



Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* camu camu sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos

Antimicrobial effect of *Myrciaria dubia* camu camu on *Pseudomonas aeruginosa* resistant to carbapenems

Beatriz María Castillo Carranza^{1,a}, Elva Manuela Mejía Delgado^{1,2,b},
Rut Irene Cervera-Ocaña^{1,a}

¹Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo, Perú.

²Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

^aMédico cirujano

^bDoctora en Ciencias Biomédicas.

RESUMEN

Introducción: La resistencia a antibióticos es un grave problema de salud pública que podría tener alternativas de manejo en la fitoterapia. **Objetivo:** Determinar el efecto antimicrobiano de cuatro concentraciones de *Myrciaria dubia* camu camu sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos. **Métodos:** Se elaboró extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia*, originaria de la selva peruana a 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750mg/ml y 1000 mg/ml. El efecto antimicrobiano se determinó a través de la medición del halo de inhibición del crecimiento bacteriano (HI), la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante la absorbancia por espectrofotometría y la concentración mínima bactericida (CMB) mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). Un grupo control fue la gentamicina 160mg/2ml, y otro fue etanol 70° (sólo HI) o solución salina (para CMI y CMB). Se realizaron 10 repeticiones en cada caso, a excepción de la absorbancia por espectrofotometría. Se usó la prueba de Kruskal-Wallis y el análisis *post hoc* de Dunn, se consideró un $p < 0,05$ como estadísticamente significativo. **Resultados:** La comparación de los HI tuvo un $p < 0,001$; los tratamientos con *Myrciaria dubia* fueron diferentes al control con etanol, a excepción de la concentración 250 mg/ml. Respecto a la CMI, la absorbancia máxima fue de 0,830 UA a la concentración de *Myrciaria dubia* 1000 mg/ml. La CMB de *Myrciaria dubia* fue la de 1000 mg/ml. La comparación de las UFC tuvo un $p < 0,001$; los tratamientos con *Myrciaria dubia* fueron diferentes al control con solución salina. **Conclusión:** *Myrciaria dubia* tiene efecto antimicrobiano contra *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos.

Palabras clave: Plantas medicinales, *Pseudomonas aeruginosa*, Antiinfecciosos, Carbapenémicos. (DeCS Bireme)

ABSTRACT

Introduction: Antibiotic resistance is a serious public health problem that could have treatment alternatives in phytotherapy. **Objective:** To determine the antimicrobial effect of four concentrations of *Myrciaria dubia* camu camu on *Pseudomonas aeruginosa* resistant to carbapenems. **Methods:** Ethanol extract was made from *Myrciaria dubia* peel, native of the Peruvian jungle at 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750mg/ml and 1000 mg/ml. The antimicrobial effect was determined through the measurement of the bacterial growth zone of inhibition (ZI), the minimum inhibitory concentration (MIC) by spectrophotometry absorbance and the minimum bactericidal concentration (MBC) by counting colony-forming units (CFU). One control group was gentamicin 160mg/2ml, and another was 70° ethanol (for ZI) or saline solution (for MIC and MBC). 10 repetitions were performed in each case, with the exception of absorbance by spectrophotometry. Using the Kruskal-Wallis test and Dunn's *post hoc* analysis, a $p < 0.05$ was considered statistically significant. **Results:** The comparison of ZI had a $p < 0.001$; treatments with *Myrciaria dubia* were different from ethanol control, except for concentration 250mg/ml. Regarding the MIC, the maximum absorbance was 0.83 AU at the concentration of *Myrciaria dubia* 1000 mg/ml. The MBC of *Myrciaria dubia* was 1000 mg/ml. The UFC comparison had a $p < 0.001$; treatments with *Myrciaria dubia* were different from saline control. **Conclusion:** *Myrciaria dubia* has antimicrobial effect against *pseudomonas aeruginosa* resistant to carbapenems.

Keywords: Plants, Medicinal; *Pseudomonas aeruginosa*; Anti-Infective Agents, Carbapenems. (Surge: MeSH NLM)

Información del artículo

Fecha de recibido

17 de enero 2022

Fecha de aprobado

22 de marzo 2022

Correspondencia

Cervera Ocaña Rut Irene,
Celular: 950032913,
Correo electrónico: rut.cervera.o@gmail.com

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribuciones de autoría

BMCC y EMDM participaron en la concepción del artículo, la recolección de datos y la estadística. BMCC y EMDM y RICO participaron en el análisis de datos. BMCC y RICO participaron en la redacción y aprobación de la versión final.

