



## Efecto Antibacteriano del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* (Moringaceae) «moringa» sobre *Staphylococcus aureus*. Meticilino resistente comparado con oxacilina *in vitro*

### Antibacterial effect of the seeding extract of the seed of *Moringa oleifera* (Moringaceae) “moringa” *Staphylococcus aureus* resistant methyllinous compared to oxacilin *in vitro*

Danelli Cristina Alcántara Noriega<sup>1</sup>, Elva Manuela Mejía Delgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo - Perú.

<sup>2</sup> Doctorado en Ciencias Biomédicas. Docente de Medicina Sección de Microbiología Médica, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo - Perú.

Recibido: 26/2/2020 Aprobado: 16/3/2020

#### Información del artículo

##### Correspondencia

Danelli Cristina Alcántara Noriega  
Trujillo - Perú  
988890548  
dalcantar3@gmail.com

##### Conflictos de interés

Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

##### Contribución de los autores

DCAN: búsqueda de los antecedentes, elaboración del extracto con supervisión, lectura de resultados, análisis y elaboración del informe final.

EMM: elaboración del protocolo, supervisión, análisis de datos y elaboración del informe final.

Los autores aprobaron el manuscrito final y aceptaron ser responsables de todos los aspectos del trabajo.

##### Fuente de financiamiento

La presente investigación fue financiada por los autores.

**Citar como:** Alcántara Noriega DC, Mejía Delgado EM. Efecto Antibacteriano del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* (Moringaceae) «moringa» sobre *Staphylococcus aureus*. Meticilino resistente comparado con oxacilina *in vitro*. Rev Peru Med Integrativa. 2020; 5(1):28-36

#### RESUMEN

**Objetivo.** Evaluar si el efecto antibacteriano del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* (Moringaceae) «moringa» sobre cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente es similar al efecto de la oxacilina *in vitro*. **Materiales y métodos.** Estudio experimental. Preparación del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* en concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg/mL bajo las denominaciones BI, BII, BIII y BIV, respectivamente. Se aplicó 50 µL de cada una sobre placas de Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, siendo comparados con un control positivo y negativo, oxacilina y solución fisiológica (NaCl 0,9%), respectivamente. Se realizaron doce repeticiones para cada concentración aplicando el método Kirby-Bauer; la clasificación del efecto inhibitorio se realizó según la escala de Duraffourd. También se halló la concentración mínima inhibitoria (CMI) correspondiente al menor nivel de turbidez, utilizando como unidad de medida la absorbancia (A), hallada a través del uso del espectrofotómetro, luego de la inoculación de los tubos de ensayo con la bacteria en estudio con las concentraciones mencionadas. Se sometió a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de DUNCAN, ambas pruebas con nivel de significancia  $p < 0,05$ . **Resultados.** La lectura de los tubos de ensayo a través del espectrofotómetro obtuvo como resultado 0,027 A, 0,040 A, 0,032 A, 0,024 A y 0,024 A para BI, BII, BIII, BIV y oxacilina, respectivamente. Los promedios de los halos de inhibición en las placas de Petri son: 17,42 mm para BI; 20,17 mm, BII; 21,00 mm, BIII; 24,92 mm, BIV. Prueba ANOVA muestra diferencia altamente significativa ( $p < 0,001$ ) entre los tratamientos aplicados. **Conclusiones.** El extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* tiene efecto antibacteriano sobre SARM. Según la escala de Duraffourd la concentración 120 mg/mL del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* y oxacilina 200 mg/mL obtuvieron la respuesta de sumamente sensible ( $> 20$  mm) demostrando similar efecto inhibitorio en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente siendo ambas también la CMI. Existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre las diferentes concentraciones del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* y el control positivo (oxacilina).

**Palabras clave:** Efecto antibacteriano; *Moringa oleifera*; