Artículo de investigación

**Efecto antibacteriano de dos extractos de *Erythroxylum coca* frente a *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus***

Antibacterial effect of two extracts of *Erythroxylum coca* against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*

Bryan Alexis Cossio-Alva1\* <https://orcid.org/0000-0003-1568-5324>

Eliberto Ruiz-Ramirez1 <https://orcid.org/0000-0002-5340-7168>

Marco Sánchez-Tito2 <https://orcid.org/0000-0001-5886-9372>

Miguel Angel Ruiz-Barrueto3 <https://orcid.org/0000-0002-3373-4671>

1Universidad Científica del Sur. Lima, Perú.

2Universidad Privada de Tacna. Tacna, Perú.

3Universidad César Vallejo. Piura, Perú.

\*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: 100066171@cientifica.edu.pe

**RESUMEN**

**Introducción:** La hoja de *Erythroxylum coca*, se utiliza tradicionalmente en diversos países por sus bondades farmacológicas.

**Objetivo:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto acuoso y alcohólico de hojas de *Erythroxylum coca* frente a *Streptococcus mutans* ATCC®35668™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC®4356™.

**Métodos:** Estudio experimental *in vitro*. Se obtuvo el extracto acuoso y alcohólico de *E. coca*. La muestra estuvo conformada por 20 placas petri para cada concentración y extracto evaluado. La media de los diámetros de los halos de inhibición, se expresaron en milímetros y se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el análisis *post hoc* de Dunn con ajuste de Bonferroni. La comparación de los efectos entre las 24 y 48 horas se realizó mediante el test Wilcoxon con un nivel de significancia del 5 %.

**Resultados:** La concentración alcohólica de 25 mg/mL fue más efectiva sobre *S. mutans*, al compararla con los otros grupos (p< 0,05). En el extracto alcohólico se observó diferencias con la concentración de 50 mg/mL a las 24 y 48 horas frente a *S. mutans* (p< 0,05). Se observaron diferencias significativas al comparar el efecto inhibitorio del extracto acuoso de 75 mg/mL y 50 mg/mL a las 24 y 48 horas frente a *L. acidophilus* (p< 0,05) y para el extracto alcohólico las diferencias fueron estadísticamente significativas con las concentraciones de 50 mg/mL y 25 mg/mL (p< 0,05).

**Conclusión:** Existen diferencias en el efecto antibacteriano del extracto acuoso y alcohólico de las hojas de *E. coca* frente a *S. mutans* y *L. acidophilus*.

**Palabras clave:** antibacterianos; coca; *Streptococcus mutans*; *Lactobacillus acidophillus.*

**ABSTRACT**

**Introduction:** The *Erythroxylum coca* leaf is traditionally used in various countries for its pharmacological benefits.

**Objective:** To compare the antibacterial effect of the aqueous and alcoholic extract of *Erythroxylum coca* leaves against *Streptococcus mutans* ATCC®35668™ and *Lactobacillus acidophilus* ATCC®4356™.

**Methods:** Experimental in vitro study. The aqueous and alcoholic extract of *E. coca* was obtained. The sample consisted of 20 petri dishes for each concentration and extract evaluated. The mean diameters of the inhibition halos were expressed in millimeters and analyzed using the Kruskal-Wallis test and Dunn's post hoc analysis with Bonferroni adjustment. The comparison of the effects between 24 and 48 hours was carried out using the Wilcoxon test with a significance level of 5 %.

**Results:** The alcoholic concentration of 25 mg/mL was more effective on *S. mutans*, when compared to the other groups (p< 0.05). In the alcoholic extract, differences were observed with the concentration of 50 mg/mL at 24 and 48 hours against *S. mutans* (p< 0.05). Significant differences were observed when comparing the inhibitory effect of the aqueous extract of 75 mg/mL and 50 mg/mL at 24 and 48 hours against *L. acidophilus* (p< 0.05) and for the alcoholic extract the differences were statistically significant with concentrations of 50 mg/mL and 25 mg/mL (p< 0.05).