Fuente de financiamiento

Autofinanciado.

Citar como: Castillo Carranza BM, Mejía Delgado EM, Cervera-Ocaña RI. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* camu camu sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos. Rev Peru Med Integrativa. 2022; 7(1):3-9.

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria gram negativa, aerobia facultativa, oportunista y responsable de gran cantidad de infecciones intrahospitalarias. El tratamiento de estas infecciones implica un reto por los mecanismos de defensa de la bacteria; por ende, es necesario el uso de medicamentos de amplio espectro como los carbapenémicos^(1, 2). No obstante, se han demostrado que existen mecanismos de resistencia como la producción de β -lactamasas de espectro extendido, la inactivación de enzimas y la reducción de las concentraciones del medicamento, dando lugar al aumento de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos (PARC)⁽¹⁻⁴⁾. Por lo tanto, es trascendental continuar la investigación del tratamiento de las infecciones producidas por dicha bacteria y disminuir las tasas de aparición y diseminación de resistencias^(5,6).

La presencia de cepas resistentes a fármacos clásicos genera la necesidad de nuevas alternativas de tratamiento, y las costumbres ancestrales, como el uso de extractos de plantas, pueden brindarnos algunas⁽⁷⁾. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) de los 4000 millones de habitantes en el mundo, más de la mitad usa la medicina tradicional⁽⁸⁾. El Perú posee aproximadamente el 8% de la cantidad total de plantas en el mundo; sin embargo, menos del 1% de estas especies se han estudiado para determinar sus fitoquímicos⁽⁷⁾.

Un ejemplo es la *Myrciaria dubia*, conocida comúnmente como camu camu, de familia *Myrtaceae*, la cual sobresale entre los frutos propios de la Amazonía debido a su alto contenido de vitamina C⁽⁹⁻¹¹⁾. Se han aislado constituyentes antimicrobianos de la cáscara y de las semillas del fruto de camu camu como el acilfloroglucinol y la rodomirtona⁽¹¹⁾. Asimismo, contiene elagitaninos C-glucosídicos, como la castalagina y la vescalagina, responsables de su efecto antioxidante, diez veces más potente que el ácido ascórbico^(11,12). Además, es fuente de flavonoides como la quercetina, con efectos moduladores del perfil lipídico⁽¹³⁾.

Pacci K., et al. hallaron una mayor reducción de la cicatriz en ratas con quemaduras tratadas con crema de extracto etanólico de la cáscara de *M. dubia* al 5% comparada a la crema de sulfadiazina argéntica⁽¹⁰⁾. Asimismo, Myoda T. et al., elaboraron extracto metanólico de la semilla y cáscara de camu camu, y hallaron actividad de la cáscara al 100% y de la semilla al 75% frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*⁽¹⁴⁾. De igual manera Castillo C. & Mejía E., demostraron la actividad antimicrobiana del extracto etanólico a base de la cáscara de *M. dubia* en cuatro concentraciones, 25%, 50%, 75% y 100%, contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*⁽¹⁵⁾. Por último, López A. encontró que el zumo de *M. dubia* y *Citrus grandis* posee efecto inhibitorio contra el crecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*⁽¹⁶⁾.

Debido a que las infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa* resistente frente a los fármacos usados para su tratamiento establecen un problema de salud importante, existe la necesidad de investigar productos naturales con potencial antimicrobiano, que tengan efecto contra dicha bacteria. Por consiguiente, el objetivo de este estudio es determinar la acción antimicrobiana *in vitro* de *Myrciaria dubia* camu camu sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos (PARC). De esta manera, se busca conocer su eficacia, con un menor costo y una cantidad mínima de efectos secundarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y área de estudio

Estudio cuasi experimental, analítico, prospectivo. Realizado en la ciudad de Trujillo, ubicado en el norte del Perú, con cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de un hospital de alta complejidad.

Población y muestra

La población de este estudio estuvo conformada por cepas de PARC que fueron identificadas y certificadas por el laboratorio clínico del Hospital Belén de Trujillo. En el laboratorio se excluyeron cepas de *Pseudomonas aeruginosa* sensibles a los carbapenémicos y cultivos contaminados por bacterias u hongos antes de ser entregadas a los investigadores.

