los azúcares de la dieta y la placa dental; esta reacción da como resultados ácidos que con el tiempo en los dientes conducen a la desmineralización del esmalte.<sup>16</sup>

Claro, la caries comienza en los tejidos duros del diente, pero si no se trata, puede penetrar en el tejido blando a través del canal, causando reacciones inflamatorias y destructivas que pueden dañar los componentes del aparato bucal.<sup>17</sup>

La Organización Mundial de la Salud, en 1987, conceptualiza a la caries dental como el proceso localizado que comienza después de la fase de dentición, empieza con la destrucción del esmalte y la dentina y, si no se trata a tiempo, puede afectar la salud dental, la salud general y por lo tanto la calidad de vida del ser humano indistintamente de su edad.<sup>18</sup>

#### **2.2.1.1 Etiología**

El proceso de la formación de caries se ve influenciado por factores etiológicos básicos, así lo sugiere Wewbrun; el huésped, la dieta, y el microbioma, siendo el tiempo el cuarto factor. La interacción con el tiempo puede generar que la enfermedad se manifieste en una lesión grave como síntoma y signo clínico. Otros factores son moduladores, que inciden de manera directa en la aparición y progresión de graves lesiones, estas están dadas

por: estado general de salud, fluoruro, edad, educación, nivel socioeconómico, índice de caries pasado, variables conductuales y grupo epidemiológico.<sup>19</sup> La presencia de caries en la cavidad se da por la interacción de dos grupos de los factores antes descritos.<sup>19</sup>

Se encuentran factores del huésped en dientes, siendo este el lugar donde aparece la enfermedad, existen factores patógenos provocados por los ácidos, la facilidad de destrucción del esmalte o estructura anatómica.<sup>20</sup> En saliva; tratarla como medio estable y exponerla a la presencia de microorganismos en la boca y carbohidratos secuestrados.<sup>20</sup>

El factor microbiano en la cavidad bucal consiste en la biopelícula, factores de virulencia y microorganismos.<sup>20</sup> Una biopelícula o placa bacteriana es una masa que consiste en un grupo de bacterias que se adhieren a una superficie orgánica húmeda normal, también conocida como biofilm,<sup>21</sup> que dado el caso de la cavidad bucal, se aloja en la estructura del diente, específicamente en la superficie de ella, cuya composición y tamaño depende de los microorganismos alojados; dando inicio a la colonización bacteriana.<sup>20</sup> Se visualiza como un bulto blando esparcido sobre las encías, los dientes y otras superficies.<sup>22</sup> Una de las bacterias colonizadoras que podemos encontrar en la biopelícula es *Streptococcus mutans*, bacteria Gram positiva a la que se le atribuye el principal promotor de la caries dental ya que

posee capacidad de producción de glucano que se adhiere a la superficie dental.<sup>23</sup>

El agente viral, se expresa como una medida cuantificable de patogenicidad, que sirve como indicador del número de microorganismos necesarios para causar la enfermedad, o, también expresado como el grado de patogenicidad.<sup>21</sup>

Sustrato o factor nutricional, se refiere a la proporción y tipo de todos los alimentos que se consumen en la dieta diaria. Estos componentes al entrar en contacto con los tejidos y dientes se convierten también en alimento a los microorganismos preexistentes en la cavidad bucal. Las grasas y carbohidratos son las principales causas de la caries dental.<sup>23</sup>

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

Los microorganismos frecuentemente presentes en la cavidad bucal, además de ser la causa principal de la caries dental, son del género *Streptococcus* y de la especie *Streptococcus mutans*. Es necesario precisar que durante los últimos 20 años se viene utilizando como marcadores de caries dental a los agentes biológicos: *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*.<sup>24</sup>

*Streptococcus mutans* es una bacteria Gram positivo, perteneciente a la especie de bacterias cocáceas, aerobio facultativo, agrupadas en cadena. El desarrollo “in vitro” de esta bacteria necesita de ambientes con baja

tensión de oxígeno y medios enriquecidos.<sup>25</sup> De igual manera esta bacteria por acción de las enzimas fructosiltransferasa (FTF) y la glucosiltransferasa (GTF), es capaz de producir sacarosa; para ello la GTF es capaz de la sintetización de glucano a partir de la glucosa; por su parte la enzima FTF, sintetiza fructano a partir de la fructosa.<sup>26</sup> Asimismo, el *Streptococcus mutans* integra la microbiota oral, por lo que es posible evidenciar su presencia en personas con y sin caries.<sup>26</sup>

*Streptococcus mutans* forma parte de microorganismos que suelen encontrarse en la cavidad bucal inmediatamente después de la erupción dentaria, volviéndose patógeno al aumentar sus proporciones relativas,<sup>27</sup> diseminándose en cantidades moderadas sobre las superficies dentales teniendo como medio la saliva, rompiendo cualquier resistencia de la microbiota bucal normal ante la colonización.<sup>28</sup> Asimismo, este microorganismo puede considerarse como factor de riesgo en la presencia de nuevas lesiones cariosas ya que el índice de caries está estrechamente relacionado con este microorganismo.<sup>29</sup>

Este microorganismo presenta factores de virulencia relacionados con:

- Acidogénesis, mecanismo enzimático por el cual *Streptococcus mutans* usa para el transporte de azúcar a la célula, produciendo ácidos.<sup>30</sup>
- Acidofilia: el cual permite el crecimiento del *Streptococcus mutans* provocando la inhibición de los microorganismos comensales.<sup>30</sup>
- Aciduricidad: capacidad de producir ácido en un ecosistema con pH bajo.<sup>31</sup>

### **2.2.3 La clorhexidina como agente para el control de la placa bacteriana**

La Clorhexidina es una molécula bicatónica simétrica, que debido a sus propiedades químicas recibe la denominación de paraclorofenilbiguanida.<sup>32</sup>

El agente más efectivo y bastante común, en la actualidad, para el tratamiento periodontal es la Clorhexidina, ya que reduce la formación de biopelículas, lo que altera el crecimiento de bacterias. La clorhexidina se puede ofrecer como digluconato, acetato y clorhidrato, y se usa más comúnmente como digluconato en concentrados al 12 o 20%.<sup>32</sup>

Su mecanismo de acción se da a la fuerte adhesión a la membrana celular bacteriana, los resultados varían de acuerdo a las concentraciones en el uso, así pues, las bajas concentraciones permiten filtrar los componentes intracelulares, incluido el potasio, produciéndose de ese modo el efecto bacteriostático; a diferencia de altas concentraciones que permiten la muerte celular posterior al desprendimiento del citoplasma bacteriano, produciendo el efecto bactericida.<sup>33</sup>

La actividad antibacteriana de la clorhexidina es de amplio espectro e incluye una amplia gama de microorganismos Gram+ y Gram-, así como hongos; siendo el de mayor sensibilidad los Gram+.<sup>34</sup>

El ingrediente activo de la clorhexidina permanece en la cavidad oral después del enjuague al menos en un treinta por ciento y se libera de manera gradual en el fluido oral.<sup>35</sup>

#### 2.2.4 *Stevia rebaudiana*

*Stevia* descrita como una planta tropical de la familia de las asteráceas,<sup>36</sup> arbusto leñoso que puede alcanzar los 80 cm al máximo desarrollo. En todo el mundo el género *Stevia* tiene cerca de 200 especies.<sup>37</sup> Originaria de Paraguay en Sur América.

Tiene el nombre científico de *Stevia rebaudiana Bertoni*, nombre vinculado al botánico suizo Moisés Santiago Bertoni (1857-1929) quien la descubrió, describió y clasificó entre los años 1887 y 1889.

Se pueden identificar más de 200 especies, a diferencia de otras plantas los sabores de sus hojas presentan un sabor dulce, lo cual se atribuyó a su compuesto glicósido; siendo la especie *Stevia rebaudiana Bertoni* la que contiene compuestos más dulces por la presencia de glicósidos de esteviol.<sup>39</sup>

A la especie *rebaudiana bertoni* se le conoce como ‘hierba dulce’, siendo el principal ingrediente en la preparación de edulcorante natural no calórico que lleva por nombre esteviósido, ya que, tiene la característica de endulzar 300 veces más que la sacarosa consumida comúnmente de la caña de azúcar; a diferencia de otros edulcorantes naturales, el sabor de la stevia es similar al azúcar, diferenciándose por no tener un sabor metálico y no ser cariogénico.<sup>39</sup>

Las características identificadas en el esteviósido, permite ser recomendado en personas con padecimientos de diabetes, toda vez que al no alterar los niveles de glucosa en la sangre, no aporta calorías en la metabolización, es antiácido, cardiotónico y no es fermentado por las bacterias orales; estas características permiten que no haya producción de caries.<sup>40</sup>

El grado de toxicidad de la Stevia para el ser humano adulto es de novecientos gramos de esteviósidos, lo que equivale a la ingesta cercana a 225 kilogramos de azúcar de caña<sup>41</sup>.

#### **2.2.4.1 Composición química**

Los componentes responsables de hacer dulce a las hojas de Stevia están dados por esteviósido, esteviolbiósido, rebaudiósido A,B,C,D,E,F y dulcósido, los cuales son glucósidos de esteviol aislados; la prevalencia de estos componentes se debe también a la especie, condiciones de cultivo y tamaño de la hoja, se encuentran en mayor o menor porcentaje alcanzando hasta el 15% de su composición.<sup>42</sup>

El esteviósido, siendo un componente principal de la planta, tiene efecto sobre las enzimas que son responsables de la descomposición de azúcares e inhibe al glucano. A pesar de ser un edulcorante *Stevia* no se fermenta en ácidos por las bacterias.<sup>42</sup>

#### 2.2.4.2 Ventajas y Usos

Investigaciones anteriores concluyen y recomiendan el uso de *Stevia rebaudiana* en la dieta alimenticia para diabéticos, considerada como hipotensora, usos en el cuidado del rostro, para problemas de acidez estomacal, sirve también disminuyendo el nivel de pH ácido de la sangre y orina, ayuda en el control de la masa corporal ya que su porcentaje en calorías es de 0%, a diferencia de los daños ocasionados por el azúcar y los demás edulcorantes artificiales.<sup>37</sup> Además, su capacidad de solubilidad en agua, sin nutrientes, sin calorías, es estable a los 200°C, no se fermenta, no crea biofilm y es anticariogénico.<sup>41</sup>

El uso de la *Stevia* en Paraguay es de manera natural como antibacteriano, inhibiendo el crecimiento de bacterias, principalmente las bacterias o microorganismos que producen las caries y los problemas en las encías; entre sus otros usos es para aliviar la garganta irritada, gingivitis o encías sangrantes, uno de los signos más comunes de la diabetes.<sup>43</sup>

