

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TRUJILLO
BENEDICTO XVI**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE ESTUDIO DE ODONTOLOGÍA



**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE CÁSCARA DE *MYRCIARIA DUBIA* (CAMU CAMU)
SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC25175. TRUJILLO, 2019**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO
DENTISTA**

AUTOR

Br. Cynthia Esmeralda, Lozano Zambrano

CODIGO ORCID: 0000-0002-4009-2363

ASESOR

Mg. Francisco Tito Cerna Reyes

CODIGO ORCID: 0000-0002-2177-3892

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Prevención de enfermedades y promoción de la salud bucal

TRUJILLO - PERÚ

2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uct.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	scielo.sld.cu Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Universidad Científica del Sur Trabajo del estudiante	1%
6	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	repositorio.uss.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	1library.co Fuente de Internet	<1%
9	rpmpe.pe Fuente de Internet	<1%
10	repositorio.udh.edu.pe Fuente de Internet	<1%
11	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	<1%
12	www.uv.es Fuente de Internet	<1%
13	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
14	fr.slideshare.net Fuente de Internet	<1%
15	Submitted to Universidad Andina del Cusco Trabajo del estudiante	<1%

AUTORIDADES

Exemo Mons. Dr. Héctor Miguel Cabrejos Vidarte, O.F.M.

Arzobispo Metropolitano de Trujillo

Fundador y Gran Canciller de la Universidad

Católica de Trujillo Benedicto XVI

Dr. Luis Orlando Miranda Díaz

Rector de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI

Dra. Mariana Geraldine Silva Balarezo

Vicerrectora Académica

Dra. Anita Campos Márquez

Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud

Dra. Enna Cecilia Abando Peralta

Vicerrector de Investigación (e)

Dra. Teresa Sofía Reátegui Marín

Secretaría General

Conformidad del asesor

Yo, Francisco Tito Cerna Reyes con DNI N° 19021556, asesor de la tesis de pregrado titulada “**Efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre *Streptococcus mutans* ATCC25175. Trujillo, 2019.** Presentado por el bachiller en estomatología **Lozano Zambrano Cynthia Esmeralda**, con DNI N° 42531552, informo lo siguiente:

Que el trabajo de investigación realizado para optar el título profesional reúne los requisitos tanto técnicos como científicos y corresponden con las normas establecidas en el reglamento de titulación de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI y en la normativa para la presentación de trabajos de graduación de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Por tanto, autorizo la presentación del mismo ante el organismo pertinente para que sea sometido a evaluación por los jurados designados por la referida Facultad.

Trujillo, 27 de abril del 2023



DNI: 19021556

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres, principalmente a mi amada madre, Martha Irene Zambrano Marín, por haberme formado como una mujer luchadora, ya que de ella aprendí que en esta vida todo se obtiene con esfuerzo y perseverancia, sobre todo, confiando que con Dios todo se puede.

A mi amado esposo Fernando Erick de Bracamonte Solano que siempre estuvo conmigo a pesar de muchas dificultades y a mis tres queridos hijos María Fernanda, Patrick y Jesús, ya que son mi motor y motivo para salir adelante.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por ser mi guía en todo momento, por ser mi fuerza cuando más lo necesito, por regalarme la tranquilidad y confianza en mí misma y las ganas de realizar todos mis sueños.

Agradezco a todas las personas que siempre estuvieron conmigo, dándome su apoyo moral y poniendo su granito de arena, también a mis docentes que fueron de guía para poder dar término a mi tesis y así poder obtener mi título de cirujana dentista.

Declaratoria de autenticidad

Yo, Cynthia Esmeralda Lozano Zambrano con DNI 42531552, egresada de la carrera profesional de Odontología de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI, doy fe que he seguido rigurosamente los procedimientos académicos y administrativos emanados por la Facultad de Ciencias de la Salud, para la elaboración y sustentación del trabajo de investigación titulado: “Efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara del *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, 2019 ”, el cual consta de un total de 58 páginas, en las que se incluye 2 tablas, más un total de 21 páginas en apéndices y/o anexos. Dejo constancia de la originalidad y autenticidad de la mencionada investigación y declaro bajo juramento en razón a los requerimientos éticos, que el contenido de dicho documento, corresponde a autoría propia respecto a redacción, organización, metodología y el referencial bibliográfico, asumiendo un mínimo porcentaje de omisión involuntaria respecto al tratamiento de cita de autores, lo cual es de mi entera responsabilidad. Se declara también que el porcentaje de similitud o coincidencia es de 15%, el cual es aceptado por la Universidad Católica de Trujillo.

La autora



DNI: 42531552

ÍNDICE

PORTADA

PÁGINAS PRELIMINARES	ii
Página de autoridades universitarias	iii
Página de conformidad del asesor	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Declaratoria de autenticidad	vii
Índice	viii
Índice de tablas	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	12
II. METODOLOGÍA	21
2.1. Objeto de estudio	21
2.2. Instrumentos, técnicas, equipos de laboratorio de recojo de datos ----	22
2.3. Análisis de la información	24
2.4. Aspectos éticos en investigación	24
III. RESULTADOS	26
IV. DISCUSION	30
V. CONCLUSIONES	33
VI. RECOMENDACIONES	34
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	39
Anexo 1: Cuadro de operacionalización de variables	40
Anexo 2: Instrumentos de recolección	44
Anexo 3: Constancia de calibración	45
Anexo 4: Otros	46

Índice de tablas

- Tabla 1:** *Actividad antibacteriana, in vitro, por diferentes concentraciones del Extracto etanólico de Myrciaria dubia “camu camu” sobre cultivos de Streptococcus mutans ATCC25175.....25*
- Tabla 2:** *Prueba Post Hoc del efecto antibacteriano del Extracto etanólico de Myrciaria dubia “camu camu” a diferentes concentraciones y clorhexidina como control positivo sobre cultivos de Streptococcus mutans ATCC25175.....27*

Índice de figuras

- Tabla 1:** Promedio y desviación estándar de la actividad antibacteriana, in vitro, por diferentes concentraciones del Extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “camu camu” sobre cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC25175.....26
- Tabla 2:** Desviación Estándar del diámetro de los halos de inhibición (mm) producidos por el Extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “camu camu” sobre cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC25175.....28

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico (EE) de la cáscara del *M. dubia* (camu camu) sobre *S. mutans* ATCC 25175, 2019. El estudio fue de diseño experimental. La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La muestra estuvo conformada por 10 placas para cada grupo de estudio. El *S. mutans* fue activado y sembrado en un medio de cultivo para luego ser expuesto a los Extractos etanólicos de las cáscaras de la *Myrciaria dubia* (camu camu) en concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% y como control positivo al Gluconato de Clorhexidina al 0.12% y control negativo al suero fisiológico (SSFe). El efecto antibacteriano fue medido mediante los halos de inhibición. Los resultados mostraron que el halo promedio del extracto de *Myrciaria dubia* al 25% fue de 14,98 mm, el halo del 50% fue de 17,85 mm, el halo del 75% fue de 20,87 mm, el halo del 100% fue de 24,02 mm, y el halo de la clorhexidina es de 16,75 mm. Se utilizó la prueba de ANOVA y se obtuvo un valor $p=0.000$, lo cual indica que existe diferencia estadísticamente significativa. En conclusión, el Extracto etanólico de la cáscara del *M. dubia* (camu camu) al 100% presentó mayor efecto antibacteriano sobre las cepas de *S. mutans* ATCC 25175.

Palabras claves: Antibacteriano, Clorhexidina, *Myrciaria dubia*, *Streptococcus mutans*

Abstract

The objective of this study was to determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic Extract (EE) of the shell of *M. dubia* (camu camu) on *S. mutans* ATCC 25175, 2019. The study was of an experimental design. The population consisted of strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The sample consisted of 10 plates for each study group. *S. mutans* was activated and seeded in a culture medium to then be exposed to ethanolic extracts from the shells of *Myrciaria dubia* (camu camu) in concentrations of 25%, 50%, 75%, 100% and as a positive control. to 0.12% Chlorhexidine Gluconate and negative control to saline (FeSS). The antibacterial effect was measured by the inhibition halos. The results showed that the average halo of the 25% *Myrciaria dubia* extract was 14.98 mm, the 50% halo was 17.85 mm, the 75% halo was 20.87 mm, the 100 halo % was 24.02 mm, and the chlorhexidine halo is 16.75 mm, for which the ANOVA test was used and a $p=0.000$ value was obtained, which indicates that there is a statistically significant difference. In conclusion, the 100% ethanolic extract of the shell of *M. dubia* (camu camu) had a greater antibacterial effect on the strains of *S. mutans* ATCC 25175.

Keywords: Antibacterial, chlorhexidine, *Myrciaria dubia*, *Streptococcus mutans*.