Variables e instrumentos

La variable independiente fue el tratamiento con el extracto etanólico de cáscara de *Myrciaria dubia*, evaluado en diferentes concentraciones: 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750 mg/ml y 1000 mg/ml. La variable dependiente fue el efecto inhibitorio sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos (PARC). Esta fue medida mediante los siguientes indicadores: 1) las medidas del halo de inhibición (HI), valorada a través de la Escala de Durafford; para comparar los HI se utilizaron dos grupos control: uno con gentamicina 160 mg/2ml y otro con etanol de 70° GL. 2) La concentración mínima inhibitoria (CMI), conocida como la menor concentración de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible luego de 24 horas, y determinada con la absorbancia, a través de la espectrofotometría con una longitud de onda de 530 nm. Por último, 3) la concentración mínima bactericida (CMB), definida como la dosis del antibiótico que puede exterminar las bacterias viables luego de 24 horas de incubación, determinada mediante el conteo de UFC^(15,17). Para comparar la absorbancia y las UFC se utilizaron dos grupos control: uno con gentamicina 160 mg/2ml y otro con solución salina.

Procedimientos

La preparación del extracto etanólico de *Myrciaria dubia*, a partir de la cáscara, se realizó con la colaboración de

un experto en farmacognosia en el laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo, en Trujillo, Perú.

En primer lugar, los frutos frescos de *Myrciaria dubia* fueron adquiridos en Nauta, Loreto, altitud 100 msnm, latitud -4,50667, longitud -73,5756. Tras su codificación taxonómica realizada en el Herbario Antenor Orrego de la Universidad Privada Antenor Orrego, los frutos se llevaron al laboratorio de farmacognosia de la Universidad Nacional de Trujillo, donde se realizó el tratamiento del material vegetal. Previa separación de cáscaras deterioradas, se lavaron los frutos con agua destilada antes y después de la desinfección con hipoclorito de sodio al 5% y, finalmente, se pelaron para obtener la cáscara. El secado se realizó en una estufa con temperatura a 40° durante 4 días. Se pulverizó el material haciendo uso del molino de mano y se almacenó 300 gramos en un frasco ámbar con 1400 cc de etanol de 70° GL por 10 días⁽¹⁸⁾.

Respecto a la preparación del extracto etanólico, el material del frasco mencionado anteriormente se vertió en un cartucho de papel de filtro y se colocó en el extractor de soxhlet, para la extracción de 750 ml de etanol de 70° GL, durante 1 hora aproximadamente. El resultado se colocó en una cámara de secado a 40 grados centígrados. Tras pesar el remanente seco, se refrigeró en un frasco de vidrio de color ámbar estéril a 2° centígrados. Luego, se prepararon en etanol de 70° GL las concentraciones de 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750 mg/ml y 1000 mg/ml. Se usaron dichas concentraciones en base a la eficacia de estudios previos. Finalmente se separó en frascos rotulados para cada concentración, que fueron previamente esterilizados a 121°C en la autoclave. Las 4 diluciones se conservaron a 4°C hasta su posterior uso.

En relación a la cepa de PARC, certificada y obtenida del laboratorio clínico del Hospital Belén de Trujillo, fueron cultivadas en tubos de ensayo con tapa rosca en el medio agar soya triptícase (TSA) con la finalidad de obtener colonias jóvenes. La cepa se diluyó con solución salina hasta una turbidez equivalente al estándar 0,5 de McFarland (1,5 x 10⁸ UFC/ml).

Para la determinación del efecto inhibitorio (prueba de susceptibilidad), se sembró en placas Petri con agar Müller Hinton para *Pseudomonas aeruginosa*. Con un hisopo estéril embebido con el material del tubo de cultivo preparado, se extendió uniformemente sobre toda la superficie del agar y girando cada placa 60° durante 3 veces, a una distancia de diez centímetros de la flama de un mechero.

