



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA
PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LA FLOR DE *Cordia lutea* Lam. (FLOR DE
OVERO) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES

Bach. DE LA CRUZ ARÉVALO, LUCELINA
<https://orcid.org/0009-0007-8705-1626>

Bach. FLORES SERQUÉN, YUVICSA YULEYSY
<https://orcid.org/0009-0005-3436-4886>

ASESOR

Mg. VELARDE APAZA, LESLIE DIANA
<https://orcid.org/0000-0001-6031-6355>

Lima – Perú

2023

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, LUCELINA DE LA CRUZ AREVALO, con DNI 71770011, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**¹ que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 19 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 03 días del mes de enero del año 2023.



LUCELINA DE LA CRUZ AREVALO
DNI: 71770011



Mg. LESLIE DIANA VELARDE APAZA
DNI: 72476825

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, YUVICSA YULEYSY FLORES SERQUEN, con DNI 48255435, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**² que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 19 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 03 días del mes de enero del año 2023.



YUVICSA YULEYSY FLORES SERQUEN
DNI: 48255435



Mg. LESLIE DIANA VELARDE APAZA
DNI: 72476825

² Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

ANTIBACTERIANO EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cordia lutea* Lam. (FLOR DE OVERO) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	9%
2	repositorio.uoosevelt.edu.pe Fuente de Internet	6%
3	Submitted to Universidad Alas Peruanas Trabajo del estudiante	2%
4	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de investigación a Dios en primer lugar por darnos la vida y la salud.

A mis padres Clorinda Serquén y Eulogio Flores y hermanos por su apoyo incondicional y comprensión que me permitieron creer en mí y alcanzar mi meta deseada.

Yuvicsa Yuleysy Flores Serquén

A mis queridos padres María Arévalo Tapia y Elmer de la Cruz Delgado por su amor y apoyo incondicional brindado.

Lucelina De La Cruz Arévalo

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por ser nuestra guía en todo momento y por permitirnos lograr cada uno de los objetivos que nos trazamos.

A nuestras familias que fueron nuestra fuerza para seguir adelante y no darnos por vencidas, por sus consejos brindados que con perseverancia todo se puede y confiando siempre en Dios.

A nuestros profesores que, a través de cada sesión, compartieron sus conocimientos para lograr en nosotros, un buen desarrollo profesional.

Las autoras

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
DEDICATORIA.....	v
ÍNDICE GENERAL.....	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	12
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
2.1. Enfoque y diseño de la investigación.....	16
2.2. Población, muestra y muestreo.....	16
2.3. Variables de investigación.....	17
2.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	17
2.5. Plan de recolección de datos.....	18
2.6. Métodos de análisis estadísticos.....	21
2.7. Aspectos éticos.....	21
III. RESULTADOS.....	21
IV. DISCUSIÓN.....	29
4.1. Discusión de Resultados.....	29
4.2. Conclusiones.....	31
4.3. Recomendaciones.....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ANEXOS.....	36
ANEXO A: Instrumento de recolección de datos - microbiología.....	36
ANEXO B: Matriz de consistencia.....	38
ANEXO C: Operacionalización de las variables.....	39

ANEXO D: Certificado Taxonómico de la planta.....	41
ANEXO E: Certificado ATCC de <i>Streptococcus mutans</i>	41
ANEXO F: Fotografías del trabajo de campo	44

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificación de los metabolitos secundarios con efecto antibacteriano presentes en el extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo)	20
<i>Tabla 2.</i> Sensibilidad del cultivo de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, frente al efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50% y grupos control	21
<i>Tabla 3.</i> Análisis del comportamiento normal de los diámetros de inhibición para cada grupo de trabajo.	23
<i>Tabla 4.</i> Determinación la distribución homogénea de las varianzas	23
<i>Tabla 5.</i> Análisis de la varianza (ANOVA)	24
<i>Tabla 6.</i> Análisis por subgrupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	25
Tabla 7. Sensibilidad antibacteriana de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	26

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sensibilidad del cultivo de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, frente al efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50% y grupos control	22
Figura 2. Selección y lavado de la muestra vegetal	42
Figura 3. Evaporación del filtrado	43
Figura 4. Preparación de los grupos experimentales (extractos)	43
Figura 5. Estudio fitoquímico	44
Figura 6. Prueba de solubilidad	45
Figura 7. Preparación del inóculo bacteriano	46
Figura 8. Sembrado de la bacteria	47
Figura 9. Preparación de pocitos en agar	47
Figura 10. Aplicación de los grupos experimentales	48
Figura 11. Incubación de placas	48
Figura: 12. Recolección de datos	49

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de la flor *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Metodología: El estudio corresponde a un enfoque cuantitativo, transversal de tipo prospectivo y diseño experimental con grupos control, la población estuvo conformada por *Cordia lutea* Lam (Flor de overo), recolectada del distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque de la cual se seleccionó una muestra de 2 kilos de las flores de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo), el extracto de la flor de obtuvo mediante maceración en etanol y el proceso microbiológico para la determinación del efecto antibacteriano se realizó mediante el método de difusión en pozo, los datos recolectaron se analizaron mediante estadística descriptiva e inferencial con las pruebas de ANOVA y Tukey con un nivel de

significancia del 0.05, la sensibilidad de la bacteria se valoró mediante la escala de Duraffourd.

Resultados: Se identificaron metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas, quinonas y taninos en cantidad moderada (++); y flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenos en cantidad escasa (+); se obtuvo halos de inhibición promedio por grupo de tratamiento, el extracto etanólico de la flor de la flor de overo al 50% fue de $8,56 \pm 0,34$ mm; al 75% fue de $10,29 \pm 0,48$ mm y al 100% fue de $12,15 \pm 0,57$ mm, el control positivo (clorhexidina) presentó halo de inhibición promedio de $24,34 \pm 0,36$ mm; el control negativo (etanol) obtuvo un valor promedio de diámetro de inhibición de $5,95 \pm 0,43$ mm.

Conclusión: Se demostró que el extracto etanólico de la flor *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Palabras clave: *Cordia lutea*, *Streptococcus mutans*, Flor de overo, extracto etanólico

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the *in vitro* antibacterial effect of the ethanolic extract *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Methodology: The study corresponds to a quantitative, cross-sectional, prospective approach and experimental design with control groups, the population was made up of *Cordia lutea* Lam (Flor de overo), collected from the district of Chiclayo, department of Lambayeque, from which one was selected. sample of 2 kilos of the flowers of *Cordia lutea* Lam (Flor de overo), the extract of the flower was obtained by maceration in ethanol and the microbiological process for the determination of the antibacterial effect was carried out by means of the well diffusion method, the data collected were analyzed using descriptive and inferential statistics with the ANOVA and Tukey tests with a significance level of 0.05, the sensitivity of the bacteria was assessed using the Duraffourd scale.

Results: Secondary metabolites such as alkaloids, saponins, quinones and tannins were identified in moderate amounts (++); and flavonoids, phenolic compounds and triterpenes in small amounts (+); average inhibition halos were obtained by treatment group, the ethanolic extract of the overo flower at 50% was 8.56 ± 0.34 mm; at 75% it was 10.29 ± 0.48 mm and at 100% it was 12.15 ± 0.57 mm, the positive control (chlorhexidine) presented an average inhibition halo of 24.34 ± 0.36 mm; the negative control (ethanol) obtained an average inhibition diameter value of 5.95 ± 0.43 mm.

