



Efecto del extracto etanólico *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* y *Erythroxylum coca* var. *coca* frente al *Streptococcus mutans*.

Effect of the ethanolic extract of *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* and *Erythroxylum coca* var. *coca* front to *Streptococcus mutans*.

María Del Rosario Salcedo Calderón ^{1,a}, Hilda Moromi Nakata ^{2,3,b}.

RESUMEN

Objetivos: Comparar 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*. **Material y métodos:** Mediante el método de difusión por discos, se procedió a la aplicación de los extractos etanólicos de las dos variedades a las concentraciones 100%, 50%, 25% y 12,5% con controles positivo de Clorhexidina 0,12 % y negativo de Alcohol 96° en los cultivos de la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) sembrados en Agar Tripticasa Soya. La incubación se realizó a 37 °C por 48 horas en condiciones de anaerobiosis parcial. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS Versión 22. Mediante la Prueba U de Mann Whitney y Kruskal Wallis. **Resultados:** El extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. *coca* al 100% y 50% presentaron mayor halo de inhibición $18,65 \pm 2,434$ y $17,10 \pm 2,654$ con respecto al extracto etanólico de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* que fueron de $15,30 \pm 1,895$ y $14,05 \pm 1,932$. respectivamente. **Conclusiones:** Se determinó que el extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. *coca* al 100% y 50% tiene mayor efecto antibacteriano que la variedad *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* al 100% frente al *Streptococcus mutans*.

PALABRAS CLAVE: Coca; *Streptococcus mutans*; antibacterianos.

ABSTRACT

Objectives: To compare the antibacterial effect of the ethanolic extracts of two varieties of coca leaf “*in vitro*”: *Erythroxylum coca* var. *coca* and *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* on *Streptococcus mutans*. **Material and methods:** Using the method of diffusion by discs, the ethanolic extracts of the two varieties were applied at concentrations 100%, 50%, 25% and 12.5% with positive controls of Chlorhexidine 0.12% and negative of 96° Alcohol in the cultures of the *Streptococcus mutans* strain (ATCC 25175) sown in Tripticasa Soya Agar. Incubation was performed at 37 °C for 48 hours under conditions of partial anaerobiosis. The statistical analysis was carried out with the SPSS Version 22 program by means of the Mann Whitney U Test and Kruskal Wallis. **Results:** *Erythroxylum coca* var. *coca* 100% and 50% had a greater inhibition halo 18.65 ± 2.434 and 17.10 ± 2.654 with respect to the ethanolic extract of *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* that were 15.30 ± 1.895 and 14.05 ± 1.932 . respectively. **Conclusions:** It was determined that the ethanolic extract of *Erythroxylum coca* var. *coca* 100% and 50% has a greater antibacterial effect than the *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* 100% against *Streptococcus mutans*.

KEYWORDS: Coca *Streptococcus mutans*, Antibacterial agent, Coca.

¹ Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

² Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

³ Instituto de Investigación Estomatológica, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

^a Cirujana Dentista.

^b Bióloga. Magister en Administración de la Educación Universitaria. Profesor Principal

INTRODUCCIÓN

La Caries dental es la enfermedad bucodental de mayor prevalencia en el Perú (1). Es considerada una enfermedad dinámica, de origen multifactorial, por lo que las estrategias para reducir el riesgo de esta enfermedad son importantes. Estas estrategias generalmente implican disminuir el crecimiento o la actividad del *Streptococcus mutans*. El *Streptococcus mutans* es uno de los principales microorganismos de la placa cariogénica que conjuntamente con la sacarosa de la dieta y como resultado de los procesos metabólicos, tiene la capacidad de producir ácidos a partir de la sacarosa de la dieta (2,3,4). La adhesión de este microorganismo al diente esta mediada por la interacción de la proteína PAc (Antígeno proteico de superficie celular) y algunas de la saliva, que son adsorbidas por el esmalte dental; la acumulación de placa dental se produce cuando este microorganismo produce los glucanos solubles e insolubles utilizando las enzimas Glucosiltransferasa (GTFs), a partir de los azúcares de la dieta. Cuando la unión se hace más fuerte, las bacterias degradan la sacarosa a ácidos, como el láctico, que desmineraliza n el diente, dando paso a la formación de una lesión cariosa (5).