Luego de realizar el sembrado, se realizó la prueba de sensibilidad mediante la técnica de difusión en agar o método de Kirby Bauer. Se prepararon discos de papel filtro estériles y se les sumergió en cada una de las concentraciones de extracto etanólico de camu camu

previamente elaborado. Cabe recalcar que se usó el mismo tiempo y la misma cantidad del extracto para cada disco. Luego, con una aguja estéril, estos discos fueron colocados sobre los cultivos en las placas Petri preparadas previamente. Se tuvo un grupo control negativo con etanol y otro grupo control negativo con gentamicina. Posteriormente las placas se incubaron a 37°C en estufa durante 24 horas. Se midieron los halos de inhibición en milímetros (mm), incluyendo el área del disco de papel de filtro con una regla milimetrada. Se tuvo en cuenta la escala de Duraffourd⁽¹⁹⁾.

Para determinar la CMI, se realizó la técnica de dilución en tubos. Se utilizaron 6 tubos de ensayo, a 4 de los cuales se inoculó 0,4 ml de la bacteria, en concentraciones semejantes al tubo 0,5 de la escala de Mac Farland, y 1,6 ml del extracto para cada concentración 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750 mg/ml y 1000 mg/ml, respectivamente. El quinto tubo correspondió al control con gentamicina 160mg/2ml, se añadió 1,6 ml de gentamicina y 0,4 ml de la bacteria. El sexto tubo fue el control negativo de la bacteria sola sin tratamiento, y se añadió 0,4 ml de la bacteria y 1,6 ml de solución salina. Tras agitar y uniformizar el material, se colocaron los tubos en la estufa a 37°C por 24 horas. Posteriormente, se determinó la absorbancia, medida en unidades de absorbancia (UA), mediante el espectrofotómetro^(17,19,20).

Finalmente, para calcular la CMB, se sembró con el asa de Drigalsky 0,1 ml de solución de cada uno de los tubos en 10 placas Petri con agar Müller Hinton. Estas placas se colocaron en estufa por 24 horas a 37°C y luego se observó el crecimiento de la bacteria, considerándose como concentración bactericida a la menor concentración en la cual no se observaron UFC⁽²⁰⁾. Cabe recalcar que, para evitar la contaminación de la muestra, se aplicaron medidas de bioseguridad y se mantuvo una distancia de 10 cm entre el mechero y las placas Petri.

Análisis estadístico

Los datos recopilados se almacenaron y analizaron en el paquete estadístico Stata versión 14. Se presentan en las tablas usando medias y sus respectivas desviaciones estándar de los HI y de UFC para cada grupo de tratamiento y control. Se compararon los valores de los desenlaces mediante la prueba de Kruskal-Wallis y posteriormente se realizó la prueba *post hoc* de Dunn para la comparación específica entre los grupos. Los resultados fueron considerados como significativos si el valor $p < 0,05$. Durante las pruebas de absorbancia medidas por espectrofotometría para la CMI no se aplicaron pruebas de hipótesis ya que no se hicieron repeticiones.

Aspectos éticos

Esta investigación fue aprobada y autorizada por el Comité de Investigación y Ética de la Universidad Privada Antenor

Orrego. Se consideraron los principios de bioseguridad de la Declaración de Helsinki. Además, se respetó el reglamento ético admitido en el sexto capítulo del código ético del Colegio Médico del Perú (CMP), titulado “Del trabajo de investigación”, Art. 48°, el cual enuncia la fidelidad en la difusión de datos alcanzados en la investigación⁽²¹⁾.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se expone que el disco con el extracto de mayor concentración (1000 mg/ml) generó el mayor halo de inhibición con 25,72 mm y el disco con la menor concentración (250 mg/ml) generó el menor halo de inhibición con 12,43 mm, ambos con efecto inhibitorio según la Escala de Duraffourd. En

de los valores de los halos de inhibición según la prueba de Dunn entre cada grupo de tratamiento. Se encontró que todos los grupos no son iguales respecto a los halos de inhibición.

En la Tabla 3 se evidencian los resultados de la CMI, medidos a partir de la absorbancia con el uso de la espectrofotometría, la concentración 100% presentó mayor absorbancia 0,830 UA.

La CMB (Tabla 4) del extracto etanólico de *M. dubia* sobre PARC fue del 100% (1000 mg/ml), concentración en la cual no existe crecimiento bacteriano (0,0 UFC/ml).

Finalmente, la prueba de Kruskal-Wallis para los UFC resultó con un p menor a 0,001. En la Tabla 5 se observa la comparación de las UFC entre cada grupo según la prueba de Dunn, encontrándose diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 1. Análisis descriptivo para el efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* en las concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg/ml, control gentamicina y control etanol sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, según HI (mm).

