



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL
ESTOMATOLOGÍA**

TESIS

**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Erythroxylum Coca* “COCA” FRENTE
Enterococcus Faecalis ATCC®51299™**

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

Autor:

Bach. Nizama Bustamante Miguel Ángel
<https://orcid.org/0000-0003-0319-0762>

Asesora:

Dra. C. D. La Serna Solari Paola Beatriz
<https://orcid.org/0000-0002-4073-7387>

Línea de Investigación:

Ciencias de la Vida y Cuidados de la Salud Humana

Pimentel – Perú

2021

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Erythroxylum Coca “COCA” FRENTE *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™

Aprobación del Jurado

Dra. C. D. La Serna Solari Paola Beatriz
Asesora metodóloga

Dra. C. D. La Serna Solari Paola Beatriz
Presidente del jurado de tesis

Mg. CD. Portocarrero Mondragón Juan Pablo
Secretario del jurado de tesis

Mg. CD. Esp. Romero Gamboa Julio César
Vocal del jurado de tesis

DEDICATORIA

Toda honra y agradecimiento es a Dios por permitirme culminar cada paso que doy desde el inicio de mi vida, fortaleciéndome siempre en los momentos más difíciles en mi vida personal y académica.

A mis familiares en general y de una manera muy especial a mis padres que siempre han sabido orientarme y estar presentes para poder desempeñarme de la manera significativa para poder obtener un desarrollo académico importante.

A mi hermano por siempre demostrarme que con esfuerzo y perseverancia podemos lograr grandes resultados en nuestras vidas.

AGRADECIMIENTO

A mis padres que sin ellos no hubiera podido seguir una carrera profesional, siendo los responsables de asumir un gran reto y mi mayor motivación para seguir adelante con mi tesis de grado.

A la Empresa Nacional de la Coca, por brindarme las hojas de coca para la elaboración del extracto, mostrando interés en que los resultados salgan de la mejor manera para la difusión de la misma.

A la Dra. CD. La Serna Solari Paola, por su correcto asesoramiento a lo largo del presente estudio con sus oportunas correcciones, siendo fundamental para la obtención de una investigación de calidad, cumpliendo con todos los requerimientos que establece la Universidad Señor de Sipán.

Un especial agradecimiento al Dr. Mblgo. Ruiz Barrueto Miguel, por su disponibilidad de tiempo y dedicación para aportar de manera sustancial a la investigación, reconociendo su extraordinaria capacidad para trabajar con protocolos rigurosos.

A mis jurados por su tiempo para poder evaluar de manera objetiva mi investigación con el único fin de lograr un producto final de calidad.

RESUMEN

Se ha reportado importancia del *E. Faecalis*, como el principal patógeno que puede influir de manera desfavorable en el tratamiento de conductos. **Objetivo:** determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Erythroxylum Coca* (*E. Coca*) frente *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™. **Materiales y Métodos:** Estudio con enfoque cuantitativo, experimental in vitro, transversal, prospectivo. La cepa bacteriana fue obtenida de la American Type Culture Collection (ATCC), las concentraciones para evaluar el efecto antibacteriano mediante el método de difusión en disco, fueron (25%, 50%, 75% y 100%), además los controles positivos y negativo fueron (*G. Clorhexidina* 0.12% y *Cloruro de Sodio* 0.9%), respectivamente. Asimismo, se utilizó el agar *Mitis Salivarius* (LIOFILCHEM) para el crecimiento de la cepa bacteriana en estudio; por otro lado, para el extracto etanólico de *E. coca* se obtuvo la muestra vegetal de la Empresa Nacional de la Coca (ENACO) - Trujillo, que posteriormente a su acondicionamiento fue macerada por 7 días en Etanol Absoluto, procediendo a la preparación final del extracto. Finalmente, después de realizar el método de difusión en discos las placas fueron incubadas a 36.5 °C durante 24 horas; posterior a ello, se efectuó la lectura de los halos de inhibición con una regla milimetrada, los cuales fueron interpretados según las recomendaciones de la CLSI. **Resultados:** El extracto etanólico de *E. Coca* presentó halos inhibitorios frente a *E. Faecalis* con medias de 8.125 mm, 7.745 mm, 7.630 mm y 7.245 mm, para las concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, respectivamente. Por otro lado, el control positivo (*G. Clorhexidina* al 0.12%) presentó halos de inhibición de 14,475mm. **Conclusiones:** Existe una diferencia significativa entre los halos medios de inhibición entre las concentraciones de *E. Coca* y *G. Clorhexidina* al 0,12%, con una significancia del 5%, lo que nos indica que, si bien los extracto etanólico de *E. Coca* “Coca” tienen un efecto positivo, no es comparable al efecto que tiene el *G. Clorhexidina* al 0.12%.

Palabras Claves: Antibacterianos, *Enterococcus Faecalis*, Técnicas in vitro, Coca. (Fuente: DeCS Bireme).

ABSTRACT

Importance of *F. Faecalis* has been reported as the main pathogen that can adversely influence root canal treatment. **Objective:** to determine the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Erythroxylum Coca* (*E. Coca*) against *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™. **Materials and Methods:** Study with a quantitative, experimental in vitro, cross-sectional, prospective approach. The bacterial strain was obtained from the American Type Culture Collection (ATCC), the concentrations to evaluate the antibacterial effect by the disk diffusion method were (25%, 50%, 75% and 100%), in addition to the positive controls and negative were (*G. Chlorhexidine* 0.12% and *Sodium Chloride* 0.9%), respectively. Likewise, *Mitis Salivarius* agar (LIOFILCHEM) was used for the growth of the bacterial strain under study; On the other hand, for the ethanolic extract of *E. coca*, the plant sample was obtained from the National Coca Company (ENACO) - Trujillo, which after its conditioning was macerated for 7 days in Absolute Ethanol, proceeding to the final preparation of the abstract. Finally, after performing the disk diffusion method, the plates were incubated at 36.5 °C for 24 hours; After that, the inhibition halos were read with a millimeter rule, which were interpreted according to the CLSI recommendations. **Results:** The ethanolic extract of *E. Coca* presented inhibitory halos against *E. Faecalis* with means of 8,125 mm, 7,745 mm, 7,630 mm and 7,245 mm, for concentrations of 100%, 75%, 50% and 25%, respectively. On the other hand, the positive control (*G. Chlorhexidine* 0.12%) presented inhibition halos of 14.475mm. **Conclusions:** There is a significant difference between the mean inhibition halos between the concentrations of *E. Coca* and *G. Chlorhexidine* at 0.12%, with a significance of 5%, which indicates that, although the ethanolic extracts of *E. Coca* "*Coca*" have a positive effect, it is not comparable to the effect of *G. Chlorhexidine* 0.12%.

Keywords: Antibacterials, *Enterococcus Faecalis*, In vitro techniques, *Coca*.

(Fuente: MeSH).

ÍNDICE

Aprobación del Jurado	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Realidad problemática	9
1.2. Trabajos Previos	11
1.3. Teorías relacionadas al tema	14
1.3.1. Enterococcus	14
1.3.2. Enterococcus Faecalis.....	14
1.3.3. Erythroxyllum Coca.....	15
1.3.4. Medicina Tradicional	16
1.3.5. Medicina Herbolaria	16
1.3.6. Farmacognosia.....	17
1.3.7. Biopelícula oral	17
1.3.8. Agentes antimicrobianos	17
1.3.9. Medios de cultivo	18
1.3.10. Método Kirby Bauer.....	18
1.3.11. Principios de Bioseguridad.....	18
1.3.12. Cabinas de bioseguridad	19
1.3.13. Gluconato de Clorhexidina	20
1.3.14. Técnica turbidimétrica y Escala de McFarland.....	20
1.4. Formulación del problema	20
1.5. Justificación e importancia del estudio	21
1.6. Hipótesis	22
1.7. Objetivos	22
1.7.1. Objetivo General.....	22
1.7.2. Objetivos Específicos	22
II. MATERIAL Y MÉTODO	23
2.1. Tipo y Diseño de Investigación	23
2.2. Población y muestra	23
2.2.1. Criterios de Inclusión	23
2.2.2. Criterios de Exclusión	23
2.3. Variables, Operacionalización	23
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	25
2.5. Procedimiento de análisis de datos	27

2.6.	Criterios éticos	27
2.7.	Criterios de rigor científico.....	27
III.	RESULTADOS.....	28
3.1.	Tablas y figuras.....	28
3.2.	Discusión de resultados	35
IV.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
4.1.	Conclusiones	38
4.2.	Recomendaciones	38
	REFERENCIAS.....	39
	ANEXOS.....	44
	ANEXO N°01.....	44
	ANEXO N°02.....	45
	ANEXO N°03.....	46
	ANEXO N°04.....	47
	ANEXO N°05.....	48
	ANEXO N°06.....	49
	ANEXO N°07.....	50
	ANEXO N°08.....	51
	ANEXO N°09.....	52
	ANEXO N°10.....	53
	ANEXO N°11.....	54
	ANEXO N°12.....	55
	ANEXO N°13.....	56
	ANEXO N°14.....	58

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

La asintomatología, ausencia de inflamación y fístulas, la conservación de un diente vital y sólido en su alveolo, nos muestran el éxito de un tratamiento de conductos; frente a ello, queda un 14% y 2% de los mismos que pueden fracasar. Asimismo, se asocia a ello la fijación bacteriana, como consecuencia de no cumplir con los estándares o protocolos antes, durante y después del tratamiento antes mencionado; entre ellos, deficiencias en la obturación, conformación de conductos inadecuados, conductos sin tratar, separaciones de instrumentos. Ante ello, se relaciona ante los fracasos de tratamientos de conductos al *Enterococcus Faecalis* (*F. Faecalis*), entre los primeros microorganismos en colonizar la microbiota pulpar con una diseminación que puede llegar hasta el tejido óseo.¹

Se ha reportado importancia del *F. Faecalis*, como el principal patógeno que puede influir de manera desfavorable en el tratamiento de conductos. Sin embargo, se ha identificado más este microorganismo en retratamientos, que en infecciones iniciales con una prevalencia mayor a 80%. Ahora bien, entre sus características encontramos que, es un coco gram positivo, pudiéndose adaptar a una ecología muy diversa con poco oxígeno.² Asimismo, su gran capacidad para generar daño y su difícil lisis del *E. faecalis*, se relaciona a su producción de biopelículas, debido que esta última es responsable de más del 60% de infecciones, presentando mayor resistencia que las células planctónicas.³

Al *E. Faecalis* se ha podido aislar en ambientes en equilibrio. Sin embargo, el problema radica cuando se pierde este principio, porque puede ser responsable de infecciones graves, con un peligro mayor si el individuo se encuentra en un entorno nosocomial. Por otro lado, su presencia más reconocida es en el ambiente subgingival de pacientes inmunosuprimidos.⁴ Los efectos sobre el huésped relacionado con este microorganismo puede afectar de una manera muy perjudicial para mantener la salud del órgano dentario, a ello se le conoce como factores de virulencia, que logran que el microorganismo tenga una efectividad dañina sobre un nido del huésped.