Entre las medidas preventivas para evitar esta enfermedad tenemos el control de la placa bacteriana, la cual se da mediante el cepillado dental, uso de hilo dental y el uso de antimicrobianos (colutorios), como la Clorhexidina (6).

La clorhexidina no solo es un excelente agente antiplaca, sino que también posee muy buenas propiedades antimicrobianas, gracias a su amplio espectro, por lo cual se le considera como el más potente y el "Gold Standard" agente antimicrobiano entre los diversos agentes quimioterapéuticos. Se ha demostrado que la clorhexidina es eficaz para reducir el recuento de *S. mutans* en la saliva y la placa dental (7).

En los últimos años se ha realizado diversos estudios sobre las propiedades de diversas plantas y muchas de ellas tienen propiedades antibacterianas, como es el caso del Propóleo, Té verde, Muña y la hoja de Coca (8,9).

Investigaciones realizadas en el campo odontológico, han demostrado que el extracto de hoja de coca tiene actividad antibacteriana in vitro frente a bacterias presentes en la cavidad oral (8, 10,11), sin embargo, no logró ser superior frente a la Clorhexidina (12,13).

En el Perú, predominan 2 variedades de hoja de coca: *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*, la cual se cultiva en los valles áridos del noroeste del Perú entre los 200 - 1800 metros sobre el nivel del mar y *Erythroxylum coca* var. *coca*, la cual se cultiva en las laderas orientales de los Andes del Perú y Bolivia, entre los 500 a 1500 metros sobre el nivel del mar, siendo esta última la de mayor predominancia en el país (14).

Estas variedades de hoja de coca presentan distinta composición química (15), la cual ha sido atribuida a factores intrínsecos y extrínsecos. Dentro de los factores intrínsecos tenemos la edad de la planta, la identidad de las variedades, el estado de las hojas. Como factores extrínsecos tenemos las zonas geográficas, la forma de cultivo y el medio ambiente principalmente (14,16).

El objetivo de la investigación fue determinar la diferencia entre el efecto antibacteriano de estas dos variedades de hoja de coca frente al *S. mutans* y compararlo con la Clorhexidina al 0,12 % para evaluar si presenta mejor efecto antibacteriano que estas variedades de hoja de coca.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio fue del tipo experimental, transversal y prospectivo. La muestra estuvo conformada por 20 cultivos de *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175 en placas Petri con Agar TSA (Merck). Solo fueron consideradas las placas con los cultivos que contenían los halos bien definidos para su medición, descartándose los que no reunían estos requisitos

Este estudio in vitro, se realizó mediante el método de difusión por disco en cultivos en Agar Tripticosa soya (TSA), en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La obtención del extracto etanólico de las 2 variedades de hoja de coca (figura 1) se realizó en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

El extracto etanólico se obtuvo de la siguiente manera: La cantidad de 75 gramos de material vegetal secado y molido de cada variedad, se dejó macerar 35 litros de etanol al 96% a temperatura ambiente por 6 días en un ambiente oscuro. Los extractos obtenidos se agitaron a 200 rpm durante 30 minutos en baño María con temperatura de 60 °C. Posteriormente se procedió a la filtración al vacío y se concentró a presión reducida a una temperatura \leq de 40 °C.



Figura 1. Tipos de hoja de Coca: a. *E. coca* var. *coca*. b. *E. novogranatense* var. *truxillense*

Las distintas variedades del extracto etanólico se diluyeron con alcohol puro para tener las concentraciones de 100%, 50%, 25%, 12,5%. Para el control positivo se usó la Clorhexidina al 0,12% y como control negativo el Alcohol 96°.

Determinación del efecto antibacteriano

En cada placa de cultivo con *S. mutans*, se colocó discos de papel estériles de 6 mm de diámetro, preparados con papel Whatman n°3 y esterilizados, los cuales fueron embebidos con 10 µl de los extractos etanólicos de las dos variedades a las distintas concentraciones (100%, 50%, 25%, 12,5%), el control negativo con Alcohol 96° (Laboratorio Jenfarma) y el control positivo con Clorhexidina 0,12% (Marca PerioAid), este último considerado como el Gold Standard de los antimicrobianos y su acción frente a *S. mutans* (7,9,17,18).

La incubación se realizó a 37 °C por 48 horas en condiciones de anaerobiosis parcial con CO₂ (método de la vela). Los resultados se midieron con una regla milimetrada, en base a los halos de inhibición formados alrededor de cada disco.