Conclusion: It was shown that the ethanolic extract *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) has in vitro antibacterial effect on *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Keywords: *Cordia lutea*, *Streptococcus mutans*, Flor de overo, ethanolic extract

I. INTRODUCCIÓN

Muchas enfermedades infecciosas humanas son causadas por biopelículas virulentas, incluidas las biopelículas orales. Las biopelículas son comunidades de células microbianas altamente dinámicas, estructuradas y organizadas en las que las células están cubiertas y sumergidas en una matriz extracelular (MEC) tridimensional (3D) de sustancias poliméricas como los exopolisacáridos (EPS). Dentro de las enfermedades causadas por biopelículas, la caries dental es un problema de salud pública mundial, perjudicando a niños y adultos. Además, la caries infantil o ECC (caries de la primera infancia) es una forma agresiva de la enfermedad que, si no se trata, puede provocar una cavitación dental rápida y extensa y otras complicaciones; además, es doloroso y costoso de tratar. La construcción del biofilm cariogénico es orquestada por la especie *Streptococcus mutans*, considerado el principal productor de MEC y modula la formación de biofilm cariogénico^{1,2}.

En los EE.UU. la caries dental es la enfermedad infecciosa crónica de mayor prevalencia y afecta al 40% de la población pediátrica y adolescentes, convirtiéndose en una carga en salud bucal mundial. Por otro lado, *Streptococcus mutans* está asociado con la endocarditis infecciosa, que inclusive en el año 2019 las intervenciones anuales en cirugías de válvulas cardíacas habían aumentado a más de 36.650, como resultado de la colonización de *S. mutans* en la sangre, desencadenando una endocarditis infecciosa; adicionalmente, otros autores encontraron que las bacterias orales están implicadas en el 35-45% de los casos de endocarditis³.

A nivel nacional, la presencia de *Streptococcus mutans* ha aumentado durante los últimos años debido al uso de tratamientos de ortodoncia, como el uso de brackets, debido a la dificultad para la limpieza bucal. Algunos investigadores indican que la aparatología fija podría cambiar cuantitativamente la microbiota oral, con un aumento de las colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. Por su parte, la revista ODOVTOS afirmó el potencial cariogénico de

Streptococcus mutans mostrando evidencias de que el 37% de la población en niños y adolescentes son portadores de dicha bacteria⁴.

A fin de comprender la necesidad de prevención de infecciones comunes recurrentes ocasionadas por *Streptococcus mutans*, se plantea la siguiente pregunta principal de la investigación: ¿Presentará efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) ?,

Con respecto a las bases teóricas del estudio, *Streptococcus mutans* es el principal productor de la matriz extracelular (MEC) y modula la formación de biofilm cariogénico cuando se dispone de sacarosa y almidón de la dieta del huésped, aunque no es la especie más numerosa y existen otros microorganismos igualmente acidógenos y acidúricos en la cavidad oral. El MEC sirve como esqueleto para el desarrollo de biopelículas, contribuyendo a la creación de microambientes (nichos) que favorecen el crecimiento y proliferación de microorganismos. Por su parte, las exoenzimas de *S. mutans* denominadas glicosiltransferasas (Gtfs) y fructosiltransferasas (Ftfs) utilizan sacarosa como sustrato e hidrolizados de almidón como aceptores para la síntesis de polisacáridos (glicanos y fructanos); Gtfs también se adsorbe a la superficie de otros microorganismos orales convirtiéndolos en productores de glicanos⁵.

Además, *Streptococcus mutans* presenta tolerancia al ambiente ácido principalmente a través de la actividad de bomba de protones F₀F₁-ATPasa (codificada por los genes del operón *atpCDGAHF*, del cual *atpD* tiene la expresión más alta). La respuesta de *Streptococcus mutans* a la acidificación ambiental también hace que este microorganismo sea más tolerante al estrés oxidativo, especialmente a través de una NADH oxidasa (codificada por *nox1*)⁶.

"*Cordia lutea* Lam", llamada comúnmente como "flor de overo", "violeta amarilla" o "muyuyo", tiene su origen en las Islas Galápagos, Ecuador y Perú, pertenece a la familia Boraginaceae, las cuales destacan por sus potenciales propiedades antimicrobianas. Algunos estudios datan la presencia del compuesto ácido glicérico, Tanto en las raíces como en los tallos de la familia mencionada. Esta planta es un árbol pequeño que puede llegar a medir hasta 8 metros de alto, sus

ramas presentan vellosidades, sus hojas son ásperas en la parte superior, sus flores son de color amarillo y se encuentran agrupadas en racimos⁶.

La flor de overo destaca por sus propiedades medicinales, especialmente su flor. Dentro de sus propiedades terapéuticas encontramos que se utiliza como analgésico, antiinflamatorio, antimicrobiano, depurador hepático y por la presencia de alantoína en sus raíces o tallos es utilizado como cicatrizante y regenerador de la piel⁶.

En la elaboración de este estudio los antecedentes internacionales que se relacionan a nuestras variables se citan a continuación, Debiassi B. et al (2021), cuyo objetivo fue determinar características antimicrobianas de los extractos etanólicos elaborados con las hojas de *Cordia glabrata*. El perfil fitoquímico evidenció flavonoides, terpenos, taninos y ácido cafeico; sobre la actividad antimicrobiana se expuso los extractos sobre *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no hubo efecto, lo contrario cuando se expuso con el virus *Herpes simplex* tipo 2 que sí presentó una alta actividad viricida⁷.

Araujo O. (2019), publicó su investigación con el propósito de evaluar la actividad antibacteriana de los metabolitos cardioquinonas extraídas de *Cordia polycephala* sobre bacterias grampositivas. Las cardioquinonas inhibieron en un 90% la formación de biopelículas de cepas ATCC como *S. aureus*, *S. saprophyticus* y *S. aureus* resistente, además, su CMI fue de 7,8µM. Por lo tanto, tiene potencial antibacteriano, incluso sobre bacterias resistentes⁸.

También, Castro M. (2019), cuyo objetivo fue caracterizar las propiedades físicas y antimicrobianas de revestimiento en alimentos elaborados con quitosano y goma de *Cordia lutea*. Cuando se elaboró el revestimiento con 60% de *Cordia lutea* y 1.5% de quitosano formó una zona inhibitoria de 2.98mm de diámetro para *Rhizopus* spp, para *Aspergillus* spp 2.29mm y para *Penicillium* spp 1.79mm; adicionalmente se comprobó que a mayor concentración de la goma y quitosano su efecto aumenta⁹.

A nivel nacional citaremos a Aldana L, Barco H, (2021), cuyo objetivo fue demostrar la sensibilidad bacteriana de *Staphylococcus aureus* al ser expuesto al extracto etanólico de la flor de overo "*Cordia lutea* Lam". Los resultados

evidenciaron que el extracto de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) al 100% presentó una zona de inhibición de 14,85mm, al 75% fue de 12,64mm y el control positivo (ciprofloxacino) fue de 23,93mm, comprobándose de esa manera el efecto antibacteriano del extracto de *Cordia lutea* Lam¹⁰.