Los factores de virulencia del *E. Faecalis* son conocidos como el desvío inmunológico y su vínculo a proteínas de la matriz extracelular. Es por ello, que cuando estos factores no se encuentran la infección comienza a disminuir. Las biopelículas formadas por estos microorganismos dependerá de las oportunidades de colonizar un huésped con éxito, con dos objetivos fundamentales; la primera, para acarrear una patología; y la segunda, que es la más preocupante debido a que compromete la vitalidad general de la persona, es la que puede establecer resistencia antibiótica. Ahora bien, en cuanto a la proteasa bacteriana conocida como Gelatinasa, genera posibles daños a las células con afección; asimismo, la toxina denominada Hemolisina, es la responsable de causar la ruptura de la membrana celular, además de poder generar una fagocitosis reducida.⁵

Asimismo, entre sus mecanismos de acción, los más conocidos encontramos, transposones, plásmidos y intercambio de plásmidos. Además, entre las resistencias que más se han reportado son, al eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina, clindamicina aminoglucósidos de alto nivel, vancomicina, beta-lactamasa. En Estados Unidos de América (USA), se identificó la primera cepa de *E. Faecalis* con código de cepa V583 resistente a la Vancomicina. En la secuencia del genoma encontrado se identificó más de 20% elementos, entre ADN y genomas móviles. A mediados del año 2000, se encontró en infecciones producidas por *Staphylococcus Aureus*, aislados de *E. Faecalis*, lo que nos explica la movilización del *E. Faecalis* en las resistencias a otras especies de relevancia clínica.⁶

Finalmente, lo antes mencionado, motivó a realizar la presente investigación que tendrá como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *erytroxylum coca* frente *enterococcus faecalis* ATCC®51299™.

1.2. Trabajos Previos

Nacional

Loyola D. et al (2020). “Extracto etanólico de *Schinus molle* L. (molle) y *Erythroxylum coca* Lam (coca): propiedades antibacterianas a diferentes concentraciones contra *Streptococcus mutans* : un estudio in vitro”, compararon la efectividad respecto a dos concentraciones frente a *Streptococcus Mutans*. Concluyeron que el ambas concentraciones de las muestras en estudio tuvieron efecto antibacteriano, teniendo la concentración al 75% mayor efecto (11,2 mm; 11,6 mm y 11,3 mm; 11,8 mm, respectivamente); sin embargo, dicho efecto no fue superior al grupo control (Gluconato de Clorhexidina 0,12).⁷

Salcedo M. (2018). “Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* y *Erythroxylum coca* var. *coca* frente al *Streptococcus mutans*”. Determinar el efecto antibacteriano de ambas especies de hojas de Coca sobre *Streptococcus Mutans*, en el estudio se evaluó tres concentraciones (100%, 50%, 25% y 12,5%), mediante en método Kirby-bauer a las 24 y 48 horas. Concluyó en su estudio que la hoja de Coca var. Coca al 100% y 50% tiene mayor efecto antibacteriano que la variedad *E. novogranatense* var.⁸

Luna M, Díaz C, Baca F. (2017). “ 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”. Realizaron un estudio experimental, Los extractos acuoso, ácido y alcohólico presentaron efecto sobre *Trichophyton Rubrum* (TR), *Microsporum Canis* (MC) en extracto alcohólico. Además hubo diferencia de velocidad de crecimiento de CA, TR y TM en extractos acuoso, ácido y alcohólico comparado con AS, pero entre ellos solo TR, TM y MC presentaron diferencia con la velocidad.⁹

Hurtado Y. (2017). “ Asociación entre la masticación de la hoja de Coca y la prevención de la Caries dental en los pobladores del caserío de Buenos Aires, jaén”. Su investigación de cohorte, analizó a 33 pobladores, de los cuales 16 fueron casos y 17 controles, para recolectar datos utilizó la lista

de cotejos y el odontograma, como resultados generales obtuvo un Riesgo Relativo (RR) de 0,27. Finalmente , el autor concluyó que masticar hoja de coca puede prevenir la caries dental.¹⁰

Mejía E. (2017). “Efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense* (COCA) y la clorhexidina frente a *Streptococcus mutans* ATCC25175”. Mediante la técnica Kirby Bauer, realizando 23 réplicas en su procedimiento experimental, tuvo a la Clorhexidina al 2% como control positivo, se incubaron las muestras a 37 °C, los halos se identificaron y evaluaron mediante una regla en milímetros, al día siguiente de la experimentación. Sus resultados finales demostraron que tanto el extracto alcohólico de *Erythroxyllum novogranatense* y la Clorhexidina presentan efecto inhibitorio frente a la cepa en estudio.¹¹

Enciso C. (2016). “Estudio in vitro de la actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxyllum coca* sobre bacilos negro pigmentantes”. Utilizó dos métodos para identificar la actividad antibacteriana (Kirby Bauer y Dilución en medio líquido). Las muestras bacterianas fueron recolectadas clínicamente de bolsas periodontales mayores a 4mm pacientes atendidos en la Facultad de Odontología de la UNMSM. Los resultados para el primer test mostraron sensibilidad límite para las concentraciones de 12,5% y 100%, mientras que para el siguiente test la concentración mínima inhibitoria fue la de 100%.¹²

Ramos A. (2012). “Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxyllum coca* sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio in vitro”. En su estudio se utilizó el método de dilución en medio líquido y difusión en Agar. Los resultados del primer método nos mostraron que la concentración al 100% tiene sensibilidad límite sobre el crecimiento de la bacteria. Ahora bien, en el segundo test la concentración mínima para evitar el crecimiento de la bacteria fue de 6,25% el cual representa la concentración mínima inhbitoria.¹³

Rojas R. (2011). “Eficacia antibacteriana in vitro del extracto de hoja de coca en comparación con Clorhexidina frente a *Staphylococcus* y *Streptococcus*”. Obtuvo el extraco mediante maceración alcohólica de

Erythroxyllum Coca Lam. Asimismo, la evaluación del efecto antibacteriano se realizó mediante la técnica de difusión en disco, se incubaron las muestras a 37 °C, por 24 y 48 horas. Tuvo como conclusiones de su investigación que, existió efecto inhibitorio en las concentraciones de 100 y 1500 µl/ 20 µl, pero no fue superior este al control positivo.¹⁴

Alvarado V, Moromi H. (2010). “Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxyllum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camelia Sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica”. La metodología que se utilizó es la técnica de Kirby Bauer, respecto a *L. acidophilus*, *S. mutans*, *Prevotella melaninogenicus*, *Actinomyces viscosus* y *Fusobacterium nucleatum*. Ahora bien, los extractos fueron macerados mediante extracto hidroetanólico y se obtuvo el extracto seco mediante la destilación de los mismos. Por otro lado, se utilizó G. clorhexidina al 0,12% para control positivo y alcohol étlico para el control negativo. Se concluyó que los tres extractos tuvieron efectividad antibacteriana frente a los microorganismos antes mencionados en sus concentraciones de 25% y 50%.¹⁵

Minaya P. (2008). “ Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense var truxillense* (coca) frente a bacterias orales cariogénicas”. Se estudiaron las siguientes bacterias (*S. mutans* y *Lactobacillus Casei*). Dentro de los controles positivos y negativos, se utilizaron alcohol 96% y agua destilada, respectivamente. Respecto a la media del efecto inhibitorio para *S. mutans* fue 34,4 mm y para *L. Casei* 33,7 mm. Concluyendo que el extracto tuvo mayor efecto inhibitorio que el control positivo.¹⁶

Borrovic F. (2006). “ Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxyllum novogranatense Var. Truxillense* (coca) sobre flora mixta salival”. El extracto se obtuvo mediante la maceración alcohólica. El presente estudio concluye que el extracto em estudio presenta efecto inhibitorio frente a las muestras salivales estudiadas con halos de 13,46 mm y 14,71 mm, presentando mayor efecto antibacteriano que los controles.¹⁷

Local

Cossio B. (2018). “ Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Erythroxylum Coca* “Coca” frente a *Streptococcus Mutans* ATCC 35668”. En su estudio identificó el efecto inhibitorio mediante la técnica de Kirby Bauer, la cepa fue estandarizada de la misma American Type Culture Colletions, las concentraciones con las cuales trabajó fue 25%, 50% y 75%, como control positivo utilizó Gluconato de Clorhexidina al 0,12%. Entre sus resultados podemos valorar que las concentraciones de 50% y 75% tuvieron efecto inhibitorio frente a *S. mutans*.¹⁸

1.3. Teorías relacionadas al tema

1.3.1. Enterococcus

Anaerobios facultativos grampositivos, no esporulantes, conocidos por ser resistentes a un gran grupo de fármacos. Responsables de muchas infecciones intrahospitalarias. Se han aislado un poco más de 35 especies con diferente tipo de adaptación; sin embargo, si hay responsables de la mayoría de las infecciones son *Enterococcus Faecalis* y *Enterococcus Faecium*.¹⁹

Estas bacterias son capaces de adaptarse a circunstancias que otros microorganismos no podrían resistir, pudiendo no afectarle la falta de oxígeno, en el medio ambiente es fácil poder encontrar este tipo de bacterias. Asimismo, es sabido que lo encontramos también en el tracto gastrointestinal y cavidad bucal, dependiendo mucho de la especie.²⁰

1.3.2. Enterococcus Faecalis

Elaboradores de ácidos (láctico, fórmico, acético), partiendo de la transformación de la glucosa, entre los lugares que puede ser aislado y tiene relevancia estomatológica, se encuentra la cavidad bucal. Sin embargo, puede ser responsable de infecciones en la vía urinaria o también en las endocarditis.²¹⁻²⁵

1.3.3. *Erythroxyllum Coca*

Erythroxyllum Coca, es considerada como una de las plantas con principios activos terapéuticos más antiguas, su uso se ha encontrado hace más de 7000 años, su mayor consumo se identifica en las ciudades vecinas a la cordillera de los Andes, se sabe que en Perú existen más de 3 millones de personas que consumen aún la hoja de Coca. Por otro lado, en ciertas zonas de países latinoamericanos, la hoja de Coca representa un valor cultural y metafísico, la primera porque individuos la utilizan como parte de su vida diaria para fortalecerse mentalmente y físicamente para jornadas largas de trabajo, así también para poder relacionar familias y la comparten en ceremonias importantes como símbolo de respeto; ahora bien, en cuanto al valor metafísico, se utiliza en ofrendas a la “Madre tierra” mostrando respeto y ofreciéndole algo muypreciado para ellos, así es como la cultura pide que le vaya bien en sus objetivos familiares y sociales.²⁶