Existen evidencias del uso de la *Stevia* para reemplazar edulcorantes en comidas y bebidas en general. Últimamente viene siendo agregado a bebidas de bajo contenido calórico, productos medicinales y de higiene bucal, teniendo como ejemplo a China que la utiliza en la formulación de pastas dentales.<sup>44</sup>



#### 2.2.4.3 Efectos

La tendencia global en la conservación de la salud incluye también la promoción de la salud oral, es por ello el uso de edulcorantes con bajo efecto cariogénico.<sup>44</sup> Es por ello la importancia del efecto cariogénico de la *Stevia* el cual radica en que no produce aumento en la acidez superficial del diente.<sup>45</sup>

Su principal efecto del esteviósido trae como beneficio la sustitución de la sacarosa en el alimento por una sustancia no cariogénica,<sup>46</sup> así como, el efecto sobre las enzimas responsables de la descomposición de azúcares.<sup>47</sup>

#### 2.2.4.4 Análisis fitoquímico

Las hojas de *Stevia rebaudiana* contienen glucósidos cardíacos, saponinas, taninos, esteroides o triterpenoides y compuestos reductores.<sup>48</sup>

En la India, los cultivos de hojas de *Stevia rebaudiana*, contienen compuestos reductores, esteroides y triterpenos, glucósidos cardíacos, saponinas y taninos.<sup>48</sup> Una posible interferencia en la prueba de taninos es la reducción del hierro (III) del FeCl<sub>3</sub>, sin embargo, se ha reportado presencia de compuestos fenólicos.<sup>48</sup>

### 2.2.5 *Erythroxylum coca*

Palabra derivada del quechua “Koka” cuyo significado está relacionado con “la parte más destacada o principal de algo” (KU O KO) o “vivificante, vigorosa, fuerte y que da vida” (KA o KAU).<sup>49</sup> Planta originaria de América, domesticada aproximadamente hace 4 000 años.

Las formas de uso contemporáneo de la coca se definen por: el aculli, verbo aymara que significa “mascar” y que hace referencia a la acción de masticación; el mate como forma occidentalizada de infusión; los remedios caseros como las cataplasmas, emplastos y mezclas con hierbas medicinales para aplicación o ingestión; productos semi industriales como pomadas, gomas de mascar, jarabes, dulces, etc.<sup>50</sup>

El valor místico y cultural del uso de las hojas de coca en las antiguas sociedades andina tuvo gran importancia.<sup>51</sup>

#### 2.2.5.1 Variedades

Este género posee 200 especies, siendo dos de ellas las más cultivadas y con importancia económica; cuatro de estas variedades han sido domesticados y cultivados desde la época precolombina:<sup>52</sup>

- *Erythroxylum coca* var. Coca, identificada como coca Huánuco o coca de Bolivia encontrándose en Bolivia y Perú principalmente en valles de media altura (500 m a 1500 m) al Oriente de los Andes. Las características botánicas de esta variedad la constituyen hojas anchas y

gruesas, color verde oscuro, sabor amargo, con alto porcentaje de cocaína.<sup>53</sup>

- E. coca var. Ipadu, llamada coca amazónica cultivada a pequeña escala en la parte superior de la Amazonía colombiana, peruana y brasileña.<sup>53</sup>
- E. novogratense var. Novogratense, o coca colombiana cultivada principalmente en los valles interandinos de Colombia; esta especie es tolerante a pisos ecológicos muy distintos, desde medios semiáridos hasta valles tropicales.<sup>53</sup>
- E. novogratense var. Tuxillense, conocida como “coca de Trujillo” con presencia en los valles de la costa norte del Perú entre 200 y 1800 msnm. Así mismo crece en climas de tipo desértico. Según Plowman esta variedad es usada por la empresa Coca Cola. Esta variedad es geográfica y genéticamente distinta a las otras variedades. Sus hojas membranosas con coloración verde claro, con medias de 1.8 a 4.8 cm de largo y 0.5 a 2.5 cm de ancho; sus flores pequeñas con pétalos de color blanco o crema cuyo fruto son drupas de color naranja.<sup>54</sup>

Este arbusto que alcanza aproximadamente los dos metros de altura, siendo las principales zonas cocaleras en el Perú el departamento de San Martín, cultivándose más del 40% del total de hectáreas cocaleras.<sup>55</sup>

### 2.2.5.2 Composición Química

Los componentes químicos de la hoja de coca se ven condicionados por factores internos como, la edad de la planta, la variedad y estado de las hojas; factores externos como la ubicación geográfica, la forma de cultivo y la influencia del medio ambiente.<sup>55</sup> El principal componente de la coca radica en alcaloides (polifenoles), además de diterpenos, taninos, flavonoides, triterpenos, proteínas y minerales; la presencia de estos componentes varía según la especie.<sup>56</sup> Se ha determinado que los polifenoles tienen mecanismos de acción contra microorganismos, como la inhibición de la producción de ácidos y de la enzima glucosiltransferasa.<sup>57</sup>

- Alcaloides: Estos compuestos son considerados heterocíclicos básicos naturales con presencia de nitrógeno en su estructura, lo que le permite, en su estado de oxidación negativo, formar sales al ser combinado con ácidos convirtiéndolo en solubles al agua. En el caso de los alcaloides presentes en la *Erythroxylum coca*, pertenece a los alcaloides heterocíclicos derivados del tropano.<sup>58</sup>

Los alcaloides identificados en el género *Erythroxylum* son:<sup>58</sup>

- Benxometileconina (cocaína)
  - Cis y trans- cinamilcocaína
  - B- truxilina
  - Tropacocaína
  - Benzoilecgonina
  - B- higrina
  - Dihidrocuscohigrina
- 
- Flavonoides: Para la especie *E. coca* var. *Ipadu* se encontraron cinco conjugados de taxifolina y un O-conjugado de quercetina; para la especie *E. novogranatense* var. *Truxillense* se identificó un O-conjugado de quercetina, O- conjugado de fisetina y 2 O-conjugados de kaempferol,<sup>59</sup> para el caso de la *E. coca* var. *coca* la presencia de O- conjugados del Eriodictiol.<sup>60</sup>
  
  - Terpenos: Sustancias biosintetizables teniendo como punto de partida la regla isopreno (2-metil butadieno),<sup>61</sup> como  $\beta$ -pineno,  $\beta$ - mirceno, nerolidol; principales componentes del aceite esencial de hojas de *E. coca*.<sup>59</sup>

### 2.2.5.3 Métodos Extractivos Y Principios Activos

Los métodos extractivos de la hoja de coca se remontan a prácticas ancestrales con fines medicinales, pudiendo describirse: Infusiones, maceración en aceite, cataplasmas, masticación, ungüentos, maceración y extracción tipo Soxhlet, extracción en caliente, destilación por arrastre con vapor de agua.<sup>61</sup>

Las características químicas de las plantas son diversas y por lo general los principios activos se diferencian en su polaridad, motivo por el cual se requiere hacer uso de diferentes métodos extractivos y de purificación de acuerdo con la solubilidad para luego separarlos e individualizarlos.<sup>62</sup>

Entendiendo que los solventes penetran en la célula y llegan hasta el citoplasma extrayendo los metabolitos, los cuales se asocian a las moléculas del solvente, en proporcionalidad a su polaridad y la constante dieléctrica.<sup>62</sup>

Respecto a la maceración de las hojas de E. coca, principalmente se usa alcoholes (etanol o metanol) teniendo la capacidad de extraer los compuestos con polaridad semejante (flavonoides, taninos, alcaloides, entre otros). Para mejor efectividad la extracción se podría aplicar calor y hacer recircular el solvente en la muestra de hojas, para el caso, sería a través de la extracción Soxhlet.<sup>63</sup>

Para realizar la extracción de aceite esencial de las hojas de la E. coca se utiliza la técnica de arrastre por vapor, a través del cual se alcanza temperaturas sobre los 100°C, los componentes de las hojas de la E. coca se volatilizan a una temperatura menor al ser arrastrados con el vapor de agua se forma una mezcla que luego se separa por decantación.<sup>63</sup>

En el caso de los alcaloides se solubilizan de acuerdo al pH, siendo hidrosolubles a Ph ácidos y solubles en compuestos orgánicos a pH alcalinos; en el caso de las plantas por lo general se encuentra en forma de sales siendo solubles en agua, mientras que, son solubles en solventes orgánicos no polares e insolubles en agua, cuando están en forma de bases libres.<sup>59</sup>

### III. Hipótesis

#### Hipótesis de investigación:

- **H<sub>i</sub>:** Existe efecto antibacteriano de las concentraciones al 25% de extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.

#### Hipótesis Estadística

#### Hipótesis nula:

- **H<sub>0</sub>:** No existe efecto antibacteriano de las concentraciones al 25% de extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.

#### Hipótesis alterna

- **H<sub>1</sub>:** Si existe efecto antibacteriano de las concentraciones al 25% de extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.



## IV. Metodología

### 4.1. Diseño de la investigación

#### Tipo de investigación

- Según el enfoque es: cuantitativo.
  - Hernández R. Fernández C. Baptista M. <sup>64</sup> “Usa la recolección de datos, con base en la medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías.
- Según la intervención del investigador es: experimental.
  - Supo J. <sup>65</sup> “Analiza el efecto producido por una o más variables independientes sobre una o varias dependientes.
- Según la planificación de la toma de datos es: prospectivo.
  - Supo J. <sup>65</sup> Los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición.
- Según el número de ocasiones en que mide la variable de estudio es: transversal.
  - Supo J. <sup>65</sup> “Todas las variables son medidas en una sola ocasión; por ello de realizar comparaciones, se trata de muestras independientes.

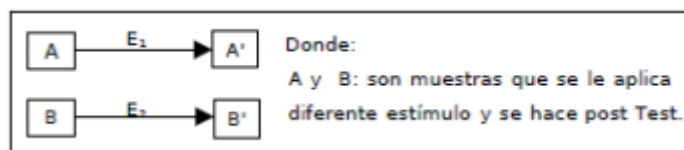
- Según el número de variables de interés es: analítico.
  - Supo J. <sup>65</sup> “El análisis estadístico por lo menos es bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores.

### Nivel de investigación

- La presente investigación es de nivel: explicativo.
  - Supo J. <sup>65</sup> “Explica el comportamiento de una variable en función de otra(s); por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de causalidad. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente.