I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es la patología con mayor prevalencia en el mundo por lo que se considera un problema epidemiológico. Esta patología puede aparecer en cualquier edad del ser humano, siendo más prevalente en la niñez, debido a que los niños no tienen una buena higiene bucal y hay que agregar, que ellos tienen una tendencia al consumo de alimentos cariogénicos, entre otros; esta patología no solo afecta la salud bucal, sino también el estilo de vida de las personas.¹

En la salud bucal se ve afectado el esmalte del diente, ya que la caries empieza por esta zona y si no es tratada a tiempo, puede afectar otras estructuras dentales como: dentina y pulpa, ocasionando la pérdida de la pieza dentaria y en casos más graves puede ocasionar la muerte de las personas. El estilo de vida se ve afectado, porque altera las actividades diarias del ser humano como: alimentación, sueño y otras, como la actividad social de las personas.²

La caries dental es causada por microorganismos que se encuentran en la cavidad bucal del ser humano, entre ellos tenemos al *Streptococo mutans*, este microorganismo tiene la capacidad de producir ácido láctico, ocasionando que el pH de la saliva cambie, de neutro a ácido, provocando las condiciones para el desarrollo de dicha patología.³

La resistencia a los antimicrobianos por el *Streptococo mutans* y las reacciones adversas provocados por muchos de estos, ha ocasionado la búsqueda de fitofármacos con actividad antimicrobiana, con menores efectos adversos o problemas relacionados a los medicamentos. Según la O.M.S, más del 80% de pobladores en todo el mundo utilizan tratamientos basados en plantas medicinales, con la finalidad de curar las enfermedades que afligen al ser humano. Al Perú se le conoce por su amplia variedad de planta medicinales, donde estas son usadas en tratamiento de patologías; se conoce que hay más de 80 000 especies de plantas medicinales de buena calidad para la creación de nuevos fármacos.^{4,5}

La Amazonía peruana, cuenta con una de las floras más exquisita del mundo, y en ellas una gran diversidad de plantas con propiedades curativas y usadas en la medicina tradicional; se habla de aproximadamente 30 millones especies de plantas diferentes en la amazonia⁶, donde solo algunas han sido investigadas y conocidas hasta el día de hoy

por su potencial farmacológico; se calcula que, de todas las plantas tropicales, solo un pequeño porcentaje (1%) han sido estudiadas, y por esta razón se ha generado un gran interés de conocer o descubrir nuevas plantas medicinales, que tengan actividad terapéutica y puedan ser usadas para tratar patologías causadas por microorganismos orales.^{7,8}

La *M. dubia*, más conocida en el Perú como camu-camu, es una planta oriunda del Amazonas y se le puede hallar en las vertientes del río Putumayo, también en Ucayali, Amazonas entre otros lugares. El camu-camu hoy en día a despertado gran interés, debido a que es una fuente exquisita de vitamina C, además contiene cantidades mínimas de calcio, hierro, niacina, tiamina, riboflavina, carotenoide y antocianina; además está en estudio el posible uso como antimicrobiano.^{8,9}

Los pocos estudios sobre actividad antimicrobiana del camu-camu, despertó mi interés por investigar este fruto, lo que me llevo a plantearme la siguiente interrogante ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia* (camu camu) in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, 2019?

La caries dental, cada vez más se va incrementando a nivel mundial, especialmente en los niños, presentándose complicaciones debido a que los pacientes no toman las medidas preventivas de forma seria y además la adherencia al tratamiento es inadecuada; esta investigación se justifica de forma teórica porque el camu-camu posee poderosos fitoconstituyentes todavía en estudio, que serían los responsables de la actividad antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans*. Presenta importancia ética, ya que, se evidencia si es correcto el uso del medicamento a base de productos naturales como es la *M. dubia* (camu camu), frente a esta patología. También presenta importancia universitaria, porque esta investigación servirá para hacer de conocimiento al estudiante de ciencias de la salud o profesional de odontología, las grandes propiedades que tiene este fruto y así verlo como alternativa en tratamientos odontológicos y otros.

Objetivo general:

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu) sobre *S. mutans* ATCC 25175, 2019.

Objetivos específicos:

- Determinar el tamaño de los halos de inhibición según la concentración del Extracto etanólico de la cáscara de *M dubia* (camu camu) sobre *S. mutans* ATCC 25175, 2019.
- Comparar los halos de inhibición ocasionado por las concentraciones de extracto etanólico de la cáscara de *M dubia* (camu camu) (25%, 50%, 75% y 100%), con el estándar de referencia clorhexidina al 0.12%, sobre cultivos de *S. mutans* ATCC 25175. 2019

Delgado E. et al.¹⁰ (Perú, 2022) en su investigación, sobre determinación de la acción antibacteriana in vitro del EE de la pulpa del camu camu (*M. dubia*) sobre *Staphylococcus aureus*, donde usó concentraciones de diferentes porcentajes (50%, 75% y 100%); con resultados que indican que, el EE del camu camu (*M. dubia*) al 100% ocasiona un halo inhibitorio de 29.98 mm en los cultivos de *S. aureus*, las demás concentraciones originan halos de inhibición de menor diámetro, en tanto que el control positivo ciprofloxacino ocasiona un halo inhibitorio de 41,75mm, resultados que nos permite concluir que extracto etanólico de camu-camu si tiene actividad antibacteriana sobre *S. aureus*.

Castillo B. et al¹¹ (Perú, 2022). Determinó la acción antimicrobiana de 4 concentraciones de *M. dubia* (cc) 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750mg/ml y 1000 mg/ml, C+ gentamicina 160mg/2ml y C- etanol 70° frente *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos. Los resultados fueron que, el extracto de mayor concentración 1000 mg/ml logró el mayor halo inhibitorio (25,72 mm), seguido del 750mg/ml con un halo inhibitorio de 19,31mm, de allí está el de 500 mg/ml con 15,51mm y la concentración con menor halo inhibitorio fue el de 250 mg/ml con 12,43 mm, C+ obtuvo un halo de 25,61mm y el C- un halo de 6,00, se llegó a la conclusión que, la *M. dubia* si tiene efecto antimicrobiano frente a *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos.

Aurora P. et al.¹² (Perú, 2021) Evaluó la eficacia antibacteriana in vitro del EE de la pulpa de *M. dubia* (cc) en 4 concentración (25%, 50%, 75% y 100%). El resultado mostró que la concentración al 100% presentó más eficacia antibacteriana, con un halo de 16,82mm; seguido del 75% con un halo 14,4; al 50% con un halo 11,00 mm y con menos eficacia antibacteriana al 25% con un halo de 10,82mm. Mientras más aumenta las concentraciones del extracto, mayor es la eficacia antibacteriana, se concluyó que si presenta eficacia antibacteriana in vitro del EE del *M. dubia* (cc) sobre el *Streptococcus mutans*.

Ruíz M. et al.¹³ (Perú, 2021). Determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *M. dubia* (CC) sobre *S. mutans*. Se trabajó con diferentes concentraciones (25mg/ml, 50 mg/mL y 75 mg/mL), C+ clorhexidina 0,12% y C- dimetil sulfóxido al 1%. El resultado fue que, el 75 mg/mL presentó un halo inhibitorio de 18,2 mm, luego está el 50 mg/mL con un halo inhibitorio de 14,6mm seguido de la concentración de 25 mg/mL con un halo inhibitorio de 10,1mm, la clorhexidina 0,12% con un halo de 16,5 mm. Si se muestra diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de 75 mg/mL y el C+ ($p < 0,05$). Se llegó a la conclusión que el extracto

hidroetanólico de *M. dubia* si muestra actividad antibacteriana in vitro sobre *S. mutans* ATCC 35668.

Saldarriaga E. et al.¹⁴ (Perú, 2017). Determinar la acción antibacteriana in vitro del EE del *M. dubia* (cc) frente el crecimiento de *S. mutans* ATC 25175, trabajó con los porcentajes de 25% (8.69mm), 50% (10,62mm), 75% (14,38mm) y 100% (16,38mm). Teniendo como C+ a la penicilina G (17,31mm) y C- al agua salina (6mm). El resultado fue halos inhibitorios < que 8 mm, y eso fue para todos los porcentajes sin excepción alguna, conforme pasa el tiempo estos halos van creciendo proporcionalmente con el porcentaje empleado, evidenciándose en sus concentraciones ($p < 0,01$) diferencia estadísticamente significativa. También, CMI se obtuvo con el 25%. Se llegó a la conclusión que, el EE del CC (*M. dubia*) sí muestra acción antibacteriana in vitro frente a *Streptococcus m.* ATC 25175.

Moroni H. et al.¹⁵ (Perú, 2017). describió según la literatura, el potencial antimicrobiano del extracto del fruto y cascara de la *M. dubia* en concentraciones de 10%, 20%, 50%, 100% en microorganismos orales como el *S. mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, ejecutados entre el año 2005 al 2016. Las respuestas de las investigaciones in vitro e in vivo permitieron determinar al menos en el caso el Té verde y del camu camu, como una opción de prevención social, a través de colutorios orales. Se concluyó que la *Myrciaria dubia*, si existe acción antibacteriana en la concentración del 20 % y la mayor acción fue al 100 %.