Encontramos este arbusto en gran cantidad continente Americano, no menos de 100 especies reconocidas, también existen hojas de Coca en Oceanía y Africa. Por otro lado, se pueden identificar más de 10 alcaloides en las hojas, pudiendo varias según especie, entre los alcaloides más importantes tenemos, higrina, cuscohigrina, nicotina, metilecgonina, tropina, benzoilecgonina y el alcaloide más conocido identificado con el nombre de cocaína. Por otro lado, se reconocen sus usos más relevantes como la masticación directa, infusiones, entre otros. Se han reportado diversos estudios que demuestran la efectividad de la hoja de coca como antibacteriano, antifúngico, antiinflamatorio y anestésico.²⁷

Metabolitos primarios de Erythroxyllum Coca²⁸

- Lípidos
- Proteínas
- Carbohidratos
- Aminoácidos
- Grasas

Metabolitos secundarios de Erythroxyllum Coca²⁹

- Alcaloides de tropano y Pyridina
- Terpenos
- Flavonoides

1.3.4. Medicina Tradicional

Desde tiempos remotos se han usado diferentes productos de la naturaleza para el cuidado de las personas con diferentes afecciones, a ello se le conoce como medicinal tradicional, aquellos conocimientos se han podido transmitir de generación en generación, tal es así que se han convertido hoy en día una práctica normal entre las familias. Ahora bien, con el avance de la ciencia se puede conocer en profundidad los diversos componente de productos naturales, ya sean de origen vegetal o animal.³⁰

1.3.5. Medicina Herbolaria

Los productos de origen vegetal hasta la actualidad son reconocidos por sus amplios beneficios en la salud general, a ello se conoce como medicina herbolaria, existe una gran cantidad de vegetales que contienen efectos terapéuticos ideales para prevenir y combatir diversas patologías, gracias a sus componentes activos que contienen entre su amplia gama de metabolitos primarios y secundarios.³¹

1.3.6. Farmacognosia

Para estudiar los principios activos, bioquímica y los componentes principales de futuros productos o medicamentos que sean de origen natural (vegetal, microbiano o animal), necesitamos de la ciencia denominada Farmacognosia. En cuando a los productos de origen vegetal, tienen siempre un compuesto más complejo e invariable a la de los otros fármacos de diferente origen, ello puede deberse a las variabilidades externas en la que se puede exponer tales hierbas, factores como el ambiente diverso, pueden jugar un papel importante en cuanto a la cantidad y calidad de metabolitos de las plantas, sumado a que el tratamiento de las plantas poscosecha, secado y almacenamiento pueden alterar de manera irreversible el material herbal.³²

1.3.7. Biopelícula oral

Colectividad de una amplia cantidad de serie de microbios asociados a una matriz extracelular de polisacáridos, responsables por su factor de virulencia de varias enfermedades infecciosas orales cuando se encuentran en desequilibrio. Asimismo, la etapa de crecimiento o conservación de la misma comprende fijación de microorganismo, desarrollo y disgregación de la biopelícula. Todo agente que interfiera en el ciclo del biofilm, es un potencial conservador del equilibrio del mismo; además, la complejidad de la flora bacteriana bucal, hacen que los que postulen como agentes antibacterianos bucales, necesiten tener una sustentividad cada vez más prolongada.³³

1.3.8. Agentes antimicrobianos

En la lucha contra las infecciones mundiales y para reducir los índices de resistencia a estos, los antimicrobianos representan la primera línea de lucha frente a ello, debido a que lo antes mencionado representa una advertencia a tener en cuenta para la salud pública mundial. Por lo tanto, en la actualidad se vienen buscando nuevas alternativas de tratamientos frente a las infecciones que se presentan cada vez más complejas en

individuos de todo el mundo; frente a ellos se está mirando como buenas respuestas ante esta amenaza a los remedios antiguos usados por nuestros antepasados, entre ellos el *Erythroxyllum Coca*.³⁴

1.3.9. Medios de cultivo

Tienen la capacidad de permitir la reproducción del microorganismo; es por ello, que contienen diversos componentes nutritivos para poder brindarles un ambiente donde puedan desarrollarse de la mejor manera. Por otro lado, podemos encontrar medios líquidos y sólidos, mientras que si los diferenciamos por su aporte nutritivo podemos encontrar usuales o enriquecidos; por un lado, los usuales, con menos cantidad de nutrientes, pero necesarias para el desarrollo de bacterias metabólicamente no oxigenantes, mientras que los enriquecidos, se potencian con vitaminas o cofactores, ideales para estreptococos, neumococo, genococo y bacterias hemófilas.³⁵

1.3.10. Método Kirby Bauer

También conocido como método de difusión en discos, que consiste en colocar sensidiscos encima del medio de cultivo, en tales discos se impregnará las soluciones a estudiar, se considera un método práctico, preciso y reproducible y se recomienda como método de prueba estándar para evaluar susceptibilidad microbiana.³⁶

1.3.11. Principios de Bioseguridad

Buenos protocolos de trabajo y una concientización sobre el trabajo con materiales e insumos que pueden dañar su salud, es parte de ser profesionales capacitados para seguir cada paso que rigen las normas en los laboratorios. Ahora bien, existen barreras de las cuales podemos aprovechar para complementar de la mejor manera el nivel de seguridad básico y estas barreras son primarias y secundarias. Las primeras, protegen al entorno como tal, en estas se incluyen las cabinas de bioseguridad y los equipos de protección individual. Por otro lado, en las barreras secundarias, se llega a proteger al personal más cercano,

como al más lejado con adecuadas áreas de trabajo que van a velar por la seguridad de todos los que estén en el ambiente antes, durante y después de los procedimientos, teniendo cada lugar para trabajos específicos y con reglamentaciones fijadas y señalizadas donde corresponda.³⁷

1.3.12. Cabinas de bioseguridad

Son equipos de laboratorios, que forman parte de bioseguridad no solo del personal que manipula el material biológico sino también del ambiente donde este se desarrolla, pudiendo mantener un correcto control del mismo, la finalidad de su uso radica en que disminuye la contaminación por los aerosoles provenientes de los materiales en uso, atenuando una posible infección por parte de los investigadores. Por otro lado, existen en el mercado variedad de marcas pero en cuanto a su clasificación podemos reconocerlas por su capacidad de funcionamiento de filtros o por la capacidad de contención de aerosoles (Cabinas de bioseguridad clase I, II y III).³⁸

Clases de cabinas de bioseguridad

La cabina de bioseguridad clase I, está diseñada para poder trabajar con microorganismos de bajo o medio, además se reconoce que protege tanto al investigador como al ambiente. Asimismo, las cabinas de bioseguridad clase II, representan además una protección adicional al producto experimental debido a el aire de los filtros Hepa recorren de una manera uniforme, presentan subdivisiones (A y B). Finalmente, las cabinas de bioseguridad clase III, son probablemente las más seguras debido a su sellado hermético, se puede usar con todos los microorganismos debido a su seguridad, no se indica utilizar con gases debido a posibles explosiones por su presión negativa que ejerce.³⁸

1.3.13. Gluconato de Clorhexidina

En la actualidad es el antiséptico más utilizado para evitar posibles afecciones en la cavidad bucal, debido a su amplio campo de acción. Su creación data por los años 1940 por la empresa denominada “Industrias químicas imperiales” con otros fines. Por otro lado, uno de sus mecanismos de acción radica en evitar la formación de la película adquirida y evitar el buen desarrollo de patógenos colonizadores. Entre sus concentraciones más usadas encontramos al 2% y 0.12%. En la actualidad se utiliza como agentes controles para diferentes estudios en las cuales se desea evaluar productos nuevos de diversos orígenes evidenciando un posible mayor efecto antibacteriano que el Gluconato de Clorhexidina.³⁹

1.3.14. Técnica turbidimétrica y Escala de McFarland

Es una de las técnicas más utilizadas para evaluar la turbidez mediante un turbidímetro en una sustancia líquida, en cuanto a su uso para inóculos de microorganismos en medio líquido, mide tanto la intensidad de luz como su dispersión, identificando la concentración suspendidos bacterianos. Ello nos ayuda para evaluar la cantidad de bacterias en la suspensión teniendo como patrón estándar la escala de McFarland.⁴⁰

1.4. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto antibacteriano el extracto etanólico de *Erythroxylum* Coca “Coca” frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™?

1.5. Justificación e importancia del estudio

En los tratamientos de conductos donde no se han cumplido con las metas terapéuticas deseadas, se reconocerá la sintomatología dada por una infección radicular, entre otros microorganismos, el que se encuentra con mayor preponderancia es el *E. Faecalis*, su capacidad para proliferarse y producir daño es reconocidas debido a sus factores de virulencia.

Los extractos de origen vegetal, a lo largo de años vienen siendo puestos a prueba para evidenciar sus capacidades terapéuticas y separando sus principios activos para poder ser usados en beneficio de la sociedad; asimismo, tales resultados vienen dando oportunidades de poder ampliar el ámbito farmacológico y diversidad de elección en cuanto a productos naturales, tal es así que los productos de origen sintético están siendo relegados por muchas personas y profesionales de la salud. Todo ello debido a que los beneficios de muchos productos naturales que se han reportado son: antibacteriano, antifúngico, anestésico, antiviral, antiinflamatorios.

La importancia teórica del presente estudio radica en que, si los resultados son positivos con el uso de los principios activos de *Erythroxyllum coca* frente a *Enterococcus Faecalis*, podría ser el inicio de una investigación más profunda para poder elaborar un producto natural como irrigante de conductos, con los beneficios que este traería para los Cirujanos Dentistas de nuestro país y el mundo, obteniendo un excelente irrigante a un costo más accesible.

Asimismo, su importancia investigativa radica en que, en la actualidad no existe reporte de investigaciones que evalúen el efecto antibacteriano de la hoja de Coca frente a *E. Faecalis* en nuestro país lo que podría sumar de manera sustancial en la formación de una futura línea de investigación de las propiedades y principios activos de esta hoja en estudio.

Finalmente, debido a los antecedentes y teoría tan importante sobre el uso de la hoja de Coca en diferentes terapias para el beneficio de la salud, motivó a realizar la presente investigación que tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *erythroxyllum coca* “coca” frente *enterococcus faecalis* ATCC®51299™.

1.6. Hipótesis

H₁: El extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” presenta efecto antibacteriano frente a la cepa de E. Faecalis ATCC®51299™.

H₀: El extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” no presenta efecto antibacteriano frente a la cepa de E. Faecalis ATCC®51299™.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo General

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

1.7.2. Objetivos Específicos

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 100% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 75% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 50% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 25% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1. Tipo y Diseño de Investigación

La investigación en cuestión tuvo un enfoque cuantitativo debido a que se utilizaron datos numéricos de los halos de inhibición, experimental in vitro porque la evaluación del efecto antibacteriano se realizó fuera de un ser vivo en laboratorio, transversal y prospectivo porque los datos se recolectaron en el presente y en un determinado momento.

2.2. Población y muestra

La presente investigación tuvo como población las placas petri inoculadas con la cepa de *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™. Por otro lado, el muestreo fue no probabilístico por conveniencia, de 1 extracto, 4 concentraciones, 1 cepa bacteriana, 20 repeticiones. Por lo tanto, se obtuvo 80 unidades experimentales.