**Conclusion:** There are differences in the antibacterial effect of the aqueous and alcoholic extract of *E. coca* leaves against *S. mutans* and *L. acidophilus*.

**Keywords:** anti-bacterial agents; coca; *Streptococcus mutans*; *Lactobacillus acidophilus*.

Recibido: 12/04/2022

Aprobado: 08/07/2022

**INTRODUCCIÓN**

La caries dental es considerada la enfermedad bucal más prevalente en el mundo. Según datos globales actuales, aproximadamente 2 400 millones de personas adultas y entre el 60 % y 90 % de los escolares padecen esta enfermedad.(1,2) Estos datos resaltan la relevancia de tomar acciones conjuntas y urgentes entre la comunidad científica y los integrantes del sistema de salud, no solo orientadas al control de la afección sino a promover prácticas preventivas que a mediano y largo plazo disminuyan su alta prevalencia.

La microbiota bucal alberga diversos géneros bacterianos en equilibrio, como los *Streptococcus* con sus diversas especies, entre las que destacan *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. sobrinus*, *S. milleri,* entre otros; también se encuentran representantes de los géneros *Lactobacillus*, *Actinomyces* y *Bifidobacterium*, en concomitancia con los *Estreptococos*, como los responsables de las lesiones cariosas en las superficies dentarias, al propiciar disbiosis en el ecosistema oral.(3,4)

El *S. mutans* tiene mayor capacidad de formar biopelículas, a diferencia de otros *Streptococcus*; además, se sabe que junto al *Lactobacillus acidophilus* y por su metabolismo fermentativo de los carbohidratos provenientes de la dieta, son altos productores de ácido láctico, lo que ocasiona la disminución del pH salival.(5,6) Estudios previos han reportado la presencia de *L. acidophilus* a nivel superficial y profundo de las lesiones de caries; favorecido principalmente por un polisacárido extracelular producido por *Streptococcus*, para formar la placa bacteriana.(7) Esta problemática, ha incrementado el interés actual en la búsqueda de nuevas alternativas de tratamientos derivados de productos naturales.

Reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) establecen que aproximadamente el 80 % de la población mundial utiliza la medicina tradicional y complementaria para dar solución a sus principales problemas de salud. El estudio de derivados vegetales para usos curativos se le conoce como medicina herbolaria y es estudiada para conocer nuevos efectos terapéuticos más eficaces y con menor costo.(8,9,10) De hecho, la hoja de *Erythroxylum coca* (coca) es una de los recursos que se vienen estudiando para conocer sus diversos recursos fitogenéticos y farmacológicos.

*E. coca* es una planta utilizada en el Perú desde tiempos remotos. En su composición se han identificado metabolitos primarios tipo lípidos, proteínas, carbohidratos y secundarios, principalmente alcaloides, flavonoides y taninos. Se ha establecido que la cantidad de alcaloides depende de la variedad de *E. coca*; uno de los más estudiados es la cocaína.(11,12,13) Respecto al potencial antibacteriano de la planta, un estudio precedente ha demostrado que el 5,7-trihidroxi-flavona es el flavonoide más eficaz al inhibir la enzima glucosiltransferasa, determinante en la composición de glucano para la formación de la placa bacteriana oral.(14)

La utilización de los productos de *E. coca* por la población es principalmente empírica desde hace muchos años, mediante masticación de las hojas, apósito e infusiones. El potencial farmacológico de este vegetal radica en su capacidad analgésica, antibacteriana, antiinflamatoria y anestésica.(15,16) Al respecto, *Loyola* y otros*,*(17) evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* Lam y *Schinus molle*, a concentraciones de 50 % y 75 % frente a *S. mutans* ATCC 25175; establecieron que en ambos extractos la concentración más alta tuvo mayor eficacia antibacteriana; sin embargo, dicho efecto no superó al de la clorhexidina, utilizada como control.