Asimismo, Casio O. (2018), en su investigación de título “Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo)”, definió como objetivo indicar si *Cordia lutea* Lam presenta actividad antioxidante y cuantificar polifenoles en su flor. La cuantificación de polifenoles en la flores fue de 50.80 ± 1.56 mg de catequina Equivalente/g de flor seca y con respecto a la actividad antioxidante en las flores fue de 150 ± 12.99 mM con respecto al Trólox Equivalente/g de flor seca¹¹.

Del mismo modo, Castro I. (2016), cuyo objetivo planteado fue realizar un aislamiento para caracterizar uno a más metabolitos contra la cepa *Helicobacter Pylori* a partir de las flores de *Cordia lutea* Lam. Durante el procedimiento se obtuvieron tres fracciones y se le halló una CMI de $31.3\mu\text{g/ml}$ sobre *Helicobacter Pylori*; las tres fracciones demostraron actividad anti*Helicobacter Pylori*, asimismo, se indicó la presencia de saponinas esteroidales y 6 compuestos con núcleo esteroideal en común ($4\alpha,14\alpha$ -dimetilesterol) por medio de un equipo HPLC¹².

En cuanto a la justificación del estudio se basa en la investigación de las propiedades de *Cordia lutea* Lam debido a su disponibilidad en el departamento de Lambayeque lo que facilita su accesibilidad y bajo costo, además es un recurso natural sin aprovechar que puede servir para contrarrestar una problemática que gira en torno a la resistencia bacteriana e infecciones comunes que produce *Streptococcus mutans*; en tal sentido, los resultados que puedan obtenerse permitirán mejorar los índices de resistencia bacteriana, reducir costos en el tratamiento de estas infecciones, mejorar las condiciones de salud de las personas y reducir los días de hospitalización o costo por tratamiento.

El objetivo general del estudio es demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de la flor *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175;

La hipótesis general planteada es: el extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, comparado con clorhexidina al 0.12%;

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de la investigación

- Tiene un enfoque cuantitativo, porque empleó la información recolectada para un estudio estadístico con la finalidad de extrapolar dicha información y predecir en base a valores numéricos.
- Es transversal, porque los datos recopilados fueron tomados en un solo momento.
- Es de tipo prospectivo, porque hace referencia en el presente la interacción de las variables y en el futuro el futuro se observó efecto o consecuencia.
- Su diseño fue experimental, ya que el investigador fue encargado de controlar o manipular las variables del estudio y explicar la causa-efecto entre ellas ^{13,14}

2.2. Población, muestra y muestreo

Población: Estuvo conformada por 4 kilogramos de la flor de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo), del cual se obtuvo su actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*, la población fue recolectada del distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque, correspondiente a las coordenadas geográficas 5.7588° de Latitud Sur y 79.7962° de longitud Oeste.

Asimismo, la emisión de la certificación taxonómica de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) fue realizada por un profesional Biólogo, especialista en botánica.

Muestra: corresponde a una parte de la población que fue usada para realizar la investigación, para el presente estudio se utilizó 2 kilos de las flores de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo), seguidamente la muestra pasó por un proceso de observación, con el fin de seleccionar las flores que no estén en mal estado, luego pasaron por un proceso de desinfección con hipoclorito de sodio al 0.1% y luego se enjuago con abundante agua.

Unidad de análisis: corresponde a la cepa microbiológica de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, la cual fue adquirida del Laboratorio Microbiologics, quien brindó el certificado de análisis correspondiente de la cepa ¹⁵⁻¹⁷.

Muestreo: son técnicas utilizadas para que las muestras sean de fácil acceso, en nuestro estudio se aplicó el tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia, debido al fácil acceso y disponibilidad del lugar de recolección de la muestra

2.3. Variables de investigación

- **Variable independiente**: Extracto etanólico de la flor de la flor de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo)

Definición conceptual: Preparado extraído mediante la extracción por medios físicos de las hojas de la especie vegetal empleando como solvente extractivo el etanol de 96° y que presenta los metabolitos o principios activos de la planta.

Definición operacional: Se sometió la muestra vegetal a un proceso extractivo empleando la técnica de maceración a temperatura ambiente con etanol de 96°.

- **Variable dependiente**: Efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Definición conceptual: Actividad o acción que presenta una sustancia al inhibir el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Definición operacional: Medición del tamaño del halo de inhibición formados por una sustancia en el crecimiento en placa Petri con medio de cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

2.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Técnicas:

- **Ficha de recolección de datos - microbiología**: instrumento que permitió plasmar los datos recogidos sobre el tamaño de los halos

inhibitorios en milímetros formados por el extracto etanólico de la flor de la flor de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) en diferentes concentraciones,

la cual fue comparada con el control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y el control negativo (etanol 96°).

- **Ficha de recolección de datos - marcha fitoquímica:**

Se empleó una ficha propuesta por Valdez N. (2019)²⁶ y modificada por los investigadores. La marcha fitoquímica se realizó mediante pruebas cualitativas con reacción de coloración o precipitado, empleando diferentes tipos de reactivos para determinar las clases de metabolitos.

2.5. Plan de recolección de datos

2.5.1 Elaboración del extracto etanólico de la flor de la flor de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo)

Las flores fueron pulverizadas previo secado y se agregó cantidad suficiente de etanol 96° para cubrir la muestra, posteriormente fueron colocados en maceración en envases de vidrio de color ámbar con capacidad suficiente para 4 litros, por 10 días, cada 12 horas se procedió a tomar el frasco y agitar la muestra contenida para uniformizar el macerado, al finalizar el tiempo de maceración se procedió a filtrar con papel de filtro Whatman Nro. 01 y luego fueron colocados en una estufa a 45°C por 24 horas o hasta su evaporación completa, el extracto obtenido fue reconstituido con etanol a un concentración de 100 mg/ml (100%), 75 mg/ml (75%) y 50 mg/ml (50%).

2.5.2 Marcha fitoquímica

Para el desarrollo de la marcha fitoquímica se siguió el procedimiento propuesto por Matias, M. (2021)²⁹, el cual se realizó para determinar los metabolitos presentes en la muestra, los cuales se realizaron de la siguiente manera:

Alcaloides: Se empleó la escala de Dragendorff donde en un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto y seguidamente se adicionará 1 ml de ácido clorhídrico en concentración del 1%, se llevó a calor

directo por 2 minutos y luego se enfrió y agregó 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Un precipitado naranja ladrillo indica una reacción positiva.

Taninos y compuestos fenólicos: Se agregó 2 ml del extracto etanólico, se agregó luego 3 gotas del reactivo de cloruro férrico. La coloración rojo-vino evidencia la existencia de compuestos fenólicos, un color verde intenso demuestra la existencia de taninos pirocatecólicos, un color azul evidencia la existencia de taninos pirogaláctonicos.

Saponinas: Se colocó 1 ml del extracto y agregó 10 ml de agua destilada, se agitó por 2 minutos, luego del cual se debe observar la presencia de espuma con 2 mm a más por más de 2 minutos, lo que indicaría la presencia de saponina.

Flavonoides: Se agregó 1 ml de la muestra en un tubo de ensayo y luego se agregó 1 ml de HCl cc, se llevó a calor directo por 10 minutos, luego se dejó enfriar y agregó 1 ml de agua destilada y 2 ml de alcohol amílico, la aparición de un color rojo a marrón en la fase amílica indica la presencia de flavonoides.

