



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Sinergia antibacteriana del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* con amoxicilina sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Médico Cirujano**

AUTORA:

Asto Velásquez, Lucero (ORCID: 0000-0001-8471-7129)

ASESORES:

Dra. Goicochea Rios, Evelyn (ORCID: 0000-0001-9994-9184)

Mg. Blgo. Polo Gamboa, Jaime (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

TRUJILLO - PERÚ

2020

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, quien inspiró tanto mi espíritu y mente para la conclusión de esta tesis. A mis progenitores quienes me dieron vida, educación, apoyo y consejos. A mis compañeros de estudio, a mis maestros y amigos, quienes sin su apoyo nunca hubiera logrado hacer esta tesis. A todos ellos se los agradezco profundamente. Para todos ellos hago esta dedicatoria.

Lucero del Rosario, Asto Velásquez.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme regalado este don tan hermoso de ser finalizar mi carrera y lograr ser médico, por brindarme sabiduría, inteligencia, actitud y aptitud para lograr esta meta profesional; por guiar cada paso de mi vida y por siempre bendecirme a lo largo de mi vida.

A mis asesores especialmente mención a la Dra. Evelyn Goicochea Rios y Mg. Jaime Polo Gamboa quienes, con gran afecto y paciencia, han entregado su tiempo en guiarme y enseñarme, para garantizar el éxito de mi trabajo. Además una especial mención a mis padres César y Nereida siempre motivándome y apoyándome en momentos difíciles, a mis hermanos Daniela y Harold que con sus risas calmaban mi ansiedad, a mis abuelitos que siempre oraron por mí y amigas Estefany y Zoila por su apoyo incondicional durante el desarrollo de esta investigación.

A la Universidad César Vallejo en cuyas ambientes educativos recibí mi formación profesional, a mi plana docente que con exigencia siempre aportaron sus conocimientos, preparándome para ser mejor cada día.

LUCERO DEL ROSARIO, ASTO VELÁSQUEZ

ÍNDICE

Carátula	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	
Índice de tablas	
Resumen	
Abstract	
I.INTRODUCCIÓN	7
II. MARCO TEÓRICO	10
III. METODOLOGÍA	
3.1. Tipo y diseño de investigación	16
3.2. Variables y operacionalización	16
3.3. Población (criterios de selección),muestra, unidad de análisis	17
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	18
3.5. Procedimientos	19
3.6. Métodos de análisis de datos	20
3.7. Aspectos éticos	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	30
REFERENCIAS	31
ANEXOS	40

Resumen

El propósito del trabajo fue determinar la sinergia antibacteriana del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con amoxicilina a 25 µg sobre *Streptococcus pneumoniae*. Diseño: experimental puro con repeticiones múltiples, post test. Población: Cultivos de *Streptococcus pneumoniae* cepa ATCC 6305, tuvo como criterios de inclusión: cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 con 24 horas de cultivo y como criterio de exclusión: cultivos de *Streptococcus pneumoniae* contaminados. Muestra: 10 repeticiones por cada grupo. Procedimiento: Se aisló la cepa *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305. Se aplicó método de Kirby Bauer en 10 placas petri. Los grupos experimentales fueron tratados con discos de papel filtro embebidos de extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* solo y combinado con amoxicilina; mientras que el grupo control con amoxicilina sola. Se realizó medición y registro de halos. Resultados: extracto etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia* tuvo efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pneumoniae* generando halos de $14,40\text{mm} \pm 0,6996$, mientras que amoxicilina generó $43,7 \pm 1,252$ y en sinergia el extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con amoxicilina fue de $42,40 \pm 1,350$. Se concluyó que el extracto etanólico de *Myrciaria dubia*, no presentan efecto sinérgico antibacteriano in vitro sobre cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305.

Palabras clave: *Myrciaria dubia*, *Streptococcus pneumoniae*, efecto antibacteriano

Abstract

The purpose of the work was to determine the antibacterial synergy of the ethanolic extract of *Myrciaria dubia* husk with amoxicillin at 25 µg on *Streptococcus pneumoniae*. Design: pure experimental with multiple repetitions, post test. Population: Cultures of *Streptococcus pneumoniae* strain ATCC 6305, had as inclusion criteria: strains of *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 with 24 hours of cultivation and as exclusion criteria: cultures of contaminated *Streptococcus pneumoniae*. Sample: 10 repetitions for each group. Procedure: *Streptococcus pneumoniae* strain ATCC 6305 was isolated. Kirby Bauer's method was applied in 10 Petri dishes. The experimental groups were treated with filter paper disks soaked in ethanolic extract of *Myrciaria dubia* husk alone and combined with amoxicillin; while the control group with amoxicillin alone. Halo measurement and recording was carried out. Results: ethanolic extract of *Myrciaria dubia* peel had an antibacterial effect on *Streptococcus pneumoniae* generating halos of $14.40\text{mm} \pm 0.6996$, while amoxicillin generated 43.7 ± 1.252 and in synergy the ethanolic extract of *Myrciaria dubia* peel with amoxicillin was $42.40 \pm 1,350$. It was concluded that the ethanolic extract of *Myrciaria dubia* does not present a synergistic antibacterial effect in vitro on strains of *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305.

Keywords: *Myrciaria dubia*, *Streptococcus pneumoniae*, antibacterial effect

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente vivimos en un mundo con tantas prioridades de salud en competencia que las enfermedades respiratorias agudas y crónicas no han recibido la atención que realmente merecen. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta 156 millones de personas infectadas con neumonía al año, más del 95% de los casos ocurren en países con economía emergente. En la población menor de 5 años, excluyendo la etapa neonatal, la neumonía está en primer lugar como generadora de muerte a nivel mundial, causando 920 136 muertes al año, siendo la causa del 16% de muertes en este grupo etario.¹

A nivel nacional en el 2018, Ministerio de Salud notificó 28 334 sucesos de neumonía en menores de 5 años, cuya incidencia acumulada registrada fue 100,6 x 10000 habitantes. Esto nos evidencia ser una patología relevante tanto nacional como internacional.²

Hoy por hoy se vienen realizando investigaciones dirigidas a buscar nuevas terapias antimicrobianas como opciones alternativas a tratamientos ya establecidos y siendo nuestro país rico en flora alimentaria y medicinal, es factible y fundamental la investigación científica de ésta. Esto avalado por aporte de la OMS y la Comunidad Andina de Naciones (CAN), quienes establecen que mediante la bioprospección y aprovechando los recursos naturales, se podrían diseñar alternativas de tratamiento.³

Por lo anteriormente mencionado se planteó el siguiente problema de estudio:
¿Existe sinergia antibacteriana del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con amoxicilina sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro?