A pesar del auge de investigaciones en la búsqueda de nuevos fitoterapéuticos, aún existe un vacío del conocimiento respecto al potencial antimicrobiano de la hoja de *E. coca* sobre microorganismos de interés estomatológico. Al ser la caries dental unas de las enfermedades más prevalentes a nivel mundial, que afecta a todos los grupos etarios sin distinción, existe la necesidad de buscar nuevas alternativas terapéuticas con base en derivados naturales de menor costo, sin efectos colaterales y de fácil acceso para las poblaciones más necesitadas.

La presente investigación tiene como objetivo comparar el efecto antibacteriano del extracto acuoso y alcohólico de hojas secas de *E. coca* frente a *S. mutans* ATCC®35668™ y *L. acidophilus* ATCC®4356™.

**MÉTODOS**

Se realizó un estudio de enfoque cuantitativo, experimental *in vitro*, longitudinal y prospectivo, en el laboratorio de microbiología de la Universidad Científica del Sur, en el periodo comprendido entre el 12 de mayo del 2021 y el 28 de enero del 2022.

La investigación fue evaluada por el Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Científica del Sur (Código de registro: 695-2020-POS8).

 La población, estuvo constituida por placas petri sembradas con cepas estandarizadas de *S. mutans* ATCC®35668™ y *L. acidophilus* ATCC®4356™, obtenidas de la *American Type Culture Collection* (ATCC), importadas por la empresa Genlab S.A.C. Para la muestra se tomó como referencia investigaciones previas,(18,19) y estuvo conformada por 20 placas petri por cada concentración y tipo de extracto; resultaron 160 unidades experimentales.(20,21)

**Recolección de las hojas e identificación de la planta *E. coca***

Las hojas de coca para la obtención de los extractos acuoso, alcohólico y su identificación taxonómica, fueron proporcionadas por la Empresa Nacional de la Coca (ENACO S.A), sede Trujillo. La caracterización taxonómica fue corroborada en el *Herbarium Truxillense* (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), con código de registro N°60841.

**Obtención y tamizaje fitoquímico de los extractos etanólico y acuoso de *E. coca***

La obtención de los extractos y su tamizaje fitoquímico fue realizado en el Centro de Control Analítico (CCA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Las hojas fueron secadas en una estufa (Memmert) a 40 oC durante 5 días y trituradas con un molino común. El extracto acuoso de hoja de coca se obtuvo mediante el método de ebullición en agua destilada con 300 g del material vegetal y el extracto etanólico, por el método de maceración en solvente alcohólico 70 ° con la misma cantidad de material. Posterior a la maceración por 7 días, los preparados se filtraron 3 veces con papel filtro (Whatman N° 1). A partir de los extractos acuoso y etanólico secos obtenidos mediante bomba de vacío Vacuubrand® modelo ME 4RNT se prepararon las concentraciones de 25 mg/mL, 50 mg/mL y 75 mg/mL, al momento de la experimentación.

El tamizaje fitoquímico cuantitativo se realizó por espectrofotometría UV-VIS para fenoles, taninos y flavonoides. El análisis y cuantificación de alcaloides totales se obtuvo por el método volumétrico.

**Reactivación y estandarización de las cepas de *S. mutans* ATCC®35668™ y *L. acidophilus* ATCC®4356™**

Los cultivos bacterianos fueron reactivados 24 horas antes de la experimentación en caldo Mueller Hinton (Liofilchem®) y cultivadas en condiciones de aerobiosis a 36,5 oC en incubadora microbiológica ShelLab®.(22,23,24) La estandarización del inóculo de ambas bacterias se realizó por turbidimetría en Espectrofotómetro Thermo Scientific® Genesys 150 y fue equivalente a 1,5x108 UFC/mL.(25)