2.2.1. Criterios de Inclusión

- Medio de cultivo con *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™.
- Extracto etanólico de *Erythroxylum Coca* “coca”.
- Gluconato de Clorhexidina 0.12% (Control positivo).
- Cloruro de Sodio 0.9% (Control negativo).
- Forma del halo de inhibición regular

2.2.2. Criterios de Exclusión

- Contaminación del medio.

2.3. Variables, Operacionalización

Variable Independiente

Extracto alcohólico de *Erythroxylum Coca* “coca”

Variable Dependiente

Efecto antibacteriano

Operacionalización

Variables	Dimensiones	Indicadores	Ítem	Técnica e instrumento de recolección de datos
Variable Independiente: Extracto alcohólico de <i>Erythroxyllum Coca</i> "coca"	Etanólico	Contenido del extracto y sus respectivas concentraciones	Concentraciones 25% 50% 75% 100%	Maceración, evaporación y condensación
Variable Dependiente: Efecto antibacteriano	Halo de inhibición	Medida del efecto inhibitorio mediante la técnica de difusión en discos	Milímetros (mm)	Regla milimetrada
Covariable Microorganismo	Inóculo bacteriano	Organismo microscópico que puede o no tener sensibilidad frente al extracto en estudio	<i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC®51299™	Microorganismo estandarizado
Covariable Controles	Gluconato de Clorhexidina (Control Positivo) Cloruro de Sodio (Control Negativo)	Sustancias obtenidas de diversas formas químicas con las que se controlará el efecto inhibitorio	0.12% 0.9%	Concentraciones comerciales

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.4.1. Recolección de la hoja de *Erythroxylum Coca* “coca”

En la presente investigación se obtuvieron las hojas secas y frescas mediante la Empresa Nacional de la Coca (ENACO), mediante su sede Trujillo. Asimismo la empresa otorgó la constancia de la especie y variedad de dichas hojas.

2.4.2. Acondicionamiento de la hoja de *Erythroxylum Coca* “coca”

Posteriormente a la obtención de la hoja en estudio, se lavó con agua y desinfectó con alcohol al 96%. Además se dejó enfriar a temperatura ambiente y pasó después a un segundo secado mediante una estufa a 40 °C durante 5 horas. Posteriormente, se procedió a ejecutar la molienda de forma artesanal.

2.4.3. Preparación del extracto etanólico de *Erythroxylum Coca* “coca”

Después de obtener la especie vegetal en estudio molida, se procedió a la elaboración del extracto etanólico; ahora bien, se colocó en un frasco color ámbar 250 mg de material vegetal, además se agregará 750 mL de etanol químicamente puro (Merck, Darmstadt, Alemania), siguiendo el procedimiento se conservó para su maceración dicha sustancia durante 7 días en constante circulación para poder extraer la mayor cantidad de principios bioactivos. Además, se llevó tal solución a un Rotavapor después de haberse filtrado tres veces con papel filtro (Whatman), tal paso concluyó con el extracto seco disponible para su dilución posterior. Posteriormente, antes de experimentar se realizaron las concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), ello fue pesado en una balanza de laboratorio.

2.4.4. Planificación y estructuración de la Cepa bacteriana *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™

Para la presente investigación se utilizó cepas con registro comprobado y liofilizadas de la American Type Culture Collection (ATCC), para su utilización en el procedimiento

experimental se reactivó un día antes (24 horas) mediante Agar Nutritivo, a 37 °C. Por otro lado, con ayuda de la técnica turbidimétrica se estandarizó el inóculo a 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Todos procedimientos se realizaron según las especificaciones de la metodología (M-100), del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio.⁴¹

2.4.5. Siembra e identificación del efecto antibacteriano por método de difusión en disco

Para evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Erythroxylum Coca* “coca” frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™, se utilizó Agar Mitis Salivarius (Merck, Darmstadt, Alemania), sobre el cual se dispersó el inóculo sobre la superficie del agar con un hisopo estéril en direcciones distintas para asegurarnos un crecimiento regular, pudiendo posteriormente controlar el exceso de humedad; asimismo, siguiendo con el procedimiento se prepararon los discos de papel filtro con 6 mm de diámetro (Whatman) con las concentraciones del extracto en estudio y los controles positivo y negativo (Gluconato de Clorhexidina 0.12%, Cloruro de Sodio 0.9%), respectivamente, Según lo recomendado por el Instituto de estándares clínicos y de laboratorio. Después se procedió a colocarlos en la superficie del Agar Mitis Salivarius; finalmente, las placas Petri fueron rotuladas, selladas e incubadas a 36.5 °C durante 24 horas.⁴²

2.4.6. Lectura e interpretación de resultados

Finalmente, después de la incubación durante 24 horas se procedió a la medición de los halos de inhibición con una regla milimetrada, se interpretó siguiendo las recomendaciones del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio. Asimismo, se considerará actividad nula de 0 - 9 mm, sensibilidad límite 9-14mm, sensibilidad intermedia de 15-19mm y por último sumamente sensible 20mm a más.⁴¹

2.5. Procedimiento de análisis de datos

Se realizó estadística descriptiva e inferencial. En cuanto a la descriptiva se empleó media, varianza y desviación estándar; por otro lado, para el análisis de normalidad se usó la prueba Shapiro-Wilk en relación al número de datos por tratamiento (n=20). Asimismo, se utilizó pruebas no paramétricas, debido a que los datos numéricos no presentaron normalidad por lo que se emplearon las pruebas estadísticas H de Kruskal-Wallis para evaluar el efecto de las concentraciones en conjunto y U de Mann-Whitney para evaluar el efecto de las concentraciones individualmente. Además, para la comparación de las concentraciones del extracto con el Control Positivo (Gluconato de Clorhexidina 0.12%), se utilizó la prueba Bonferroni, todo ello con un nivel de confianza de 95%.

2.6. Criterios éticos

El presente proyecto de investigación fue evaluado por el comité de ética en investigación de la Universidad Señor de Sipán, se reconoció, identificó y respetó los principios de bioseguridad para las prácticas microbiológicas, disminuyendo riesgos de contaminación, en especial con productos biológicos. Asimismo, se llevó a cabo con profesionales con amplia experiencia, en ambientes ideales para estudios in vitro, respetando los principios éticos establecidos en la declaración de Helsinki.⁴³

2.7. Criterios de rigor científico

Respecto a los protocolos, fueron procedimientos correctamente estandarizados siguiendo parámetros utilizados en investigaciones en laboratorios internacionales como lo establece la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Asimismo, se aseguró que la investigación cumpla con los requisitos propios de un manuscrito fidedigno, se empleó cepas estandarizadas para la realización del experimento. Se disminuyeron los sesgos debido a que la investigación contó con profesionales capacitados en el área a desarrollarse la misma. Todos los procedimientos fueron debidamente señalados para futuras investigaciones, debido a que es reproducible su metodología, pudiendo incentivar futuros proyectos investigativos in vitro.

III. RESULTADOS

3.1. Tablas y figuras

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Erythroxyllum Coca* “Coca” frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™

Tabla 1

Estadísticos de los factores del extracto etanólico de *Erythroxyllum Coca* “Coca” y *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™

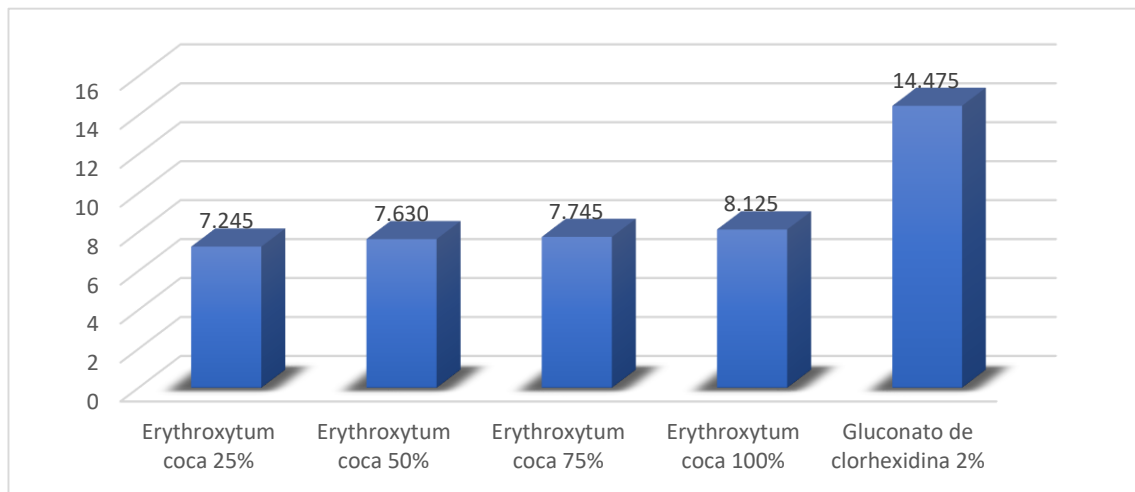
Estadísticos	Extracto etanólico de <i>Erythroxyllum coca</i>				G. Clorhexidina 0.12%. (Control Positivo).
	25 %	50%	75%	100%	
Media	7,245	7,630	7,745	8,125	14,475
Varianza	0,244	0,171	0,222	0,253	1,085
Desv. Desviación	0,494	0,413	0,471	0,503	1,042
Prueba estadística					Halos de Inhibición (mm)
H de Kruskal-Wallis					62,071
Grados de libertad					4,000
Sig. asintótica (bilateral)					0,000

Fuente: Elaboración del autor.

El efecto antibacteriano frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™ medido mediante halos medios de inhibición producidos por el extracto etanólico de *Erythroxyllum coca* al 25% es de 7,245 mm, el cual se va incrementando de acuerdo al incremento del porcentaje del extracto, llegando a un halo medio de inhibición de 8,125 mm al 100% de este extracto, mientras que el Gluconato de Clorhexidina 0.12% tiene un halo de inhibición de 14,475 mm.