### Diseño de investigación

- La investigación es de diseño: experimental, experimental puro, de grupos en paralelo.
  - Hernández R. Fernández C. Baptista M. <sup>64</sup> “Se toman grupos, luego a cada grupo se le dan un estímulo diferente y se hace un post test.
  - Esquema de investigación:



## 4.2. Población y muestra

### **Población:**

Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

### **Criterios de selección**

a) Criterios de inclusión:

Placas Petri con siembra adecuada de Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 27175. (código de identificación según American Type Culture Collection)

b) Criterios de exclusión:

Placas Petri que después del proceso de incubación, presentaron signos de contaminación.

## Muestra:

Para determinar el tamaño de la muestra, se empleó la siguiente formula:

$$n = 2 \left( Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta} \right)^2 (DE)^2 / d^2$$

Dónde:

n: tamaño de muestra para el grupo de estudio.

$\alpha$ : probabilidad de cometer error tipo I.

$\beta$ : probabilidad de cometer error tipo II.

Z: valor estándar de la distribución normal asociada a un tipo de error.

DE: desviación estándar.

d: diferencia entre promedios para rechazar igualdad de medias.

Requerimientos:

De una confianza al 95% ( $\alpha=0.05$ ,  $Z=1.96$ ), y una potencia en la prueba del 80% ( $\beta=0.20$ ,  $Z=0.84$ ), para ( $DE/d=0.80$ ).

$$n = 2(1.96 + 0.84)^2(0.8)^2$$

$$n = 10$$

Se realizó 10 repeticiones por cada grupo experimental, utilizando dos placas Petri para cada grupo de estudio con cinco repeticiones.

## Muestreo

No Probabilístico por conveniencia: las unidades de estudio son seleccionados dada la conveniencia, accesibilidad y proximidad con el investigador.<sup>64</sup>

### 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicador	Tipo De Variable	Escala De Medición	Valor final
DEPENDIENTE Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Antibacteriano es que sirve para combatir las infecciones causadas por bacterias. <i>Streptococcus mutans</i> bacteria que pertenece a la especie de bacterias cocáceas, Gram positivo, aerobio facultativo, agrupadas en cadena. Para su desarrollo “in vitro” necesita de medios enriquecidos y un ambiente con baja tensión de oxígeno. <sup>25</sup>	Escala de Duraffourd C. <sup>66</sup> : utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición.	Diámetro de halos de inhibición de <i>Streptococcus mutans</i> .	Cualitativa	Ordinal	*Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm. *Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm. *Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm *Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm
INDEPENDIENTE Extracto acuoso	Los Extractos Acuoso son extractos líquidos cuyo solvente es el agua, son menos concentrados que los extractos hidroalcohólicos, con la ventaja de no presentar sedimento y su color y aroma son más suaves. <sup>5</sup>	Extracto acuoso de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> .	Rótulo	Cualitativo	Nominal	*25% de concentración de <i>Stevia rebaudiana</i> *25% de concentración de <i>Erythroxylum coca</i> *Extracto mixto de <i>Stevia rebaudiana</i> Y <i>Erythroxylum coca</i>

#### **4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:**

**Técnica:** La presente investigación utilizó la técnica observacional.

**Instrumento:** Para medir el efecto antibacteriano se utilizó un vernier digital calibrado con ISO 9001. (Anexo 5) Además, se utilizó una ficha de recolección de datos para el registro de la información necesaria para la investigación; su aplicación es de fácil uso. Fue elaborado por el investigador. (Anexo 3)

**Procedimiento:**

##### **Procedimiento para el ambiente de trabajo**

Se realizó la solicitud para obtener la carta de presentación en la Dirección de la Escuela Académica Profesional de Odontología; posteriormente se presentaron a la Dra. En farmacia y bioquímica (Anexo 1) y al Biólogo – Microbiólogo, (Anexo 2) quienes asesoraron al investigador, para poder desarrollar la siguiente investigación. (Anexo 10 y 11)

##### **Obtención del extracto acuoso de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*.**

###### **a. Recolección e identificación taxonómica**

Se trabajó con un total de 4 kg de hojas; para *Stevia*, se obtuvo 2 kg provenientes del distrito y provincia de Rioja, departamento de San Martín y 2 kg de *Erythroxylum coca*, se obtuvieron, del distrito de Otuzco, provincia Otuzco, región La Libertad, durante el mes de abril.

Para verificar sus taxonomías e identificarlas se llevó un ejemplar completo de las plantas a una de las sedes de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT) bajo el nombre Herbarium Truxillense. (Anexo 8)

**b. Selección de la muestra vegetal**

Luego de obtener las hojas, pasan por un riguroso proceso de selección donde las que están en buenas condiciones, libres de hongos, no decoloradas y marchitadas, continúan a la siguiente etapa.

**c. Preparación de la muestra vegetal:**<sup>67</sup>

**Lavado y desinfección:** Con agua destilada se lava cada hoja separada cuidadosamente y posteriormente son desinfectadas con hipoclorito sódico en una concentración al 0.5%.

**Secado:** Utilizando un horno eléctrico de laboratorio, se procedió con el método de circulación de aire por convección forzada (40 °C) en una estufa por 48 horas.

**Pulverización:** Con un mortero y pilón las hojas secas fueron pulverizadas.

**Tamizaje:** Luego con un tamiz de malla N° 20 se pasó el polvillo obtenido en el mortero con la finalidad de conseguir partículas del mismo tamaño de manera homogénea.

**Almacenamiento:** Las partículas homogéneas son guardadas en frascos de vidrio de boca ancha rotulados por cada planta, hasta su posterior utilización.

**Preparación del extracto acuoso de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*.<sup>67</sup>**

Del polvo almacenado de cada planta se pesaron en una balanza analítica marca “Radwag”, un total de 50 g para cada una, con el cual se procede a trabajar. A continuación, se utilizaron balones de vidrio de 2000 ml de capacidad, donde se añadieron 500 ml de agua destilada y el polvo de cada hoja por separado. Con la mezcla homogénea se llevó a reflujo por dos horas. Pasado el tiempo, se enfrió y se filtró el extracto acuoso al vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Posteriormente, el extracto acuoso se concentró en un rotavapor hasta obtener extracto blando. Luego se llevó a secar a la estufa de circulación de aire a 40 °C hasta obtener el extracto seco. A partir del extracto seco se preparará las concentraciones de 25% (250mg/mL) de *Stevia*, 25% (250 mg/mL) de *Coca* y el extracto mixto de ambas plantas disueltos en agua. Finalmente, cada extracto con solución acuosa se reservó en frascos de vidrio color ámbar bajo refrigeración 8 °C hasta su respectiva utilización.



## Método microbiológico

### a. Obtención de la bacteria

De la mano de GenLab del Perú S.A.C. laboratorio microbiológico, se hizo la compra de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el cual fue enviado desde Lima en un cultivo liofilizado con todas las medidas de seguridad. (Anexo 9)

### b. Preparación del inóculo

Una vez obtenidas las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, pasan a cultivarse en el medio agar Soya tripticasa que se encuentran en tubos de ensayos cerrados herméticamente. Para obtener colonias jóvenes se utilizó la incubación bajo condiciones de microanaerobiosis a 37 °C, pasado un día exactamente, unitariamente las cepas se diluyen en tubos de ensayo de 12 cm con 10 ml de suero fisiológico, en el primer tubo se coloca 1 ml de muestra diluidos en 9 ml de suero fisiológico para obtener la escala  $10^1$ . El segundo tubo se agrega 1ml de la solución del primer tubo de ensayo con 9 ml de suero fisiológico para así obtener una escala de  $10^2$ , con la cual se trabajó. Las colonias puras aisladas del inóculo de *Streptococcus mutans*, fueron suspendidas en 0,5 ml de suero fisiológico hasta obtener una turbidez de 0,5 de Mac Farland, que corresponde a una concentración de  $1,5 \times 10^8$  alfa unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* por 1ml (UFC/ml).<sup>23</sup>

## **Fase Experimental**

### **a. Inoculación de la suspensión bacteriana**

En las placas Petri totalmente esterilizadas se colocó agar Soya tripticasa y con la ayuda de la herramienta de laboratorio llamada asa de Kolle se procedió a colocar la siembra de la bacteria. Pasado 10 minutos de inocular la bacteria, en cada placa Petri se conformaron los pocillos, para hacer uso e introducir los discos de antibiograma (técnica Kirby – Bauer) totalmente estériles y sin ningún contenido, posteriormente con la ayuda de una pipeta se colocó el tratamiento con *Stevia rebaudiana* a 25%, con *Erythroxylum coca* 25% y el extracto acuoso mixto, en un volumen de 10 ul, para cada uno de los 5 sensidiscos por cada dos placas (100mm), de igual forma se agregara la Clorhexidina al 0,12% y teniendo como control negativo agua destilada, el siguiente paso es bajo un medio anaerobio a temperatura de 36 °C por 24 horas la incubación total de las muestras.

### **Métodos para la medición de los halos de inhibición.**

La norma ISO 9001, quien certifica la calibración del vernier digital utilizado para la medida de los halos de inhibición, siendo un total de 30 sensidiscos bajo el tratamiento realizado en la placa Petri. En cada placa Petri solo se pueden colocar 5 sensidiscos por ende corresponden 2 placas por cada grupo de estudio siendo un total de 10 sensidiscos por extracto acuoso estudiado, para sacar su promedio se procedió a sumar los diez sensidiscos de cada uno.

#### **4.5 Plan de análisis**

La información registrada en la ficha de recolección de datos fue digitada e ingresada en una base de datos en el programa ofimático Excel 2013; donde se organizó, codificó y tabuló; para luego ser exportados al software estadístico SPSS v23 donde utilizando la estadística descriptiva e inferencial.

Se realizó la prueba de normalidad que verificó que muestras provienen de una población con distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk; en base a ello se utilizó pruebas estadísticas paramétricas.

Análisis bivariado: se realizó el análisis entre las variables, que presentaron distribución normal, se utilizó la prueba estadística ANOVA. Para la comparación múltiple se utilizó el test Turkey HSD para dar respuestas según cada objetivo.

Para determinar la efectividad de los extractos acuosos, la decisión se tomó en base a la significancia mostrada por la prueba estadística paramétrica ANOVA con un nivel de confianza del 95% y una significancia del 5% ( $p < 0,05$ ).

El análisis o discusión de resultados se realizó según los objetivos formulados; se realizó la discusión con los antecedentes; para finalmente formular las conclusiones y recomendaciones pertinentes.