**Evaluación del efecto antibacteriano**

El efecto antibacteriano de los extractos fue determinado por el método estandarizado de difusión en disco según el *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI). Para el caso de *L. acidophilus* ATCC®4356™ la evaluación se realizó en Agar Mueller Hinton (Merck®) mientras que para *S. mutans* ATCC®35668™ se efectuó en Agar Mitis Salivarius (Liofilchem®). Se utilizó como control positivo para ambos microoganismos a gluconato de clorhexidina al 0,12 %.(22,23,24,25) Las condiciones microbiológicas fueron; incubación en aerobiosis a 36,5 oC durante 24-48 horas en incubadora microbiológica ShelLab®. Los resultados fueron reportados como diámetros de las zonas (halos) de inhibición en milímetros (mm) medidos con un vernier mecánico marca Kamasa®.

La variable dependiente fue el efecto antibacteriano, expresado por el diámetro del halo de inhibición mediante el método de Kirby Bauer. Las variables independientes fueron: el tipo de extracto (acuoso o alcohólico), la concentración del extracto (25 mg/mL, 50 mg/mL o 75 mg/mL), el microorganismo (*S. mutans* ATCC®35668™ o *L. acidophilus* ATCC®4356™) y el tiempo (24 o 48 horas).

**Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se empleó el programa Stata para Mac OS en su versión 16.0 (Stata Corporation, College Station, Texas, EE. UU).

La normalidad y la homocedasticidad de la variable dependiente se verificó con la prueba de Shapiro-Wilk y Bartlett, respectivamente. Al no comprobarse ambos supuestos, se eligieron pruebas no paramétricas. Para identificar las diferencias de los valores de halos de inhibición entre los grupos según los extractos, cepas y concentraciones se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba *post hoc* de Dunn, con ajuste de Bonferroni. Para la comparación entre los valores obtenidos a las 24 y 48 horas se aplicó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon. Se adoptó un nivel de significación de 5 % para todas las pruebas.

**RESULTADOS**

En la tabla 1 se muestran los resultados promedios del diámetro de los halos de inhibición generados por los extractos acuoso y alcohólico de *E. coca* a distintas concentraciones sobre cultivos de *S. mutans* y *L. acidophilus*.

Los valores más altos de halos de inhibición fueron observados con el control positivo clorhexidina al 0,12 %. En el caso de la inhibición de los extractos se observó que a una mayor concentración, hubo un mayor efecto sobre la inhibición del crecimiento de las cepas estudiadas. La prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn mostraron diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos, cuando se compararon las concentraciones de los extractos frente a las bacterias evaluadas (p< 0,05).

Cuando se comparó el efecto de cada una de las concentraciones según el tipo de extracto sobre las cepas, se observó que en el caso de la concentración de 75 mg/mL del extracto acuoso sobre *S. mutans* fue similar al obtenido con el extracto alcohólico sobre *L. acidophilus* (p> 0,05). El efecto de la concentración de 50 mg/mL del extracto acuoso fue semejante al extracto alcohólico sobre *S. mutans*; el mismo patrón se observó para *L. acidophilus* (p> 0,05). Por otro lado, la concentración de 25 mg/mL del extracto alcohólico fue más efectiva sobre *S. mutans*, al compararla con los otros grupos (p< 0,05).

**Tabla 1 –** Halos de inhibición generados por las diferentes concentraciones de los extractos frente a *S. mutans* y *L. acidophilus*



\*Prueba de Kruskal Wallis, seguida de prueba *post hoc* de Dunn con ajuste de Bonferroni (p< 0,05). Letras minúsculas diferentes en superíndice en las columnas expresan diferencias significativas. Letras mayúsculas entre las filas expresan diferencias significativas. DE: desviación estándar.

La comparación del efecto inhibitorio del crecimiento de *S. mutans* de los extractos a las 24 y 48 horas se reportan en la tabla 2. Los resultados mostraron que en el caso del extracto acuoso no se observaron diferencias significativas para ninguna de las concentraciones evaluadas a las 24 y 48 horas (p> 0,05). En el caso del extracto alcohólico solo se observaron diferencias entre la media de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas para la concentración de 50 mg/mL (p< 0,05).