Camere R. et al.¹⁶ (Perú, 2016). Aquí se evaluó la acción antibacteriana y citotóxico del Extracto metanólico de la pulpa y semilla *M. dubia* (cc) frente *S. mutans* ATCC 25175 y *S. sanguinis* ATCC 10556 en 2 concentraciones 100% y 125%, teniendo a la Clorhexidina (0.12%) como control positivo. Las respuestas a estos estudios mostraron que el dicho extracto de la semilla presentó una alta efectividad antibacteriana frente a *S. mutans* presentando halos inhibitorios de 21.36 mm que corresponde a la semilla y para la pulpa se obtuvo halos inhibitorios de 16.20 mm. Para la semilla y pulpa del camu camu frente a *S. sanguinis* se obtuvo respectivamente halos de 19.21mm y 19.34 mm. Siendo la CMI de pulpa el de 125ug/ml para los dos microorganismos, presentando las semillas efecto antimicrobiano hasta en reducidas concentraciones. Por último, el extracto de la semilla fue en una concentración mayor a 800ug/ml y de la pulpa 524.37ug/ml. Se concluyó, que el extracto metanólico de la semilla y pulpa de la *M. dubia* (cc) si presenta acción antibacteriana y citotóxico sobre cepas de *S. mutans* y *S. sanguinis*.

Moroni H. et al.¹⁷ (Perú, 2014). Esta investigación valuó el efecto in vitro e in vivo del extracto hidroalcohólico del *M. dubia* (CC) frente a *S. mutans* ATCC 25175 y *P. gingivalis* ATCC 33277, también determinar el efecto de un enjuague bucal echo de dicho extracto, agua, propilenglicol, *M. dubia* en concentraciones de 10%, 20%, 50% y 100%. El resultado nos dice que si muestra efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans* y *Porphyrimona gingivali*. En la evaluación in vivo igual hubo reducción de los halos de inhibición en un 55% en el recuento microbiano y en el 85% de *Streptococcus mutans* que presenta el fluido salival. Se concluyó el efecto del extracto hidroalcohólico y el enjuague bucal se puso en observación a partir de la concentración del 20% y la mayor acción fue al 100%.

La caries dental, es la patología con mayor prevalencia a nivel mundial después del resfriado común. Este mal puede aparecer en cualquier edad del ser humano, con una mayor incidencia en el grupo con edades que fluctúan entre 6-11 años (infancia) y de 12-18 años (adolescencia), empieza en el esmalte del diente pudiendo llegar a involucrar dentina, raíz y periodonto y otras estructuras más, en todo este proceso, si no es tratada a tiempo puede llevar a la pérdida del o los dientes y en casos peores la muerte de la persona. La caries dental se trata de una cavitación, clínicamente notoria que se da conforme pasa el tiempo como consecuencia de la desmineralización de las piezas dentarias.^{2,3} Esta patología requiere de varios factores para que se genere, dentro de ellos está: el huésped (limpieza bucal, fluido salival y piezas dentarias), la microflora (infección bacteriana), la dieta (sustratos cariogénicos), y el tiempo conveniente que deberá estar presente para que se produzca la caries.¹⁸

La boca del ser humano presenta innumerables microorganismos. Anteriormente, la cavidad oral se conocía como un medio simple para las bacterias, ahora se conoce que, a parte de la estructura dentaria, el surco gingival, la lengua, la saliva y otras áreas de mucosidad, también son hábitats distintos, donde las bacterias aumentan. Cada zona o hábitat contiene su propia población característica, con muchas especies microbianas diferentes, en donde estas se complementan o compiten con otras en la misma población, donde la flora bucal se afecta por los diferentes cambios mediante la vivencia del huésped.^{19,20}

Los microorganismos aparecen en la cavidad oral en cuestión de horas después del nacimiento del bebé. Durante el crecimiento de este, se va generando cambios fisiológicos como: el brote de los dientes deciduos, luego el brote de los dientes permanentes. también cambios habituales como: escasa higiene dental, ingesta abundante de carbohidratos, a veces o nunca asisten al odontólogo, etc. Todos estos cambios generan una alteración en la colonia microbiana, logrando que los microbios alcancen afectar al diente.²¹

El *Streptococo mutans* es el microorganismo que da paso a la caries dental, es anaerobio facultativo, metaboliza los carbohidratos (sacarosa, glucosa y fructosa) generando ácido láctico, estos ácidos logran hacer cambios en el pH en la saliva (pH alcalino pasa a ser un pH bajo), el proceso de infección se realiza a partir de la placa bacteriana a través de la cual el ácido láctico llega al esmalte, descomponiéndose y liberando iones de hidrógeno, estos a su vez se diluyen rápidamente provocando liberación del calcio y fósforo, proceso denominado desmineralización dental.²²

La famosa *M. dubia* (camu camu), es una planta silvestre que crece en tierra fértil y húmeda, mayormente lo encontramos a orillas del río Amazonas. La *M. dubia* se distingue de las otras plantas, ya que su fruto es de pequeño diámetro (2.5 cm), diferenciándose por el tono verdusco al rojizo y esto depende del estado de maduración. Este fruto tiene compuestos químicos y componentes bioactivos que hace que este fruto sea mejor en comparación con otros.

Composición química: Tenemos²³

Niacina	Tiamina
Proteína	Calcio
Fibra	Hierro
Carbohidratos	Riboflavina

Componentes bioactivos

Estos se encuentran en los alimentos, tienen la propiedad de mantener la salud de la persona al consumirlos; además, son importantes para la función fisiológica, celular, y reducen el factor de contraer enfermedades sistémicas en los pacientes, estos componentes bioactivos son: carotenoides, vitaminas, taninos y antioxidantes.²³

Carotenoides: *la Myrciaria dubia* durante el crecimiento contienen concentraciones importantes en su etapa de maduración 102 DAA, estos resultados arrojaron de 1 mg/100 g y 0,005 mg/100 g le pertenece a la pulpa y cáscara del fruto.²³

Compuestos fenólicos: La acción biológica de los polifenoles levantaron el interés de esta fruta, ya que, se evidenció el poder que tiene en prevenir patologías asociadas con los estilos de vida saludable del ser humano.²⁴

Flavonoides y antocianinas: Esta planta presenta estos dos componentes uno más que otro, por ejemplo, como es el caso del fruto verduzco del *Myrciaria dubia* que contienen bajas concentraciones de antocianinas, sin embargo, el camu camu en su estado de maduración el contenido de antocianinas es mayor que en frutos verdes. En ambos presenta elevado contenido de flavonoides.²⁴

Taninos: Estos se clasifican como polifenoles porque presentan en su estructura cantidades grandes de hidroxilo fenólicos, definiéndose de acuerdo a la Real Academia Española como alimentos extrínsecos, encontrándose en algunos tejidos vegetales.²⁴

El EE del *M. dubia* (camu camu), viene hacer la concentración adquirida en porcentajes, donde la cáscara de este fruto pasa por varios procedimientos, suprimiendo alguno de su componente para perfeccionar la calidad del resultado anhelado, manteniendo sus propiedades y siendo una de ellas la propiedad antibacteriana.⁹

El efecto antibacteriano es la capacidad de impedir el desarrollo del microorganismo, sin ocasionar problemas al organismo infectado a través de sustancias químicas generadas por las bacterias y conseguidas por síntesis.²⁵

El Gluconato de clorhexidina 0.12% es un antiséptico bucal, que tiene efectividad sobre microorganismos Gram + y Gram -, actuando directamente en la membrana citoplasmática, donde se logra alcanzar la más alta actividad a pH 8 y llega a perder su acción bactericida a partir de pH de 5,2; se le conoce como antiséptico bacteriostático, ya que bloquea el desarrollo de las bacterias a bajas concentraciones y bactericida, ya que, elimina los microorganismos en concentraciones altas.²⁵

El gluconato de clorhexidina al 0,12 % se adhiere muy fuertemente a las membranas celulares de las bacterias y, en bajas concentraciones, aumenta la

permeabilidad (acción bacteriostática) al filtrar el componente intracelular, y el potasio. En concentraciones altas, provoca la precipitación del citoplasma bacteriana, por ende, lisis celular (acción bactericida).²⁶

Para la hipótesis de la investigación, esta se ha formulado de la siguiente manera:

Ha: Si tiene efecto antibacteriano el extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (cc) in vitro frente a *S. mutans* ATCC 25175, 2019

Ho: No tiene efecto antibacteriano el extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu) in vitro frente a *S. mutans* ATCC 25175, 2019

II. METODOLOGÍA

2.1. Objeto de estudio

2.1.1 Tipo de investigación.

Según la finalidad del estudio: Es aplicada, porque se enfocó en dar respuesta a los problemas formulados, otorgando conocimiento previo para luego aplicarlo.²⁷

Por su profundidad:

- Experimental: porque trata de medir el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente, de igual forma, el investigador manipuló las variables.²⁸
- Explicativa: Porque se enfocó en esclarecer las causas que dan origen a un fenómeno determinado.²⁸

Según el enfoque: Es cuantitativo en el sentido de que utiliza la recopilación de datos basada en mediciones numéricas y análisis estadístico para modelar el comportamiento y probar la teoría.²⁸

2.1.2 Población y muestra

Población: conformada por cepas de *S. mutans*. ATCC 2517, cultivadas sobre placas Petri.

Criterios de selección

Criterios de inclusión:

- Placas Petri inoculadas con cepas de *S. mutans* ATCC 25175.

Criterios de exclusión:

- Placas Petri inoculadas con *S. mutans* ATCC 25175 con señales de a ver sido contaminadas mediante el proceso de experimentación.
- Placas Petri que presentan algún daño colateral.