#### 4.6 Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivo	Hipótesis	Metodología	Población/Muestra
<p>Efecto Antibacteriano Del Extracto Acuoso De Hoja De <i>Stevia Rebaudiana</i> Y <i>Erythroxylum Coca</i> Solos Y En Combinación Sobre <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019</p>	<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto acuoso mixto de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019?</p>	<p><b>Objetivo general:</b> Comparar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> solos y en combinación sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Evaluar el efecto antibacteriano al 25% de extracto acuoso de <i>Erythroxylum coca</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.</li> <li>2. Evaluar el efecto antibacteriano al 25% de extracto acuoso de <i>Stevia rebaudiana</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.</li> <li>3. Evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso mixto de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> al 25% y <i>Erythroxylum coca</i> al 25% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.</li> </ol>	<p><b>H<sub>i</sub>:</b> Existe efecto antibacteriano de las concentraciones al 25% de extracto acuoso de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> solos y en combinación sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.</p> <p><b>H<sub>0</sub>:</b> No existe efecto antibacteriano de las concentraciones al 25% de extracto acuoso de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> solos y en combinación sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.</p> <p><b>H<sub>1</sub>:</b> Si existe efecto antibacteriano de las concentraciones al 25% de extracto acuoso de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> y <i>Erythroxylum coca</i> solos y en combinación sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.</p>	<p><b>Tipo:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>*Cuantitativo</li> <li>*Experimental</li> <li>*Prospectivo</li> <li>*Transversal</li> <li>*Analítico</li> </ul> <p><b>Nivel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>*Explicativo</li> </ul> <p><b>Diseño:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>*Experimental, experimental puro de grupos paralelos.</li> </ul>	<p>Cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p>Muestra: 10 repeticiones para cada grupo de estudio, utilizando dos placas Petri para cada extracto con cinco repeticiones.</p>

#### 4.7 Principios éticos

La investigación presenta datos reales, investigados y elaborados auténticamente, sin cometer copia de algún otro estudio. La información recabada mediante la aplicación del instrumento es confidencial y estrictamente solo para el estudio.

La investigación toma en cuenta todos los principios y valores éticos estipulados por la Uladech Católica.<sup>68</sup>

- **Beneficencia y no maleficencia.-** asegura el bienestar de las personas que participan en las investigaciones. La conducta del investigador responde a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios.
- **Justicia.-** El investigador ejerce un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos. Se reconoce que la equidad y la justicia otorgan a todas las personas que participan en la investigación derecho a acceder a sus resultados.
- **Integridad científica.-** La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación.

## V. Resultados

### 5.1 Resultados

**Tabla 1:**

**Comparación del efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.**

<b>Tratamiento</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>GRUPO TUKEY</b>
Clorhexidina 0,12%	10	26,04	<b>A</b>
Extracto Mixto	10	12,07	<b>B</b>
<i>Stevia</i> <i>rebaudiana</i> 25%	10	10,16	<b>B</b>
<i>Erythroxylum</i> <i>coca</i> 25%	10	7,12	<b>C</b>
Agua destilada	10	0,00	<b>D</b>

*Fuente: Datos propios obtenidos de medición.*

#### **Interpretación:**

A partir de la comparación de los tratamientos de extracto acuoso de hoja de *Stevia* al 25% y extracto mixto 25%, se evidencia que no existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados.

Los resultados obtenidos de la comparación de los tratamientos del extracto acuoso de hoja de *Stevia* al 25% y *Coca* 25%, muestran que existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados.

Asimismo, de la comparación de los tratamientos del extracto acuoso de hoja de *Coca* al 25% y extracto mixto 25%, se precisa que existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados.

**Tabla 2:**

**Evaluación del efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.**

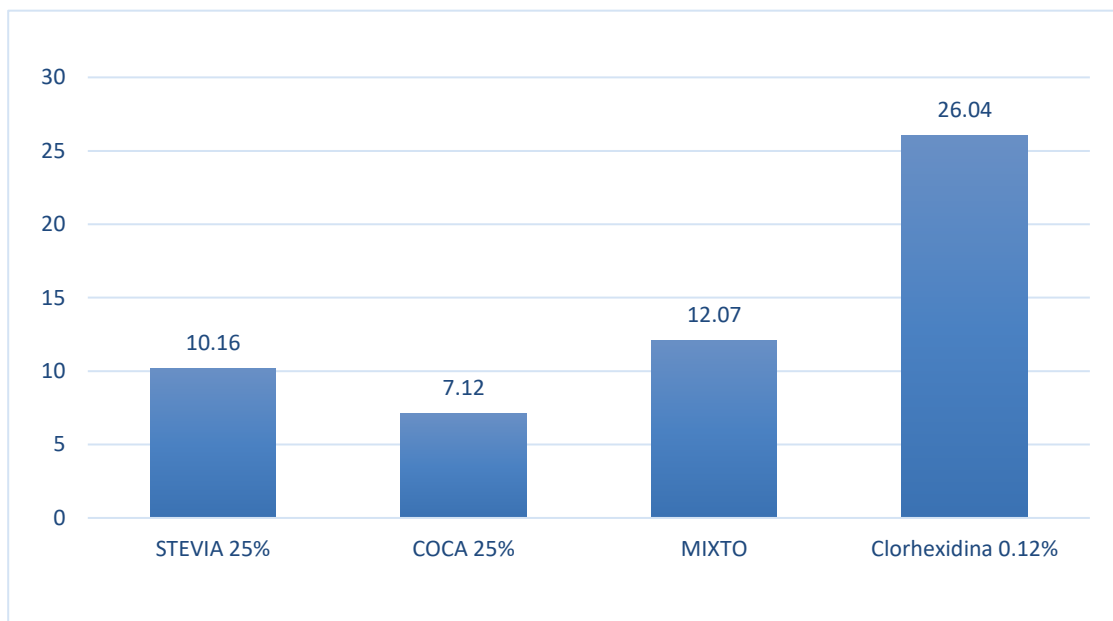
Tratamiento	N	Diámetro (mm)		Sig. (p)*
		Media	Desviación típica	
<i>Stevia rebaudiana</i> 25%	10	10,16	2,74	2,59E-34
<i>Erythroxylum coca</i> 25%	10	7,12	1,22	
Extracto mixto	10	12,07	1,59	
Clorhexidina 0,12%	10	26,04	0,30	
Agua Destilada	10	0,0	0,0	

**Fuente:** Datos propios obtenidos de medición.

*p*\*: prueba ANOVA, nivel de significancia estadística ( $p < 0,05$ )

### Gráfico 1:

**Evaluación del efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxyllum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**



*Fuente: Datos obtenidos de la tabla 2*

### Interpretación:

Aplicado la prueba paramétrica ANOVA, se obtuvo ( $p = 2,59E-34 < 0.05$ ), por lo tanto, entre los grupos estudiados y la clorhexidina al 0.12% la diferencia estadística está presente.

Según la escala usada por Duraffourd:<sup>66</sup>

Evaluando el efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* 25% (10,16mm) y Extracto mixto (12,07mm), tienen una sensibilidad limite (sensible +), esto se debe a que el halo inhibitorio presente está entre 8 y 14 mm.

Evaluando el efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Erythroxyllum coca* 25%, es nulo, puesto que el halo inhibitorio presente es menor a 8 mm.



## 5.2 Análisis de los resultados

*Streptococcus mutans*, tiene la capacidad de producir glucano y adherirse a la superficie dental, lo que conlleva a la formación de caries dental.<sup>23</sup> A partir de esta base conceptual, se planteó como objetivo general de investigación: Comparar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.

La comparación de los resultados entre las concentraciones de *Stevia rebaudiana* 25% (10,16 mm), *Erythroxylum coca* 25% (7,12 mm) y extracto mixto 25% (12,07 mm) sobre *Streptococcus mutans* muestran una significativa diferencia entre ellos. Sin embargo, al comparar las concentraciones de hoja de *Stevia rebaudiana* 25% (10,16 mm) y Extracto mixto 25% (12,07 mm) no se encontró una diferencia significativa, por otro lado, el promedio de los halos de inhibición del Extracto mixto 25% (12,07 mm) demostró ser mayor frente a *Streptococcus mutans*; por lo que se puede determinar que el efecto inhibitorio se ve condicionado en ambos extractos acuosos por su grado de concentración (*Stevia rebaudiana* 25% y *Erythroxylum coca* 25%), así mismo se puede observar que la sinergia de ambos extractos acuosos potencian el efecto antibacteriano. Si bien, dentro de la literatura revisada no existen estudios que comparen el efecto antibacteriano de extracto mixto de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Sí se evidencian estudios a partir de estas de manera individual y en diferentes concentraciones. Cáceres N.<sup>12</sup> obtuvo en otras proporciones, que al 100% de concentración de

*Stevia rebaudiana* existe efecto antibacteriano, por otro lado, Massón M. y Armas A.<sup>8</sup>, arribaron a la misma conclusión, ya que obtuvieron mejor rendimiento aplicando una variación de 107% en relación con la fórmula extracto acuoso sobre *Streptococcus mutans*. En oposición a los resultados presentados por Guevara E.<sup>7</sup>, en el cual aplicó el extracto hidroalcohólico de *Stevia rebaudiana* en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans*; los mismos que no presentaron halos inhibitorios al 25% y 50% a diferencia del 75% y 100% que, si produjo halos de inhibición, pero con un promedio bajo por cada estudio; la conclusión del autor es no hacer uso del extracto de *Stevia* como agente antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans*. Se discrepa con el autor Guevara E.<sup>7</sup>, respecto a que con la concentración de extracto acuoso de *Stevia rebaudiana* si se evidencia efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* lo que se precisa en los resultados de la presente investigación.