Para el análisis, se promedió los halos de inhibición que se formaron por cada variedad de extracto a distintas concentraciones.

Los datos fueron procesados aplicándose los intervalos de confianza al 95%, para determinar el nivel de significancia de los resultados ($p < 0,05$).

Se utilizó la Prueba U de Mann Whitney y Kruskal Wallis para la comparación de los halos de inhibición en diferentes concentraciones según el tipo de extracto etanólico utilizado.

RESULTADOS

De los 20 cultivos de *S. mutans* a los que se sometieron distintas soluciones para comprobar el efecto antibacteriano, al promediar los halos de inhibición, se apreció que el extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. *coca* al 100 % presentó una media de 18,65 mm \pm 2,434, valor que fue disminuyendo a menor concentración del extracto, mientras que el extracto etanólico de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* al 100 % presentó una media de 15,30 mm \pm 1,895, siendo esta la de mayor promedio con respecto a las demás concentraciones. Además, se evidenció que la media de ambos extractos a distintas concentraciones fue menor con respecto al Control Positivo (Clorhexidina 0,12%), la cual tuvo una media de 23,30 mm \pm 2,755 (tabla 1 y tabla 2).

Los resultados obtenidos fueron analizados con la prueba estadística de Kruskal Wallis determinando que existe diferencia estadística significativa $P \leq 0,05$ entre los promedios de las concentraciones (tabla 3).

Según la Prueba U de Mann Whitney (tabla 4), podemos ver que *E. coca* var. *coca* al 100% y 50% presenta diferencias significativas frente a *E. novogranatense* var. *truxillense* al 100%, 50%, 25% y 12,5 %.

Erythroxylum coca var. *coca* al 25% no presentó diferencias significativas frente a *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* al 100% y 50%. *Erythroxylum coca* var. *coca* 12,5% presentó diferencia significativa frente a *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* 100% (tabla 4).

Tabla 1. Halos de inhibición de la acción del extracto etanólico de *E. coca* var. *coca*, frente al *S. mutans*

	Halo de Inhibición en mm de diámetro				
	Media	Mediana	Desviación Standard	Máximo	Mínimo
E1 100 %	18,65	18	2,434	24	15
E1 50%	17,10	17	2,654	23	13
E1 25%	15,45	15	2,460	21	12
E1 12,5 %	13,05	13	2,164	17	10
Control -	6	6	0	6	6
Control +	23,30	23	2,755	30	20

E1: *E. coca* var. *coca*

Tabla 2. Halos de inhibición de la acción del extracto etanólico del *E. novogranatense* var. *truxillense* frente al *S. mutans*

	Halo de Inhibición en mm de diámetro				
	Media	Mediana	Desviación Standard	Máximo	Mínimo
E2 100 %	15,30	15	1,895	21	12
E2 50%	14,05	14	1,932	18	10
E2 25%	12,65	13	1,725	17	10
E2 12,5 %	11,70	12	1,490	14	9
Control -	6	6	0	6	6
Control +	23,30	23	2,755	30	20

E2: *E. novogranatense* var. *truxillense*

Tabla 3. Prueba de Kruskal Wallis entre *E. novogranatense* var. *truxillense*, *E. coca* var. *coca*, Control Positivo y Control Negativo

	Tamaño del halo de Inhibición
Chi – cuadrado	151,151
Gl	9
Sig. Exacta	0,000

Tabla 4. Prueba U de Mann Whitney entre *E. coca* var. *coca* y *E. novogranatense* var. *truxillense*

Variedad	E2 100 %	E2 50 %	E2 25 %	E2 12.5 %
E1 100 %	0,000	0,000	0,000	0,000
E1 50 %	0,026	0,000	0,000	0,000
E1 25 %	0,925	0,081	0,000	0,000
E1 12.5%	0,003	0,157	0,620	0,063

E1: *E. coca* var. *coca*

E2: *E. novogranatense* var. *truxillens*

DISCUSIÓN

En este estudio se buscó comparar y diferenciar el efecto antibacteriano “in vitro” de los extractos etanólicos de las dos variedades de hoja de coca: *Erythroxylum coca* var. *coca* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* frente al *Streptococcus mutans*, con la intención de contribuir a futuras investigaciones sobre el efecto antibacteriano que cada variedad posee.