La razón de esta investigación está motivada por la relevancia clínica y epidemiológica del *Streptococcus pneumoniae*, microorganismo bacteriano de tipo

gram-positivo, catalasa-negativo y anaerobio facultativo cuya colonización en mucosa respiratoria superior puede tener lugar a las pocas horas o bien a los pocos días del nacimiento, siendo principal causa de muerte en edad pediátrica temprana, además de ser el agente causal habitual de la NAC en la vida adulta.⁴

Actualmente se cuenta con guías de manejo clínico y terapéutico contra la neumonía adquirida en la comunidad por *Streptococcus pneumoniae*, sin embargo, conforme avanza el conocimiento terapéutico también evolucionan los mecanismos adaptativos y de resistencia de los agentes patógenos, no siendo exenta de esto la bacteria en estudio. Frente a esto es importante recurrir a otras terapéuticas en la medicina alternativa y complementaria.⁵

Desde tiempos prehistóricos, el ser humano ha usado las plantas con fines no solo alimenticios, sino también medicinales y cosméticos. Diferentes plantas han sido fuente de investigaciones para descubrir propiedades biológicas, con las cuales logremos hacer frente a múltiples enfermedades tanto transmisibles como no transmisibles. Por ello, aparece la necesidad de materializar este estudio para estudiar la terapéutica complementaria implantadas en las culturas del mundo.^{6,7}

Este proyecto, evidenció datos sobre el potencial antibacteriano de los compuestos activos presentes en el extracto hecho en preparación etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* sola y en combinación con amoxicilina; aportando de esta manera información relevante que pueda ser considerada en próximos estudios in vivo y ensayos clínicos.^{8,9}

El objetivo general fué determinar la sinergia antibacteriana del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con amoxicilina a 25 µg sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro; y como objetivos específicos tenemos medir la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* al 100% en *Streptococcus pneumoniae*, establecer la eficacia antibacteriana de la amoxicilina

a 25 µg sobre *Streptococcus pneumoniae* y evaluar la sinergia antibacteriana del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* al 100% con amoxicilina a 25 µg sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro.

La hipótesis de investigación buscó la sinergia antibacteriana del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con amoxicilina sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

Kaneshima T et al¹⁰ (Japón,2017), estudiaron el efecto antibiótico de semilla y cáscara contra *S. aureus*. Evidenciaron que el extracto de la cáscara presentó zona de inhibición de 3,1 mm; mientras que la semilla presentó 2,7 mm a misma concentración (5mg/ml), concluyendo que ambos componentes presentan efecto antibacteriano, con predominio del efecto de la cáscara.

Myoda T et al¹¹ (Japón,2017) investigaron tres características del residuo del jugo de cáscara y semilla de *Myrciaria dubia*: porcentaje de composición fenólica, poder antioxidante y efecto antimicrobiano específicamente sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*. Respecto a la última característica se encontró efecto antibiótico positivo sólo sobre *Staphylococcus aureus* y además este efecto dependía de la dosis, ya que generaba zona de inhibición siempre y cuando la concentración de extracto de cáscara y semilla fuera $\geq 75\%$ con un halo de inhibición de 2.7mm. Tanto la semilla y cáscara demostraron actividad bactericida sin embargo la semilla mostró mayor actividad a menos concentración esto gracias a que contiene más compuestos lipofílicos, responsables de las actividades antibacterianas.

Fujita A et al.¹² (Brasil,2015), demostraron las virtudes antibacterianas de la pulpa de *Myrciaria dubia* sobre *Staphylococcus aureus*, la pulpa liofilizada mostró CMI de 0,08 mg/ml y pulverizada de 0,16 - 0,63 mg/ml. Entretanto, el control positivo (Ampicilina) logró 0,26 mg/ml de CMI concluyendo que *Myrciaria dubia* generó una inhibición que supera la generada por la ampicilina.

Silva J. et al ¹³ (Brasil, 2014), investigaron el efecto antibacteriano de *Myrciaria dubia* contra *Staphylococcus aureus*, donde identificaron la menor concentración apta para suprimir el crecimiento de microorganismos con CMI, luego de mantener las placas a temperatura de 37 °C por un día. Se notificó que la CMI se encontró

con concentraciones de 0,3 hasta 0,6 mg / ml para residuos del fruto sometidos a congelamiento y secado por aire caliente.

A nivel nacional tenemos a Pardo K et al¹⁴ (Perú,2019), quienes mediante una revisión sistemática de estudios experimentales in vitro demostraron que extractos de diferentes partes de *Myrciaria dubia* presentan actividad antimicrobiana contra microorganismos orales, mayoritariamente gram-positivos. De igual manera, contra microorganismos gram negativos no pertenecientes a la cavidad oral, debido a su alta composición en compuestos fenólicos.

Saldarriaga E et al¹⁵ (Perú,2017), evaluaron la acción antibiótica del extracto tipo etanólico de la cáscara a distintas concentraciones en *Streptococcus mutans*, encontrando halos de inhibición presentes en todas las concentraciones estudiadas, específicamente al 100% el extracto logró un halo inhibitorio de crecimiento bacteriano de 16.38mm. Entretanto la media de la zona de inhibición generada por el control positivo (penicilina G) resultó en 17.31mm. Por tanto, su acción demostró ser similar al del antibiótico ortodoxo.

Camere R et al¹⁶ (Perú,2015), evaluaron la función bacteriostática y bactericida del extracto tipo metanólico a partir de pulpa y semilla sobre dos tipos de *Streptococcus*; *S. mutans* y *S. sanguinis*. Las zonas de inhibición de pulpa registradas fueron de 16,20mm y 19,34mm en cada *Streptococcus* respectivamente. Los halos generados por la semilla fueron de 21.36mm y 19.21mm, resultando la semilla con mayor potencia antibiótica que la pulpa sobre ambas bacterias, en su presentación de extracto metanólico.

Castillo C. et al¹⁷ (Perú,2013), quienes demostraron que la CMI del extracto de tipo etanólico de la cáscara contra *Staphylococcus aureus* a una concentración del 75% al igual que al 50% tuvieron efecto antimicrobiano. Esto gracias a que la cáscara posee la alta concentración de flavonoides como antocianinas y antocianidinas los

cuales son metabolitos activos con efecto antibacteriano. Donde el promedio de los halos de inhibición fue de 23 mm (DS: ± 0.690 , IC 95%).