Grupo de tratamiento	n	Media de HI (mm)	Desviación estándar del HI
Control etanol 70° GL	10	6,00	0,00
Control gentamicina 160mg/2ml	10	25,61	2,36
<i>Myrciaria dubia</i> 250 mg/ml*	10	12,43	1,64
<i>Myrciaria dubia</i> 500 mg/ml*	10	15,51	0,52
<i>Myrciaria dubia</i> 750 mg/ml*	10	19,31	0,71
<i>Myrciaria dubia</i> 1000 mg/ml*	10	25,72	2,10

n: Número de repeticiones. HI: Halo de inhibición

*Extracto etanólico

cambio, el halo inhibitorio obtenido con el etanol 70° GL fue 6 mm, es decir, nulo.

La prueba de Kruskal-Wallis para los HI resultó con un p menor a 0,001. En la Tabla 2, se presenta la comparación

DISCUSIÓN

La siguiente investigación demostró la actividad antimicrobiana dosis dependiente del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* frente a PARC, mediante el método de Kirby Bauer. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos controles y las concentraciones evaluadas de camu camu respecto a los halos de inhibición. El efecto fue significativamente mayor con los discos que tuvieron las concentraciones de 50%, 75% y 100%. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de 1000 mg/ml y el control con gentamicina respecto a los halos de inhibición, a diferencia de las UFC. Asimismo, se halló efecto nulo con el control etanol, el cual fue usado para la elaboración del extracto.

Estos resultados contrastan con Mori T. et al., quienes encontraron resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a las concentraciones de 800 mg/ml, 700 mg/ml y 600 mg/ml del extracto de *Myrciaria dubia*, con un promedio de 6,6 mm de los halos de inhibición. Cabe recalcar que ellos compararon el efecto antimicrobiano global contra S.

Tabla 2. Análisis de la prueba de Dunn para el efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* en las concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg/ml, control gentamicina y control etanol sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, según halos de inhibición (mm).

Grupo de tratamiento	Control etanol	<i>Myrciaria dubia</i> 1000mg/ml*	<i>Myrciaria dubia</i> 250mg/ml*	<i>Myrciaria dubia</i> 500 mg/ml*	<i>Myrciaria dubia</i> 750 mg/ml*
<i>Myrciaria dubia</i> 1000 mg/ml*	p<0,001				
<i>Myrciaria dubia</i> 250mg/ml*	p=0,091	p<0,001			
<i>Myrciaria dubia</i> 500 mg/ml*	p<0,006	p<0,001	p=0,119		
<i>Myrciaria dubia</i> 750 mg/ml*	p<0,001	p=0,215	p=0,006	p=0,914	
Control gentamicina 160mg/2ml	p<0,001	p=0,418	p<0,001	p<0,001	p=0,345

Prueba de Kruskal-Wallis p<0,001

*Extracto etanólico

Tabla 3. Absorbancia determinada por espectrofotometría (CMI)

Grupos de tratamiento	Absorbancia (UA)
<i>Myrciaria dubia</i> 25 mg/ml*	0,190
<i>Myrciaria dubia</i> 50 mg/ml*	0,232
<i>Myrciaria dubia</i> 75 mg/ml*	0,535
<i>Myrciaria dubia</i> 1000 mg/ml*	0,830
Gentamicina 160 mg/2ml	0,530
Control solución salina	0,022

UA: Unidades de absorbancia

Tabla 4. Análisis descriptivo para el efecto bactericida de *Myrciaria dubia* en las concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg/ml, control gentamicina y control solución salina sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, según UFC.

Grupo de tratamiento	n	Media de UFC	Desviación estándar de UFC
Control solución salina	10	1,0 x 10 ⁹	0,00
Control gentamicina 160mg/2ml	10	1,00	1,05
<i>Myrciaria dubia</i> 250 mg/ml*	10	1,80	1,62
<i>Myrciaria dubia</i> 500 mg/ml*	10	0,50	0,85
<i>Myrciaria dubia</i> 750 mg/ml*	10	0,30	0,48
<i>Myrciaria dubia</i> 1000 mg/ml*	10	0,00	0,00

n: Número de repeticiones. UFC: Unidades formadoras de colonias
*extracto etanólico

aureus, *E. coli* y *P. aeruginosa* y no especifican el promedio para cada concentración. Esto probablemente se debe a la elaboración distinta del extracto, ya que Mori T. *et al.* utilizaron las hojas y corteza de *M. dubia* y se pesó 2,5 g de extracto liofilizado en 2,5 ml de agua destilada estéril para obtener la solución stock de 1000 mg/ml a partir de la cual se prepararon las concentraciones de: 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml y 800 mg/ml(8). En cambio, el

presente trabajo usó la cáscara de este fruto y 300 gramos de material pulverizado, el cual se maceró en 1400 ml de alcohol a 70° GL, a partir del cual se prepararon las concentraciones de 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750mg/ml y 1000 mg/ml.