Aminoácidos: En un tubo de vidrio con 1 ml del extracto se agregó 3 gotas de reactivo de Ninhidrina, luego se llevó a baño maría a 45°C por 10 minutos, luego se retiró y dejó enfriar, la formación de una coloración azul-violeta indica la presencia de aminoácidos.

Mucilago: Una alícuota de 2ml del extracto se llevó a una temperatura de 0 a 5°C por un tiempo de 10 minutos, luego de los cuales se retiraron y observó la presencia de una consistencia gelatinosa, que indicó la presencia de mucilago.

Compuestos grasos: A un mililitro del extracto se le agregó 1 ml de reactivo de Sudan III y llevó a calor hasta evaporar el solvente, las presencias de partículas de aceite indicaron la presencia de compuestos grasos.

Triterpenos y Esteroides: Se empleó el método de LiebermannBurchard, a una alícuota de 1 ml del extracto se agregó 0.5 ml de ácido acético glacial y luego 5 gotas de H₂SO₄ concentrado por la pared del tubo de ensayo sin agitar, la formación rápidamente

de un color rosado-rojo que cambia azul o azul verdoso luego indica la presencia de estructuras esteroidales, la formación de un color rosado-rojo que cambia a verde intenso o verde oscuro indica la presencia de estructuras esteroidales.

2.5.3 Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana fue determinada por el método de difusión en pozo, sin embargo, previo a ello la unidad de análisis (*Streptococcus mutans*) fue adquirida del laboratorio Microbiologics. Se activó la cepa por disolución y fue sembrada en una placa con agar sangre en un medio anaeróbico y puesta en incubación por 48 horas a una temperatura de $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$.

Después, de las 48 horas, se sacaron las placas cultivadas con *Streptococcus mutans* de la incubadora para preparar el inóculo bacteriano de la cepa. Para ello, mediante la técnica del hisopado en placa se hicieron disoluciones seriadas en varios tubos con suero fisiológico, hasta obtener la escala de MacFarland de 0.5 por observación directa.

Con el inóculo obtenido de *Streptococcus mutans* se sembró en 10 placas Petri con agar Mueller Hinton (medio estándar) y se realizaron pocitos de 6mm con un sacabocados para poder introducir los 30 μL del extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) en concentraciones de 100%, 75% y 50%.

Para los grupos del control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y el control negativo (etanol 96°) se trataron como los grupos de la variable independiente, con 15 placas con *Streptococcus mutans* y con dos pocitos donde se aplicó 30 μL de Clorhexidina al 0.12% y 30 μL de etanol 96°C.

Todas las placas fueron llevadas a la incubadora por 24 horas hasta 48 horas a una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 2$ y después de transcurrido el tiempo se observó el crecimiento bacteriano y la formación de halos de inhibición alrededor de cada pocito.

La medida de los halos fue tomada con un equipo llamado vernier digital o Pie de rey y su medida fue en milímetros (mm), toda esta información fue plasmada en la ficha de datos del estudio microbiológico.

La medida (mm) del halo inhibitorio estuvo relacionada con la actividad antibacteriana del extracto etanólico, in vitro.

2.6. Métodos de análisis estadísticos

Mediante este procedimiento los datos plasmados en la ficha de recolección de datos fueron ingresados al software estadístico SPSS versión 26, que se encargó de evaluar los datos mediante la estadística descriptiva, adicionado a ello se aplicaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas y luego se aplicó las pruebas de ANOVA y Tukey. Todo ello fue aplicado con un nivel de significancia del 0.05.

2.7. Aspectos éticos

Dentro de este aspecto se consideró el principio de veracidad y autoría sometiendo la investigación al software anti plagio turnitin para demostrarlo, así mismo, los investigadores son los únicos responsables del contenido de la investigación y se someten a las sanciones respectivas en caso se falten a estos principios; así mismo, se aplicó el principio de ética básico, que es la búsqueda del bien, por lo que se mantuvo los criterios de bioseguridad, durante el desarrollo de la parte experimental y el manejo de material biocontaminado para evitar daños al medio ambiente o a los participantes.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Identificación de los metabolitos secundarios con efecto antibacteriano presentes en el extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo)

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Reacción	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	Color anaranjado	++

Saponinas	Espuma	Espuma	++
Aminoácidos	Ninhidrina	Azul-violeta	-
Quinonas	Borntrager	rosa-rojo	++
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	rojo-verdoso	+
Taninos		Coloración verdosa	++
Mucílagos		gelatinoso	-
Flavonoides	Antocianidina	Anillo rojo	+
<u>Triterpenos</u> / Esteroides	Liebermann Burchard	Coloración rojisa	+

Leyenda:

Ausente (-) Escaso
(+)
Moderado (++)
Abundante (+++)

En la tabla 1 se muestra el resultado de la marcha fitoquímica obtenida al exponer el extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) a diferentes reactivos los cuales al reaccionar con las estructuras moleculares de los metabolitos muestran cambios de coloración, precipitado, turbidez, entre otros; los metabolitos secundarios encontrados son alcaloides, saponinas, quinonas y taninos en cantidad moderada; y flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenos en cantidad escasa.

Tabla

2. Sensibilidad del cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, frente al efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50% y grupos control

Diámetro del halo de inhibición									
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza		Mínimo	Máximo	
					Límite Superior	Límite Inferior			
Ext. Et. Flor de Overo - 100%	10	12,15	0,57	0,18	11,74	12,55	11,36	13,24	
Ext. Et. Flor de Overo - 75%	10	10,29	0,48	0,15	9,94	10,63	9,62	11,33	
Ext. Et. Flor de Overo - 50%	10	8,56	0,34	0,11	8,32	8,80	7,90	9,17	
	10	5,95	0,43	0,14	5,64	6,26	5,01	6,44	
	10	24,34	0,36	0,11	24,08	24,59	23,75	24,82	

Control Negativo (Et)

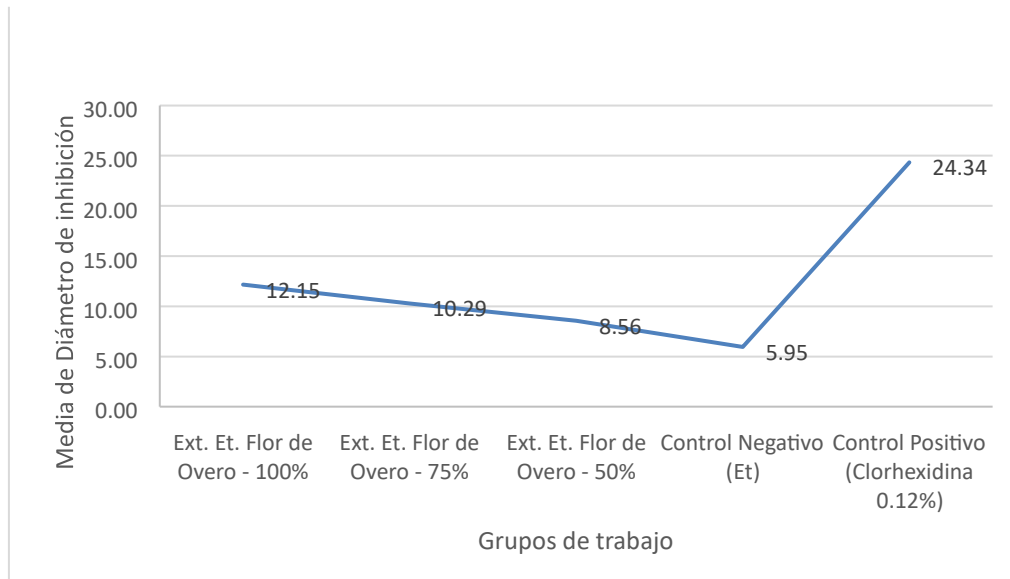
Control Positivo

(Clorhexidina 0.12%)