Streptococcus pneumoniae es un bacilo gram positivo del tipo A generador de variadas infecciones tanto menores, como invasivas. La mayor parte de las investigaciones publicadas coinciden en que aproximadamente 30 % de las otitis medias agudas, 40% de los cuadros inflamatorios agudos de senos nasales y 50% de las NAC, tienen como agente causal al *Streptococcus pneumoniae*. Su transmisión es por vía aérea y su cápsula polisacáridica no permite que se logre su fagocitosis, lo que genera mayor riesgo de invasividad en comparación con otras bacterias, esto ocurre en pacientes pediátricos con frecuencia en forma sinérgica con infecciones generadas por virus.¹⁸

Los virus en la vía respiratoria, logran un impacto citopático de la mucosa ciliar respiratoria, generando cambios bioquímicos, moleculares y morfológicos de los cilios que los vuelven inviables, destruyéndolos o modificando su código genético. Estos cilios actúan como barrera de defensa y su alteración en esta coyuntura actúa favoreciendo el incremento de los inóculos de *Streptococcus pneumoniae*. Por ello es que las infecciones virales predisponen a infecciones bacterianas.¹⁹

Streptococcus pneumoniae produce toxinas patógenas, entre ellas la hemolisina que genera su acción favoreciendo en la colonización y proliferación bacilar en nasofaringe, pulmón y vía hemática de la persona infectada; a su vez favorece el rompimiento de la membrana eritrocitaria.²⁰ Son conocidos más de 90 serotipos de *Streptococcus pneumoniae*, de los cuales solo 12 son causantes de infecciones neumocócicas invasoras.²¹

El mecanismo de contagio se da esencialmente por medio de las gotitas de Flügge, los aerosoles generados por una persona infectada al toser, hablar o contacto oral. Además, también es posible el contagio a través de vía dérmica y parenteral. No

todas las personas en contacto con la bacteria desarrollaran la enfermedad, pero si existe gran probabilidad de desarrollarla y llevar a complicaciones en grupos de riesgo como lo son la población menor a 2 años y población mayor o igual a 60 años.²²

La *Myrciaria dubia* es un arbusto frutal de tipo ribereño, propia de la familia Mirtácea y conocido popularmente como “camu camu” en Perú y “Arazá de Agua” en Brasil. Actualmente valorado principalmente por su prominente contenido de vitamina C de hasta aproximadamente 3100 mg/100 g. La cáscara del fruto es de coloración “rojiza” gracias a su alta composición en antocianinas principalmente cianidina 3 glucósido, compuesto orgánico natural clasificado también como un flavonoide al tener en su composición a dos de subtipos, flavones y flavonoles. Las antocianidinas cumplen función antioxidante, mientras que como flavonoide genera efecto antibiotico.^{23,24}

La *Myrciaria dubia* tanto fruto, cáscaras y semillas presenta actividad antibacteriana gracias a su alta composición en flavonoides. Estos impiden el anabolismo de ácidos nucleicos bacterianos, sustancias que dirigirán y controlarán la síntesis de proteínas bacterianas, que les brinda su especificidad que contienen las instrucciones necesarias responsables de todas las funciones vitales e infectantes del agente bacteriano. Además, diversos autores que estudiaron su efecto sobre *Staphylococcus aureus*, bacteria de tipo gram positiva, con estructura similar y sensible a similares antibióticos que el *Streptococcus pneumoniae*; proponen que el anillo B de los flavonoides actúan sobre la unión de bases de los ácidos nucleicos, impidiendo la creación de ADN y ARN bacteriano.^{25,26}

Este fruto proveniente de la amazonia peruana y brasileña, presenta diversos compuestos fenólicos entre ellos tenemos a los flavonoides, antocianinas, pro - antocianinas y elagitaninos, teniendo concentraciones diferentes del contenido fenólico según la parte de la planta. En pulpa la concentración es 8,6 mg/100 g, en cáscara 10,5mg/100 g, y en semillas 336,03 mg/100 g. Entre otras presentaciones

del fruto tenemos a la pulpa en polvo la cual registra componentes fenólicos de 48,5 mg/100 de manera que se evidencia como los cambios físicos lograrán aumentar su efecto antibiótico al concentrar más cantidad de compuestos fenólicos. Otra presentación fue de harina de *Myrciaria dubia* con 672,49 mg/100g, siendo esta la presentación con mayor concentración fenólica encontrada .^{27,28}

En cuanto a la amoxicilina, es un medicamento del grupo farmacológico aminopenicilina y grupo terapéutico antibiótico indicado en infecciones diversas como urinarias, de piel, tejidos blandos; otitis media aguda, faringitis, sinusitis. También usado en enfermedades como gonorrea, fiebre tifoidea, infecciones del tracto biliar, bronquitis, enfermedad de Lyme.^{29,30}

Este fármaco bactericida, cumple con su acción al enlazarse a proteínas fijadoras de penicilinas dispuestas en la membrana celular bacteriana, una vez ubicada comienza la supresión de la síntesis de componentes propios de pared celular bacteriana, suprimiendo el entrecruzamiento de cadenas de peptidoglicanos que son los generadores de la estabilidad de la pared, logrando con esto finalmente su destrucción. Su espectro bactericida incluye diversos géneros de bacterias dentro de los cuales se encuentra *Streptococcus pneumoniae*.³¹

Respecto a la terapéutica usada en la neumonía por *Streptococcus pneumoniae* hay evidencia de que una cantidad de amoxicilina de 15 mg/kg/día logra una concentración en sangre de hasta 14 mcg/ml, lo que equivale a 14 veces la CIM de un neumococo con sensibilidad intermedia. Otros fármacos como ceftriaxona y cefotaxima son usados en infecciones con agentes resistentes o que no responden al tratamiento debido a que estos generan casi 100 veces la CIM (0,1-1 mcg/ml) y su uso sólo debería reservarse para infecciones mayores.³²

Respecto al efecto sinérgico, es aquel cuya actividad conjunta de la mezcla binaria sea mayor que la suma de actividades por separado y esto es lo que se buscará al

combinar la amoxicilina con el extracto etanólico del fruto en estudio. Esto será reflejado en el aumento de la región ubicada alrededor de la zona donde se inocule la sustancia antibiótica natural, el fármaco por separado y en conjunto.³³

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y Diseño de investigación

Tipo de investigación: Aplicada ³⁴

Diseño : Experimental puro con repeticiones múltiples, post test. ³⁴

Representado de la siguiente manera:

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	-4	O4

3.2. Variables y operacionalización

Matriz y operacionalización de variables se ubicó en el (Anexo 2)

Variable independiente: Agente antibacteriano ³⁵

- No farmacológica: Extracto etanólico de *Myrciaria dubia*
- Farmacológica: Amoxicilina

Variable dependiente: Efecto antibacteriano³⁵

- Eficaz
- No eficaz

3.3. Población (criterios de selección), muestra, unidad de análisis

Población :

Estuvo constituida por todos los cultivos de *Streptococcus pneumoniae* cepa ATCC 6305.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 con 24 horas de cultivado.