También, se evaluó el efecto antibacteriano al 25% de extracto acuoso de *Erythroxyllum coca* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019. Los resultados obtenidos a partir de la medición de los tamaños de halos de inhibición arrojaron una media de 7.12 mm, sin embargo, Duraffourd C.<sup>66</sup> presenta una escala, donde clasifica de manera cualitativa los halos de inhibición según su diámetro, por lo que al ser menor a 8mm, se determina como efecto nulo; por lo tanto, esta concentración no reporta efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*; por otro lado, los diámetros de los halos de las concentraciones al 25% de *Stevia rebaudiana* y 25% de extracto mixto, son considerados con una sensibilidad límite. En el estudio de Vergara C.<sup>15</sup> se

obtuvieron resultados similares al porcentaje del 25% de *Erythroxyllum coca*. Para entender el motivo porque *Stevia* presenta efecto antibacteriano, tomamos en cuenta su principal componente benéfico, que es el esteviósido, el cual sustituye a la sacarosa en el consumo diario,<sup>46</sup> además que permite inhibir a las bacterias ya que su componente no se sintetiza con las enzimas de la bacteria, sin embargo crea un medio ácido, según Acosta A, Pérez M, Ramos N. y Pérez L.<sup>6</sup> El efecto de hoja de *Erythroxyllum coca* radica en alcaloides (polifenoles) además de diterpenos, taninos, flavonoides, triterpenos, proteínas y minerales;<sup>56</sup> lo cual genera una inhibición de *Streptococcus mutans*. Al comparar los resultados de los halos inhibitorios con el control positivo, muestran una diferencia significativa, demostrando la clorhexidina 0.12% un mayor diámetro inhibitorio. Esto se debe al efectivo mecanismo de acción de la clorhexidina al adherirse a la membrana celular bacteriana y de acuerdo a la concentración permite la filtración de componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático) o la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida).<sup>33</sup> En el caso de *Erythroxyllum coca* se ha determinado que es un polifenol y por lo tanto su mecanismo de acción se da mediante el ingreso a la célula bacteriana evitando la producción de la enzima glucosiltransferasa la cual está encargada de las propiedades adhesivas y expresión de la virulencia en *Streptococcus mutans*.<sup>57, 26</sup> Caso contrario sucede con *Stevia rebaudiana* que su acción inhibitoria se da gracias a su componente el esteviósido quien no se sintetiza o se descompone con las enzimas del *Streptococcus mutans*, además de inhibir el glucano.<sup>42</sup>

## VI. Conclusiones

1. Se concluye que el extracto acuoso mixto de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*, presentó un mayor efecto antibacteriano que las otras dos concentraciones (*Stevia rebaudiana* 25% y *Erythroxylum coca* 25% ) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
2. El extracto acuoso de hoja de *Erythroxylum coca* al 25% presentó efecto antibacteriano nulo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
3. El extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* al 25% presentó efecto antibacteriano con sensibilidad límite frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
4. El extracto acuoso mixto al 25% presentó efecto antibacteriano con sensibilidad límite frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## Aspectos complementarios

1. Línea de investigación experimental, in vitro, para la elaboración de enjuagatorios bucales, dentífricos que contengan extracto de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*.
2. Línea de investigación de prototipos, que permitan los estudios preclínicos de plantas medicinales y su mecanismo de acción sobre microorganismos en la cavidad oral.

## Referencias bibliográficas

1. Narvaez, J. Prevalencia de caries dental según el índice ceod en niños y niñas de 4 a 6 años de edad que están bajo cuidado de sus padres vs. Niños y niñas que ha sufrido algún tipo de desintegración familiar en la Escuela Fiscal Mixta Mentor Gamboa Collantes. [Tesis para Título Profesional]. Ecuador: Universidad central del Ecuador; 2011. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/487>
2. Slade H, Hamada S. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Rev. PubMed Central (PMC) [Internet]. 2019 [citado 5 abril 2019]; 44(2):331–384. DOI: <https://doi.org/10.1128/mr.44.2.331-384.1980>
3. Álvarez J. *Stevia rebaudiana bertonii*. [Tesis Investigativa] Universidad EAFIT. Departamento De Negocios Internacionales. Secretaria De Agricultura y Desarrollo Rural De Antioquia, Medellín; 2004:71. Disponible en: [https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/25954/cuaderno\\_ciencias\\_politicas\\_09\\_02.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/25954/cuaderno_ciencias_politicas_09_02.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
4. Luna M, Díaz C, Baca-dejo F. Efecto del extracto acuoso, ácido y alcohólico de las hojas secas de *Erythroxylum coca var coca* (coca) en *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* y *Candida albicans* in vitro. Rev. Horizonte Médico. [Internet]. 2017[citado 5 abril 2019]; 17 (1): 25-30. DOI: <https://doi.org/10.24265/horizmed.2017.v17n1.04>
5. Moromi H, Martinez E. Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Rev. Odontología Sanmarquina. [Internet]. 2009 [citado 5 de abril 2019]; 12(1): 25-28. DOI: <https://doi.org/10.15381/os.v12i1.2910>

6. Acosta A, Pérez M, Ramos N, Pérez L. Efecto de glucosa y de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* en medio de cultivo axénico [Tesis para Título Profesional]. Venezuela: Universidad de Carabobo; 2017. Disponible en: <http://biblat.unam.mx/hevila/ODOUScientifica/2017/vol18/no1/1.pdf>
7. Guevara E. Análisis Del Efecto Inhibitorio De *Stevia* En Diferentes Concentraciones Sobre *Streptococcus mutans*, Estudio In Vitro [Tesis para Título Profesional]. Ecuador: Universidad Central Del Ecuador; 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9380>
8. Massón M, Armas A. Comparación de la efectividad antibacteriana de la *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. KIRU [Internet]. 2016 [citado 6 abril 2019];13(2):127-132. Disponible en: <https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/997>
9. Vitery G, Escribano S, Gamboa F, Chavarria N, Gómez R. Actividad Inhibitoria De La *Stevia rebaudiana* Sobre El *Lactobacillus acidophilus* Y El *Streptococcus mutans*. Rev. Nacional de Odontología [Internet]. 2010 [citado 7 Abril 2019]; 6(10). Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/267098167\\_actividad\\_inhibitoria\\_de\\_la\\_stevia\\_rebaudiana\\_sobre\\_el\\_lactobacillus\\_acidophilus\\_y\\_el\\_streptococcus\\_mutans\\_inhibitory\\_activity\\_of\\_stevia\\_rebaudiana\\_upon\\_lactobacillus\\_acidophilus\\_and\\_the\\_streptococcus](https://www.researchgate.net/publication/267098167_actividad_inhibitoria_de_la_stevia_rebaudiana_sobre_el_lactobacillus_acidophilus_y_el_streptococcus_mutans_inhibitory_activity_of_stevia_rebaudiana_upon_lactobacillus_acidophilus_and_the_streptococcus)

10. Loyola D. Actividad Antibacteriana De Hojas De *Erythroxylum Coca Lam.* (Coca) Y *Schinus molle l.* (Molle) Frente A *Streptococcus mutans* Cepa ATCC 25175. [Tesis para Título Profesional]. Perú: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2019. Disponible en: <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/2819>
11. Salcedo M. Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Erythroxylum novogranatense var. truxillense* y *Erythroxylum coca var. Coca* frente al *Streptococcus mutans*. [Tesis para Título Profesional]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/9308>
12. Cáceres N. Efecto Antimicrobiano In Vitro Del Extracto De *Stevia rebaudiana* Sobre el *Streptococcus mutans*. [Tesis para Título Profesional]. Perú: Universidad Nacional Del Altiplano; 2017. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/4451>
13. Castañeda L. Efecto antibacteriano "In vitro" del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* (Coca) y la clorhexidina frente a *Streptococcus mutans* ATCC25175. [Tesis para Título Profesional]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2017. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/12594/Casta%C3%B1eda%20Le%C3%B3n%20Lesly.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
14. Pérez S. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Tesis para Título



- Profesional]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2013. Disponible en:  
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/596>
15. Vergara C. Efecto Inhibitorio “in vitro” del Extracto Acuoso y el Extracto Etanólico de la Hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *Truxillense* (COCA) Sobre el Crecimiento de *Streptococcus mutans*. [Tesis para Título Profesional]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2011. Disponible en:  
[https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/465/VergaraPastor\\_C.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/465/VergaraPastor_C.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
16. Federación Dental Internacional (FDI). El desafío de las enfermedades bucodentales --- Una llamada a la acción global. Atlas de Salud Bucodental [Internet]. 2015 [citado 7 abril 2019]; 1(2). Ginebra. Disponible en:  
[http://www.fdiworldental.org/media/84768/book\\_spreads\\_oh2\\_spanish.pdf](http://www.fdiworldental.org/media/84768/book_spreads_oh2_spanish.pdf)
17. Miguelañez B, Pastor M, Sarría B. Estado actual de la etiología de la caries dental [Internet]. Universidad Rey Juan Carlos. 2007 [citado 7 abril 2019]. Disponible en: [http://biopat.cs.urjc.es/conganat/files/2006-2007\\_G13.pdf](http://biopat.cs.urjc.es/conganat/files/2006-2007_G13.pdf)
18. Cuadrado D, Gómez J. Cariología: el manejo contemporáneo de la caries dental. Universidad Nacional Autónoma de México. 2014; 1(1): 5-97.
19. Mattos M, Melgar R. Riesgo de caries dental. Rev Estomatol Herediana [Internet]. 2004 [citado 7 abril 2019];14(2): 101 - 106. DOI:  
<https://doi.org/10.20453/reh.v14i2-1.2022>
20. Cárdenas E, Cruz R, Gándara L, Pérez A. Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. Elementos 94. 2014; 1(1) 35-43.

21. Carrasco M, Castillo M. Características clínicas-radiográficas de molares permanentes aplicados cariostáticos hace tres años. Universidad de Cuenca, Ecuador 2002.
22. Finn S. Odontología Pediátrica. Caracas, 2004: (2) 117-32.
23. García G. Factores e indicadores de riesgo de caries dental. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2007.
24. De Almeida N. Epidemiología sin números. Washington,DC. OPS; 1992. 26.
25. Loesche W. Role of *Streptococcus mutans* in Human Dental Decay. *Microbiol Rev.* [Internet] 1986 [citado 8 de abril 2019]; 50(4):353-380. DOI: <https://doi.org/10.1128/mr.50.4.353-380.1986>
26. Gutiérrez P. Fundamentos de Ciencias básicas aplicadas a la odontología. Bogotá: pontificia Universidad Javeriana; 2006; 1 (1).
27. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries. *Rev. CES odontología* [Internet]. 2013 [citado 8 de abril 2019]; 26(1): 44-56. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
28. Hernández A, Huerta J, Martínez M. Principios de Microbiología Bucal. Universidad de Chile. 1977.; 23-33.
29. Graciano C, Martínez B, Ceballos S. *Streptococcus mutans* y caries dental en América Latina. Revisión sistemática de la literatura. *Revista Nacional de Odontología* [Internet]. 2012 [citado 8 de abril 2019]; 8 (14). Disponible en: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/od/article/view/282>