Variabes: (Anexo 1: cuadro de operacionalización)

Efecto antibacteriano

Definición conceptual: Resultado que tiene alguna sustancia con beneficios capaces de

destruir o impedir el crecimiento de la bacteria.²⁷

Definición operacional: Efecto antibacteriano de la *M. dubia* (cc) sobre *S. mutans* ATCC 25175. Los halos de inhibición que mostraron resultado antibacteriano fue mayor a 8 mm.

Indicador:

Tipo: Cuantitativa independiente.

2.2 Instrumentos, técnicas, equipos de laboratorio de recojo de datos

2.2.1 Técnica: Observación experimental

2.2.2 Instrumento de recolección de datos

Para medir la inhibición del halo en este estudio de investigación, se usó un vernier calibrado, con un diseño para unidades de medida de longitud, cumple con la norma ISO 13385. Marca MODAVELA, modelo No VF15, por lo que es muy confiable.

Además, se utilizó un formulario de recolección de datos creado por la investigadora en el cual se colocaron los halos de inhibición bacteriana obtenidos en la ejecución in vitro. (Anexo 2).

Asimismo, señalamos, que la investigadora tuvo que ser capacitada para que pudiera utilizar la herramienta de recolección de datos (Anexo 3) con el apoyo de un microbiólogo de la UNT, pasando un valor de coeficiente de correlación intraclase (CCI) = 0,998, superior a 0,80 (aceptable), lo que indica que las mediciones realizadas por el microbiólogo e investigadora muestran una concordancia casi perfecta entre los dos (Anexo 4).

2.2.3 Protocolos de experimentación:

A. Procedencia de la especie vegetal y taxonomía

El fruto de *M. dubia* (cc), se trajo de la Amazonía del Perú, donde se recolectaron 5 kg de este fruto, exportando también la muestra del arbusto, llevándola al Herbarium Truxillense de la UNT para su identificación. (Anexo 5).

B. Tratamiento del material vegetal

- **Lavado del fruto:** La *Myrciaria. dubia* (cc) seleccionada se lavó con agua destilada estéril, después pasó a desinfectarse con lejía (200 ppm), mediante 5

minutos. Y luego pasó hacer enjuagado con abundante agua destilada estéril. Ya estando totalmente limpio el camu camu, se procedió a retirar la cáscara de la pulpa.²⁷

- **Secado:** Las cáscaras de la *M. dubia* (camu camu) se colocaron encima del papel Kraft, donde estas secaron a temperatura del ambiente por 24 h, y luego en la estufa a una temperatura de 40°C durante 2 días (48 horas). Determinándose el peso c/ 24 h. hasta obtener valores constantes.²⁹
- **Pulverización:** Cuando las cáscaras de *M. dubia* (camu camu) estuvieron totalmente secas, se procedió a pulverizarlas con un mortero.²⁹
- **Tamizaje:** El producto pulverizado, se filtró mediante tamices N.º 2, 1.2, 0.7.²⁹
- **Almacenamiento:** El polvo de la cáscara de la *M. dubia* una vez obtenida se almacenó en frascos de vidrio color ámbar de boca ancha hasta ser utilizados.²⁹

Preparación del EE de *M. dubia* (CC).

A los 100 g de polvo de la cáscara de *M. dubia* que está almacenada en frascos de vidrio con capacidad de 4 litros se le colocó, alcohol de 70° G.L hasta cubrir la $\frac{3}{4}$ parte del frasco. Se procedió a mezclar homogéneamente. Al final Se procedió a tapar los frascos macerando por 7 días, además se tuvo que agitar 2 veces por día durante 15 minutos. Logrado la semana de macerado, este se procede a filtrar, con papel filtro Whatman N°4. Luego el producto se volvió a filtrar utilizando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le llamó extracto etanólico.

El Extracto etanólico fue conducido a una cámara de secado al vacío a 40°C, después se le tuvo que pasar al residuo seco, luego se procedió a preparar cada concentración 25% (250mg/ml), 50% (500mg/ml), 75% (750mg/ml), 100% (1000mg/ml) disueltas en alcohol de 70° G.L respectivamente, conservándolo en frasquitos estériles de vidrio en refrigeración a 4-8°C hasta su utilización.^{30,14} (Anexo 6)

C. Procedencia de las cepas de *Streptococcus mutans*

Las cepas de *S. mutans* ATCC 25175 se obtuvo del laboratorio GenLab del Perú SAC. (Anexo 7).

D. Difusión en Agar para evaluar el efecto Antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu) sobre *S. mutans* ATCC 25175.

Reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.

Para la reactivación, cultivo y manipulación de las bacterias, se tuvo que contar con el asesoramiento de un microbiólogo docente de la U.N.T

La acción antimicrobiana fue evaluada mediante el método de difusión en pozo (perforación en gel de agar). Se usó placas de agar con medio Brain Heart Infusión (BHI) contaminadas con 0.5 ml de cada una de los microorganismos que se desea estudiar, donde estos se hallaron en una suspensión de 0.5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

Se prosigió a embeber los discos de papel filtro en las diversas concentraciones obtenidas para posteriormente depositar 3 discos en cada placa Petri, la primera correspondiente al Extracto etanólico de la cáscara *M. dubia* (camu camu) la segunda a la clorhexidina y la tercera al suero fisiológico (SSF). Se repite esta operación con todas las concentraciones en todas las placas Petri.

Una vez colocadas las placas Petri se cerró la jarra Gaspac, para dar condiciones de anaerobiosis, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ y CO_2 al 5%; y así se logró una apropiada incubación de las cepas de *S. mutans*. Luego se colocó en refrigeración hasta que llegue el momento en que se tiene que medir los halos de inhibición en milímetros.^{15,16}

2.3. Análisis de información

Para los estudios estadísticos se ejecutó con el programa estadístico SPSS v. 22 y Microsoft Excel, teniendo en cuenta todo procedimiento indicado: para el presente estudio, para analizar los datos se utilizó la estadística descriptiva e inferencial. La estadística descriptiva se usó con el fin de dar medidas estadísticas como la media, desviación estándar, también para la comparación entre dos variables, donde se usó la prueba de Anova (datos normales), porque demostró la Normalidad con significancia mayor a 0.05 ($p > 0.05$), mediante la prueba de Shapiro Wilk. (Anexo 8)

2.4. Aspectos Éticos

La investigación se llevó a cabo de acuerdo con el Código de Ética de la

Universidad Católica de Trujillo “Benedicto XVI”, que sigue los principios de cuidado del medio ambiente, la biodiversidad y protección del ser humano, benevolencia y no malicia, e integridad científica; priorizando el cuidado integral de los frutos de *Myrciaria dubia* traídos de la Amazonía, evitando daños al medio ambiente, reduciendo los daños adversos durante la ejecución del proyecto a través de un manejo óptimo y oportuno según al Protocolo de estandarización para la eliminación de residuos; así mismo, se trabajó bajo protocolos de bioseguridad, velando por el bienestar de los participantes del proyecto y reduciendo posibles daños colaterales, no encontrándose dificultades en la realización de la investigación. Además, los datos, fuentes y métodos utilizados son válidos para el proceso del método científico.³

III. RESULTADOS

Tabla 1.

Actividad antibacteriana, in vitro, por diferentes concentraciones del extracto etanólico de Myrciaria dubia “camu camu” sobre cultivos de Streptococcus mutans ATCC25175 expresados por el diámetro del halo (mm) de inhibición a las 20 h de incubación, usando clorhexidina al 0.12% como control positivo.

Diámetro de los halos de inhibición (mm) en los cultivos de Streptococcus mutans ATCC25175					
Discos	Extracto de <i>Myrciaria dubia</i>				Clorhexidina
	25%	50%	75%	100%	0,12%
1	15.1	19.4	21.1	22.2	16
2	14.1	15.3	19.5	22.3	16.9
3	15.2	18.1	19.5	24.6	16.4
4	14.3	15.7	19.1	21.6	17.1
5	14.5	16.7	20	24.9	17
6	15.1	18.5	24.1	27.2	16.2
7	14.8	18.5	22.1	25.4	17.4
8	15.2	20	21.6	25.9	16.9
9	15.6	17.1	20.8	23.1	16.6
10	15.9	19.2	20.9	23	17
Promedio	14.98	17.85	20.87	24.02	16.75
DESVEST.	0.56332347	1.59042273	1.49744226	1.84619729	0.43779752

En esta tabla se observa el promedio y desviación estandar de los halos de inhibición expresados en mm probocados por las distintas concentraciones del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “camu camu” y clorhexidina como C+, sobre cultivos de *Streptococcus mutans ATCC25175*; además el análisis de varianza (ANOVA), con una prueba F calculado es 73.6350715, con lo que se demuestra actividad antibacteriana.