Figura 1

Efecto medio antibacteriano del extracto etanólico de *Erythroxylum Coca* “Coca” y Gluconato de clorhexidina al 2% frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™

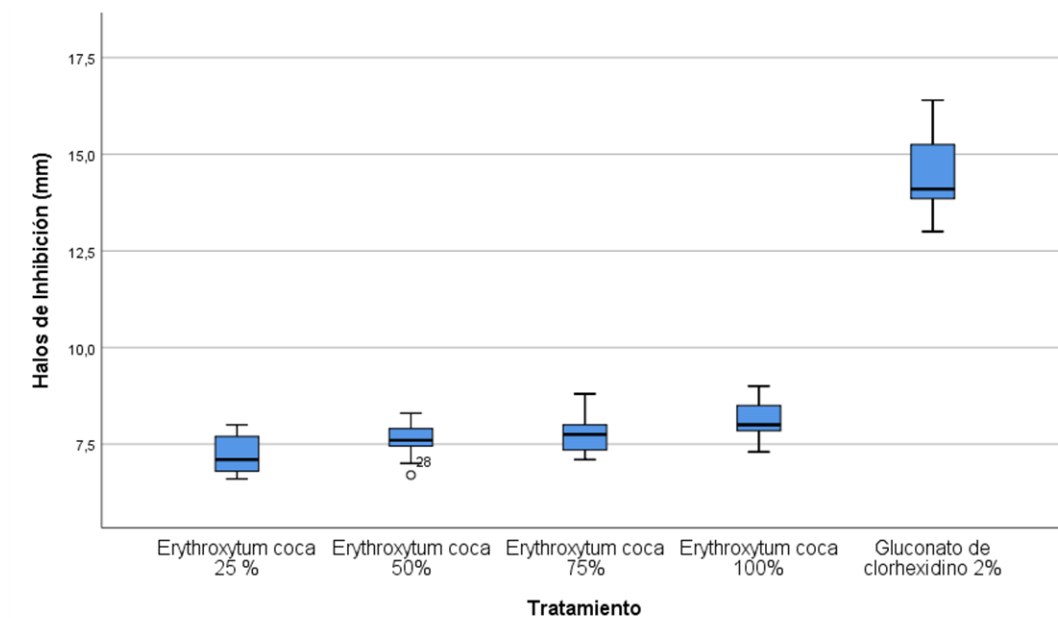


Fuente: Elaboración del autor.

El efecto antibacteriano frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™ medido mediante halos medios de inhibición producidos por el extracto etanólico de *Erythroxylum coca* al 25% es de 7,245 mm, el cual se va incrementando de acuerdo al incremento del porcentaje del extracto, llegando a un halo medio de inhibición de 8,125 mm al 100% de este extracto, mientras que el Gluconato de clorhexidina tiene un halo de inhibición de 14,475 mm.

Figura 2

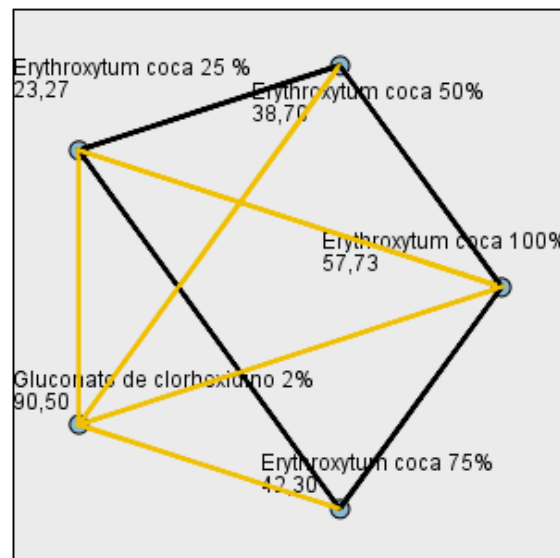
Comparación del efecto de los factores del extracto etanólico de *Erythroxyllum Coca* “Coca” frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™



Fuente: Elaboración del autor.

Figura 3

Comparación entre pares del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Erythroxyllum Coca* “Coca” y Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™



* Cada nodo representa el rango promedio de muestra de cada tratamiento, las líneas amarillas la existencia de diferencias significativas y las líneas negras la no existencia de diferencias significativas.

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 100%.

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 100% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Tabla 2

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 100% y del Gluconato de Clorhexidina 0.12% frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Estadísticos	Erythroxyllum Coca 100 %	G. Clorhexidina 0.12%. (Control Positivo).
Media	8,125	14,475
Varianza	0,244	1,085
Desv. Desviación	0,494	1,042
Prueba estadística	Halos de Inhibición (mm)	
U de Mann-Whitney	0,000	
Sig. asintótica (bilateral)	0,000	

Fuente: Elaboración del autor.

En la tabla 2, se puede apreciar que para el efecto antibacteriano frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™ del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 100%, el halo medio de inhibición es de 8,125 mm, mientras que el Gluconato de clorhexidina al 0.12% presenta un halo medio de inhibición 14,475 mm; además, se encontró en la tabla 2, que existe una diferencia significativa entre los halos medios de inhibición de los dos tratamientos, con una significancia del 5%, lo que nos indica que si bien del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 100% tiene un efecto positivo, no es comparable al efecto que tiene el Gluconato de Clorhexidina al 0.12%.

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 75%.

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 75% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Tabla 3

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 75% y del Gluconato de Clorhexidina 0.12% frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Estadísticos	Erythroxyllum Coca 75 %	G. Clorhexidina 0.12%. (Control Positivo).
Media	7,745	14,475
Varianza	0,222	1,085
Desv. Desviación	0,471	1,042
Prueba estadística	Halos de Inhibición (mm)	
U de Mann-Whitney	0,000	
Sig. asintótica (bilateral)	0,000	

Fuente: Elaboración del autor.

En la tabla 3, se aprecia que el efecto antibacteriano frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™ del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 75%, tiene un halo medio de inhibición de 7,745 mm, mientras que el Gluconato de clorhexidina al 0.12% tiene un halo medio de inhibición de 14,475 mm, a un nivel de confianza del 95%, como se muestra en la tabla 3; así mismo se encontró que existe una diferencia significativa entre los halos medios de inhibición de los dos tratamientos mencionados, con una significancia del 5%, es decir que el efecto que produce el Gluconato de Clorhexidina al 0.12% sigue siendo superior al del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca”.

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 50%.

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 50% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Tabla 4

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 50% y del Gluconato de Clorhexidina 0.12% frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Estadísticos	Erythroxyllum Coca 50 %	G. Clorhexidina 0.12%. (Control Positivo).
Media	7,630	14,475
Varianza	0,171	1,085
Desv. Desviación	0,413	1,042
Prueba estadística	Halos de Inhibición (mm)	
U de Mann-Whitney	0,000	
Sig. asintótica (bilateral)	0,000	

Fuente: Elaboración del autor.

El efecto antibacteriano frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™ del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 50%, tiene un halo medio de inhibición de 7,630 mm, mientras que el Gluconato de clorhexidina al 0.12% tiene un halo medio de inhibición de 14,475 mm; Asimismo, se encontró que existe una diferencia significativa entre los halos medios de inhibición de estas, con una significancia del 5%, lo que indica que el efecto antibacteriano frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™ del Gluconato de Clorhexidina al 0.12% es superior al del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 50%.

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 25%.

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 25% frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Tabla 5

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 25% y del Gluconato de Clorhexidina 0.12% frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Estadísticos	Erythroxyllum Coca 25 %	G. Clorhexidina 0.12%. (Control Positivo).
Media	7,245	14,475
Varianza	0,244	1,085
Desv. Desviación	0,494	1,042
Prueba estadística	Halos de Inhibición (mm)	
U de Mann-Whitney	0,000	
Sig. asintótica (bilateral)	0,000	

Fuente: Elaboración del autor.

En la tabla 5, se determinó que el efecto antibacteriano frente a Enterococcus Faecalis ATCC®51299™ del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 25%, el halo medio de inhibición 7,245 mm, mientras que el Gluconato de clorhexidina al 2% tiene un halo medio de inhibición de 14,475 mm; de igual modo, se encontró que existe una diferencia significativa entre los halos medios de inhibición de estas, con una significancia del 5%, que muestra que el efecto antibacteriano del Gluconato de Clorhexidina al 0.12% es mejor que el del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” al 25% frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™.

3.2. Discusión de resultados

La importancia que representa seguir hoy en día una línea de investigación en todas las áreas de la Odontología toma cada vez más relevancia debido a que se puede seguir un camino recto en cuanto a la búsqueda de nuevas teorías. En el mundo, los investigadores hacen un gran esfuerzo en el área de la salud con la finalidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas con el fin de obtener nuevos productos y al alcance de todos. Ante ello, las ciencias estomatológicas no quedan relegadas de ese esfuerzo tratando de ampliar la gama de posibilidades terapéuticas para la prevención, diagnóstico, tratamiento y rehabilitación de las afecciones bucales, en medio de esa búsqueda constante se trata de encontrar principios activos de origen natural.

Loyola D et al,⁷ Pudieron encontrar propiedades antibacterianas de *Schinus molle* L. (molle) y *Erythroxylum coca* Lam (coca) frente a *S. mutans*, coincidiendo con el presente estudio debido a que el extracto es derivado vegetal; Asimismo, para su investigación utilizaron la Hoja de Coca en su variedad Lam; por otro lado, en el presente estudio se utilizó la variedad Novogranatense Truxillense reconociendo de las diferencias que podrían tener cada una de las variedades; asimismo, se utilizó al *Enterococcus Faecalis* como microorganismo estudiado.

En los resultados del presente estudio se identificó que las concentraciones más altas (75%, 100%) presentan efecto inhibitorio más alto frente a *E. Faecalis*, coincidiendo con lo presentado por Salcedo M.⁸ donde identificó que sus concentraciones más altas de *E. Coca* var. *Coca* y var. *Novogranatense* (100% y 50%) presentaron mayor halo inhibitorio que sus otras concentraciones frente a *S. mutans*. Por otro lado, utilizaron como grupo control alcohol, mientras que en el presente estudio se utilizó Cloruro de Sodio 0.9%.

Existen diversas soluciones para poder obtener o extraer principios activos de los vegetales, dentro de ellos los extractos acuosos, alcohólicos, hidroalcohólicos y ácidos son los más conocidos, la cantidad de sustancia extraída dependerá de los compuestos solubles de cada vegetal para una solución en específica; sin embargo, existe una tendencia en diversas investigaciones donde son los extractos vegetales con solventes alcohólicos presentan mayor efectos inhibitorios que otros, es por ello que el presente estudio se centró en investigar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico

de E. Coca frente a E. Faecalis, coincidiendo con el estudio de Luna M et al,⁹ donde el extracto alcohólico que de E. Coca tuvo mayor efecto antifúngico que los extracto ácidos y acuosos.

Hurtado Y,¹⁰ en su investigación concluyó practicar la masticación de E. Coca como costumbre se presenta como efecto preventivo frente a bacterias de relevancia estomatológica, lo que coincide con la presente investigación debido a que se encontró que la hoja en estudio presente efecto inhibitorio frente a E. Faecalis, ello nos impulsa a buscar nuevos estudios en busca de lo que podría ser una nueva línea de investigación en Odontología.

Se reconoce a la técnica Kirby Bauer como una de las más precisas para estudiar sensibilidades bacteriológicas, es por ello en sus investigaciones Mejía E,¹¹ y Enciso C,¹² utilizaron la técnica en mención coincidiendo con la del presente estudio, identificando lo importante que es seguir las recomendaciones dadas por otros estudios para poder replicar la metodología en la búsqueda de trabajos de calidad y seguir una misma línea de protocolos internacionales.