30. Negroni M. Microbiología estomatológica fundamentos y guía práctica. Buenos aires: panamericana. 2009; 1 (3).
31. Gonzalez SA, Gonzalez NB; Gonzalez NE. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. Nutr. Hosp. [Internet]. 2013 [citado 8 abril 2019]; 28(4):64-71. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112013001000008](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000008)
32. Bascones A. Periodoncia Clínica e Implantología Oral. Madrid; Ediciones; Avances Médico-Dentales. 2001; 455-71.
33. Greenstain G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine- an adjunct to periodontal therapy. Journal of Periodontology, [Internet]. 1986 [citado 8 abril 2019]; 57:370-7. DOI: <https://doi.org/10.1902/jop.1986.57.6.370>
34. Hennessey T. Some antibacterial properties of chlorhexidine. J Periodontal Res Suppl. [Internet]. 1973 [citado 8 abril 2019]; 61-7. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1973.tb02166.x>
35. Sotero N, Arreguin S, García A, Fernández L, López M, Morales C, et al. Evaluación de dos extractos de *Stevia rebaudiana* Bertoni sobre enterobacterias resistentes a antibióticos. Rev Mex Cienc Farm. [Internet] 2017 [citado 9 de abril 2019]; 48 (3): 75-80. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956616009>
36. Geuns J, Bruggeman V, Buyse J. Effect of stevioside and steviol on the developing broiler embryos. J Agric Food Chem. . [Internet] 2003 [citado 9 de

abril 2019];51(17):5162-5167. DOI:  
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf020931p>

37. Rajbhandari A, Roberts M. Flavonoids fo *Stevia nepetifolia*. J Nat Prod. [Internet] 1984 [citado 9 de abril 2019]; 47:559–560. Disponible en: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302566933>
38. Herrera G. El cultivo de *Stevia (Stevia rebaudiana)* Bertoni en condiciones agroambientales de Nayarit México. Inifap. 2012. 14-16.
39. Brandle J, Starratt A, Gijzen M. *Stevia rebaudiana*: Its agricultural, biological, and chemical properties. Can J Plant Sci. [Internet] 1998 [citado 9 de abril 2019]; 78:527-36. Disponible en: <https://cdnsiencepub.com/doi/pdf/10.4141/P97-114>
40. Schwebel R. *Stevia*, el edulcorante natural sudamericano con cero calorías. [Internet] 2005 [Citado 9 de abril 2019]. Disponible en: [www.fm.unt.edu.ar/ftp/Health\\_I\\_G\\_News/Dic1998.doc](http://www.fm.unt.edu.ar/ftp/Health_I_G_News/Dic1998.doc)
41. Gilabert J. Encinas, De la *stevia* al E-960: un dulce camino. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid. Reduca (Recursos Educativos). Serie Congresos Alumno. 2014; 6: 305-311. Disponible en: <http://www.revistareduca.es/index.php/reduca/article/viewFile/1699/1718>
42. Brandle J. *Stevia*, Nature’s natural low-calorie sweetener. [Internet] 2005 [Citado 10 de Abril 2019] Disponible en: [http://res2.agr.ca/London/faq/stevia\\_e.htm](http://res2.agr.ca/London/faq/stevia_e.htm).

43. Akashi A, Yokoyama S. Dried-Leaf Extracts of Stevia. Toxicological Tests. Shokuin Kogyo. [Internet] 1975. [Citado 10 de abril 2019]. 18(20):34-43. DOI: <https://doi.org/10.15381/rpb.v15i1.1680>
44. Barriocanal L, Palacios M, Benitez G, Benitez S, Jimenez J, Jimenez N, et al. Apparent lack of pharmacological effect of esteviol glucosides used as sweeteners in humans. A pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in type 1 and Types 2 diabetics. Regul Toxicol Pharmacol. [Internet] 2008. [Citado 10 de abril 2019]. 51(1):37-41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.02.006>
45. De Paula C, Simanca M, Pastrana Y, Carmona A, Lombana G. Condiciones de utilización del esteviósido en la elaboración de mermelada de guayaba dulce. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. [Internet] 2010. [Citado 10 de abril 2019]. 21:1-12. Disponible en: <https://hortintl.cals.ncsu.edu/es/articles/condiciones-de-utilizaci-n-del-estevi-sido-en-la-elaboraci-n-de-mermelada-de-guayaba-dulce-.com>
46. Matsukubo T, Takazoe I. Sucrose substitutes and their role in caries prevention. Int Dent J. [Internet] 2006. [Citado 10 de abril 2019]; 56(3):119-30. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.2006.tb00083.x>
47. Goodson C. Effect of a Truvia Rebiana on the pH of Dental Plaque. Abstract presented at the International Association for Dental Research General Sessions, Barcelona, Julio. [Internet] 2010 [Citado 10 de abril 2019]. Disponible en: <https://iadr.abstractarchives.com/abstract/2010barce-137284/effect-of-a-truviaandx99-rebiana-on-plaque-ph>

48. Tadhani M., Subhash R. Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening. Journal of Medical Sciences. [Internet]. 2006. [citado 11 de abril 2019]; 6(3): 321 -326. DOI: <https://scialert.net/abstract/?doi=jms.2006.321.326>
49. Borghelli R. Lesiones de la mucosa bucal por el uso de hojas de coca en el grupo etario de varones de 20 años de la provincia de Jujuy (Argentina). Revista de la Asociación Odontológica Argentina. [Internet]. 1973. [citado 11 de abril 2019]. 61(7). Disponible en: <https://www.yumpu.com/es/document/view/59920922/castro-de-la-mata-r-2003-inventario-de-la-hoja-de-coca>
50. Instituto Boliviano de Biología de Altura. Usos de la hoja de coca y salud pública. Bolivia. 1997.
51. Penny ME, Zavaleta A, Lemay M, Liria MR, Huaylinos ML, Alminger M, et al. ¿Pueden las hojas de coca contribuir a mejorar la nutrición de la población Andina? Food and Nutrition Bulletin. 2009, 30 (3): 205-216. Disponible en: <http://www.repositorio.cedro.org.pe/handle/CEDRO/338>
52. Horna, R. La producción de coca en el Perú. Cocaína. 1980. Actas del Seminario. Disponible en: <http://www.repositorio.cedro.org.pe/handle/CEDRO/365>
53. Interamericano sobre Aspectos Médicos y Sociológicos de la Coca y la Cocaína. Lima, 1980. Disponible en: <http://www.lamolina.edu.pe/cocachasqui/baldo/histococa.htm>

54. Plowman T. Aspectos botánicos de la hoja de coca. Cocaína. R. Jeri. Edit. Pacific Press.Lima; 1980. Disponible en: <http://repositorio.cedro.org.pe/bitstream/CEDRO/242/1/6270-DR-CEDRO.pdf>
55. Freye E. Production of the Coca Leaf. Abstract Pharmacology and Abuse of Cocaine, Amphetamines, Ecstasy and Related Designer Drugs. Springer Science; 2009. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/bfm%3A978-90-481-2448-0%2F1.pdf>
56. Barbosa C, Silva F., Santos A., Vaz M. Y Nóbrega F. Aspectos Gerais e propriedades farmacológicas do gênero *Erythroxylum*. Revista saúde e ciência Online. [Internet]. 2014. [citado 15 de abril 2019]; 3(3):207-216. DOI: <https://doi.org/10.35572/rsc.v3i3.325>
57. Alvarado V, Moromi N. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense* var *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. Revista Odontología Sanmarquina. [Internet]. 2010. [citado el 14 de abril 2019]. 13(2): 21-25. DOI: <https://doi.org/10.15381/os.v13i2.2853>
58. Cassiano N. Alkaloids: Properties, Applications, and Pharmacological Effects. Hauppauge, N.Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2010. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/317779350\\_Alkaloids\\_Properties\\_applications\\_and\\_pharmacological\\_effects](https://www.researchgate.net/publication/317779350_Alkaloids_Properties_applications_and_pharmacological_effects)

59. Scarpetta L. Reconocimiento Fitoquímico y etnobotánico de *Erythroxylum coca* en la población Nasa del Departamento del Cauca – Colombia. *Revista Criterio Libre Jurídico*. [Internet] 2017. [citado 16 de abril 2019]; 14(1): 12-21. DOI: <https://doi.org/10.18041/1794-7200/criteriojuridico.2017.v14n1.1601>
60. Johnson, E., Schmidt, W., Norman, H. Leaf flavonoids as Chemotaxonomic markers for two *Erythroxylum* Taxa. *Z. Naturforsch.* 1997; 52(1): 77-585. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/326792343\\_Leaf\\_Flavonoids\\_as\\_Chemotaxonomic\\_Markers\\_for\\_Two\\_Erythroxylum\\_Taxa](https://www.researchgate.net/publication/326792343_Leaf_Flavonoids_as_Chemotaxonomic_Markers_for_Two_Erythroxylum_Taxa)
61. Villavicencio O. Y Villar M. Manual de fitoterapia. Lima, Perú: EsSalud. Organización panamericana de la salud, 2001. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-323446?lang=es>
62. Rincón, A. Salud integral. Técnicas para el acompañamiento psicosocial de las víctimas del conflicto sociopolítico en Colombia. Corporación centro de atención Psicosocial –CAPS. Bogotá Colombia, 2013. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/PS/estrategia-atencion-psicosocial-victimas-conflicto-armado-papsivi.pdf>
63. López A. M, Garzón W. F, Rosero-Moreano M, Taborda G. Análisis de cocaína en diferentes muestras por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG-FID). *Rev. Colomb. Quim.* [Internet] 2015. [citado 20 de Abril 2019]; 44(1):19-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n1.54010>



64. Hernández R. Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación científica. 6 ed. México. Mc Graw Hill. 2014. Disponible en: [https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia\\_de\\_la\\_investigacion\\_-\\_roberto\\_hernandez\\_sampieri.pdf](https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf)
65. Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadístico; 2015. Disponible en: <https://www.studocu.com/pe/document/universidad-andina-nessor-caceres-velasquez/metodologia-del-trabajo-universitario/metodologia-de-la-investigacion-dr-supo/18409899>
66. Duraffourd C, Hervicourt L, Lapraz J. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1º edición. París: Masson SA; 1983. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=229853>
67. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba. 2002. Disponible en: <https://fddocuments.mx/document/metodos-de-analisis-de-drogas-y-extractos-de-dra-migdalia-miranda-martinez.html>
68. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 001 [Internet]. [citado 20 Junio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7455/codigo-de-etica-paralainvestigacionv001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

# ANEXOS

## Anexo 1

Carta de presentación a **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ** Dra. En farmacia y bioquímica para la ejecución del proyecto de investigación



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 8 de noviembre del 2019

Sra.  
**MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**  
DOCENTE DE LA CÁTEDRA DE FARMACOGNOSIA DEL DEPARTAMENTO  
ACADÉMICO DE FARMACOTECNIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla muy cordialmente en mi condición de Coordinador de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la Carrera Profesional de Odontología, nuestro alumno, LUIS JOSÉ SEBASTIAN DÍAZ VELÁSQUEZ, debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de tesis, titulado: **“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJA DE *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum coca* SOLOS Y EN COMBINACIÓN SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019”**, la cual se desarrollará de manera presencial. Así mismo para realizar el presente trabajo se ha seleccionado su prestigiosa institución, por lo que se solicita el apoyo a nuestro alumno para que pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de tesis.