**Tabla 2 –** Halos de inhibición a las 24 y 48 horas, generados por las diferentes concentraciones de los extractos frente a *S. mutans*



\*Prueba de rangos con signo de Wilcoxon. Letras minúsculas diferentes en superíndice en las filas expresan diferencias significativas para la comparación entre las 24 y 48 horas para los extractos. DE: desviación estándar.

En el caso de *L. acidophilus*, se observaron diferencias significativas al comparar el efecto inhibitorio del extracto acuoso a concentraciones de 75 mg/mL y 50 mg/mL, a las 24 y 48 horas (p< 0,05). Para el extracto alcohólico las diferencias fueron significativas para las concentraciones de 50 mg/mL y 25 mg/mL (p< 0,05) (tabla 3).

**Tabla 3 –** Halos de inhibición a las 24 y 48 horas, generados por las diferentes concentraciones de los extractos frente a *L. acidophilus.*



\*Prueba de rangos con signo de Wilcoxon. Letras minúsculas diferentes en superíndice en las filas expresan diferencias significativas para la comparación entre las 24 y 48 horas para los extractos. DE: desviación estándar.

**DISCUSIÓN**

La caries dental es una de las enfermedades más prevalentes en el mundo, su ocurrencia tiene consecuencias funcionales, psicológicas y sociales nefastas en la población. Se ha establecido, que *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* participan de manera activa en el inicio y progresión de la lesión de caries. En los últimos años, existe mayor interés en desarrollar nuevas alternativas de tratamientos derivados de productos naturales. Al respecto, *Erythroxylum coca* (coca) es una planta considerada medicinal debido a la gran cantidad de compuestos bioactivos que presenta y que diversas investigaciones han corroborado su potencial terapéutico.

Las hojas de coca contienen grandes cantidades de alcaloides y tropanos; el contenido total de estos compuestos difiere según su variedad y clima. A ese respecto, los estudios reportan que los niveles más altos del alcaloide de cocaína se obtienen de la especie *E. coca* novogranatense, entre 0,72 % y 0,77 %, diferente de las variedades Ipadu y boliviana, con valores entre 0,11 % y 0,63 % respectivamente.(11) También contienen mayor cantidad de otros alcaloides, flavonoides, fenoles y taninos, a diferencia de *E. coca* Lam.(12,13) Investigaciones precedentes(17,20,21,26,27) coinciden con lo determinado en el tamizaje fitoquímico cuantitativo de la presente investigación, en la cual se obtuvo que el extracto acuoso de *E. coca* contenía 51,5 mg/mL de alcaloides, 124,3 mg/mL de flavonoides, 94 900 µg de ácido gálico/ mL de fenoles totales y 0,0031 mg/mL de taninos.

Respecto al extracto alcohólico de *E.* coca, este contenía 72,5 mg/mL de alcaloides, 245,9 mg/mL de flavonoides, 152 584 µg de ácido gálico/ mL de fenoles totales y 0,0041 mg/mL de taninos. Estos últimos compuestos son considerados importantes debido a que se les considera responsables del potencial antibacteriano de diversas plantas, incluidas *E. coca* novogranatense var. *Truxillense*, a los que se les puede relacionar sus propiedades antibacterianas.

*Loyola D* y otros*,*(17) reportan el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *E. coca Lam* en las concentraciones de 50 % y 75 % sobre *S. mutans*, formando halos de inhibición a las 24 horas de 10,1 ± 0,7 mm y 11,2 ± 0,7 mm, respectivamente; el efecto se incrementa a las 48 horas, con halos inhibitorios de 10,5 ± 0,6 mm y 11,3 ± 0,7 mm en cada concentración. Estos resultados son semejantes a los obtenidos en la presente investigación y los comunicados por *Salcedo*,(26) en el cual las concentraciones de 50 % y 100 % de *E. coca novogranatense var. Truxillense* y *E. coca var. Coca*, presentaron mayor efecto antibacteriano frente a *S. mutans*. Lo antes mencionado, tiene consistencia debido a que, teóricamente se ha establecido que a mayor cantidad de principios activos, mayor efecto antibacteriano.