Ramos A,¹³ demostró que su extracto de E. Coca evita el crecimiento de Porphyromonas Gingivalis, con una concentración mínima inhibitoria de 6,25%, presentando similitud en comparación que en su estudio la bacteria fue una con relevancia en estomatológica en patologías periodontales y en nuestro estudio se investigó a E. Faecalis con importancia estomatoógica en retratamientos endodónticos. Rojas R,¹⁴ investigó la hoja de E. Coca frente a S. Aureus, encontrando similar resultado a la presente investigación, donde el extracto en estudio no superó el efecto que pudo tener el control positivo (G. Clorhexidina 0.12%).

Alvarado V, Moromi H,¹⁵ evaluaron diversas especies vegetales; entre ellas, E. Coca, utilizando como solvente hidroetanol, lo que difiere de la presente investigación en la cual se trabajó con etanol químicamente puro, ello nos muestra que se puede extraer los principios activos de diversos solventes. Finalmente, se recomienda evaluar a futuro que solvente presenta mejor propiedades para la extracción de mayor cantidad de compuestos activos.

Existen variedades en la estructuras de los microorganismos dependiendo de su clasificación, dentro de ese contexto Minaya P,¹⁶ evidenció en su estudio que el extracto alcohólico de E. Coca Novogranatense Var Truxillense tuvo mayor efecto antibacteriano que el grupo control positivo (Alcohol 96%) frente a

bacterias cariogénicas, lo que no coincide con el presente estudio debido a que el efecto inhibitorio del extracto alcohólico de E. Coca Novogranatense no fue mayor que el grupo control positivo (Gluconato de Clorhexidina 0.12%).

Borrovic F,¹⁷ encontró un mayor efecto del extracto alcohólico de E. Coca que el de los controles frente a una flora mixta salival, lo que no coinciden los resultados con el presente estudio, debido a que los efectos del extracto no fueron mayores a los del control positivo. Ahora bien, ello pudo ser a que el inóculo presentaban diversos microorganismos pudiendo presentarse unos más que otros, mientras que en la presente investigación se utilizó una cepa estandarizada de un solo género.

Por otro lado, se reconoce que la unión o mezcla de dos soluciones podría representar una mayor extracción de principios activos en diferentes derivados vegetales y podrían ambas extraer diversos compuestos solubles para cada componente de las mismas, pudiendo representar un sinergismo para obtener mayores efectos farmacológicos en las pruebas de sensibilidad. Ante ello, Cossio B,¹⁸ en su estudio elaboró un extracto hidroetanólico de E. Coca para evaluar su efecto antibacteriano frente a S. Mutans, obteniendo valores representativos de halos de inhibición, ello representa una importancia de elaborar extractos con diversas soluciones para la obtención de la mayoría de principios activos de las especies en estudio.

Es importante señalar que para la presente investigación se siguieron protocolos estandarizados a nivel mundial para contar con un estudio totalmente fiable y controlado en todos los aspectos que conllevaron su proceso; Finalmente, es importante conocer nuevas variantes de tratamientos que se puedan utilizar no sólo como únicos componentes sino también como sustancias coadyuvantes o sinergistas de los tratamientos reconocidos como Gold Standard.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

Se concluye que el extracto etanólico de *Erythroxytum Coca* “Coca” al 100% presentó halos inhibitorios con una media de 8,125 mm frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™, efecto que no fue significativo en comparación con la del Gluconato de Clorhexidina 0.12%.

Se concluye que el extracto etanólico de *Erythroxytum Coca* “Coca” al 75% presentó halos inhibitorios con una media de 7,745 mm frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™, efecto que no fue significativo en comparación con la del Gluconato de Clorhexidina 0.12%.

Se concluye que el extracto etanólico de *Erythroxytum Coca* “Coca” al 50% presentó halos inhibitorios con una media de 7,630 mm frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™, efecto que no fue significativo en comparación con la del Gluconato de Clorhexidina 0.12%.

Se concluye que el extracto etanólico de *Erythroxytum Coca* “Coca” al 25% presentó halos inhibitorios con una media de 7,245 mm frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™, efecto que no fue significativo en comparación con la del Gluconato de Clorhexidina 0.12%.

4.2. Recomendaciones

Se recomienda investigar con otros extractos de *Erythroxytum Coca*, para evaluar posibles efectos farmacológicos del mismo; asimismo, evaluar la posibilidad de poder mezclar solventes buscando extraer una mayor cantidad de principios activos.

Evaluar posibles efectos terapéuticos de la hoja de *Erythroxytum Coca*, frente a microorganismos de interés Estomatológicos.

Se recomienda evaluar las diversas bondades farmacológicas que podrían presentar otras variedades de *Erythroxytum Coca*, reconociendo que en el Perú contamos con la variedad de Huánuco entre las más importantes.

Se recomienda seguir una línea de investigación sobre las hojas de *Erythroxytum Coca*, con el único fin de seguir encontrando nuevas respuestas científicas.

REFERENCIAS

1. Tabassum S, Khan FR. Failure of endodontic treatment: The usual suspects. *Eur J Dent.* 2016 [acceso: 05/02/2021]; 10(1):144-147. Disponible en : 10.4103/1305-7456.175682.
2. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus.* 2020 [acceso: 05/02/2021]; 12(3): e7257. Disponible en: 10.7759/cureus.7257
3. Min K, Kim M. Characterization of *Enterococcus faecalis* in different culture conditions. *Nature.* 2020 [acceso: 05/02/2021]; 10(1). Disponible en: 10.1038 / s41598-020-78998-5
4. Ghapanchi J, Emami A, Rezazadeh F, Shakibasefat H, Pirbonyeh N. Isolation of *Enterococcus faecalis* in the saliva samples of patient candidates for liver transplantation. *Dent Res J (Isfahan).* 2019 [acceso: 05/02/2021]; 16(5): 333–337.
5. Goh H, Yong M, Chong K, Kline K. Model systems for the study of Enterococcal colonization and infection. *Virulence.* 2017 [acceso: 05/02/2021]; 8(8): 1525–1562. Disponible en: 10.1080/21505594.2017.1279766
6. McBride S, Fischetti V, LeBlanc D, Moellering R, Gilmore M. Genetic Diversity among *Enterococcus faecalis*. *PLoS One.* 2007 [acceso: 05/02/2021]. Disponible en: 10.1371/journal.pone.0000582
7. Loyola D, *et al.* Ethanol extract of *Schinus molle* L. (molle) and *Erythroxylum coca* Lam (coca): Antibacterial properties at different concentrations against *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2020 [acceso: 12/02/2021]; 10(5):579-584.
8. 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 optar el título de Cirujano Dentista]. Lima. 2018.
9. Luna M, Díaz C, Baca 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. *Horiz Med.* 2017 [acceso: 12/02/2021]; vol 17, n.1, pp. 25-30.

10. Hurtado Y. Asociación entre la masticación de la hoja de coca y la prevención de la caries dental en los pobladores del caserío de Buenos Aires, Jaén – 2017. [Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista]. Chachapoyas. 2017. Disponible en: <http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/1224>
11. Castañeda L. Efecto antibacteriano “In vitro” del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* (COCA) y la clorhexidina frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis para optar el grado de Maestro en Estomatología]. Trujillo. 2017. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/12594>
12. Enciso C. Estudio in vitro de la actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre bacilos negro pigmentantes. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Lima. 2016. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4842>
13. Ramos A. Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio in vitro. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Lima. 2012. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2824>
14. Rojas R. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto de hoja de COCA en comparación con clorhexidina frente a *Staphylococcus* y *Streptococcus*. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Huánuco. 2011. Disponible en: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/RICARDOALBERTOROJASSARCO.pdf>
15. Alvarado V, Moromi H. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman* var *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontol. Sanmarquina*. 2010 [acceso: 12/02/2021]; 13(2): 21-25. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2853>
16. Minaya P. Determinación de la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var *truxillense* (coca) frente a bacterias orales cariogénicas. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Lima. 2008. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2759>.

17. Borrovic F. Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* Var. *Truxillense* (coca) sobre flora mixta salival. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Lima. 2006. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2810>
18. Cossio B. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Erythroxylum Coca* “Coca” frente a *Streptococcus Mutans* ATCC 35668. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Chiclayo. 2018. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS_3d9d8e16a0f304f61e605d1f7e686beb
19. Hatton J, Walsh S, Wilson A. Management of the sodium hypochlorite accident: a rare but significant complication of root canal treatment. *BMJ Case Rep*. 2015 [acceso: 12/02/2021]; 25;2015:bcr2014207480. Disponible en: 10.1136/bcr-2014-207480.
20. Tyne D, Martin M, Gilmore M. Structure, Function, and Biology of the *Enterococcus faecalis* Cytolysin. *Toxins* (Basel). 2013 [acceso: 12/02/2021]; 29;5(5):895-911. Disponible en: 10.3390/toxins5050895.
21. Negroni M. *Microbiología Estomatológica*. 3era Edición. 2018.
22. Alghamdi F, Shakir M. The influence of *enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A systematic review. *Cureus*. 2020 [acceso: 12/02/2021]; 13;12(3):e7257. Disponible en: 10.7759/cureus.7257.
23. Huang C. Extensively drug-resistant *alcaligenes faecalis* infection. *BMC Infect Dis*. 2020 [acceso: 12/02/2021]; 11;20(1):833. Disponible en: 10.1186/s12879-020-05557-8.
24. Pourhajibagher M, Chiniforush N, Shahabi S, Palizvani M, Bahador A. Antibacterial and antibiofilm efficacy of antimicrobial photodynamic therapy against intracanal *Enterococcus faecalis*: An in vitro comparative study with traditional endodontic irrigation solutions. *J Dent (Tehran)*. 2018 [acceso: 12/02/2021]; 15(4):197-204. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30405728/>.
25. Chidambar CK, Shankar SM, Raghu P, Gururaj SB, Bushan KS. Detection of *Enterococcus Faecalis* in subgingival biofilms of healthy, gingivitis, and chronic periodontitis subjects. *J Indian Soc Periodontol*. 2019 [acceso: 12/02/2021]; 23(5):416-418. Disponible en: 10.4103/jisp_44_19.