Criterios de exclusión:

- Cultivos de *Streptococcus pneumoniae* contaminados.

Muestra: 10 repeticiones por cada grupo.

Unidad de análisis: Cada placa Petri cultivadas con *Streptococcus pneumoniae* cepa ATCC 6305.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnicas de recolección de datos:

Se utilizó la observación directa, mediante la lectura en milímetros de diámetro de las zonas de inhibición completa del crecimiento bacilar con una regla milimétrica.³⁴

Instrumento de recolección de datos:

Se aplicó una ficha de recolección de datos elaborada por la autora, donde se registró cada cultivo, se anotó la medida de los halos de inhibición generados por tres sustancias la primera a partir del extracto metanólico de *Myrciaria dubia*, la segunda a partir de amoxicilina con una concentración de 25 microgramos y la tercera que es una combinación de las dos primeras determinándose el efecto de estas tres sobre las cepas de *Streptococcus pneumoniae*, de tal manera que logró sintetizar la información de manera que se pueda analizar cada variable del presente estudio (Anexo 02).³⁴

3.5. Procedimientos

Procedimiento para la evaluación de efecto sinérgico antibacteriano:³⁶

1. Se recolectó la *Myrciaria dubia* procedente del distrito de Iquitos
2. Se hizo la identificación taxonómica de *Myrciaria dubia* en el Herbarium Amazonense AMAZ de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.
3. Los frutos de *Myrciaria dubia* se lavaron con agua destilada ,luego con hipoclorito de sodio a 200 ppm durante 5 min. Posteriormente se volvieron a enjuagar con agua destilada y luego se pelaron.
4. Para el secado las cáscaras del fruto se colocaron el papel Kraft a temperatura ambiente por 24 hr. Y luego en la estufa a una temperatura de 44,5°C durante 4 horas.
5. Se pesó 20gr. de cáscara , luego se humectó con 30ml de etanol de 96°, se agitó y se procedió a filtrar 3 veces y se pasó a guardar en un frasco ámbar.
6. Para la preparación de la cepa se preparó un medio de agar sangre. Una vez que este solidificó, se inoculó y bañó con la suspensión bacteriana de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 de 1-2 x 10⁸ UFC / ml con un bastoncillo de algodón.
7. Los pozos se prepararon perforando el agar de una medida de seis milímetros de diámetro estándar con un taladro de corcho estéril de acero inoxidable.
8. Estos pozos se llenaron con 25 µL de la solución antimicrobiana (Amoxicilina 25 µg.+ Extracto etanólico de *Myrciaria dubia* al 100%)
9. Las placas se incubaron a 35 ± 2 ° C durante 18-24 h.
10. La actividad antimicrobiana se calculó en milímetros usando la expresión:
ZOI = Diámetro total de la zona inhibida de crecimiento menos diámetro del pozo, donde, ZOI es zona de inhibición.

3.6. Método de análisis de datos

Para contrastar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, comprobando que los datos tienen un comportamiento normal y sus varianzas son homogéneas, por lo cual se realizaron las pruebas de análisis de varianza (ANOVA) y prueba post hoc de Tukey.³⁴

3.7. Aspectos éticos

Se mostraron los resultados objetivamente, me comprometí a no incurrir en alteraciones ni plagio y no tener conflictos de intereses. Se siguieron los protocolos establecidos para el procedimiento a realizar.³⁷

VI. RESULTADOS

Tabla 01. Datos estadísticos descriptivos de la media los halos de inhibición del extracto etanólico de *Myrciaria dubia*, amoxicilina a 25µg y la combinación de ambos sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro.

Datos Descriptivos								
Halos de inhibición medidos en (mm)								
	N	Media	Desviación	Desv. Error	IC(95% de confianza)		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Extracto etanólico de cáscara de <i>Myrciaria dubia</i>	10	14,40	,699	,221	13,90	14,90	14	16
Extracto etanólico de cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> + Amoxicilina	10	42,40	1,350	,427	41,43	43,37	41	45
Amoxicilina	10	43,70	1,252	,396	42,80	44,60	42	46
Total	30	33,50	13,791	2,518	28,35	38,65	14	46

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver.25

Se encontró que la media del halo de inhibición generado por el extracto etanólico de *Myrciaria dubia* fue de 14,40mm±0.699, amoxicilina sola generó 43,7± 1,252 y en sinergia el extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con Amoxicilina fue de 42,40 ±1,350.

Tabla 2. Análisis de varianza de las medias del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Myrciaria dubia*, amoxicilina a 25µg y la combinación de ambos sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5480,600	2	2740,300	2120,00 3	0.000
Dentro de grupos	34,900	27	1,293		
Total	5515,500	29			

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver.25

Utilizando la prueba estadística de Levene; se observa que existe un valor de $p \geq 0.05$, esto quiere decir que la varianza de los grupos es homogénea. A su vez en la prueba de ANOVA se observa diferencia estadísticamente significativa, dado que el valor de p es menor que 0.05 ($p=0.000$), es decir que al menos un grupo difiere de los demás.

Tabla 3. Comparación de las medias de los halos de inhibición con la prueba de Tukey entre el extracto etanólico de *Myrciaria dubia*, amoxicilina a 25µg y la combinación de ambos sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro.

Subconjuntos homogéneos				
Halos				
HSD Tukey^a				
Subconjunto para alfa = 0.05				
Tratamientos	N	1	2	3
Extracto etanólico de <i>Myrciaria dubia</i>	10	14,40		
Extracto etanólico de <i>Myrciaria dubia</i> + amoxicilina	10		42,40	
amoxicilina	10			43,70
Sig.		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 = 10.000.

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver.25

Se evidencia que la amoxicilina sola presenta mayor eficacia, con un valor de 43,70 mm seguida de la combinación entre extracto etanólico de *Myrciaria dubia* más amoxicilina con un valor de 42,40mm y por último el extracto etanólico de *Myrciaria dubia* solo con un valor de 14,40mm.