Fuente: Elaboración propia

La tabla 2, muestran los parámetros estadísticos del comportamiento que presentan los datos recolectados del tamaño del halo de inhibición; así mismo, los valores medios de los halos de inhibición para los grupos experimentales al 50% del extracto etanólico de la flor de la flor de overo fue de $8,56 \pm 0,34$ mm para el extracto al 75% fue de $10,29 \pm 0,48$ mm y para extracto etanólico al 100% fue de $12,15 \pm 0,57$ mm, el control positivo (clorhexidina) presentó halo de inhibición promedio de $24,34 \pm 0,36$ mm; el control negativo (etanol) obtuvo un valor promedio de diámetro de inhibición de $5,95 \pm 0,43$ mm.

Figura 1. Sensibilidad del cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, frente al efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50% y grupos control



Fuente: Elaboración propia

La fig. 1, muestra el valor promedio del diámetro de halo de inhibición obtenido por cada grupo de trabajo, se observa un halo de inhibición ligeramente superior al grupo control negativo por parte de los grupos experimentales con halos de inhibición crecientes a mayor concentración del extracto etanólico de la flor de overo; sin embargo, el control positivo, presentó un halo de inhibición claramente superior a los otros grupos experimentales.

3. Análisis del comportamiento normal de los diámetros de inhibición para cada grupo de trabajo.

Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	df	Sig.	Estadístico	df	Sig.
Ext. Et. Flor de Overo - 100%	0,201	10	,200*	0,944	10	0,602
Ext. Et. Flor de Overo - 75%	0,248	10	0,083	0,916	10	0,328
Ext. Et. Flor de Overo - 50%	0,160	10	,200*	0,963	10	0,818
Control Negativo (Et)	0,173	10	,200	0,914	10	0,312
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)	0,164	10	,200	0,951	10	0,680

*. Este es un límite inferior del verdadero significado.
a. Corrección de la significancia de Lilliefors

Tabla

Fuente: SPSS versión 26.0

La tabla Nro. 03 muestra la aplicación de las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y la de Shapiro Wilk aplicadas mediante el programa estadístico SPSS versión 26.0 para determinar la distribución normal de cada grupo de trabajo, donde se puede observar que luego de evaluar los 15 datos recolectados para cada grupo de trabajo, se obtiene en ambas pruebas valores de significancia superiores al nivel de significancia alfa del estudio de 0.05; por lo tanto, se muestra con esta comparación que todos los grupos de datos analizados presentan una distribución normal.

Tabla 4. Determinación la distribución homogénea de las varianzas

	Estadístico de Levene		df1	df2	p-valor
Diámetro del halo de inhibición	0,515	4	45	0,725	0,515
	0,467	4	45	0,760	0,467
	0,467	4	38,773	0,760	0,467
	0,506	4	45	0,732	0,506

Fuente: SPSS versión 26.0

La tabla Nro. 04; de la misma forma muestra la aplicación del estadístico de Levene o prueba de Levene empleado para la determinación de la distribución homogénea entre varios grupos de datos, al comparar el p-valor obtenido por el programa estadístico SPSS versión 26.0 se observa que este es superior al 0.05 de significancia establecido para el estudio; en tal sentido, se confirma que los grupos de datos analizados presentan varianzas homogéneas.

Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, sobre los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) comparado con clorhexidina al 0.12%.

CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

H₁: Los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) presentan mayor efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 comparado con clorhexidina al 0.12%.

H₀: Los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) no presentan mayor efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 comparado con clorhexidina al 0.12%.

Tabla 5. Análisis de la varianza (ANOVA)

	Diámetro del halo de inhibición			F	p-valor.
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado		
Entre grupos	2032,94	4,00	508,23	2590,77	0,00
Dentro de los grupos	8,83	45,00	0,20		
Total	2041,77	49,00			

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla Nro. 05, muestra la evaluación de los valores promedio de los halos de inhibición por grupo de trabajo para determinar si existe diferencia significativa entre ellos, lo cual se analizó mediante la prueba de Análisis de la Varianza (ANOVA), al comparar el p-valor de la tabla con el valor de significancia del estudio, se llegó a la conclusión que existe evidencia suficiente para confirmar que entre los grupos analizados existe al menos un grupo diferente entre en su valor promedio de halo de inhibición, lo que nos lleva a la realización de la siguiente prueba de Tukey.

6. Análisis por subgrupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

HSD Tukey^a

Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (Et)	10	5,95				
Ext. Et. Flor de Overo - 50%	10		8,56			
Ext. Et. Flor de Overo - 75%	10			10,29		
Ext. Et. Flor de Overo - 100%	10				12,15	
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)	10					24,34
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

Tabla

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 6, se observa el análisis de los datos mediante la prueba de Tukey, que nos permite establecer si existen grupos con similar actividad antibacteriana al agruparlos por subgrupos, del análisis se demuestra que todos los grupos presentan efectos diferentes contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Decisión: Por lo tanto, se decide rechazar la hipótesis H_1 y aceptar H_0 que confirma que los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) no presentan mayor efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 comparado con clorhexidina al 0.12%.

Tabla 7. Sensibilidad antibacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Tratamiento	Sensibilidad nula < 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (Et)	5,95			
Ext. Et. Flor de Overo - 50%		8,56		
Ext. Et. Flor de Overo - 75%		10,29		
Ext. Et. Flor de Overo - 100%		12,15		
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)				24,34

En la tabla Nro. 07, se realizó la comparación de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos por los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) tomando como referencia la escala de Duraffourd para evaluar la sensibilidad de la bacteria en estudio a los extractos donde se observa que *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presenta Sensibilidad Nula al etanol (control negativo), es Sensible al extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) a todas las concentraciones estudiadas y es altamente sensible clorhexidina 0.12% (control positivo).

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de Resultados

La ciencia siempre ha buscado en las plantas moléculas que le ayuden a curar o tratar enfermedades, la promoción del conocimiento sobre estas fuentes naturales es la base para combatir esta problemática, tomando en consideración a *Streptococcus mutans* quien muestra como una bacteria altamente infectiva y resistente en los últimos años, se ha propuesto evidenciar el efecto antibacteriano que posee el extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) frente a esta bacteria, en tal sentido, a continuación se discuten los resultados obtenidos.