26. Restrepo D, et al. *Erythroxyllum in Focus: An Interdisciplinary Review of an Overlooked Genus*. *Molecules*. 2019 [acceso: 12/02/2021]; 21;24(20):3788. Disponible en: 10.3390/molecules24203788.
27. Bauer I. Travel medicine, coca and cocaine: demystifying and rehabilitating *Erythroxyllum* – a comprehensive review. *Trop Dis Travel Med Vaccines*. 2019 [acceso: 12/02/2021]; 5, 20. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40794-019-0095-7>
28. Verde MJ, García C. *Metodología científica para el estudio de plantas medicinales*. OmniaScience Monographs. 2016.
29. Novak M, Solemink C, Khan I. Biological activity of the alkaloids of *Erythroxyllum coca* and *Erythroxyllum Novogranatense*. *J Ethn*. 1984 [acceso: 12/02/2021]; 10(261): 261-274.
30. Guo J, Low k, Mei L, Li J, Qu w, Guan G . Use of traditional medicine for dental care by different ethnic groups in New Zealand. *BMC Oral Health*. 2020 [acceso: 12/02/2021]; 12;20(1):280. Disponible en: 10.1186/s12903-020-01272-7.
31. Li F, Weng J. Demystifying traditional herbal medicine with modern approach. *Nat Plants*. 2017 [acceso: 12/02/2021]; 31;3:17109. Disponible en: 10.1038/nplants.2017.109.
32. Wenzig E, Bauer R. The relevance of pharmacognosy in pharmacological research on herbal medicinal products. *Epilepsy Behav*. 2015 [acceso: 10/03/2021]; 52(Pt B):344-62. Disponible en: 10.1016/j.yebeh.2015.05.037.
33. Kuang X, Chen V, Xu X. Novel Approaches to the Control of Oral Microbial Biofilms. *Bio Research Int*. 2018 [acceso: 10/03/2021]; (2): 1-13. Disponible en: 10.1155 / 2018/6498932
34. Mandal M, Mandal S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2011 [acceso: 10/03/2021]; 1(2): 154-160. Disponible en: 10.1016/S2221-1691(11)60016-6
35. Prats G. *Microbiología Clínica*. Ed. Médica Panamericana. Madrid. 2005.
36. Esser V. *et al.* Experiences with the Kirby-Bauer Method of Antibiotic Susceptibility Testing. 1970 [acceso: 10/03/2021]. *American J Clin Path*; Pág 193-198. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ajcp/54.2.193>
37. Molinero E, Alados J, De la Pedrosa E, Leiva J, Pérez J. Safety in the Microbiology laboratory. *Enferm Infcc Microbiol Clin*. 2015 [acceso:

- 10/03/2021]; 33(6):404-10. Disponible en: 10.1016/j.eimc.2014.06.014. Epub 2014 Nov 8.
38. Rev. Soc. Ven. Microbiol. [Internet]. 2002 Ene [acceso: 10/03/2021]; 22(1): 89-93. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562002000100017&lng=es.
39. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual. Avances en Periodoncia. 2006 [acceso: 10/03/2021]; 18(1): 21-29.
40. Acebo D, Hernández A. Los métodos turbidimétricos y sus aplicaciones en las ciencias de la vida. Rev Cenic. 2013 [acceso: 10/03/2021]; vol. 44. Núm. 1.
41. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. [Internet]. 27 ed. USA; 2017 [acceso: 10/03/2021]. Disponible en: https://clsi.org/media/1469/m100s27_sample.pdf.
42. Minsa. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Perú, 2002. Pág 167. Disponible en: <https://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
43. De Abajo F. La declaración de helsinki VI: Una revisión necesaria, pero ¿suficiente?. Rev. Esp. Salud Publica. 2001 [acceso: 10/03/2021]; 75(5):407-420. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272001000500002&lng=es.

ANEXOS

ANEXO N° 01

RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
RESOLUCION N°0061-2021/FCS-USS

Pimentel 10 de marzo del 2021

VISTO:

El Dictamen de aprobación de Proyecto de Tesis N° 007 de fecha 10 de marzo, firmado por el Comité de Investigación en el cual se establece la procedencia para la ejecución de la Tesis titulada EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Erytroxylum Coca* "COCA" FRENTE *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299 presentado por la (el) estudiante NIZAMA BUSTAMANTE MIGUEL ÁNGEL DANILO de la Escuela profesional de Estomatología y;

CONSIDERANDO:

Que la Ley Universitaria N°30220, establece en su artículo 48° que la investigación constituye una función esencial y obligatoria de la Universidad, que la fomenta y realiza, respondiendo a través de la producción de conocimiento y desarrollo de tecnologías a las necesidades de la sociedad, con especial énfasis en la realidad nacional. Los docentes, estudiantes y graduados participan en la actividad investigadora en su propia institución o en redes de investigación nacional o internacional, creadas por las instituciones públicas o privadas.

Que, de conformidad con el Reglamento de Grados y Títulos V7 USS en su artículo 21° a la letra dice: "Los temas de trabajo de investigación, trabajo académico y tesis son aprobados por el Comité de Investigación y derivados a la facultad o Escuela de Posgrado, según corresponda, para la emisión de la resolución respectiva..."

Que, el Artículo 36° del reglamento de investigación V7 USS, establece que: "El comité de investigación de la escuela profesional aprueba el tema del proyecto de investigación y del trabajo de investigación acorde a las líneas de investigación institucional".

Estando a lo expuesto, y en uso de las atribuciones conferidas y de conformidad con las normas y reglamentos vigentes;

SE RESUELVE:

Artículo N°01: APROBAR el proyecto de tesis denominado: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Erytroxylum Coca* "COCA" FRENTE *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299 presentado por el(la) estudiante NIZAMA BUSTAMANTE MIGUEL ÁNGEL DANILO de la Escuela de Estomatología.

ARTÍCULO 02: ESTABLECER, como fecha de inscripción del Proyecto de Tesis la fecha de expedición de la presente resolución.

REGISTRÉSE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE



Mg. Santos Leopoldo Acuña Peralta
Decano Facultad de Ciencias de la Salud

DECANO



Mg. Jirena Palomino Malca
Secretaria Académica Facultad de Ciencias de la Salud

SECRETARIA ACADÉMICA

CC. EAP, Interesado(s), Archivo.

ANEXO N° 02

SOLICITUD ENACO



SOLICITUD

“Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia”

Yo, Miguel Ángel Nizama Bustamante, con número de DNI 71573865, estudiante de Pregrado de la Escuela Académica Profesional de Estomatología de la Universidad Señor de Sipán (Chiclayo), solicito a la Empresa Nacional de la Coca (ENACO- SEDE TRUJILLO), que se me brinde muestras de *Erythroxyllum Coca*, para el adecuado desarrollo de mi tesis denominado “ Efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas secas de *Erythroxyllum Coca* “coca” frente a *Enterococcus Faecalis* ATCC®51299™ ”.

Muchas Gracias.

Chiclayo, 04 de Marzo del 2021.

ANEXO N° 03

CERTIFICADO EMPRESA NACIONAL DE LA COCA (ENACO)



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

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

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

CERTIFICA

Que los 0.5kg de hoja de coca, entregado al Sr. Miguel Ángel Danilo Nizama Bustamante para fines de investigación, corresponden a la Familia Erythroxylum Coca, Variedad Novogranatense.

Se entrega el presente documento para determinar el origen de la muestra de hoja de coca que se utilizará en la ejecución de la Tesis denominada "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE Erythroxylum Coca "COCA" FRENTE Enterococcus Faecalis ATCC®51299™".

Se expide en la ciudad de Trujillo a los (22) días del mes de abril del año dos mil veintiuno.

Atentamente,

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

Karen Caballero Bustamante
ADMINISTRADOR AD. TRUJILLO

ANEXO N° 04
CONSTANCIA LABORATORIO



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

CONSTANCIA

El que suscribe, **Miguel Angel Ruiz Barrueto**, identificado con **DNI N° 42814146**, Biólogo Microbiólogo con CBP N° 8256, M.Sc. en Ciencias con mención en Microbiología Clínica, Doctor en Ciencias Biomédicas e investigador Renacyt N° P0015210; hace constar que ha colaborado como microbiólogo especialista en la ejecución de la tesis titulada: **EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Erythroxylum coca* "COCA" FRENTE *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299TM**, del Sr. **Miguel Ángel Danilo Nizama Bustamante**, identificado con **DNI N° 71573865**, estudiante de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Señor de Sipán.

La investigación fue ejecutada entre el 19 y 24 de abril del 2021 en el Laboratorio de Investigación *Science Experiment E.I.R.L.*, de la Ciudad de Trujillo.

Se expide la presente a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Trujillo, 26 de abril de 2021.

Dr. Miguel Angel Ruiz Barrueto
Biólogo Microbiólogo
CBP n.º 8256



SCIENCE EXPERIMENT |
Research Laboratory

Av. La Marina # 1326 Int. 2 Urb. La Perla Trujillo. Telf. 983771019
@scienceexperiment.pe

ANEXO N° 05

RESULTADOS DE EJECUCIÓN DE TESIS



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

RESULTADOS DE EJECUCIÓN DE TESIS

Tesis: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Erythroxylum coca* "COCA" FRENTE *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299™.

Autor: Miguel Ángel Danilo Nizama Bustamante

Repeticiones	HALOS DE INHIBICIÓN EN mm				
	25 %	50%	75%	100%	C+*
1	7.0	8.3	8.1	9.0	16.0
2	7.7	7.5	8.0	9.0	14.4
3	6.6	7.4	8.0	8.0	15.3
4	7.0	7.7	7.8	8.0	14.5
5	7.9	7.6	8.0	8.5	14.0
6	7.7	7.5	7.3	8.0	13.1
7	6.7	7.6	7.7	8.0	13.9
8	6.6	6.7	7.1	7.6	14.0
9	7.2	7.4	7.3	7.5	15.2
10	6.8	7.7	7.2	8.0	13.8
11	8.0	8.3	8.0	8.0	16.4
12	6.9	7.8	7.2	8.0	13.0
13	8.0	8.1	8.2	8.1	16.1
14	7.7	7.2	7.4	7.3	13.6
15	7.4	7.5	7.5	7.7	14.0
16	7.8	8.2	8.8	8.9	13.4
17	6.8	7.0	7.5	7.6	14.4
18	6.8	7.5	7.4	8.0	14.2
19	6.9	8.0	8.6	8.8	14.0
20	7.4	7.6	7.8	8.5	16.2
Promedio	7.2	7.6	7.7	8.1	14.5

*Gluconato de clorhexidina 2 %.

Trujillo, 19-24 de abril de 2021.