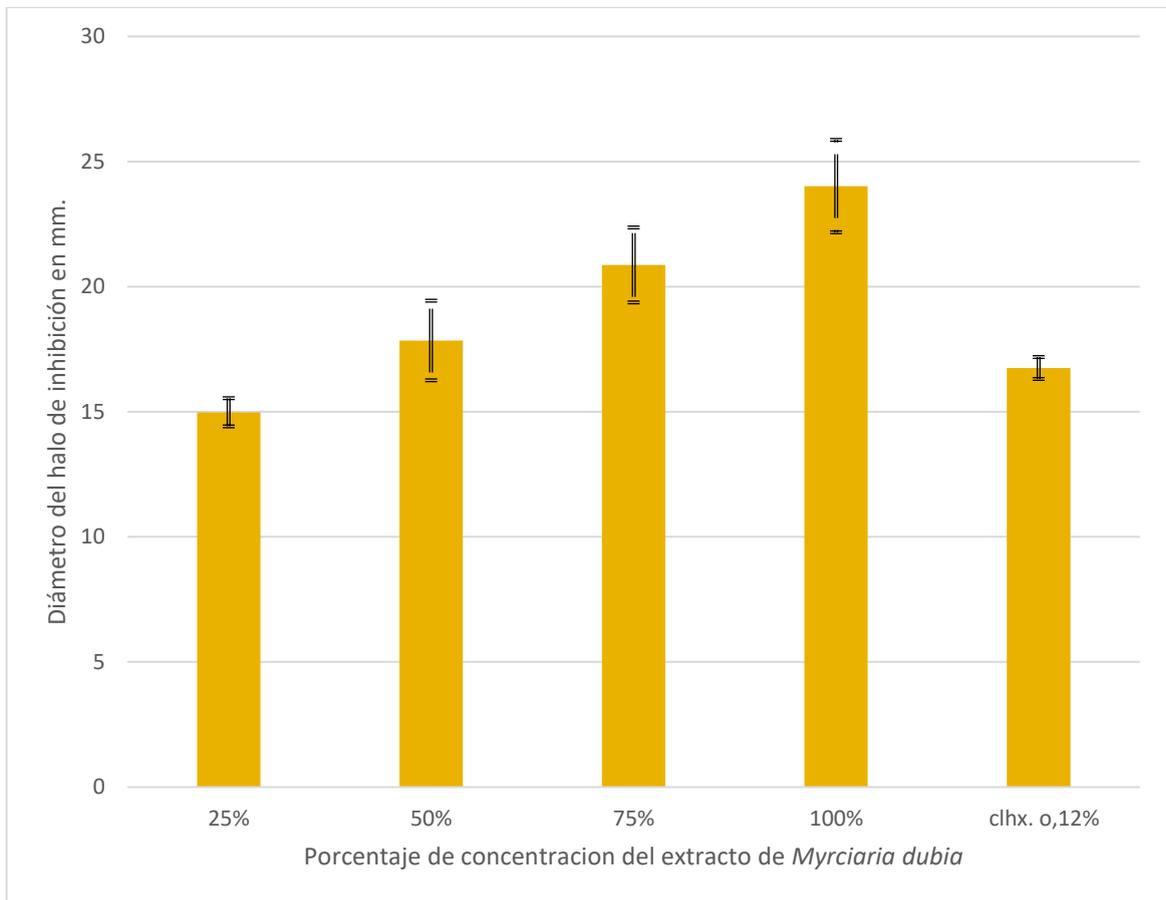


Fig. 1 Promedio y desviación estándar de la acción antibacteriana, in vitro, por distintas concentraciones del Extracto etanólico de *M. dubia* “camu camu” frente a cultivos de *S. mutans* ATCC25175 expresados por el diámetro del halo (mm) de inhibición a las 20 h de incubación, utilizando clorhexidina al 0.12% como C+.

Tabla 2

Prueba Post Hoc del efecto antibacteriano del extracto etanólico de Myrciaria dubia “camu camu” a distintas concentraciones y clorhexidina como C+ sobre cultivos de Streptococcus mutans ATCC25175.

POST HOC							
HSD Tukey 02.04, con alfa = 0.05							
Concentración de Extracto etanólico de <i>Myrciaria dubia</i>	N	MEDIA	AGRUPACION				
			A	B	C	D	E
Extr. cc 25%	10	14.98	0	2.78	5.89	9.04	1.77
Extr. cc 50%	10	17.85		0	3.02	6.17	1.10
Extr. cc 75%	10	20.87			0	3.15	4.12
Extr. cc 100%	10	24.02				0	7.27
Clhx. cc 0.12%	10	16.75					0

Fuente. Ficha de recolección de datos con el tamaño de los halos de inhibición (mm) sobre cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC25175.

Interpretación

Se observa en la tabla el análisis Pos Hoc (POST-ANOVA) del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *M. dubia* “camu camu”, donde el tratamiento con concentración del 100% muestra estadísticamente una diferencia significativa en los resultados logrados respecto a los tratamientos con concentraciones de 75%, 50% y 25%. El tto con concentración de 75% presenta estadísticamente una diferencia significativa en los resultados logrados respecto a los ttos 50% y 25%; los resultados para el tratamiento con concentración de 50% y 25% son estadísticamente iguales con respecto al tratamiento con clorhexidina (control positivo) al 0.12%.

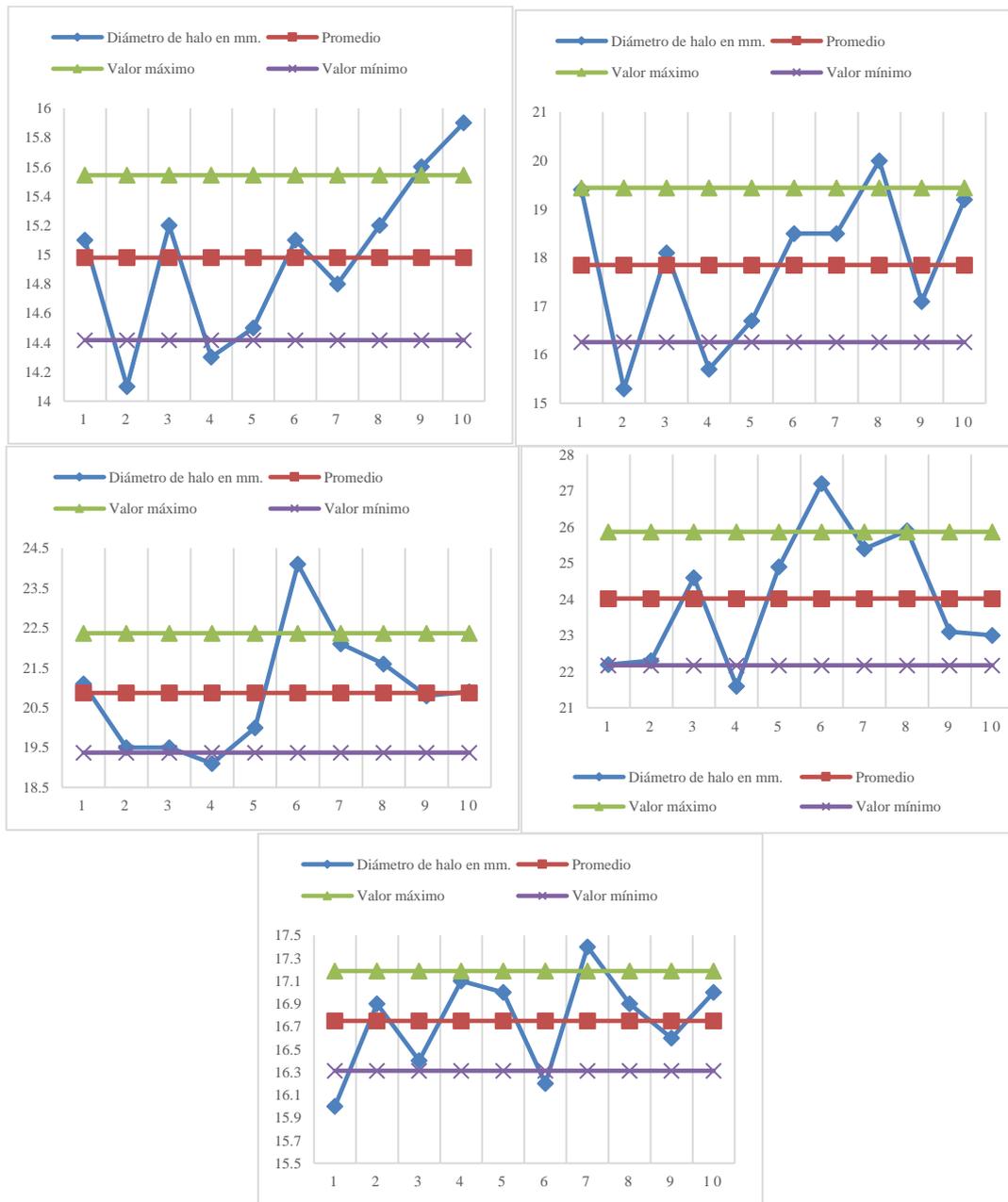


Figura 2. Desviación Estándar del diámetro de los halos de inhibición (mm) generados por el extracto etanólico de *Myrciaria dubia* “camu camu” al 100%, 75%, 50% y 25% y como control positivo los halos de inhibición generados por clorhexidina al 0.12% sobre cultivos de *S. mutans* ATCC25175

IV. DISCUSIÓN

Hoy en día la fitoterapia y en especial el uso de plantas medicinales con propiedades antibacterianas está tomando mayor importancia en el mundo, y muchas de estas plantas vienen brindando resultados interesantes, siendo así efectivos contra enfermedades ocasionada por bacterias, siendo una de estas la *M. dubia* (camu camu). En odontología, este arbusto aún necesita ser estudiada experimentalmente, no solamente con el *S. mutans*, sino también con otras bacterias de la cavidad oral.¹²

En este estudio, se evidenció el efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu) frente *S. mutans* ATCC25175. Los resultados arrojaron que el *S. mutans* si presenta susceptibilidad a la acción de dicho extracto, conforme va en aumento las concentraciones se va obteniendo mayores halos de inhibición (Tabla 1 y fig. 1). El efecto antibacteriano del extracto al 25% (14.98 mm) y 50% (17.85 mm) presentan resultados estadísticamente iguales con respecto al tratamiento con clorhexidina al 0.12% (16.75 mm); a su vez las concentraciones del 75% (20.87 mm) y 100% (24.02 mm) presentan una diferencia estadísticamente significativa frente a los resultados obtenidos por las concentraciones de 25%, 50% y clorhexidina al 0.12%. Esto quiere decir que la Clorhexidina al 0.12%, el extracto de cascara de camu-camu al 25% y 50% de concentración, de acuerdo a la escala Duraffourd fue muy sensible (++) , mientras que a la concentración del 75% y el 100% fueron sumamente sensible (+++) (Tabla 2).