Como primer objetivo se propuso identificar los metabolitos secundarios con efecto antibacteriano presentes en el extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) donde se encontró metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas, quinonas, taninos en cantidad moderada y flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenos en cantidad escasa, por su parte Araujo (2019), evaluó actividad antibacteriana de los metabolitos cardioquinonas extraídas de *Cordia polycephala* una especie de la misma familia de *Cordia lutea* Lam sobre bacterias grampositivas, demostrando que estos metabolitos inhiben la formación de biopelículas de cepas ATCC como *S. aureus*, *S. saprophyticus* y *S. aureus* resistente, lo que demuestra que los principios activos encontrados como quinonas entre otros poseen actividad antibacteriana; del mismo modo Debiasi, et al (2021), determinó en los extractos etanólicos elaborados con las hojas de *Cordia glabrata*, flavonoides, terpenos, taninos y ácido cafeico metabolitos encontrados de manera similar en nuestro estudio; así mismo, el estudio de Casio (2018), evidencia la presencia de polifenoles lo que se corrobora con los compuestos fenólicos hallados en el estudio, del mismo modo, Castro (2016), evidenció en su estudio la presencia de saponinas esteroidales con actividad frente a *Helicobacter Pylori*; lo que confirma los metabolitos encontrados en nuestro estudio con respecto a saponinas y terpenos.

Con respecto al objetivo, determinar la sensibilidad del cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, frente al efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50% este se evaluó mediante la comparación del tamaño de los halos de inhibición donde se obtuvo para los grupos experimentales al 50% del extracto etanólico de la flor de la flor de overo fue de $8,56 \pm 0,34$ mm para el extracto al 75% fue de $10,29 \pm 0,48$ mm y para extracto etanólico al 100% fue de $12,15 \pm 0,57$ mm, el control positivo (clorhexidina) presentó halo de inhibición promedio de $24,34 \pm 0,36$ mm; el control negativo (etanol) obtuvo un valor promedio de diámetro de inhibición de $5,95 \pm 0,43$ mm, este efecto inhibitorio en el crecimiento de los microorganismos por parte de *Cordia lutea* también fue evaluada en la goma y quitosano de esta planta formando zonas de inhibición de 2.98mm de diámetro para *Rhizopus* spp, para *Aspergillus* spp 2.29mm y para *Penicillium* spp 1.79mm; adicionalmente se comprobó que a mayor concentración de la goma y quitosano su efecto aumenta, de manera similar se observa en nuestro estudio con respecto a la concentración, pero se muestra halos de inhibición en este último estudio menores a los encontrados lo que depende del tipo de microorganismo empleados, la forma de administración, concentración entre otros factores, por otro lado, el estudio realizado por Aldana y Barco (2021), sobre la sensibilidad bacteriana de *Staphylococcus aureus* al ser expuesto al extracto etanólico de la flor de la flor de overo "*Cordia lutea* Lam" obtuvieron halos de inhibición al 100% de 14,85mm, al 75% fue de 12,64mm, los que se muestran similares con pequeñas diferencias que están relacionadas con el tipo de bacteria estudiada en ambas investigaciones.

Finalmente, con respecto al objetivo, comparar el efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, de los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) con clorhexidina al 0.12%, se logró determinar mediante el análisis estadístico inferencial con la prueba de ANOVA y Tukey además mediante el análisis con la escala de Duraffourd, que el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es superior a los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo), del mismo modo Aldan y Barco,

(2021), determinaron que el control positivo (ciprofloxacino) obtuvo un halo de 23,93mm superior al extracto etanólico de la flor de la flor de overo "*Cordia lutea* Lam frente a *Staphylococcus aureus*, en ambos estudio se evidencia que existe un efecto antibacteriano del extracto etanólico de la flor de la flor de overo "*Cordia lutea* Lam pero este no es superior a los medicamentos empleados en ambos estudios debido a ser moléculas sintéticas con actividad antibacteriana demostrada.

4.2. Conclusiones

- Se identificaron los metabolitos secundarios con efecto antibacteriano presentes en el extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) con la presencia de alcaloides, saponinas, quinonas y taninos en cantidad moderada (++); y flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenos en cantidad escasa (+).
- *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presenta sensibilidad frente al efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de la flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50%, observado con la formación de halos de inhibición al 50% de $8,56 \pm 0,34$ mm; al 75% de $10,29 \pm 0,48$ mm y al 100% de $12,15 \pm 0,57$ mm.
- Al comparar el efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, sobre los extractos etanólicos de *Cordia lutea* Lam (Flor de overo) con clorhexidina al 0.12% ($24,34 \pm 0,36$ mm), se observa que este último presenta mayor efecto antibacteriano frente a la bacteria en estudio.

4.3. Recomendaciones

- Comparar el efecto inhibitorio de diferentes tipos de extractos de la planta con nuestros resultados para determinar cuáles de estos obtienen mayor cantidad de metabolitos con poder antimicrobiano.

- Comparar el efecto inhibitorio de los extractos de diferentes partes de la planta para determinar cuáles de estos obtienen mayor cantidad de metabolitos con poder antimicrobiano.
- Evaluar el efecto de los extractos obtenidos frente a microorganismos para determinar con cuales de estos se presenta mayor poder antimicrobiano
- Identificar los metabolitos específicos que producen el efecto inhibitorio mediante análisis instrumentales de separación.
- Evaluar el efecto sinérgico o antagónico de los extractos de la planta con diferentes antibióticos mediante estudios in vitro que permitan su uso en el tratamiento complementario.
- Realizar pruebas de toxicidad de los extractos de la planta mediante estudios en animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Resistencia a los antibióticos [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2020. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
2. Quiñones D. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque “una salud.” Revista Cubana de Medicina Tropical [Internet]. 2017 Feb 8;69(3). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000300009
3. Barrientos S, Serna F, Díez H, Rodríguez A. Resistencia a la amoxicilina de cepas de Streptococcus mutans aisladas de individuos con antibioticoterapia previa y sin esta /. Universitas Odontologica [Internet]. 2015 Jun 25;34(72):101–6. Available from: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revUnivOdontologica/article/view/14958>
4. Delgadillo J, Espinoza S, Campodónico C, Evaristo T, Caceres E, Gómez D, et al. Presencia de Streptococcus Mutans Genotype C en niños y adolescentes peruanos con caries. ODOVTOS-Int J Dent Sc | [Internet]. 2018;20(3):105–13. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/odovtos/ijd-2018/ijd183k.pdf>
5. Ojeda J, Oviedo E, Andrés L. Streptococcus mutans y caries dental. Revista CES Odontología [Internet]. 2016;26(1):1–13. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
6. Castro S. Evaluación del fruto del Muyuyo (Cordia lutea Lamarck, boraginaceae), como ingrediente cosmético para la elaboración de fijadores de cabello | Quito; s.n; 2015. 160 p. tab, graf, ilus. | MTYCI | LILACS | MTYCI [Internet]. Biblioteca virtual em Sande. 2016. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-881303>