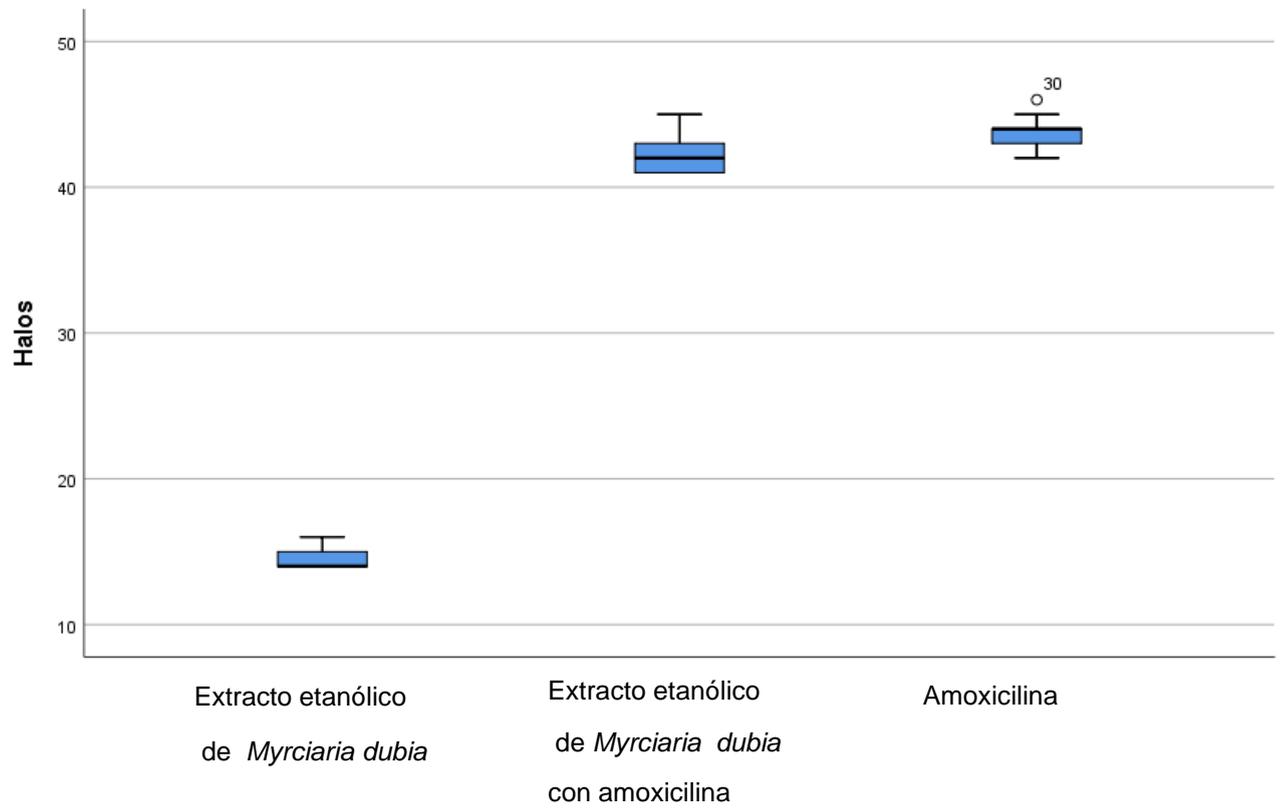


Figura 1. Diagrama de caja de los halos de inhibición por grupos de estudio.

V. DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo objetivo determinar la sinergia antibacteriana del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con amoxicilina a 25 µg sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro, observándose la formación de halos de inhibición del crecimiento de la bacteria en estudio.

Los resultados que se observan en la Tabla 1, muestran la actividad antibacteriana de los tres tipos de productos utilizados en el presente estudio, se evidencia que respecto al efecto antibacteriano del extracto etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia*, los halos de inhibición generados tuvieron una media de 14,40 mm (DS: ±0.699, IC 95%), por lo que demostró ser eficaz, según lo establecido en el CLSI (≥ 13 mm) para *Streptococcus pneumoniae*; sin embargo el efecto hallado en este estudio fue menor al presentado por Saldarriaga E et al¹⁵, donde el mismo extracto a la misma concentración logró un halo inhibitorio de crecimiento bacteriano de 16.38 mm (DS: ±2.220, IC 95%), frente a *Streptococcus mutans* evidenciando de esta manera su efecto antibacteriano, un valor similar es reportado por Castillo C et al¹⁷ quien encontró promedios de halo de inhibición de 23 mm (DS: ±0.690, IC 95%), contra *Streptococcus aureus*. Sin embargo, hay dos aspectos importantes a evaluar en ambas investigaciones.

El primer aspecto es que las cepas presentes en los estudios mencionados anteriormente, corresponden a especies no resistentes de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*, mientras que el *Streptococcus pneumoniae* de este estudio presenta factores de virulencia como: la cápsula polisacárida que inhibe la fagocitosis por impedir la formación de c3b convertasa, la hemolisina que ejerce acción citolítica, las neuraminidasas, las proteínas de adhesión A, C y D, los ácidos teicoicos cuya liberación por la lisis bacteriana activa el complemento y provoca la liberación de citoquinas proinflamatorias; todos estos factores sumados a que es una bacteria con elevados niveles de resistencia debido a mutaciones genéticas repetidas de la bacteria y por presión selectiva por el uso indiscriminado de antibióticos. Explican que la

zona de inhibición sea menor a comparación de otros estudios. Esto se evidencia en la elevación de la resistencia bacteriana que va en aumento, esto es demostrado en varios estudios hechos en portadores nasofaríngeos de *Streptococcus pneumoniae* .⁴⁰

El segundo aspecto implica la cantidad de flavonoides presentes en la *Myrciaria dubia* utilizada. Estos son los componentes que le brindan la propiedad antibiótica a esta planta. Los flavonoides principalmente las antocianinas y antocianidinas ejercen su efecto antibiótico gracias a la presencia de su anillo B que no permite la intercalación de los puentes de hidrogeno para la formación de ácidos nucleicos bacterianos, lo cual inhibe la síntesis de ADN Y ARN bacteriano, también actúan dañando la bicapa bacteriana al penetrarla directamente, generando pérdida de la función de barrera y ocasionando la salida de los componentes propios de la bacteria.⁴¹ La cantidad de flavonoides es influenciada por factores como: terreno, minerales en las tierras de cultivo, temperatura , humedad que se encuentran sincronizados positivamente en la época de fructificación. Esta época abarca los meses de diciembre hasta marzo. Sin embargo, el presente estudio utilizó *Myrciaria dubia* cosechada en el mes de setiembre que es correspondiente a época de baja producción. Es por esto que, el desarrollo de la *Myrciaria dubia* se dio sin el total aprovechamiento de los componentes y pese a que la planta está adaptada a crecer en suelos ácidos de baja fertilidad , ésta se desarrolla mucho mejor en suelos aluviales de alta fertilidad en época de fructificación.³⁹ De aquí que las propiedades físicas y químicas del suelo influyen fuertemente en el desarrollo de los cultivos y por tanto determinan la composición y la concentración de sus componentes fitoquímicos; entre ellos el de los flavonoides.