En cuanto a la CMI, la concentración a 100% presentó mayor absorbancia (0,830 UA), es decir, menor concentración de la bacteria en comparación al tubo con solución salina que tuvo una absorbancia de 0,022 UA, lo cual significa mayor concentración del patógeno. La CIM fue al 75% con respecto a la absorbancia obtenida en el tubo control con gentamicina. El método usado en nuestro estudio para la CMI contrasta con otros estudios que utilizan otros métodos para su determinación, como la medición visual. Sin embargo, el método de esta investigación resulta más objetivo⁽¹⁷⁾.

En cuanto a la CMB, con una concentración al 100% se obtuvo 0,0 UFC/ml. De igual manera, con las cuatro concentraciones se demostró un buen efecto inhibitorio en comparación con el grupo control con solución salina en el cual se obtuvo un recuento alto de 10⁹ UFC/ml. Esto difiere de la investigación de Mori T. *et al.*, en la cual reportaron resistencia a las diferentes concentraciones, sin especificar el conteo de UFC para cada una⁽⁸⁾. Estas diferencias se deben probablemente a que las hojas y la cáscara de *M. dubia* tienen diferentes concentraciones de compuestos fenólicos. Por otro lado, a pesar que el tipo de agar influye en la capacidad de difusión de las sustancias, por la interacción con principios activos del extracto o un pH diferente, en la investigación realizada por Mori T. *et al.* se usó el mismo agar del presente trabajo⁽⁸⁾. Además, los autores mencionados previamente usaron una cepa simple en comparación a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, una cepa de difícil tratamiento⁽⁸⁾.

Por otro lado, Flores M. & Naupari Salinas NW. reportaron halos de inhibición al 50% de 18 mm en promedio con los extractos polifenólicos de la cáscara de *Myrciaria dubia* frente

Tabla 5. Prueba de Dunn el efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* en las concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg/ml, control gentamicina y control etanol sobre *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, según UFC.

Grupos de tratamiento	Control solución salina	<i>Myrciaria dubia</i> 1000 mg/ml*	<i>Myrciaria dubia</i> 250 mg/ml*	<i>Myrciaria dubia</i> 500 mg/ml*	<i>Myrciaria dubia</i> 750 mg/ml*
<i>Myrciaria dubia</i> 1000 mg/ml*	p<0,001				
<i>Myrciaria dubia</i> 250 mg/ml*	p=0,006	p=0,006			
<i>Myrciaria dubia</i> 500 mg/ml*	p<0,001	p=0,183	p=0,056		
<i>Myrciaria dubia</i> 750 mg/ml*	p<0,001	p=0,238	p=0,038	p=0,423	
Control Gentamicina 160mg/2ml	p<0,001	p=0,048	p=0,206	p=0,223	p=0,170

Prueba de Kruskal-Wallis p<0,001

*Extracto etanólico

a *Erwinia carotovora* y *Pseudomona cichorii*, superiores a los halos de la presente investigación, ya que se obtuvo a la misma concentración un promedio de 15,51 mm. Cabe recalcar que en el estudio de Flores M. & Naupari N. la maceración duró solo tres días, se empleó acetona, etanol y cloroformo; y el tipo de agar utilizado fue agar nutritivo. Además, en dicho estudio se elaboraron las concentraciones de 10%, 30% y 50%. En cambio, la presente investigación tuvo una maceración con 10 días de duración en la cual solo se empleó etanol y el agar Müller Hinton, un medio más complejo que puede influir en los principios activos del extracto⁽²²⁾.