Se ha mencionado que la técnica de extracción y el solvente seleccionado, para la obtención de los metabolitos primarios y secundarios, en plantas medicinales, son importantes en la evaluación del efecto terapéutico de un producto vegetal, pues influirían en la captación de la mayor o menor cantidad de los compuestos bioactivos que puede corroborarse mediante el tamizaje fitoquímico cuantitativo. *Alvarado* y otros,(27) identificaron la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *E. coca novogranatense var Truxillense* frente a *S. mutans* y *L. acidophilus*,en concentraciones de 25 µg/mL y 50 µg/mL. La inhibición reportada sobre *S. mutans* fue de 8,8 mm y 10,4 mm para ambas concentraciones respectivamente y para *L. acidophilus* la inhibición fue de 9,8 mm y 10 mm, respectivamente. Estos resultados difieren de los reportados en el presente estudio y podrían deberse al tipo de extracto utilizado (acuoso y alcohólico) y las características botánicas del vegetal.

*Luna-Vílchez* y otros,(28) evaluaron el potencial antimicrobiano de los extractos; acuoso, ácido y alcohólico de *E. coca var coca*. Determinaron que solo el extracto alcohólico mostró efectividad antifúngica, pero todos los extractos disminuyeron la velocidad de crecimiento de los hongos estudiados. Al respecto, en la presente investigación se encontró que el extracto alcohólico presentó mayor efecto antibacteriano, en comparación con el extracto acuoso frente a ambas bacterias. Esto se fundamenta en que se ha comunicado que los solventes orgánicos permiten mejor recuperación de compuestos bioactivos presentes en materiales vegetales secos.

A pesar de los resultados prometedores de esta investigación, es importante precisar que al ser un estudio experimental se requieren más investigaciones, para considerar el uso seguro de los extractos de coca por la población de manera directa o incorporada en productos orales dentro de los protocolos de terapia cariogénica.

Existen diferencias en el efecto antibacteriano del extracto acuoso y el extracto alcohólico de hojas de *Erythroxylum coca* (coca) frente a *Streptococcus mutans* ATCC®35668™y *Lactobacillus acidophilus* ATCC®4356™.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. World Health Organization. Enfermedades y trastornos bucodentales. Ginebra: WHO; 2022. [acceso: 20/03/2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>

2. Hong J, Whelton H, Douglas G, Kang J. Consumption frequency of added sugars and UK children's dental caries**.** Community Dent Oral Epidemiol. 2018; 46(5):457–64. DOI: 10.1111/cdoe.12413

3. Gamboa F. Microbiological, Phenotypic, and Genotypic Characterization of Streptococcus mutans: Research Experiences. Univ Odontol. 2014; 33(71):65-73. DOI: 10.11144/Javeriana.uo33-71.icmf

4. Conrads G. About I. Pathophysiology of Dental Caries. Monogr Oral Sci. 2018; 27:1–10. DOI: 10.1159/000487826

5. Xie Z, Zhang Z, Liu L, Liu X, Chen Y*.* Secondary metabolites from Streptococcus mutans and their ecological roles in dental biofilm. Chin J Biotech. 2017; 33(9):1547-1554. DOI: 10.13345/j.cjb.170046

6. Elgamily H, Safy R, Makharita R. Influence of medicinal plant extracts on the growth of oral pathogens Streptococcus mutansandLactobacillus acidophilus: anin-vitro study*.* Maced J Med Sci. 2019; 7(14):2328–34. DOI: 10.3889/oamjms.2019.653