Por tanto, siendo la *Myrciaria dubia* extraída en periodo fuera de su época de fructificación explica la disminuida disponibilidad de componentes flavonoides y con esto su menor efecto antibiótico, evidenciado en el tamaño de los halos de inhibición encontrados en este estudio .

En la tabla 1 también se observa la media de los halos de inhibición generados por la amoxicilina que fueron de 43,70mm (DS: ± 1.252 , IC 95%) contra *Streptococcus pneumoniae*, a su vez Saldarriaga et al¹⁵ en su estudio usó como gold estándar a penicilina G quien logró 17.31mm contra *Streptococcus mutans* y Castillo et al¹⁷ observó el efecto de vancomicina sobre una cepa no resistente de *Staphylococcus aureus* obteniendo como media de los halos de inhibición de 14,77 mm (DS: ± 1.642 , IC 95%) deduciendo con estos datos que todos los estudios tuvieron eficacia antibacteriana sobre las cepas en las que actuaron.

El extracto etanólico de *Myrciaria dubia* posee propiedad antibacteriana, pero no supera la acción antibacteriana de la amoxicilina, fármaco de primera línea contra *Streptococcus pneumoniae*.

Y respecto a la sinergia el extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* con Amoxicilina mostró una media de los halos de inhibición de 42,40mm (DS: ± 1.350 , IC 95%). Disminuyendo ligeramente el efecto generado por la amoxicilina en solitario la cual generó una media de 43,70mm (DS: ± 1.252 , IC 95%). Siendo estos últimos, los halos de inhibición que alcanzaron mayor diámetro.

La razón de este resultado, se remite a las bases moleculares de los mecanismos de acción, de ambos componentes antibacterianos, en el caso de la amoxicilina inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared bacteriana al unirse a unas proteínas específicas llamadas Penicillin Binding- Proteins (PBPs) impidiendo que la pared se construya correctamente, generando cambio en la permeabilidad de la membrana celular y finalizando con lisis, y en el caso del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* actúa sobre los puentes de hidrógenos necesarios para la formación de ácidos nucleicos y también sobre la membrana celular generando daño en ésta. Pero contrariamente a un efecto sinérgico ocurrió un efecto de competencia en el mecanismo que actuó sobre la membrana celular del *Streptococcus pneumoniae*. De manera que generó una leve disminución en su efecto antibiótico.

En cuanto a la varianza de las medias, ésta se determinó mediante la prueba de Levene, demostrando que los grupos estudiados son homogéneos.(Tabla 2) Así mismo el ANOVA indicó que existe diferencia significativas en los promedios de los halos de inhibición en los grupos analizados ($p= 0,000$).

Lo que se refuerza con la Tabla 3 y figura 1, es la diferencia de los promedios de los halos de inhibición y cual de los grupos en estudio evidencian mayor eficacia que, en este caso, sería amoxicilina sola seguida de la combinación entre extracto etanólico de *Myrciaria dubia* con amoxicilina y por último el extracto etanólico de *Myrciaria dubia solo*. Los resultados indican que habría que evitar la combinación de extracto etanólico de *Myrciaria dubia* con amoxicilina frente al *Streptococcus pneumoniae*.

Además, la sinergia del extracto y amoxicilina generó disminución en el tamaño de la zona de inhibición de crecimiento bacteriano evidenciando la no existencia de sinergia antibacteriana.

Para culminar , podemos decir que *Myrciaria dubia* tiene potencial como agente antibacteriano el cual debe explotarse ya que como se demostró, ésta presentó eficacia antibacteriana y aunque se encontraron zonas de inhibición menores en comparación a los resultados de los distintos estudios. Consideramos que estos varían según la época de cultivo y según el tipo de cepa utilizada para realizar cada experimento , pues influirán en sobremanera las propiedades adquiridas por la planta en estudio frente a la bacteria .

VI. CONCLUSIONES

1. Se demostró la presencia de efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pneumoniae*, pero no supera al efecto de amoxicilina.
2. La amoxicilina en el estudio también evidenció su efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pneumoniae*; considerándose el tratamiento de primera línea.
3. La combinación del extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia*, con amoxicilina, demostró no tener efecto sinérgico antibacteriano sobre *Streptococcus pneumoniae*.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la obtención de *Myrciaria dubia* cosechada en época de fructificación para aprovechar al máximo sus componentes fitoquímicos.
- Se recomienda asociar la combinación de extracto de *Myrciaria dubia* con otro agente antibacteriano para evaluar el efecto sinérgico.

REFERENCIAS

1. Foro De La Sociedad Respiratoria Internacional. El impacto mundial de la enfermedad respiratoria.2017;2(1):1-9 . Ubicable en:
https://www.who.int/gard/publications/The_Global_Impact_of_Respiratory_Diseases_ES.pdf
2. Ministerio de Salud. “ Guía de práctica clínica para diagnóstico y tratamiento de neumonía en las niñas y los niños, aprobada por Resolución Ministerial N° 1041- 2019/MINSA”. Lima: MINSA; [Citado el 18 de Mayo del 2020]. Encontrado a través del siguiente enlace : <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4931.pdf> 2019
3. Organización Mundial de la Salud: Estrategia de medicina tradicional 2014- 2023. Ginebra . 2014;8(1): 7-72. [Consultado el 29 de enero del 2020]. Ubicable en: https://apps.who.int/iriss/bitstream/handle/10655/95008_spa.pdf?sequence=1
4. Prado J. Conceptos básicos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae* . Rev Chil Infec [En línea]. 2001 [revisado 2020 Mayo 04] ; 18(1): 6-9. Ubicable en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000000002&lng=es.
5. Quiñones D. Resistencia antimicrobiana : evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud" . Rev Cubana Med Trop [En línea];2017 69(3): 1-17 . Encontrado en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000300009&lng=es.