Aunque la actividad antimicrobiana de *M. dubia* ha sido demostrada en trabajos previos, no se ha estudiado contra cepas de bacterias resistentes. Castillo C. & Mejía E. demostraron la actividad antimicrobiana de la cáscara contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* con las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%⁽¹⁵⁾. Determinaron que la concentración mínima inhibitoria fue 75% con el método del conteo de UFC, no por espectrometría. En cuanto a los halos de inhibición, fueron máximos al 100% con un promedio de 23,69 mm; sin embargo, el presente estudio difiere con halos de 25,72 mm a la misma concentración, a pesar de usar una cepa resistente. Esto se explica porque Castillo C. & Mejía E. emplearon 20 gr de cáscara pulverizada en 30ml de etanol al 96°, de la cual extrajeron 150 ml; en cambio, en la presente investigación se utilizó 300 gr de cáscara pulverizada con 1400 ml de etanol al 70° y se extrajo 750 ml para la elaboración de las diferentes concentraciones⁽¹⁵⁾.

A pesar que no existen estudios previos de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales contra *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, se han realizado estudios con otras bacterias resistentes. Por ejemplo, Tam M. & Mejía E. determinaron que *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), fue sensible a las cuatro concentraciones del extracto etanólico de cáscara de *Citrus limo* (limón), al comparar los halos de inhibición según la escala de Duraffourd. Sin embargo, no se determinaron la CMI, ni la CMB, a diferencia de la presente investigación⁽²³⁾. Además, Del Castillo A., et al., demostraron la actividad antimicrobiana de extracto total de hojas de *Cucurbita moschata*, encontrando que SARM fue sensible al extracto hexánico, pero se demostró que el extracto etanólico del mismo no obtuvo inhibición significativa frente a este patógeno⁽²⁴⁾.

Finalmente, la actividad antibacteriana de camu camu se puede explicar por su gran contenido de compuestos fenólicos, sobre todo flavonoides, los cuales son capaces de inhibir la síntesis de ácidos nucleicos. Un tipo de flavonoides, las catequinas, dañan la membrana celular bacteriana y ocasionan la salida de los componentes celulares. En cuanto a los licocalcones (también flavonoides), inhiben a

la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH)-citocromo reductasa y de esta manera inhiben el metabolismo energético⁽²⁵⁾.

Una de las limitaciones es la falta de genotificación de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* evaluada, lo cual impide caracterizar a la bacteria y conocer su perfil de resistencia. No obstante, al ser una de las bacterias más comunes y peligrosas de las infecciones intrahospitalarias, este resultado es potencial para determinar alternativas de tratamiento.

CONCLUSIÓN

En conclusión, el extracto etanólico de *Myrciaria dubia* tiene efecto antimicrobiano *in vitro* contra cepas de PARC, ya que fue susceptible al extracto etanólico en las 4 concentraciones utilizadas. La CMI del extracto etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia* contra cepas de PARC fue de 25%. La CMB del extracto etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia* contra cepas de PARC fue de 100%.

Se sugieren más estudios para corroborar el espectro de actividad antimicrobiana del camu camu, con otro tipo de extractos de cáscara de *Myrciaria dubia*. Asimismo, se recomienda investigar el uso de *Myrciaria dubia* *in vivo* para evaluar la efectividad de sus componentes activos y determinar su dosis terapéutica en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santella G, Pollini S, Docquier JD, Almuzara M, Gutkind G, Rossolini GM, et al. Resistencia a carbapenemes en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*: un ejemplo de interacción entre distintos mecanismos. Rev Panam Salud Publica. 2011;30(6).
2. Villa LM, Cortés JA, Leal AL, Meneses A, Meléndez MP. *Pseudomonas aeruginosa* resistente a antimicrobianos en hospitales colombianos. Rev Chil Infectol. 2013;30(6):605-10.
3. González AL, Leal AL, Cortés JA, Sánchez R, Barrero LI, Castillo JS, et al. Effect of adequate initial antimicrobial therapy on mortality in critical patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. Biomédica. 2014;34:58-66.
4. Jeong SJ, Yoon SS, Bae IK, Jeong SH, Kim JM, Lee K. Risk factors for mortality in patients with bloodstream infections caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact of bacterial virulence and strains on outcome. Diagn Microbiol Infect Dis. octubre de 2014;80(2):130-5.
5. Ossa-Giraldo AC, Echeverri-Toro LM, Santos ZM, García MG, Agudelo Y, Ramírez F, et al. Factores de riesgo para infección por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resisten-