7. Debiasi B, Raiser A, Dourado S, Torres M, Andrighetti C, Bonacorsi C, et al. Phytochemical screening of *Cordia glabrata* (MART.) A.DC. extracts and its potential antioxidant, photoprotective, antimicrobial and antiviral activities. *Brazilian Journal of Biology* [Internet]. 2021;83(1):1–11. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/pVsxwwyQFNfH6jT4RxbRWNx/?format=pdf&lang=en>
8. Oliveira J, David J, David J, Giulietti A, Queiroz L, Santos R, et al. Immunomodulatory activity of extracts from *Cordia superba* Cham. and *Cordia rufescens* A. DC. (Boraginaceae), plant species native from Brazilian Semiarid. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [Internet]. 2018;18(1):11–5. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/q933DSjDYGYSpkTBBDC4QYD/?lang=en>
9. Castro M. Caracterización de propiedades físicas y antimicrobianas in vitro de un recubrimiento comestible a base de muyuyo (*Cordia lutea* Lam.) y quitosano [Internet]. 2019. Available from: <https://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/1063>
10. Aldana L, Barco H. Actividad antibacteriana del extracto de la flor de overo “*Cordia lutea* Lam” en *Staphylococcus aureus*. [Internet]. 2021. Available from: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/583/Tesis-Aldana-Barco.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
11. Casio Ramirez OJ. Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en flor de *Cordia lutea* Lam (flor de overo). Universidad Católica los Angeles de Chimbote; 2018.
12. Castro I. Aislamiento biodirigido y caracterización de compuestos antihelicobacter pylori a partir de una planta usada en la medicina tradicional peruana. [Internet]. [Lima]; 2016. Available from: https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/384/Aislamiento_CastroDionicio_Ines.pdf?sequence=3&isAllowed=y

13. Hernández R. Metodología de la Investigación: Las rutas de la investigación cuantitativa, cualitativa y mixta [Internet]. 1era edici. Mc Graw Hill. Mexico; 2018 387–410 p. Available from: <https://virtual.cuautitlan.unam.mx/rudics/?p=2612>
14. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción).
Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento [Internet]. 2020;4(3):163–73. Available from: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
15. Hernández C. y Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista Científica del Instituto Nacional de Salud “Alerta.” 2019;2(1):75–9.
16. Otzen T, Manterola C. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. International Journal of Morphology [Internet]. 2017;35(1):227–32. Available from: <https://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v35n1/art37.pdf>
17. Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista Científica del Instituto Nacional de Salud “Alerta” [Internet]. 2019;2(1):75–9. Available from: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-demuestreo/>

ANEXOS

ANEXO A: Instrumento de recolección de datos - microbiología

Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Control Negativo (etanol)	Control positivo Clorhexidin a 0.12%
Placa N°01	12,19	10,29	8,75	6,11	24,15
Placa N°02	11,84	10,77	9,17	6,44	24,49
Placa N°03	11,60	10,29	7,90	6,17	24,82
Placa N°04	12,06	10,35	8,87	5,81	24,39
Placa N°05	13,24	9,83	8,62	6,27	23,75
Placa N°06	11,36	10,19	8,34	5,01	23,94
Placa N°07	12,29	11,33	8,45	5,57	24,49
Placa N°08	12,89	10,07	8,46	6,35	24,63

Placa N°09	12,21	10,13	8,61	5,75	24,71
Placa N°10	11,79	9,62	8,44	6,03	24,02

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Presentará efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro el extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo)?	demostrar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de la flor <i>Cordia lutea</i> Lam (Flor de overo) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro	el extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (Flor de overo) presenta efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro comparado con clorhexidina al 0.12%
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuáles serán los metabolitos secundarios con efecto antibacteriano presentes en el extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo)?	Identificar los metabolitos secundarios con efecto antibacteriano presentes en el extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo)	El extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (Flor de overo) presenta metabolitos secundarios con efecto antibacteriano.
¿Cuál es la sensibilidad del cultivo de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro frente al efecto inhibitorio del extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50%?	Determinar la sensibilidad del cultivo de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro frente al efecto inhibitorio del extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo) al 100%, 75% y 50%.	El extracto etanólico de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (Flor de overo) al 100%, 75% y 50% presenta efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro.

<p>¿Cuál será el efecto inhibitorio comparado sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro de los extractos de etanólicos de <i>Cordia lutea</i> Lam (flor de overo) y clorhexidina al 0,12%?</p>	<p>Comparar el efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro sobre los extractos etanólicos de <i>Cordia lutea</i> Lam (Flor de overo) comparado con clorhexidina al 0.12%.</p>	<p>Los extractos etanólicos de <i>Cordia lutea</i> Lam (Flor de overo) presentan mayor efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 comparado con clorhexidina al 0.12%.</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>Variable independiente Extracto etanólico de la flor de la flor de <i>Cordia lutea</i> Lam (Flor de overo)</p>	<p>Preparado extraído mediante la extracción por medios físicos de las hojas de la especie vegetal empleando como solvente extractivo el etanol de 96° y que presenta los metabolitos o principios activos de la planta</p>	<p>Se someterá la muestra vegetal a un proceso extractivo empleando la técnica de maceración a temperatura ambiente con etanol de 96°</p>	<p>Concentración</p>	<p>100 75 50</p>	<p>Razón</p>

<p>Variable dependiente: Efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Actividad o acción que presenta una sustancia al inhibir el crecimiento bacteriano de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Medición del tamaño del halo de inhibición formados por una sustancia en el crecimiento en placa Petri con medio de cultivo de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Halo de inhibición</p>	<p>Diámetro (mm)</p>	<p>Razón</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------	----------------------	--------------

ANEXO D: Certificado Taxonómico de la planta

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como “Flor de Overo” proporcionada por los Bachilleres, **Lucelina de la Cruz Arévalo** y **Yuvicsa Yuleysy Flores Serquén**, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Cordia lutea* Lam. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Sub clase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Boraginaceae
Genero: *Cordia*
Especie: *Cordia lutea* Lam.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.




Lima, 14 junio del 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilner Beltrán Santiago
Fisiólogo - Botánico
C.N. 2719

ANEXO E: Certificado ATCC de Streptococcus mutans



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™** Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2024/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2022/4/8</p>
Performance	
<p>Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough</p>	<p>Medium: SBAP</p>
<p>Microscopic Features: Gram negative straight rod</p>	<p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <p style="text-align: center;"> Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE</p>
<p>**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.</p>	
<p>Note for Vitek2: Although the Vitek2 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.</p>	
<p> Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p>	
<p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>	
 ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2015.02	<p>(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p>
 ACCREDITED TESTING CERT #2015.01	<p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p>



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results

Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time:

2020-03-27T11:51:17.542 KLH

Applied MSP Library(ies):

BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

ANEXO F: Fotografías del trabajo de campo

Figura 2. Selección y lavado de la muestra vegetal



Figura

3. Evaporación del filtrado



Figura 4. Preparación de los grupos experimentales (extractos)

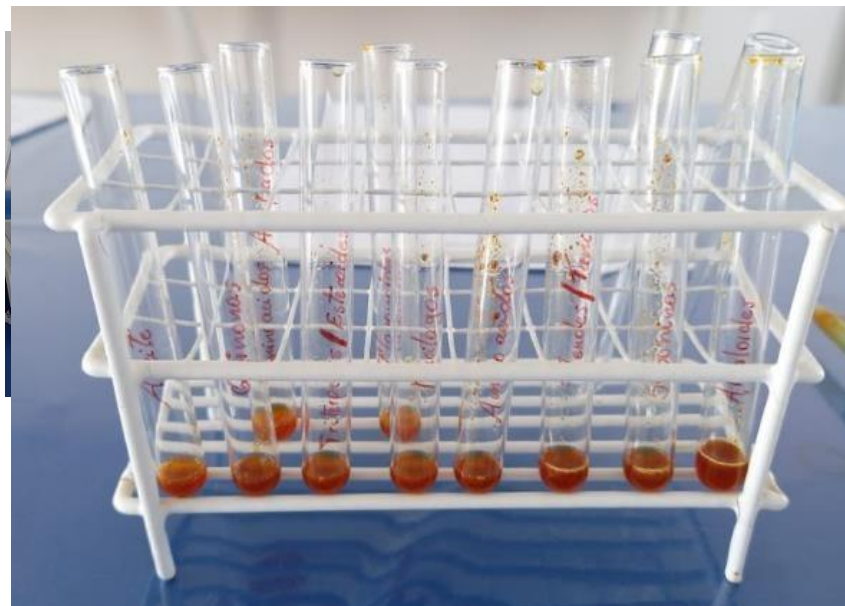


Figura .