6. Gallegos N, Plantas medicinales: esencial alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac Med [Online]. 2016; 77 (4): 320-332. Encontrado en el enlace siguiente: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es>.

7. Maurtua T, Camilo S. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. Rev Estomatol Herediana. 2015 ; 25 (3) :267-277. Ubicable en : <https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/2736>

8. González J, Maguiña C, González F. La resistencia a los antibióticos : un problema muy serio. Acta Méd Peru [Internet]. 2019; 36(2): 145-151. Ubicable en : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011&lng=es.

9. Torre L. El método científico: la mejor herramienta clínica. Rev Neumol Cir torax. México .2016;75 (3):1-4. Ubicable con : http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0028-37462016000300205

10. Kaneshima T , Myoda T, Thoeda K, Fujimori L, Nisizaka N. Componentes antibacterianos de la cáscara y semillas de camu-camu (*Myrciaria dubia*). Bosco Biotechnol Biochem [Internet]. 2017 .Diciembre; 81 (8):

1461-1465. [revisado el 24 de Mayo 2020] Ubicable con:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28475419>

11. Myoda T, Fujimura S, Park J, Nagashima T, Nakagawa J, et al. Potencia antioxidante y antimicrobiana de los residuos de la producción de jugo de camu- camu (*Myrciaria dubia*). Food Technolog Scienc Res[Internet].2016 Enero-Abril; 69: 76–

81. [revisado 24 de Febrero 2020]. Ubicable con:

[https://www.researchgate.net/publication/267227696_Antioxidative - and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production](https://www.researchgate.net/publication/267227696_Antioxidative_and_antimicrobial_potential_of_residues_of_camu-camu_juice_production)

12. Borges K, Fujita A, Correa R, Franco B, Genove M. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc.Vaugh). Food Res Int .[En línea].2013;54(1):495-500

13. Silva J, Leandro E, Fujita A, Genovese M, Targino R. Residuo industrial de camu - camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) : un polvo amazónico rico en bioactivos con atributos funcionales .J Scienc direct [Internet] .2014 ;62(1): 934-940.Encontrado en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996914003238>

14. Pardo K, Pareja M, Guillen A, Ureta J,.Actividad

antimicrobiana del camu camu (*Myrciaria dubia*) contra microorganismos orales: una revisión sistemática. Rev Perú Med Exp [En línea]. 2019;36(4):573-582. Ubicable en: <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2019.364.4270>.

15. Saldarriaga E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) [Tesis para obtener el título de cirujano dentista]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Odontología; 2017. Ubicable en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7996>.

16. Camere R. Evaluación in vitro de efecto antibacterial y citotóxico del extracto metanólico de semilla y pulpa de la *Myrciaria dubia* sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. [Tesis para titulación como Cirujano dentista]. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas - UPC ; 2015 [citado el 22 Marzo, 2020]. Ubicable en: <http://repositorioacademico.upc.edu.pe/upc/handle/10757/581744>

17. Castillo C. Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* "Camu camu" sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. [Tesis para obtención de titulación como médico] Trujillo: Repositorio académico de la UNT, Universidad Nacional de Trujillo; 2015. Ubicable en : <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/232>

18. Ruvinsky R, *Streptococcus pneumoniae*: Epidemiología y resistencia a antimicrobianos de las enfermedades invasoras en Latinoamérica. Rev Chil Infectol [Internet]. 2001 mayo. [citado el 11 de octubre del

2019]; 18(1): 10-14. Ubicable con:
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000000003&lng=es.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182001000000003>.

19. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología Médica. 7ma Edición. España:Ed Elsevier;2014.p. 258

20.Paton A , Barnett T, Cole J, Rivero T, Heningham A, , Nizet V et al. Streptococcal toxins : roles in pathogenesis and disease . Celular Microbiology . 2015;17(12): 1721-1741. 2.(Citado el 24 de Febrero del 2020). Ubicable con :
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/cmi.12531>

21. Comité Asesor de Vacunas. Neumococo. Manual de vacunas en línea de la AEP [Internet]. España; 2020. [revisado el 25 de marzo del 2020]. Ubicable con:
<http://vacunasaep.org/documentos/manual/cap-31>

22. Aguinangalde L. Mecanismos de patogenicidad de *Streptococcus pneumoniae* asociados a enfermedad invasiva y enfermedad pulmonar obstructiva crónica. [Tesis para conseguir doctorado] Madrid ;2017. Ubicable mediante el siguiente vinculo:
<https://eprints.ucm.es/45633/1/T39429.pdf>

23. Chang A. El CAMU CAMU Aspectos Quimicos ,Farmacologicos y Tecnologicos.Perú. 2013; 1 ed. , Ed FITOICA. Pp 4-25. Ubicable en :
<http://www.iiap.org.pe/Archivos/publicaciones/Publicacio>

n_2098.pdf

24. Muñoz A, Lizaraso F , Castañeda B, Alvarado C, Ramos F. Evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de *Myrciaria dubia* , Prunus serótina Cyphomandra betacea y Averrhoa carambola cultivadas en Perú. Rev Soc Quim Perú [Internet]. 2009; 75 (4): 431-438. Ubicable con el siguiente link : <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371937615005>
25. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. Cultivos Tropicales [Internet]. 2001, 22 (2), 5-14 [fecha de Consulta 20 de Septiembre de 2020]. ISSN:. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>
26. Arellano E, Paucar L, Rojas A . Camu-camu (*Myrciaria dubia*); Fruta tropical de excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida . Rev Sci Agrop [Internet]. 2016 ;7 (4): 433 – 443. Ubicable con el siguiente link: <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v7n4/a08v7n4.pdf>
27. Pardo K, Pareja M, Jurado B, Guillen A, Meneses L, Rivadeneira C, Romero A. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de camu camu (*Myrciaria dubia*) contra microorganismos orales. Rev Cub Estomatol [Internet].2019; 58(1). , Ubicable con el siguiente link : https://www.researchgate.net/publication/333793094_Actividad_antimicrobiana_in_vitro_del_extracto_etanolico_de_camu_camu_Myrciaria_dubia_contra_microorganismos_bucales [In vitro antibacterial activity of ethanolic extract of the Myrciaria dubia Camu ca](#)
28. Ministerio de Salud. “guía de práctica clínica para diagnóstico y tratamiento de neumonía en las niñas y los

niños”, Lima: MINSA; [revisado el 17 de Febrero del 2020]
Encontrado en
: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4931.pdf>

29. Grimberg B, Vademécum Médico del Perú Actualizado de la Revista médica, 1 ed, Perú: Editorial Pablo Grimberg;2019. Pp 2-3.