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

Atentamente

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE  
F. FILIAL TRUJILLO  
P.F. José Antonio Calderón  
COORDINADOR DE FARMACOTECNIA

Calle Aguamarina N°161 - 165 - Urb. San Inés - Trujillo - Perú  
Teléfonos: (044) 600 569 / 600 568  
Cel: 944 425 768  
www.uladech.edu.pe

## Anexo 2

### Carta de presentación de **JAIME ENRIQUE AGREDA GAITÁN**, Biólogo – Microbiólogo para la ejecución del proyecto de investigación



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 8 de noviembre del 2019

Sr.  
**JAIME ENRIQUE AGREDA GAITÁN**  
**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO DOCENTE DE LA ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA, DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.**  
**Presente**

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo muy cordialmente en mi condición de Coordinador de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la Carrera Profesional de Odontología, nuestro alumno, LUIS JOSÉ SEBASTIAN DÍAZ VELÁSQUEZ, debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de tesis, titulado: **“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJA DE *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum coca* SOLOS Y EN COMBINACIÓN SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019”**, la cual se desarrollará de manera presencial. Así mismo para realizar el presente trabajo se ha seleccionado su prestigiosa institución, por lo que se solicita el apoyo a nuestro alumno para que pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de tesis.

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

Atentamente

Dr. Jose Pineda Cuñillero  
CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Calle Aguamarina N°161 - 165 - Urb. San Inés - Trujillo - Perú  
Teléfonos: (044) 600 569 / 600 568  
Cel: 944 425 768  
www.uladech.edu.pe

### Anexo 3

#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Efecto Antibacteriano del Extracto Acuoso de Hoja de *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum coca* Solos y en Combinación Sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN EN MM				
	Extracto acuoso de las hojas de <i>Stevia rebaudiana</i>	Extracto acuoso de las hojas de <i>Erythroxylum coca</i>	Extracto Mixto	Control Positivo	Control Negativo
	20%	20%		Clorhexidina 0.12%	Agua destilada
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
TOTAL					
PROMEDIO					

## Anexo 4

### BASE DE DATOS

Efecto Antibacteriano Del Extracto Acuoso De Hoja De *Stevia rebaudiana* Y  
*Erythroxyllum coca* Solos Y En Combinación Sobre *Streptococcus mutans* ATCC  
 25175, Trujillo 2019, Determinado Mediante El Diámetro (Mm) De Los Halos De  
 Inhibición Del Crecimiento, Método Kirby Bauer.

REPETICIONES	Halos de Inhibición en mm				
	Extracto acuoso de las hojas de <i>Stevia rebaudiana</i>	Extracto acuoso de las hojas de <i>Erythroxyllum coca</i>	Extracto Mixto	Control Positivo	Control Negativo
	25%	25%		Clorhexidina 0.12%	Agua destilada
1	12.24	7.33	13.26	25.6	0
2	7.31	8.21	11.51	26.3	0
3	13.11	5.97	13.79	25.7	0
4	7.22	7.46	10.95	25.8	0
5	7.65	6.34	12.78	26.1	0
6	12.89	9.15	13.87	26.4	0
7	7.90	7.98	9.91	26	0
8	12.24	5.31	10.98	25.9	0
9	13.21	7.63	13.71	26.1	0
10	7.82	5.78	9.94	26.5	0
TOTAL	101.59	71.16	120.7	260.4	0
PROMEDIO	10.16	7.12	12.07	26.04	0

Anexo 5

Confiabilidad del instrumento Vernier digital (ISO 9001 de calidad)



## Anexo 6

### CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

**Tabla 3.** ANOVA: Efecto Antibacteriano Del Extracto Acuoso De Hoja De *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum coca* Solos Y En Combinación Sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3641,10	4	910,27	390,86	<b>2.59E-34</b>
Dentro de grupos	104,80	45	2,33		
Total	3745.90	49			

Fuente: Análisis ANOVA - SPSS.

#### Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna Por lo menos una media es diferente

Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

#### Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Extracto	5	Stevia 25%, Coca 25%, Extracto mixto 25%, Clorhexidina 0.12%, Agua destilada

#### Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extracto	4	3641,10	910,27	390,86	<b>2.59E-34</b>
Error	45	104,80	2,33		
Total	49	3745,90			

#### Medias

Extracto	N	Media	Desv.Est.
Stevia25%IC de 95%	10,16	2,74	(9,19 - 11,13)
Coca25%	10	7,12	(6,14 - 8,09)
Mixto25%	10	12,07	(11,10 - 13,04)
Clorhexidina	10	26,04	(25,07 - 27,01)
Agua destilada	10	0	(-0,97 - 0.97)

El análisis de varianza muestra se obtuvo ( $p = 2.59E-34 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que sí existe una diferencia estadística entre los tratamientos.



## Anexo 7

Prueba de normalidad, efecto antibacteriano del extracto acuoso de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* solos y en combinación sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.

Repeticiones	Tratamientos - Halos de inhibición (mm)				
	Stevia 25%	Coca 25%	Mixto	Clorhexidina 0.12%	Agua Destilada
1	12.24	7.33	13.26	25.6	0
2	7.31	8.21	11.51	26.3	0
3	13.11	5.97	13.79	25.7	0
4	7.22	7.46	10.95	25.8	0
5	7.65	6.34	12.78	26.1	0
6	12.89	9.15	13.87	26.4	0
7	7.9	7.98	9.91	26	0
8	12.24	5.31	10.98	25.9	0
9	13.21	7.63	13.71	26.1	0
10	7.82	5.78	9.94	26.5	0
<b>Promedio</b>	10.16	7.12	12.07	26.04	0.00
<b>p</b>	0.004	0.790	0.111	0.875	*
<b>Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)</b>	No Normalidad	Normalidad	Normalidad	Normalidad	

*Fuente: Datos propios obtenidos de medición.*

(\*) Agua destilada es un constante y se ha desestimado

**Interpretación:** Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que existe la prevalencia de un grupo de datos con una significancia menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ) es decir los datos no presentan una distribución normal, mientras que tres grupos de tratamientos si presentan una distribución normal.

Con lo cual podemos concluir, en general los tratamientos presentan una distribución normal.

## Anexo 8

### CONSTANCIA DE TAXONOMÍA

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO</b> <b>HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)</b> <b>FLORA PERUANA</b>	
<b>Familia:</b> ERYTHROXYLACEAE		
<b>Nombre Científico:</b> <i>Erythroxylum coca</i>		
<b>N. Vulgar:</b> "coca"	<b>Det. Por:</b> Herbario HUT	
<b>Hábito:</b> Hojas elipsoidales, medianas, color verde intenso, tallos leñosos.		
<b>Procedencia:</b> Otuzco		
<b>Prov.:</b> Otuzco	<b>Región/Dpto.:</b> La Libertad	
<b>Hábitat:</b> Zona húmeda		
<b>Altitud:</b> 2.641 m.s.n.m.		
<b>Fecha:</b> 07/10/2019		
<b>Colector:</b> Díaz Velásquez Sebastian <span style="float: right;">Nº: s.n.</span>		
<b>Institución:</b> Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote (ULADECH-TRUJILLO) Facultad Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Odontología		
<b>Nombre de Tesis o Proyecto de Investigación:</b> "Efecto Antibacteriano Del Extracto Acuoso De Hoja De <i>Stevia rebaudiana</i> Y <i>Erythroxylum coca</i> Solos Y En Combinación Sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019"		
 <b>Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN</b> Director del Herbario HUT		
		



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)  
FLORA PERUANA



**Familia:** ASTERACEAE

**Nombre Científico:** *Stevia rebaudiana*

**N. Vulgar:** "estevia"

**Det. Por:** Herbario HUT

**Hábito:** Hojas lanceoladas, color verde oscuro brillante, tallos pubescentes y rectos.

**Procedencia:** Rioja

**Prov.:** Rioja

**Región/Dpto.:** San Martín

**Hábitat:** Zona subtropical

**Altitud:** 848 m.s.n.m.

**Fecha:** 07/10/2019

**Colector:** Díaz Velásquez Sebastian

**Nº:** s.n.

**Institución:** Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote (ULADECH-TRUJILLO)  
Facultad Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Odontología

**Nombre de Tesis o Proyecto de Investigación:** "Efecto Antibacteriano Del Extracto Acuoso De Hoja De *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum coca* Solos Y En Combinación Sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019"



Dr. JOSE MOSTACERO LEON  
Director del Herbario HUT

Anexo 9

CONSTANCIA DE COMPRA DE BACTERIA

**del Perú SAC**  
Tecnologías para la Vida

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

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

**R.U.C. 20501262260**

**GUIA DE REMISION  
REMITENTE**

**0002- N° 0031423**

Fecha	Comprobante de Pago N°
9/04/2019	F002000161

Sr(es): **UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE**

**JR. TUMBES NRD. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO  
CHIMBOTE SANTA ANCA**

Punto de Llegada: **Urb. Wichanza Mz. 1 Lt. 25 - Trujillo**

Punto de Partida: **AV. LAS FLORES DE PRIMAVERA # 847 - LIMA 26**

R.U.C.: 20319956043

Cod. Cliente: 1513

Orden de Compra: 1513

Numero de Pedido: 1513

Tipo de Movimiento: GL - 19 / 0343-48

Fecha de Traslado: 9/04/2019

R.U.C.: 20319956043

Cod. Cliente: 1513

Orden de Compra: 1513

Numero de Pedido: 1513

Tipo de Movimiento: GL - 19 / 0343-48

Fecha de Traslado: 9/04/2019

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

COD.	CANT.	UNIT.	DESCRIPCION
H05665-A	1		KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™ LQTE: 266-26-10 / Vendimiento: 29/02/2020

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

Firma y Sello

A.C. 76

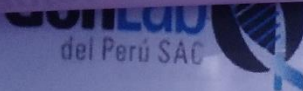
p. GEN LAB DEL PERU S.A.C.

GEN LAB DEL PERU S.A.C.