Dr. Miguel Ángel Ruiz Barrueto
Biólogo Microbiólogo
CBP n.º 8256



SCIENCE EXPERIMENT |
Research Laboratory

Av. La Marina # 1326 Int. 2 Urb. La Perla Trujillo. Telf. 949388950

ANEXO N° 06

CERTIFICADO STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC® 51299™



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Enterococcus faecalis Catalog Number: 0959 Lot Number: 959-106** Reference Number: ATCC® 51299™* Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2022/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Paige M Dahlberg Release Date: 2020/6/17
---	---

Macroscopic Features: Small to medium, gray/white, translucent, smooth, circular with entire edge. Microscopic Features: Gram positive ovoid cells, mostly in pairs or short chains.	Performance Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
---	--

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative (1) Bile Esculin Agar: positive (1) Gentamicin (120 mcg - Disk Susceptibility): Resistant (no zone) Observed phenotype, results may vary (1) Streptomycin (300 mcg - Disk Susceptibility): Resistant (no zone) Observed phenotype, results may vary BHIA w/Vancomycin (6 mcg/ml): Resistant (growth)
---	--

Amanda Kuperys
 Amanda Kuperys
 Quality Control Manager
 AUTHORIZED SIGNATURE

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

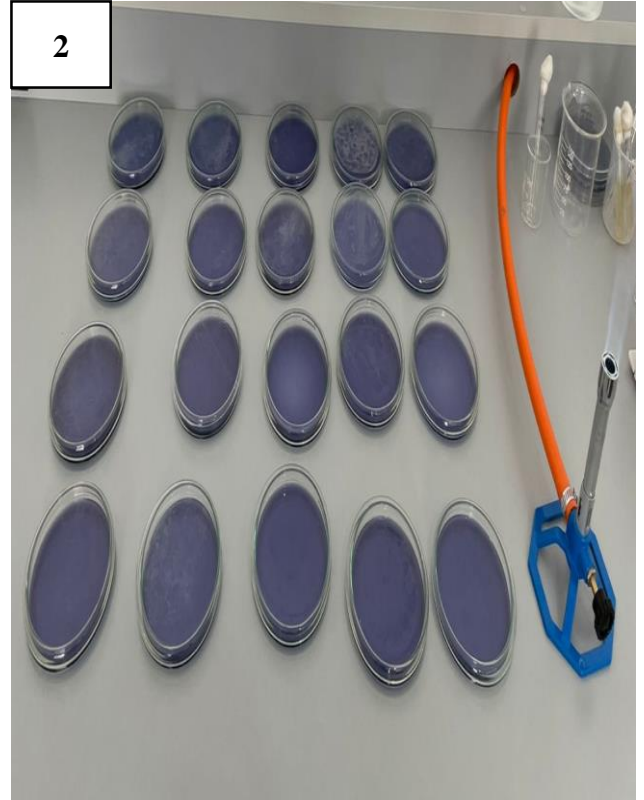


(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC®

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



ANEXO N° 08
MEDIO DE CULTIVO MITIS SALIVARIUS A PLACAS PETRI



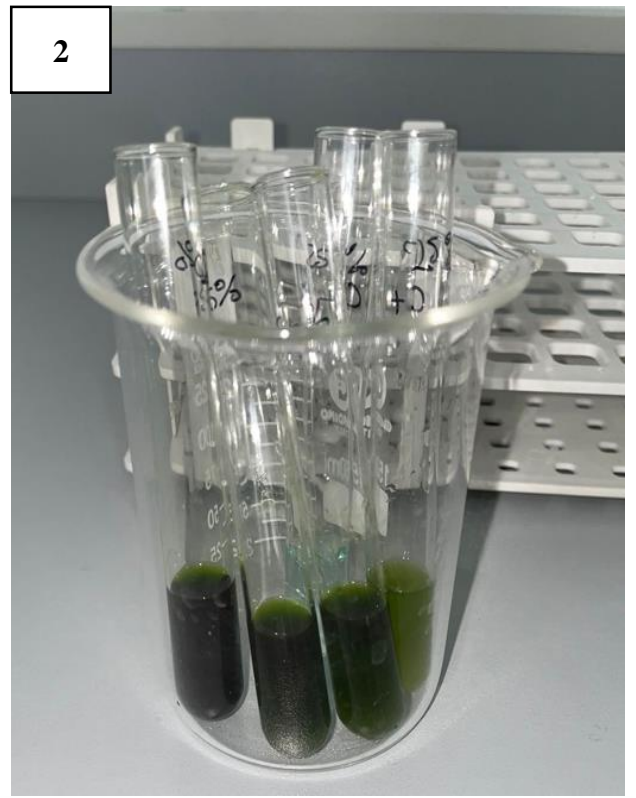
1.-	Vaciado del medio de cultivo en Placas Petri.
2.-	Placas Petri con medios de cultivo.

ANEXO N° 09
OBTENCIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL DE LA CEPA DE
ENTEROCOCCUS *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC®51299™



1.-	Obtención del inóculo.
2.-	Siembra del inóculo en la superficie del medio de cultivo.

ANEXO N° 10
OBTENCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE ERYTHROXYLUM COCA



1.-	Obtención de las concentraciones (25%,50%,75%,100%).
2.-	Concentraciones listas para ser evaluadas.

ANEXO N° 11
EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO
COLOCACIÓN DE LOS SENSIDISCOS EN LAS RESPECTIVAS
CONCENTRACIONES DE ERYTHROXYLUM COCA



1.-	Colocación de los sensidiscos en las respectivas concentraciones de Erythroxyllum Coca.
2.-	Posicionamiento de los sensidiscos sobre la superficie del medio de cultivo (método difusión en agar).

ANEXO N° 12

SELLADO E INCUBADO DE LAS PLACAS PETRI



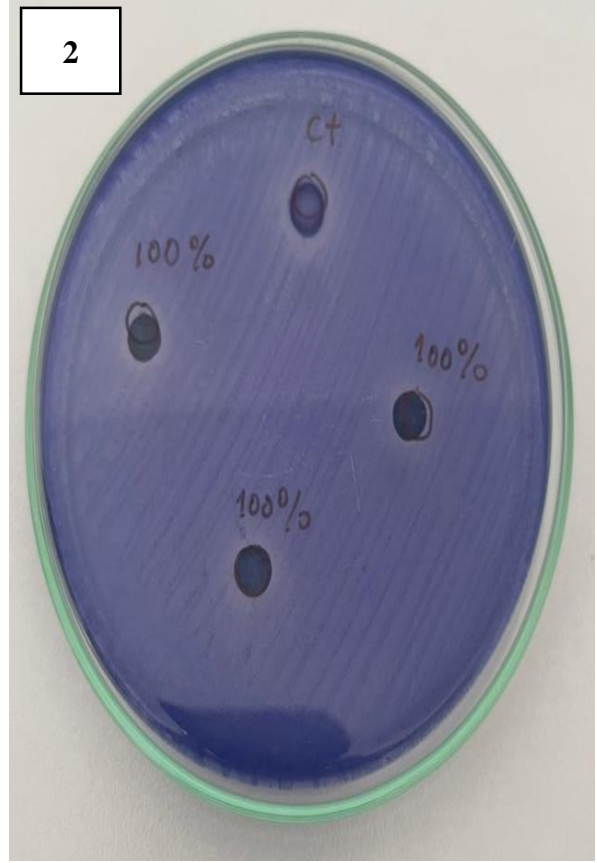
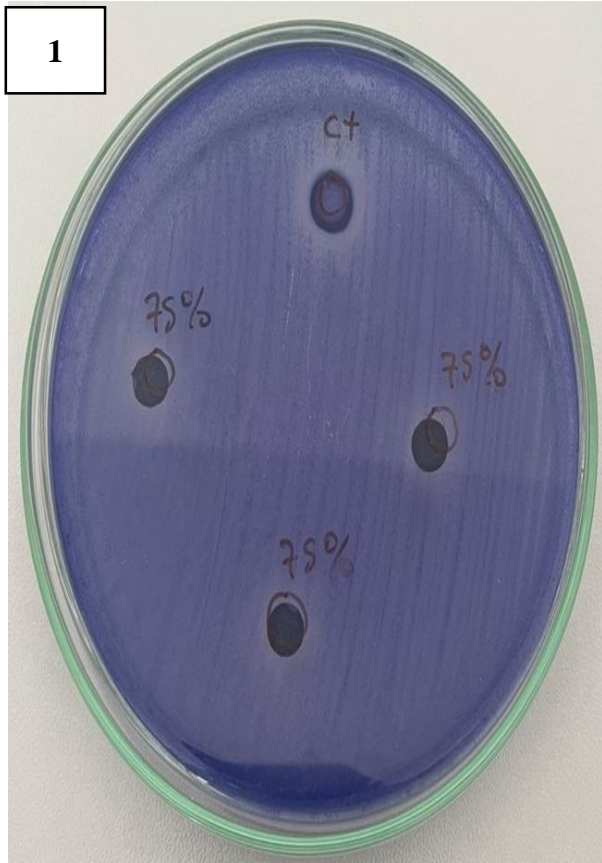
1.-	Estufa con placas petri a 36.5 °C durante 24 horas.
-----	---

ANEXO N° 13
Halos de inhibición

CONCENTRACIÓN AL 25%



1.-	Concentración al 25%.
2.-	Concentración al 50%.



1.-	Concentración al 75%.
2.-	Concentración al 100%.

ANEXO N° 14

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE RESULTADOS

Comparación entre pares del efecto antibacteriano del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca “Coca” y Gluconato de clorhexidina frente al Enterococcus Faecalis ATCC®51299™

Muestra 1 - Muestra 2	Estadístico de contraste	Error	Desv. Estadístico de contraste	Signif.	Signif. Ajustada
Erythroxyllum Coca 25% - Erythroxyllum Coca 50%	-15.425	9.153	-1.685	0.092	0.919
Erythroxyllum Coca 25% - Erythroxyllum Coca 75%	-19.025	9.153	-2.079	0.038	0.377
Erythroxyllum Coca 25% - Erythroxyllum Coca 100%	-34.450	9.153	-3.764	0.000	0.002*
Erythroxyllum Coca 25% - Gluconato de clorhexidina 0,12%	-67.225	9.153	-7.345	0.000	0.000*
Erythroxyllum Coca 50% - Erythroxyllum Coca 75%	-3.600	9.153	-0.393	0.694	1.000
Erythroxyllum Coca 50% - Erythroxyllum Coca 100%	-19.025	9.153	-2.079	0.038	0.377
Erythroxyllum Coca 50% - Gluconato de clorhexidina 0,12%	-51.800	9.153	-5.660	0.000	0.000*
Erythroxyllum Coca 75% - Erythroxyllum Coca 100%	-15.425	9.153	-1.685	0.092	0.919
Erythroxyllum Coca 75% - Gluconato de clorhexidina 0,12%	-48.200	9.153	-5.266	0.000	0.000*
Erythroxyllum Coca 100% - Gluconato de clorhexidina 0,12%	-32.775	9.153	-3.581	0.000	0.003*

De acuerdo con la tabla, se puede verificar que los tres primeros niveles del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca (25%, 50% y 75%), no tiene una diferencia significativa entre ellos, la única diferencia es entre el 25% y 100% del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca, por otro lado, el Gluconato de clorhexidina al 0.12% es significativamente diferente a todos los niveles del extracto etanólico de Erythroxyllum Coca, con una significancia del 5%. Los valores de significancia de estas pruebas se han ajustado de acuerdo a la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

Prueba de normalidad para los factores extracto etanólico de Erythroxyllum Coca
 “Coca” y Gluconato de clorhexidina 0.12%

Tratamiento	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Erythroxytum coca 25%	,896	20	,035
Erythroxytum coca 50%	,952	20	,405
Erythroxytum coca 75%	,937	20	,213
Erythroxytum coca 100%	,903	20	,047
Gluconato de clorhexidina 0.12%	,906	20	,054

El contraste de normalidad se realizó con el estadístico Shapiro-Wilk en relación al número de datos por cada tratamiento; bajo la hipótesis de nulidad de que la distribución de los datos de la variable no tiene una distribución normal, este contraste presentó una significancia para los tratamientos de Erythroxytum coca 25% ($p = 0,035$) y de Erythroxytum coca 100% ($p = 0,047$), con lo cual no se puede asegurar una normalidad en la distribución de los datos.