30. Expósito L, Alvarez L, Sanchez B, Morales J, Drullet P. *Streptococcus pneumoniae* isolated from patients with community-acquired pneumonia. Rev Inf Cient [Internet]. 2018; 97(5):966-976. [revisado 2 Jul 2019] Ubicable con el siguiente link:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102899332018000500966&lng=es.

31. Torres N, Velásquez R , Mejía L, Mercado E, Horna G, Egoavil M et al. Resistencia antibiótica de *Streptococcus pneumoniae* en portadores nasofaríngeos sanos de siete regiones del Perú. Rev Med Exp [Online]. 2013 [revisado 2020 Febrero 04] ;
30(4): 575-582. Ubicable con el siguiente vinculo:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342013000400006&lng=es.

32. Jimenez D. Determinación de sinergias antibióticas en patógenos de interés sanitario. [Tesis para obtener el título de dentista] . Lima : Repositorio académico Universidad Zaragoza; 2019 [citado el 01 de febrero del 2020]. Encontrado en el siguiente vinculo :
https://araid.es/sites/default/files/tesis/memoria_tfg_daniel_jimenez_navarro.pdf

33. Martínez L, Calvo J. Mecanismos de acción de los antibacterianos. Rev Enf Infecc Microb Clin [Internet]. 2009;27(1):44–5245[citado el 24 de Octubre del 2019] Disponible con el siguiente link: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X08000177>
34. Sampieri H, Fernandez C, Baptista P, Metodología de la investigación. Vol.1. 6ta. ed. México, Ed: McGraw_Hill; 2016.
35. Cantón R, Martínez L ,García J, Rodríguez C , Gómez M, et al . Procedimientos en Microbiología Clínica . Recomendaciones de Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica . 2003 . Pp 1-27 Ubicable en el siguiente enlace: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1a.pdf>
36. Ramirez E. Metodologia para evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de compuestos de origen vegetal. Rev Scient Techni [Internet]. 2009; 15 (42): 257-268. [citado el 24 de Enero del 2020]. Ubicable en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916714049>
37. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología,Perú; 2007 . Ubicable en:https://www.medicina.unmsm.edu.pe/etica/images/Postgrado/Instituto_Etica/Codigo_etica_cmp_OCT-2007.pdf.

38. Ramirez R. Propiedades físicas , químicas y biológicas de los suelos. Bogotá . 2017
39. Aguirre O. Evaluación agronómica de cuatro clones de camu camu. Disponible en : <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/156/AGR-599.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
40. Torres N , et al . Resistencia antibiótica de streptococcus pneumoniae en portadores nasofaríngeos sanos de siete regiones del Perú. Rev Per med exp. salud publica, Lima , v. 30, n. 4, p. 575-582, oct. 2013 . Disponible en <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342013000400006&lng=es&nrm=iso>. accedido en 10 dic. 2020.
41. Tim T, Lamb A . Antimicrobial activity of flavonoids . Int J Antimicrobiog 2010; 26:15-22

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
VI: Agente antibacteriano. -No farmacológico: Extracto etanólico de <i>Myrciaria dubia</i> al 100%. - Farmacológico: Amoxicilina a 25 µg	-Entidad generada a partir de microorganismos o producida a través de reacciones químicas, que en concentraciones especificad producirá inhibición (bacteriostático)e incluso, destrucción patógena (bactericida) sin producir efectos tóxicos en el huesped ³³ .	Extracto etanólico de <i>Myrciaria dubia</i> al 100% + Amoxicilina Extracto etanólico de <i>Myrciaria dubia</i> al 100% Amoxicilina a 25 µg Agua destilada	RG1 RG2 RG3 RG4	Cuantitativa
VD: Efecto antibacteriano	Acción de matar o detener crecimiento de un microorganismo bacteriano ³³ .	Se medirá la zona de inhibición de crecimiento , considerando los criterios del CLSI : Eficaz No Eficaz	≥13 mm <13mm	Cualitativa nominal

Anexo 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Población de placas Petri	EFECTO INHIBITORIO EN (mm)			
	Extracto etanólico de <i>Myrciaria dubia</i>		amoxicilina	Agua destilada
	100%	100% + Amoxicilina		
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

Anexo 3

TAMAÑO MUESTRAL

Se utilizará la fórmula para comparación de dos medias :³⁴

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde:

$$z_{\alpha/2} = 1.96 \text{ (95\%)}$$

$$Z/b = 0.84 \text{ (80\%)}$$

$$X_1 = 17 \text{ mm}^{28}$$

$$X_2 = 10 \text{ mm}^{15}$$

$$\sigma: 1.976 \text{ 20}$$

$n = 7$ número mínimo de repeticiones por cada concentración

Para el estudio se realizarán 10 repeticiones por cada grupo.

Anexo 4



San José
LABORATORIO CLÍNICO
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio “San José” deja constancia que ha cedido *ad honorem* sus instalaciones, en donde LUCERO ASTO VELÁSQUEZ, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado “Sinergia antibacteriana del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* con amoxicilina sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro”, durante los días 20 al 24 de septiembre de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 27 días del mes de octubre de 2020.



José Luis Calla Quevedo
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 8301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - 📞 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

Anexo 5



Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA n.º 18-2020-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas en forma de frutos presentada por **LUCERO ASTO VELASQUEZ**, estudiante de la **Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Medicina** de la **Universidad César Vallejo** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado "**Sinergia antibacteriana del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* con Amoxicilina sobre *Streptococcus pneumoniae*, in vitro** " que ha sido **DETERMINADA** en este Centro de Investigación y Enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ** del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP (**CIRNA-UNAP**) como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE
01	MYRTACEAE	<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh

A los siete días del mes de diciembre del dos mil veinte, se expide la presente constancia a la interesada para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



Anexo 6

REGISTRO FOTOGRÁFICO DEL PROCEDIMIENTO



Obtención de *Myrciaria dubia*
procedente del distrito de Iquitos



Extracción y secado de cáscara
de *Myrciaria dubia*



Mezcla de cáscara
de *Myrciaria dubia*
con etanol a 96°



Filtrado

Sembrado de la cepa *Streptococcus pneumoniae* y observación de los halos de inhibición generados por las variables antibióticas