En el presente estudio los extractos etanólicos de ambas variedades presentaron efecto antibacteriano frente al *S. mutans*, lo cual se evidenció en la formación de los halos de inhibición, siendo la variedad de *E. coca* var. *coca* la de mayor efecto antibacteriano, por lo cual la hipótesis de investigación es aceptada.

Si bien no existen estudios que comparen el efecto antibacteriano de estas dos variedades frente al *Streptococcus mutans*, existe un estudio de Gamarra y

cols. (15), que comparó la actividad antibacteriana del extracto crudo de las 2 variedades frente al *S. aureus*, *S. epidermis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, en donde se evidenció que el extracto crudo de *Erythroxylum coca* Lam presentó mayor halo de inhibición frente a las Bacterias Gram (+) como el *S. epidermidis*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, que el extracto crudo de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron; sin embargo, este último presentó mayor halo de inhibición frente a *E. coli*, la cual es una bacteria Gram (-).

Estos resultados coinciden con lo encontrado en el presente estudio, donde se evidenció mayor efecto antibacteriano de la variedad *Erythroxylum coca* var. *coca* versus la variedad *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* frente al *S. mutans*, el cual es una bacteria Gram (+).

Los resultados mostrados se podrían deber a la distinta composición química que posee cada variedad. El estudio de Gamarra y cols., (15) evaluó la composición química de cada variedad y halló que el contenido de alcaloides aislados presentes en el extracto etanólico fue de 2,69 % para *Erythroxylum coca* Lam, y 1,67 % para *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron. Con respecto a los flavonoides, *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron presentó mayor cantidad de flavonoides (15). La literatura nos indica que esta diferencia se puede deber a diversos factores, los cuales pueden influir en el efecto antibacteriano de cada variedad de hoja de coca (14).

El efecto antibacteriano de la hoja de coca, en sus distintas variedades, frente al *Streptococcus mutans*, está sustentado en diversos estudios realizados en nuestro país. Loyola (19) evidenció que el extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. *coca* a distintas concentraciones presentó efecto antibacteriano frente al *S. mutans*, sin embargo, este efecto disminuía a menor concentración del extracto. Cossio (20) también obtuvo un resultado similar, donde a menor concentración del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* var. *coca*, el efecto antibacteriano era menor.

Con respecto al extracto etanólico de la *E. novogranatense* var. *truxillense*, el estudio de Castañeda (14), evidenció que el extracto etanólico de esta variedad presentó efecto antibacteriano a distintas concentraciones. El estudio de Sánchez (21), también presentó resultados similares, donde se evidenció que a mayor concentración del extracto etanólico de esta variedad, se generó un mayor diámetro de halo de inhibición frente al *S. mutans*.

En el presente estudio también se evidenció que a mayor concentración del extracto etanólico de cada variedad, el diámetro del halo formado era mayor, lo cual se traduce en un mayor efecto antibacteriano.

Con respecto al Control Positivo (Clorhexidina 0,12 %) se pudo ver que esta posee mayor efecto antibacteriano frente al *S. mutans* que los extractos etanólicos de las 2 variedades de hoja de coca, lo cual también fue demostrado en los estudios de Rojas y Castañeda (13,14), por lo cual se reafirma su gran efecto antibacteriano y su denominación como Gold Standard.

Comprobada las bondades de esta planta, proporciona una buena oportunidad de profundizar los estudios para lograr la elaboración de productos económicos y de mayor acceso para la población en beneficio de la salud bucal.

Se concluyó que el extracto etanólico de *E. coca* var. *coca* al 100% y 50% tuvo mayor efecto antibacteriano que la variedad *E. novogranatense* var. *truxillense* al 100% frente al *Streptococcus mutans* y que la concentración de *E. coca* var. *coca* al 25% tuvo igual efecto antibacteriano que *E. novogranatense* var. *truxillense* a las concentraciones de 100% y 50%.

Asimismo, la Clorhexidina al 0,12% tuvo mayor efecto sobre el *Streptococcus mutans* que los extractos etanólicos de las dos variedades de hoja de coca estudiadas.

Conflicto de intereses: Los autores no tienen conflicto de interés con este informe.

Aprobación de ética: Los autores declaran que debido a la naturaleza del trabajo experimental en el laboratorio no requirió de la autorización del comité de Ética.

Financiamiento: Recursos propios de los autores.