- te en un hospital de alta complejidad. Rev Chil Infectol. 2014;31(4):393-9.
6. Bravo-Burguillos Ros L, Bravo-Burguillos Ros L. Resistencia antibiótica en *pseudomonas aeruginosa*: situación epidemiológica en España y alternativas de tratamiento [Tesis de grado]. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2018.
 7. Ulloa-Urizar G, Aguilar-Luis MA, De Lama-Odría M del C, Camarena-Lizarzaburu J, del Valle Mendoza J. Antibacterial activity of five Peruvian medicinal plants against *Pseudomonas aeruginosa*. Asian Pac J Trop Biomed. 2015;5(11):928-31.
 8. Mori T, Ruiz E, García M, Bardales J, Tresierra-Ayala Á, Bendañán M, et al. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Cyperus luzulae* (piri piri) sobre microorganismos patógenos. Conoc Amaz. 2013;4(1):49-57.
 9. Nascimento OV, Boleti APA, Yuyama LKO, Lima ES. Effects of diet supplementation with Camu camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. An Acad Bras Ciênc. 2013;85:355-63.
 10. Pacci-Salazar K, Nureña-Noriega L, Vásquez-Cerro J, Araujo-Espinoza G, Gálvez-Niño M. Eficacia tópica de *Myrciaria dubia* en la curación de quemaduras de segundo grado en ratas Holtzman. Cienc E Investig Medico Estud Latinoam. 2009;14(1):15-20.
 11. Kaneshima T, Myoda T, Toeda K, Fujimori T, Nishizawa M. Antimicrobial constituents of peel and seeds of camu camu (*Myrciaria dubia*). Biosci Biotechnol Biochem. 2017;81(8):1461-5.
 12. Arellano-Acuña E, Rojas-Zavaleta I, Paucar-Menacho LM. Camu camu (*Myrciaria dubia*): Fruta tropical de excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida. Sci Agropecu. 2016;7(4):433-43.
 13. Schwartz MC, Maia JRP, Sousa RFCP de, Aguiar JPL, Yuyama LKO, Lima ES. Hypolipidemic effect of camu camu juice in rats. Rev Nutr. 2012;25(1):35-44.
 14. Myoda T, Fujimura S, ByoungJae P, Nagashima T, Nakagawa J, Nishizawa M. Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu camu juice production. J Food Agric Amp Environ. 2010;8(2):304-7.
 15. Castillo Carranza CN. Efecto Inhibitorio In Vitro De *Myrciaria Dubia* "Camu camu" Sobre *Staphylococcus Aureus* Y *Candida Albicans*. [Tesis de grado]. [Trujillo, Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2013.
 16. Mata López AE. Efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticula* sobre *Escherichia coli* y *salmonella typhi*. Cientifi-K. 2017;5(1):87-92.
 17. Rodríguez Zapata JG. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Fragaria ananassa* «fresa» sobre *Microsporum gypseum* [Tesis de grado]. [Trujillo, Perú]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2019.
 18. Padmavathy N, Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study. Sci Technol Adv Mater. 2008;9(3):1-7.
 19. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. An Fac Med. 2001;62(2):156-61.
 20. Benites Gómez CH. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *caesalpinia spinosa* ("tara") sobre cepa de *candida albicans* ATCC 90028 [Tesis de grado]. [Trujillo, Perú]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2016.
 21. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. 2007.
 22. Flores Fabian ML, Naupari Salinas NW. "Inhibición de bacterias fitopatógenas (*erwinia carotovora* subsp *carotovora* y *Pseudomona cichorii*) a partir de extractos polifenólicos de cáscaras de camu camu y carambola para la agricultura orgánica" [Tesis de grado]. [Callao, Perú]: Universidad Nacional del Callao; 2017.
 23. Tam Burga MJ. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de cáscara de citrus limón (limón) sobre *staphylococcus aureus* meticilino resistente. 2015. [Tesis de grado]. [Trujillo, Perú]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2015.
 24. Del Castillo Pereira A, Molinares Moscarella P, Campo Urbina M, Bettín Martínez A. Actividad antibacteriana del extracto total de hojas de *Cucurbita moschata* Duchesne (Ahuyama). Rev Cuba Plantas Med. 2017;22(1):1-13.
 25. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents. 2005;26(5):343-56.