5 Estudio fitoquímico

6 Prueba de solubilidad



Figura .



Figura .

7 Preparación del inóculo bacteriano

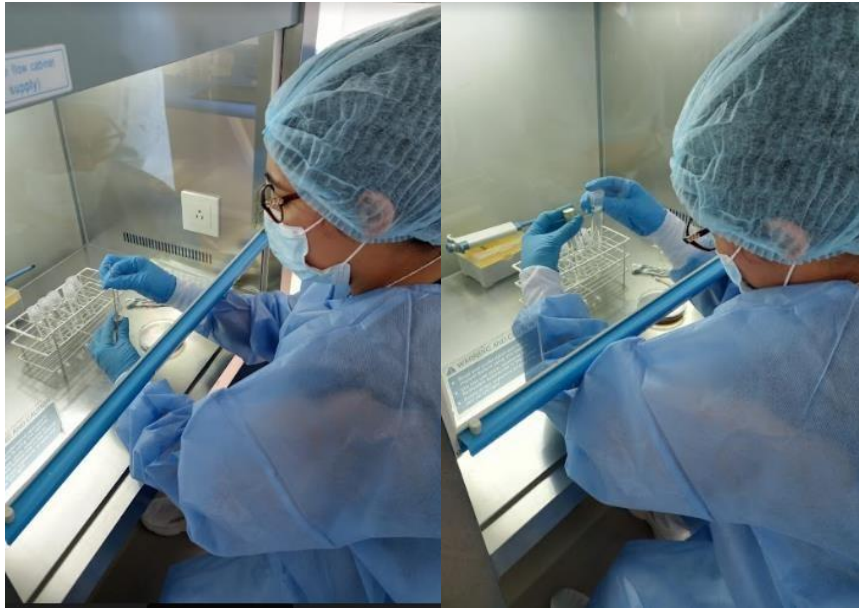


Figura .

8 Sembrado de la bacteria

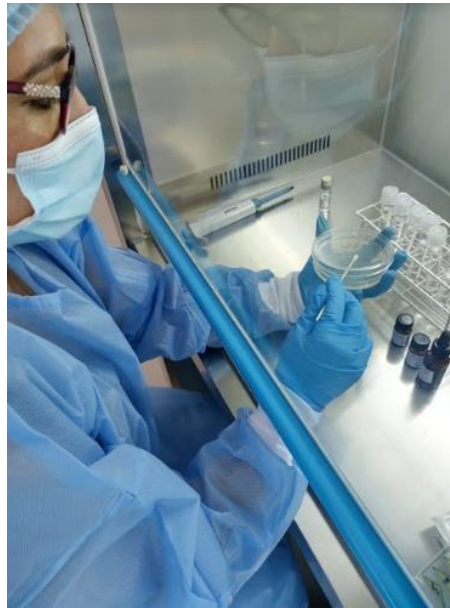


Figura 9. Preparación de pocitos en agar

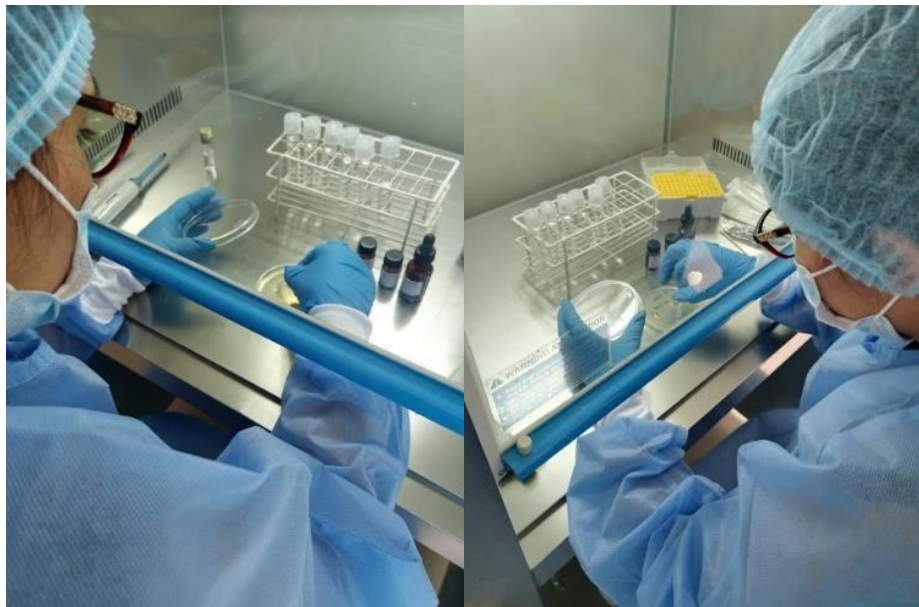


Figura 10. Aplicación de los grupos experimentales

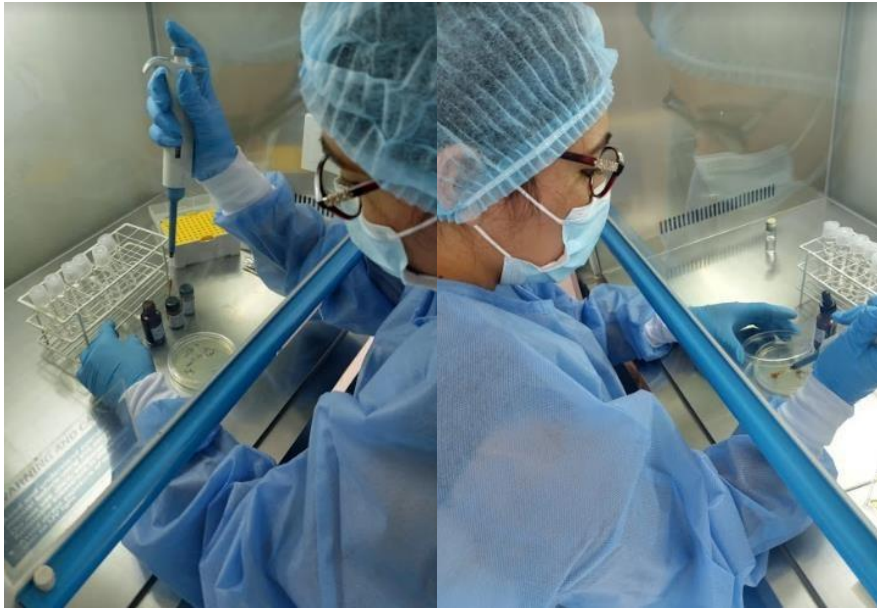


Figura 11. Incubación de placas





Figura: 12. Recolección de datos