Contribuciones de los autores: Todos los autores contribuyeron a este manuscrito. **Agradecimientos:** Personal del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología UNMSM.

Correspondencia:

María del Rosario Salcedo Calderón
Calle 7 Mz D Lote 29. Asociación de vivienda La Encalada etapa 1.
Santa Anita, Lima, Perú. Código postal 15009.
Correo electrónico masayo06@hotmail.com

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Espinoza M, León RA. Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. *Rev Estomatol Herediana*. 2015; 25(3): 187-193.
2. Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. *Streptococcus mutans*, caries y modelos de simulación. *Nutrients*. 2010; 2(3): 290-8.
3. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. Dental caries: What is it. En: Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. *Dental Caries the Disease and its clinical Management*. Oxford: Wiley Blackwell; 2015. p.7-10.
4. Costa BE, Ricomini AP, Burne RA, Zeng L. The Route of Sucrose Utilization by *Streptococcus mutans* Affects Intracellular Polysaccharide Metabolism. *Front Microbiol*. 2021; 12:1-13.
5. Gutiérrez J. Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la odontología. 1ra edición. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2006.
6. Martínez HR. Directriz sobre el cuidado de la salud oral en adolescentes. *Revista ADM*. 2019; 76 (1): 26-29.
7. Sajjan P, Laxminarayan N, Kar PP, Sajjanar M. Chlorhexidine as an Antimicrobial Agent in Dentistry -A Review. *Oral Health and Dental Management*. 2019; 15(2):93-100.
8. Moromi H, Martínez E. Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Odontol Sanmarquina*. 2009; 12(1): 25-28.
9. Deshpande A, Deshpande N, Raol R, Patel K, Jaiswal V, Wadhwa M. Effect of green tea, ginger plus green tea, and chlorhexidine mouthwash on plaque-induced gingivitis: A randomized clinical trial. *J Indian Soc Periodontol*. 2021; 25:307-312.
10. 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 de Bachiller. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008. 68pp.
11. Borrovic F. Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* (coca) sobre flora mixta salival. Tesis de Bachiller. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2006. 85 pp.
12. Vergara C. Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso y extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Tesis de Bachiller. La Libertad, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2011. 56 pp.
13. Rojas R. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto de hoja de coca en comparación con la clorhexidina frente a *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Tesis de Bachiller. Huánuco, Perú: Universidad de Huánuco, 2011. 81 pp.
14. 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 de Maestría. Trujillo, Perú: Universidad de Trujillo, 2017. 57 pp.
15. Gamarra V, Fuertes C, Chávez N, Contreras D. Metabolitos detectados en las hojas de *Erythroxylum coca* Lam y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron y evaluación de sus propiedades biológicas mediante bioensayos. *Rev Perú Med Integrativa*. 2017;2(4):828-34.
16. White DM, Huang JP, Jara OA, Madriñán S, Ree RH, Mason RJ. The Origins of Coca: Museum Genomics Reveals Multiple Independent Domestications from Progenitor *Erythroxylum gracilipes*. *Syst Biol*. 2021; 70(1):1-13.
17. Matuq S, Felemban EH, Alnajjar GK, et al. Effectiveness of probiotic lozenges and Chlorhexidine mouthwash on plaque index, salivary pH, and *Streptococcus mutans* count among school children in Makkah, Saudi Arabia. *Saudi Dent J*. 2021;33(7):635-641.
18. Weli TA, Mohammed AT. Effect of ginger extract on *Mutans streptococci* in comparison to chlorhexidine gluconate. *J Bagh Coll Dent*. 2014; 25(2):179-84.
19. Loyola D, Mendoza R, Chiong L, 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 Prevent Comunit Dent*. 2020; 10(5): 579-84.
20. Cossio BA. Efecto Antibacteriano In Vitro del Extracto Hidroetanólico de *Erythroxylum coca* "COCA" frente *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Tesis de Pregrado. Pimentel, Perú: Universidad Señor de Sipán, 2018. 65pp.
21. Sánchez EG. Evaluación "In Vitro" del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Erythroxylaceae Erythroxylum coca novogranatense* frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con el Gluconato de Clorhexidina al 2% Chimbote, 2018. Tesis de Pregrado. Chimbote, Perú: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote, 2018. 65pp.

Recibido: 21-07-2021

Aceptado: 02-06-2022