Los resultados presentados en tabla 2 concuerda con el estudio de Castillo B. et al¹¹ (Perú, 2022), quien determinó el efecto antimicrobiano de 4 concentraciones 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750mg/ml y 1000 mg/ml, C+ gentamicina 160mg/2ml y C- etanol 70°. Este autor también utilizó la cáscara de *Myrciaria dubia*, donde sus resultados son similares a los de este estudio 1000 mg/ml (25.72mm), 750mg/ml (19.31m), 500 mg/ml (15.51mm), 250 mg/ml (12.43 mm), C+ (25.61mm) y el C- (6mm) y concluyó que el extracto de cascara de *M. dubia* si tiene efecto antimicrobiano frente a *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos.

Mientras mayor sea la concentración mayores halos inhibitorios obtendremos; así mismo, Aurora et al¹² (Perú, 2021) determinó la eficacia antibacteriana in vitro del EE de la pulpa de *M. dubia* (cc) sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Mostrándose resultados similares al presente estudio, donde la concentración al 100%

obtuvo mayor halo inhibitorio de 16,82mm que los de 75% (14.47mm), 50% (11.00mm) y 25% (10.82mm) llegando a la conclusión, que si existe eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *M. dubia* (cc) sobre el *S. mutans* y confirmando que a mayor concentración del extracto mayor es el efecto inhibitorio; De igual manera, los resultados son semejantes al estudio de Ruíz M. et al.¹³ (Perú, 2021) quienes determinaron la Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroetanólico de *M. dubia* (cc) sobre *S. mutans* ATCC 35658 donde se trabajó con diferentes concentraciones 25mg/ml (10.1mm), 50 mg/mL (14.6mm) y 75 mg/mL (18,2 mm), C+ clorhexidina 0,12% (16,5 mm); presentando estos resultados similitud con los de este estudio, por lo que concluyó que el extracto hidroetanólico de *M. dubia* muestra actividad antibacteriana in vitro frente *S. mutans* ATCC 35668.

Los distintos trabajos al que hago referencia nos indica que sin importar que el estudio sea usando Extracto etanólico o Extracto hidroetanólico y trabajadas en bacterias con distintos códigos y distintas concentraciones, en ambas presentan efecto antibacteriano. Delgado et al.¹⁰ (Perú, 2022) determinaron el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la pulpa del camu camu (*M. dubia*) frente *S. aureus*, investigación realizada con tres diferentes porcentajes 50% (25,45 mm), 75% (28,59 mm) y 100% (29,98 mm); C+ ciprofloxacino (41,75mm) y C- etanol (8,50mm), aquí observaron que a la concentración de más alto porcentaje (100%) se obtuvieron el mayor efecto antibacteriano y por consiguiente mayor halo de inhibición; por lo que puedo inferir que la pulpa al igual que la cáscara tiene efecto antibacteriano sobre bacterias diferentes.

Este estudio al igual que los estudios de Saldarriaga et al.¹⁴ (Perú, 2017), Moroni et al.¹⁵ (Perú, 2017), Camere et al.¹⁶ (Perú, 2016), Moroni et al.¹⁷ (Perú, 2014), demostraron que el extracto de *Myrciaria dubia* (camu camu), si tiene efecto antibacteriano frente *S. mutans* y otras bacterias, también se pudo probar que mientras más sea el porcentaje de concentración, mayor son los halos de inhibición; Los resultados de los estudios mencionados muestran consistentemente que el extracto de *M. dubia* (camu camu) posee actividad antibacteriana in vitro contra diferentes cepas bacterianas, incluyendo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. estos hallazgos respaldan el potencial antimicrobiano de esta planta y su posible aplicación en el desarrollo de productos antibacterianos.

Es importante tener en cuenta que se han utilizado diferentes metodologías y cepas

bacterianas en cada estudio, lo que afectaría los resultados obtenidos. Además, la comparación con los controles positivos, como el uso de ciprofloxacino y clorhexidina, proporciona un punto de referencia para evaluar la eficacia del Extracto etanólico de camu camu. En algunos casos, los controles positivos mostraron halos inhibitorios más grandes que el extracto de camu camu, lo que sugiere que los fármacos convencionales pueden ser más efectivos en términos de inhibición bacteriana; además en la figura 2 se puede ver el grado de dispersión observado en las distintas repeticiones a distintas concentraciones de extracto etanólico de cáscara de camu-camu, información que indica que en la parte experimental se tenga mayor prolijidad para evitar la dispersión y que los resultados tengan mayor confiabilidad.

En general, estos estudios respaldan la idea de que los Extractos de camu camu posee propiedades antibacterianas, lo que podría ser útil en el desarrollo de nuevos productos antimicrobianos o en la búsqueda de alternativas naturales a los fármacos convencionales. Pero, aun así, se requieren más estudios para entender completamente los mecanismos de acción y la eficacia del extracto de camu camu, así como su seguridad y viabilidad en aplicaciones clínicas.

V. CONCLUSIONES

1. Se llegó a la conclusión, que sí existe efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (cc) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, 2019.
2. Al demostrar el efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (cc) al 100%, 75%, 50% y 25% sobre *S. mutans* ATCC 25175, se obtuvieron halos de inhibición de 24.02mm, 20.87mm, 17.85mm y 14.98mm, respectivamente.
3. Al comparar el efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (cc) en sus diferentes concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) con el estándar de referencia clorhexidina al 0.12% sobre *S. mutans* ATCC 25175, se concluyó que el tratamiento con concentración del 100% presenta estadísticamente una diferencia significativa en los resultados obtenidos respecto a los tratamientos con concentraciones de 75%, 50% y 25% y clorhexidina al 0.12%. El tratamiento con concentración de 75% presenta estadísticamente una diferencia significativa en los resultados obtenidos respecto a los tratamientos 50% y 25% y clorhexidina al 0.12%; los resultados para el tratamiento con concentración de 50% y 25% son estadísticamente iguales con respecto al tratamiento con clorhexidina (control positivo) al 0.12%.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios de tipo experimental in vitro de *M. dubia* (cc), ya que no se sabe con seguridad cuál es la propiedad que le da el efecto antibacteriano a esta beneficiosa fruta.
2. Se recomienda hacer estudios donde se investigue más acerca del extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (cc) comparando otras concentraciones frente a otras bacterias, ya que se carece de estudios donde evalúen a este fruto.
3. Se recomienda que se realice más investigaciones que evalúen la efectividad de la *M. dubia* (cc), para que luego pase hacer usados como tratamientos dentales.
4. Se recomienda a todas las personas que trabajen con tratamientos in vitro, ser mucho más cuidadosos en la parte operativa de usar el vernier y de colocar las concentraciones del Extracto de Camu Camu.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Habib B, David W, Tania S Enfermedades Bucodentales – Una llamada a la acción global [internet]. 2nd ed. Ginebra: Federación Dental Internacional (FDI); 2015. [citado en abril del 2015]
2. Olmo P, Piovesan S, Musto M, Lorenzo S, Álvarez R, Massa F. caries dental. La enfermedad oral más prevalente. Primer estudio poblacional en jóvenes y adultos uruguayos en el interior del país. *Odontoestomatología Res* 2013; 26:24
3. Pérez J, Duque J, Hidalgo I. Asociación del Estreptococos mutans y lactobacilos con la caries dental en niños. *Rev. Cubana Estomatol* [Internet]. 2007 dic [citado 2023 Ene 21]; 44(4)
4. Eichel V, Schuller A, Biehler K, Ahmad A, Frank U. Antimicrobial effects of mustard oil-containing plants against oral pathogens: an in vitro study. *BMC. Compl. Med. Therap.* [Internet]. 2020 [Citado el 10 de agosto 2022]; 20(1): 156. Disponible en: <https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-020-02953-0>
5. OMS. Manual de Fitoterapia. Es Salud. 2001 [citado 5/5/13].
6. Flores D. Uso Histórico: Camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh. [internet]. Perú: Proyecto Biocomercio Peru; 2010 p.4. Silva B, Guimaraes de Almeida C, Pereira L, De Almeida A, Galuppo C, Da Silva VL et al. Comparative Properties of Amazonian Oils Obtained by different extraction methods. *Molecules*. 2011; 16: 5875-5885.
7. Silva B, Guimaraes de Almeida C, Pereira L, De Almeida A, Galuppo C, Da Silva VL et al. Comparative Properties of Amazonian Oils Obtained by different extraction methods. *Molecules*. 2011; 16: 5875-5885.
8. Basilio AL, Simas MF, Araujo VM, Cristo OC, De Barros GS, Martin A. Screening of Amazonian plants from Adolpho Ducke Forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103(1): 31-38.
9. Yazawa K, Suga K, Honma A, Shirosaki M, Koyama T. Anti-Inflammatory Effects of Seeds of the Tropical Fruit Camu-Camu (*Myrciaria dubia*). *J Nutr Sci Vitaminol* 2011; 57: 104-7.