7. Mei ML, Chu CH, Low KH, Che CM, Man Lo EC. Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with S. mutans and L. acidophilus dual-species cariogenic biofilm. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2013; 18(6): e824– e831. DOI: 10.4317/medoral.18831

8. Sisay M, Bussa N, Gashaw T, Mengistu G*.* Investigating In Vitro Antibacterial Activities of Medicinal Plants Having Folkloric Repute in Ethiopian Traditional Medicine. J Evid Based Integr Med. 2019; 24:2515690X19886276. DOI: 10.1177/2515690X19886276

9. Kristoffersen AE, Stub T, Broderstad AR, Hansen AH*.* Use of traditional and complementary medicine among Norwegian cancer patients in the seventh survey of the Tromsø study. BMC Complement Altern Med. 2019; 19(1):341. DOI: 10.1186/s12906-019-2762-7

10. Heinrich M, Anagnostou S. From Pharmacognosia to DNA Based Medicinal Plant Authentication Pharmacognosy through the Centuries. Planta Med. 2017; 83(14-15):1110–1116. DOI: 10.1055/s-0043-108999

11. Restrepo DA, Saenz E, Jara OA, Calixto IF, Rodríguez S, Zulete P, et al*.* Erythroxylum in Focus: An Interdisciplinary Review of an Overlooked Genus. Molecules. 2019; 24(20):3788. DOI: 10.3390/molecules24203788

12. Gamarra V, Fuertes C, Chávez N, Contreras D, Goya E, Huamantumba K, et al*.* Metabolitos detectados en las hojas de Erythroxylum coca Lam y Erythroxylum novogranatense (Morris) Hieron y evaluación de sus propiedades biológicas mediante bioensayos. Rev Peru Med Integrativa. 2017; 2(4):828-34. DOI: 10.26722/rpmi.2017.24.70

13. Scarpetta L. Reconocimiento Fitoquímico y etnobotánico de Erythroxylum coca en la población Nasa del Departamento del Cauca – Colombia. Rev Crit Lib Jurid. 2017; 14(1):21‐46. DOI: 10.18041/1794-7200/criteriojuridico.2017.v14n1.1601

14. Harun M, Ramadhany S, Suryajaya F. Streptococcus Colonial Growth of Dental Plaque Inhibition Using Flavonoid Extract of Ants Nest (Myrmecodia pendans): An in Vitro Study. Pesqui. Bras. Odontopediatría Clín Integr. 2019; 19:e4250. DOI: 10.4034/pboci.2019.191.19

15. Biondich A, Joslin J. Coca: High Altitude Remedy of the Ancient Incas. Wilderness Environ Med. 2015; 26(4):567–571. DOI: 10.1016/j.wem.2015.07.006

16. Weil A. The therapeutic value of coca in contemporary medicine. J Ethnopharmacol. 1981; 3(2-3):367–376. DOI: 10.1016/0378-8741(81)90064-7

17. Loyola D, Mendoza R, Chiong L, Rueda M, Alvítez-Temoche D, Gallo W. 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; 10(5):579-584. DOI: 10.4103/jispcd.JISPCD\_237\_20

18. Salman HA, Venkatesh S, Senthilkumar R, Gnanesh Kumar BS, Ali AM. Determination of antibacterial activity and metabolite profile of Ruta graveolens against Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus. J Lab Physicians. 2018; 10(3):320-325. DOI: 10.4103/JLP.JLP\_160\_17

19. Karadağlıoğlu Öİ, Ulusoy N, Başer KHC, Hanoğlu A, Şık İ. Antibacterial Activities of Herbal Toothpastes Combined with Essential Oils against Streptococcus mutans. Pathogens. 2019; 8(1):20. DOI: 10.3390/pathogens8010020

20. Enciso S. Actividad antibacteriana del extracto de Solanum tuberosum “Tocosh” y Clorhexidina al 0.12% sobre cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175. In vitro [Tesis de título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Federico Villareal, Facultad de Odontología; 2019. [acceso: 10/04/2020]. Disponible en: http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/3949