RECIBI CONFORME

PEPEGRAF. S.A. R.U.C. 20372514290 SERIE 0002 DEL 30951 al 31950 SUNAT N° 13815388023 F.I.: 23-01-2019

CONSTANCIA DE COMPRA DE BACTERIA


**Genlab del Perú S.A.C**  
 Ypanqui N° 2434  
 Lince - Lima - Perú  
 Central Telefónica  
 (51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501  
 Email : ventas@genlabperu.com  
 Web Site : www.genlabperu.com


**RUC N°: 20501262260**  
**FACTURA ELECTRONICA**  
**F002-000161**

Page 1 of 1

**Fecha emisión :** 18/03/2019  
**Fecha Vcto :** 18/03/2019  
**Orden Compra:** GL / 19-034348  
**Cliente:** UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE  
**Guía de Remisión :**  
**N° Pedido :** 021861  
**Dirección:** JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO  
 CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru  
**Tipo Movimiento :** ANTICIPOS  
**RUC :** 20319956043  
**Lugar de destino :**

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dcto	Sub-Total
H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	305.93	0.00	305.93

TRESCIENTOS SESENTA Y UNO CON 00/100 SOLES



Anticipo		0.00
Op. Gravada	S/	305.93
IGV 18%		55.07
<b>Importe Total</b>	<b>S/</b>	<b>361.00</b>

Representacion Impresa de la Factura Electrónica  
 Consulte : <http://cpe.genlabperu.com>

**Observaciones de SUNAT :**  
 La Factura numero F002-000161, ha sido aceptada

Despues de Vencido el plazo de cancelacion, se recargará el interes legal correspondiente.  
**Sirvanse Realizar el Deposito Respectivo a las Siguietes Ctas Bancarias:**  
 CCP Soles 193-1440607-0-84 BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34

## Anexo 10

Constancia de colaboración de **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ** Dra. En farmacia y bioquímica en la ejecución del proyecto de investigación

### CONSTANCIA


Yo, **Marilú Roxana Soto Vásquez**, Docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727.

Dejo constancia de haber colaborado en la preparación de la muestra vegetal y las concentraciones, de los extractos acuosos de las hojas de *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum coca*, en el laboratorio de farmacognosia de la facultad de farmacia y bioquímica de la universidad de Trujillo, al alumno **Luis José Sebastian Díaz Velásquez**, identificado con DNI 70257312 con domicilio legal en Urubamba 170 Sector El Molino-Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada: "Efecto Antibacteriano del Extracto Acuoso de Hoja de *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum coca* Solos y en Combinación Sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019."

Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines pertinentes.

Trujillo 12 de noviembre del 2019



  
Dra. **Marilú Roxana Soto Vásquez**  
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Laboratorio de Farmacognosia  
Universidad Nacional de Trujillo

## Anexo 11

Constancia de colaboración de **JAIME ENRIQUE AGREDA GAITÁN**, Biólogo – Microbiólogo en la ejecución del proyecto de investigación.

### CONSTANCIA

Yo, **JAIME ENRIQUE AGREDA GAITÁN**, Biólogo\_Microbiólogo Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro CBP N° 4979.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con el alumno **DÍAZ VELÁSQUEZ LUIS JOSE SEBASTIAN**, identificado con DNI 70257312, con domicilio legal en sector el Molino, Urubamba #170, Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbota, en la ejecución de la tesis titulada **EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJA DE *Stevia rebaudiana* Y *Erythroxylum cocca* SOLOS Y EN COMBINACIÓN SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175**, Trujillo 2019

Trujillo 14 de Noviembre del 2019



Jaime Enrique Agreda Gaitán

Docente De la Escuela de Microbiología y Parasitología

Facultad de Ciencias Biológicas

Universidad Nacional de Trujillo

## Anexo 12

### **PROCESAMIENTO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca* REALIZADO EN LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNT**

#### **SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN**



Se lavaron las hojas de las plantas: *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*, se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0,5%

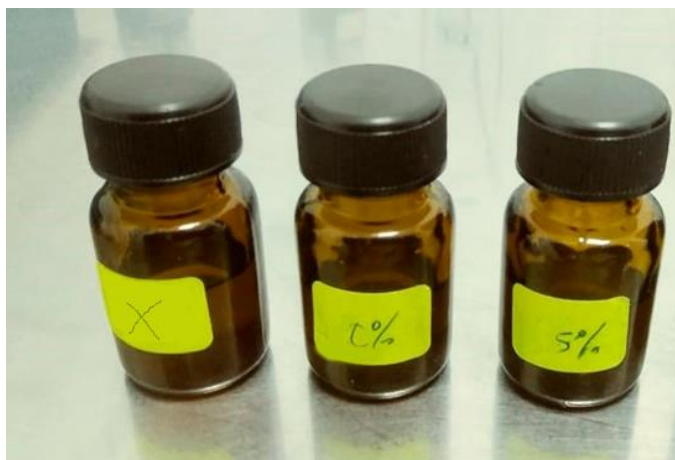
#### **SECADO, PULVERIZACIÓN**



Secado en estufa de circulación de aire por convección forzada (40 °C) por 48 horas de hojas de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*, pulverización, tamizaje y se pesó 50gr. para ambas plantas.



## PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS de *Stevia rebaudiana* 25%, *Erythroxylum coca* 25% y extracto mixto



Se colocó, en un balón de vidrio de 2 litros de capacidad y se añadió 500 mL de agua destilada. Se mezclará bien, y se llevará a reflujo por 2 horas. Transcurrido el tiempo, se enfrió y se filtró el extracto acuoso al vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Posteriormente, el extracto acuoso se concentró en un rotavapor hasta obtener extracto blando. Luego se llevó a secar a la estufa de circulación de aire a 40 °C hasta obtener el extracto seco, seguido se llevó a separar las concentraciones respectivas de hoja de *Stevia rebaudiana* y *Erythroxylum coca*.

### **Concentraciones:**

*Stevia rebaudiana*, la concentración 25% (250 mg/mL)  
disuelta en agua.

*Erythroxylum coca*, la concentración 25% (250mg/mL)  
disuelta en agua.

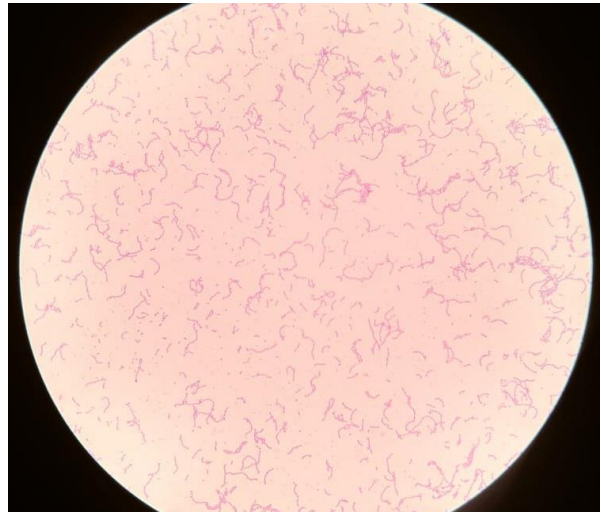
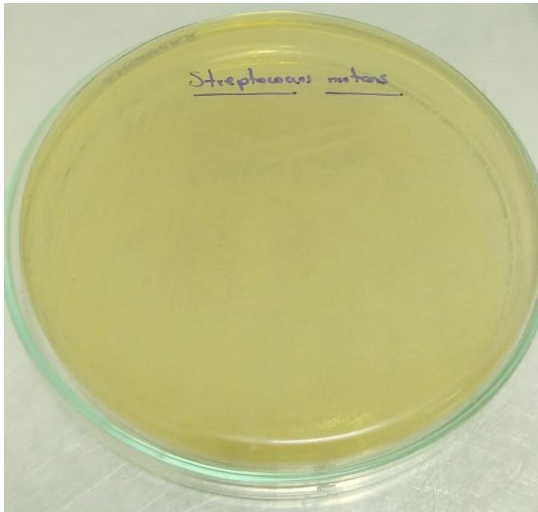
Para el extracto mixto se utilizaron ambas concentraciones

## PREPARACIÓN DEL INÓCULO *Streptococcus mutans*



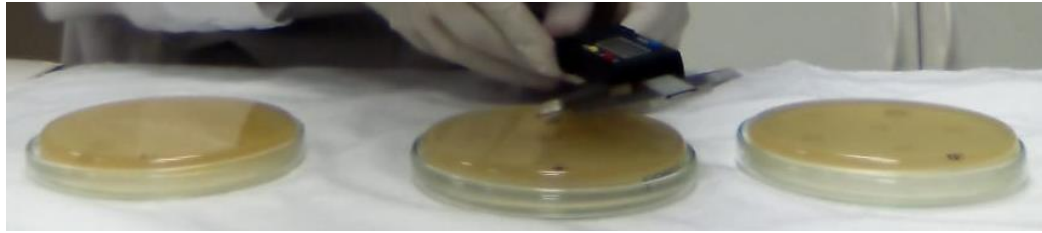
El inóculo de *Streptococcus mutans*, se preparó en tubos de ensayo, suspendiendo las colonias puras aisladas en 0.5 ml de suero fisiológico hasta obtener una turbidez de 0.5 de Mac Farland, que corresponde a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  alfa unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* por 1ml (UFC/ml).<sup>12</sup>

## INOCULACIÓN DE LA SUSPENSIÓN BACTERIANA



Haciendo uso del asa de Kolle, se procedió a sembrar *Streptococcus mutans*, a cada placa con agar Soya tripticasa totalmente estériles. Transcurrido la inoculación de la suspensión bacteriana, después de 10 minutos se procedió a realizar los pocillos en la placa Petri, para luego introducir el disco de antibiograma.

## PREPARACION DE LOS DISCOS ANTIBIOGRAMA ESTÉRILES



Se introdujo el disco de antibiograma (técnica Kirby – Bauer) sin contenido y estéril para aplicar con una pipeta el tratamiento con Bauer) sin contenido y estéril para aplicar con una pipeta el tratamiento con *Stevia rebaudiana* a concentraciones al 25%, con *Erythroxylum coca* al 25% y el extracto mixto, en un volumen de 10 ul, para cada uno de los 5 sensidiscos por dos placas (100mm), luego se incubó la totalidad de las muestras con temperatura de 36 °C por 24 horas determinadas en medio anaerobio.

## LECTURA DE RESULTADOS

Se midieron los diámetros de los halos de inhibición de *Stevia rebaudiana* 25%, *Erythroxylum coca* 25% y extracto mixto.