10. Delgado E, Herna C. Actividad antibacteriana in vitro de la pulpa del camu camu (*Myrciaria dubia*) en extracto etanólico frente al *Staphylococcus aureus*. [tesis para obtener el título de Químico farmacéutico]. Perú: Universidad Roosevelt; 2022
11. Castillo B, Mejía E, Cervera R. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* camu camu sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos. Rev. Perú Med Integrativa. 2022; 7(1):3-9.
12. Aurora P. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico del *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). [título de cirujano dentista]. Perú: Universidad Católica de Chimbote; 2021.7p.
13. Ruíz M. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroetanólico de *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35658. Rev. cubana de Medicina tropical [internet]. 2021; 73(2).
14. Saldarriaga E. Efecto Antibacteriano In Vitro Del Extracto Etanólico De *Myrciaria Dubia* (Camu Camu) Sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175). [tesis de grado]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2017.
15. Moromi H. “Fito Antimicrobiano de la Salud Bucal”. [Internet] Lima (Perú); 2017.
16. Camere R. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de semilla y pulpa de la *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). [Tesis para obtener el Título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Facultad de Ciencias de la salud.2015.
17. Moromi H. “Fito Antimicrobiano de la Salud Bucal”. [Internet] Lima (Perú); 2014.
18. Daniel N, Lourdes G. Bioquímica de la caries dental, Hab Cien Méds Rev. 2010;9(2) 156-166.
19. Mansilla Y. Presencia de lesiones cariosas en escolares que consumen y no consumen sal fluorada en dos poblados de Tarma. Kiru 2008; 5(2): 89-99.
20. Kleryson F. Fitoterapy: An option in odontological treatment. Rev. Saúde 2010; 4(1): 18- 24.

21. Machado T, Reyes B. *Streptococcus mutans*, principal cariógeno de la cavidad bucal. Progaleno [revista en internet]. 2021 [citado 23 Ener 2023]; 4 (3): 12p. disponible en: <https://revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/233>
22. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. Streptococcus mutans y caries dental. Rev. Ces odont. 2013; 26(1):46-56.
23. Arellano E, Rojas I, Paucar LM. Camu-camu (*Myrciaria dubia*): Fruta tropical de excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida. Scientia Agropecuaria. 2016; 7:433-43.
24. Peters C. Vásquez A. Estudios ecológicos de camu camu (*Myrciaria dubia*). Producción de frutos en poblaciones naturales. Acta Amaz 1987; 16: 161-74.
25. Abarca A, Guerrero D, León M, Escobar O. Clorhexidina al 0,12% y ácido acético al 5% como desinfectantes de cepillos dentales. Rev Eugenio Esp. 2020; 14(1), 54-61
26. Ortos R. Eficacia del colutorio de clorhexidina 0.12% sin alcohol en el tratamiento de gingivitis asociada a placa dentobacteriana en pacientes de 18 a 25 años de edad que asisten a la Clínica Odontológica de la Universidad Nacional de Loja en el periodo octubre 2017 a marzo 2018. [tesis para obtener el título odontológico]. Ecuador. Universidad Nacional de Loja. Facultad de la Salud Humana. 2018. Inoue T. Komoda H. Uchida T. Node K. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. J Cardiol 2008; 52(2):127-32.
27. Frascati Manual 2015. Guía para la recopilación y presentación de información sobre la investigación y el desarrollo experimental. España: MIC; [Online] 2018. [Citado el 29 de enero 2023].
28. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6ª ed. México: Interamericana; 2014.
29. Jurca T, Baldea I, Filip A, Olteanu D, Clichisi S, Pallag A, et al. The effect of *Tropaeolum majus* L. on bacterial infections and in vitro efficacy on apoptosis and DNA lesions in hyperosmotic stress. Send. To. J. Physiol Pharmacol. [Internet] 2018 [Cited Jun. 25; 2019]; 69(3): 391-401. Available in: http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/06_18/pdf/10.26402/jpp.2018.3.06.pdf
30. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y

Productos naturales. Ciudad Habana: Universidad de la Habana; 2000

31. Universidad Católica de Trujillo, Benedicto XVI. Código de Ética para la Investigación. Perú. [Internet] 2016 [Citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>

ANEXOS

Anexo 1

Cuadro de operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEM	INSTRUMENTO	ESCALA DE MEDICIÓN
Efecto antibacteriano sobre <i>S. mutan</i> ATCC 25175	Resultado que tiene algunas sustancias con beneficios capaces de eliminar o inhibir el desarrollo bacteriano. ²⁷	Efecto antibacteriano o de la <i>M. dubia</i> (cc) sobre <i>S. mutans</i> ATCC 25175. La medida de los halos que mostraron resultado antibacteriano o fue a partir de 8 mm.	Extracto etanólico antibacteriano sobre <i>S. mutan</i> ATCC 25175 del <i>M. dubia</i> (cc) al 25% Extracto etanólico antibacteriano sobre <i>S. mutan</i> ATCC 25175 del <i>M. dubia</i> (cc) al 50% Extracto etanólico antibacteriano sobre <i>S. mutan</i> ATCC 25175 del <i>M. dubia</i> (cc) al 50% Extracto etanólico antibacteriano sobre <i>S. mutan</i> ATCC 25175 del <i>M. dubia</i> (cc) al 100%	Diámetro del halo de inhibición.	Obtención de extracto: -selección del fruto -lavado y desinfección -secado -pulverización -almacenamiento -preparación de los extractos etanólicos	Frascos rotulados	razón
Extracto etanólico de la cáscara del <i>Myrciaria dubia</i> (cc)	Resultado del proceso de la extracción del principio activo de los componentes de <i>Myrciaria. d</i> para obtener el extracto	Concentración del extracto etanólico	susceptibilidad	Halo de inhibición en mm	Nula - (< o = a 8mm) Sensible + (9 - 14mm) Muy sensible ++ (15 - 19mm) Sumamente sensible +++ (> o = a 20mm)	Vernier digital Formato de recolección de datos	ordinal

Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	población	Metodología
<p>¿cuál es la concentración del extracto etanólico de la cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) que presenta mayor efecto antibacteriano in vitro sobre <i>S. mutans</i> ATCC 25175?</p>	<p>O. general: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto Etanólico de la cáscara de <i>M. dubia</i> (camu camu) sobre <i>S. mutans</i> ATCC 25175, 2019.</p> <p>O. específicos: Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la cáscara de <i>M. dubia</i> (camu camu) al 25%, 50%, 75% y 100% con clorhexidina 0.12% sobre <i>S. mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Ha: Si tiene efecto antibacteriano el extracto etanólico de la cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) in vitro frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, 2019</p> <p>Ho: No tiene efecto antibacteriano el extracto etanólico de la cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) in vitro frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, 2019</p>	<p>Efecto antibacteriano sobre <i>S. mutans</i>.</p>	<p>La población estuvo constituida por cepas de <i>S. mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>Por su finalidad de estudio -Aplicativa</p> <p>profundidad: Experimental y explicativa</p> <p>-Por su enfoque: cuantitativa</p>

Formula del tamaño de la muestra

$$n = \left(Z \frac{\alpha}{2} + Z \beta \right)^2 2 S^2 (X1 - X2)^2$$

Siendo:

n = el número de repeticiones a efectuar en cada investigación

$z \alpha/2 = 1.96$ para $\alpha = 0.05$ $Z \beta = 0.84$ para $\beta = 0.20$

S = 0.8 (X1 – X2) valor asumido por no haber estudios previos

n = 10

Los resultados obtenidos nos ayudan a establecer una muestra de diez (10) repeticiones por cada concentración del EE de cáscara de *M. dubia* (cc).

base de datos

Diámetros de los halos de inhibición del Extracto etanólico de *M. dubia* (camu camu) adiferentes concentraciones, frente *S. mutans* ATCC 25175.

Repeticiones	Diámetro de halos de inhibición (mm)					
	Tratamientos					
	EXT. Etanólico 25%	EXT. Etanólico 50%	EXT. Etanólico 75%	EXT. Etanólico 100%	Control negativo SSfe	control positivo clhx. o,12%
1	15.1	19.4	21.1	22.2	0	16.0
2	14.1	15.3	19.5	22.3	0	16.9
3	15.2	18.1	19.5	24.6	0	16.4
4	14.3	15.7	19.1	21.6	0	17.1
5	14.5	16.7	20.0	24.9	0	17.0
6	15.1	18.5	24.1	27.2	0	16.2
7	14.8	18.5	22.1	25.4	0	17.4
8	15.2	20.0	21.6	25.9	0	16.9
9	15.6	17.1	20.8	23.1	0	16.6
10	15.9	19.2	20.9	23.0	0	17.0

Anexo 2

Ficha técnica del instrumento

Calibrador Vernier Digital 150mm



Anexo 3

Constancia de calibración

Constancia de calibración del instrumento Yo, David Zavaleta Verde, Biólogo Microbiólogo y docente de la escuela profesional de microbiología y parasitología de la facultad de ciencias biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo con registro C.B.P. N° 7941.