21. Castro M. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana y citotoxicidad de Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze “TARA” frente a Streptococcus mutans (ATCC 25175) y Streptococcus sanguinis (ATCC 10556) [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, Facultad de Estomatología; 2017. [acceso: 10/04/2020]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12866/5973>

22. Nassar H, Gregory R. Biofilm sensitivity of seven Streptococcus mutans strains to different fluoride levels. [J Oral Microbiol](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5508399/). 2017; 9(1):1328265. DOI: 10.1080/20002297.2017.1328265

23. Kim YH, Lee SY. Identification of non-streptococcal organisms from human dental plaque grown on the Streptococcus-selective medium mitis-salivarius agar. Arch Oral Biol. 2015; 60(2):267–271.DOI: 10.1016/j.archoralbio.2014.11.002

24. Yoo HJ, Jwa SK. Inhibitory effects of β-caryophyllene on Streptococcus mutans biofilm. Arch Oral Biol. 2018; 88:4246. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.01.009

25. Patrzalek M, Kosecka M, Lisowska K, Trela M, Kot M, Kot M, et al. Preliminary evaluation of application of a 3-dimensional network structure of siloxanes Dergall preparation on chick embryo development and microbiological status of eggshells. Poultry Science. 2020; 99(3):1581-1590. DOI: 10.1016/j.psj.2019.10.079

26. Salcedo MR. Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del Erythroxylum novogranatense var. Truxillense y Erythroxylum coca var coca frente al Streptococcus mutans [Tesis de título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2018. [acceso: 10/04/2020]. Disponible en:
https://hdl.handle.net/20.500.12672/9308

27. 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; 13(2):21-25. DOI: 10.15381/os.v13i2.2853

28. Luna-Vílchez M, Díaz-Vélez C, Baca-Dejo F. Efecto del extracto acuoso, ácido y alcohólico de las hojas secas de Erythroxylum coca var coca (coca) en Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Microsporum canis y Candida albicans in vitro. Horiz Med. 2017 [acceso: 16/03/2022]; 17(1):25-30. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v17n1/a05v17n1.pdf>

**Conflictos de interés**

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

**Contribuciones de los autores**

Conceptualización: *Bryan Alexis Cossio-Alva.*

Curación de datos: *Marco Sánchez-Tito, Bryan Alexis Cossio-Alva.*

Análisis formal: *Bryan Alexis Cossio-Alva, Miguel Angel Ruiz-Barrueto, Eliberto Ruiz-Ramirez.*

Investigación: *Bryan Alexis Cossio-Alva, Eliberto Ruiz-Ramirez, Miguel Angel Ruiz-Barrueto.*

Metodología: *Miguel Angel Ruiz-Barrueto, Bryan Alexis Cossio-Alva.*

Administración del proyecto: *Bryan Alexis Cossio-Alva, Eliberto Ruiz-Ramirez.*

Recursos*: Bryan Alexis Cossio-Alva, Eliberto Ruiz-Ramirez, Miguel Angel Ruiz-Barrueto, Marco Sánchez-Tito.*

Supervisión: *Eliberto Ruiz-Ramirez.*

Validación: *Bryan Alexis Cossio-Alva, Miguel Angel Ruiz-Barrueto, Eliberto Ruiz-Ramirez.*

Visualización*: Bryan Alexis Cossio-Alva, Eliberto Ruiz-Ramirez, Miguel Angel Ruiz-Barrueto, Marco Sánchez-Tito.*

Redacción *– borrador original: Bryan Alexis Cossio-Alva, Miguel Angel Ruiz-Barrueto, Eliberto Ruiz-Ramirez, Marco Sánchez-Tito.*

Redacción: - revisión y edición: *Bryan Alexis Cossio-Alva, Miguel Angel Ruiz-Barrueto, Eliberto Ruiz-Ramirez, Marco Sánchez-Tito.*