Mediante el presente dejo constancia de haber calibrado a la alumna Cynthia Esmeralda Lozano Zambrano con DNI N° 42531552, estudiante de la facultad de ciencias de la salud, escuela profesional de odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, en uso de su instrumento de recolección de datos, para obtener las medidas de halos de inhibición del crecimiento antibacteriano, en los laboratorios de Universidad Nacional de Trujillo, proyecto de investigación que tiene como título “Efecto Antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, 2019”

Declaro que, desde la emisión de dicha constancia, todos los resultados y contenidos obtenidos en la parte microbiológica pasan a ser propiedad intelectual de la autora Cynthia Esmeralda Lozano Zambrano con DNI N° 42531552, se expide la constancia para los fines que ella crea conveniente.

Trujillo, julio 2019

Atentamente



David Zavaleta Verde
MICROBIOLOGO
C.B.P. 7941

Anexo 4

COEFICIENTE DE CORRELACION INTRACLASE - CALIBRACION

Para la presente prueba se realizó 18 mediciones, realizadas por un especialista y por el investigador, de los cuales se evaluará el grado de concordancia entre ambos.

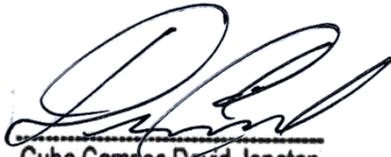
Medidas únicas	Coeficiente de correlación Intraclassa	Intervalo de confianza al 95%		Sign. (p*)
		límite inferior	límite superior	
		.998	.997	

*Coeficiente de correlación intraclassa

Interpretación:

Mediante el coeficiente de correlación intraclassa (CCI) con un valor = 0.998 el cual es mayor a 0.80 (aceptable), indicamos que las mediciones del especialista y del investigador presentan una concordancia casi perfecta entre ambos.

Valor CCI	Concordancia
Menos de 0.20	Leve
0.21 a 0.40	Regular
0.41 a 0.60	Moderada
0.61 a 0.80	Aceptable
0.81 a 1	Casi perfecta


 Cuba Campos David Jonatan
 INGENIERO ESTADÍSTICO
 COESPE: 1330

Anexo 5

CONSTANCIA DE TAXONOMÍA

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Myrtales
- Familia: Myrtaceae
- Género: *Myrciaria*
- Especie: *M. dubia* (Kunth) McVaugh
- Nombre común: "camu camu"

Muestra alcanzada a este despacho por CYNTHIA ESMERALDA LOZANO ZAMBRANO, identificado con DNI: 42531552, con domicilio legal en Pasaje Comercio #317 Urb. Huerta Grande, Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Efecto Antimicrobiano in vitro del extracto Etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 24 de julio del 2019




DE JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

Anexo 6

Constancia de asesoramiento

Yo, Marilú Roxana Soto Vásquez, Químico Farmacéutico y docente de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CQFP: 06952.

Dejo constancia de haber colaborado con la alumna CYNTHIA ESMERALDA LOZANO ZAMBRANO, identificada con DNI 42531552 con domicilio legal en Pasaje Comercio # 317 Huerta Grande, estudiante de la facultad de ciencias de la salud. Escuela profesional de odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución del proyecto de investigación, que lleva como título “Efecto Antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara del *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, 2019”.

Se expide esta constancia a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinentes.

Trujillo 10 de julio del 2019




Dra. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

Anexo 7

Constancia de compra de la bacteria



Page 1 of 1

Gen Lab del Perú S.A.C
 Jr. Capac Yupanqui N°. 2434
 Lince - Lima - Perú
 Central Telefónica
 (51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501
 Email : ventas@genlabperu.com
 Web Site : www.genlabperu.com

RUC N°:20501262260
FACTURA
ELECTRONICA
F002-000167

Fecha emisión : 20/03/2019	Orden Compra: COTIZ 19/034525
Fecha Vcto : 20/03/2019	Gula de Remisión :
Cliente: UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE	N° Pedido : 021874
Dirección: JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCI CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru	RUC : 20319956043
Tipo Movimiento : ANTICIPOS	
Lugar de destino :	

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dscto	Sub-Total
H05666-A	KWK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	312.66	0.00	312.66

TRESCIENTOS SESENTA Y OCHO CON 94/100 SOLES



Anticipo	0.00
Op. Gravada S/	312.66
IGV 18%	56.28
Importe Total S/	368.94

Representación Impresa de la Factura Electrónica
 Consulte : <http://cpe.genlabperu.com>

Anexo 8

PRUEBA DE NORMALIDAD

Efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu) frente *S. mutans* ATCC 25175.

n	Tratamientos - Halos de inhibición (mm)					
	camu camu 25%	camu camu 50%	camu camu 75%	camu camu 100%	Control Negativo	Clorhexidina 0.12%
1	15.1	19.4	21.1	22.2	0	16
2	14.1	15.3	19.5	22.3	0	16.9
3	15.2	18.1	19.5	24.6	0	16.4
4	14.3	15.7	19.1	21.6	0	17.1
5	14.5	16.7	20	24.9	0	17
6	15.1	18.5	24.1	27.2	0	16.2
7	14.8	18.5	22.1	25.4	0	17.4
8	15.2	20	21.6	25.9	0	16.9
9	15.6	17.1	20.8	23.1	0	16.6
10	15.9	19.2	20.9	23	0	17
Promedio	14.98	17.85	20.87	24.02	0	16.75
p (sig.)	0.833	0.606	0.372	0.625	*	0.614
Prueba de (Shapiro-Wilk)	Normalidad	Normalidad	Normalidad	Normalidad		Normalidad

Interpretación: Al tener menos de 30 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que existe la prevalencia de los grupos de datos con una significancia mayor a 0.05 ($p > 0.05$), es decir los datos presentan una distribución normal.

Anexo 9

RESULTADOS DEL PILOTO

Para la prueba piloto se trabajó con 5 halos de inhibición con la cepa de *S. mutans*.

Tratamientos - Halos de inhibición (mm)

	camu camu 25%	camu camu 50%	camu camu 75%	camu camu 100%	Control Negativo (SSFe)
1	17.4	17.6	20.8	21.2	0
2	13.8	18.3	19.2	22.6	0
3	16.2	15.1	18.4	24.9	0
4	13.4	16.4	18.7	21.8	0
5	15.2	18.9	20	23.4	0
Promedio	15.2	17.26	19.44	22.78	0

Anexo 12

Procesamiento de los Extractos etanòlicos de *Myrciaria dubia* (camu camu)



Lavado del fruto con agua potable, hipoclorito de sodio y agua destilada



Se separa la cáscara de la pulpa



Secado en papel Kraft por 24 horas a temperatura de ambiente



Secado en la estufa a 40°cc por 3 días

Pesado con exactitud, 100 gr de la cáscara pulverizada



Mezcla del polvo con alcohol de 70°GL



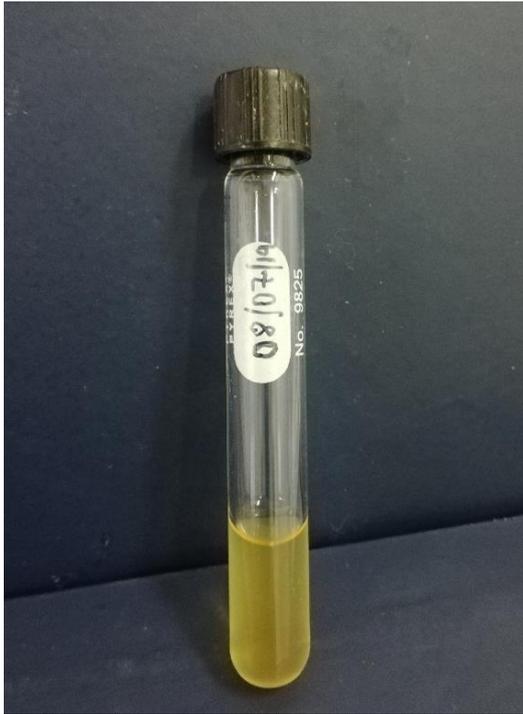
Producto final Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu)

Anexo 12

Efecto antibacteriano in vitro del Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu), frente *S. mutans* ATCC 25175



cepa de *S. mutans* ATCC 25175.



medio de cultivo BHI,
conteniendo la cepa de
S. mutans ATCC 25175
reactivada.



Tubo conteniendo *S. mutans*
ATCC25175 estandarizado a la
concentración 1.5×10^8 UFC/ml



Extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* (camu camu) a diferentes
concentraciones 25%, 50%, 75% y 100%



control positivo (Gluconato de Clorhexidina 0.12%).

Control negativo (SSFe)

**Halos de inhibición del extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia*
(camu camu), frente *S. mutans* ATCC 25175**

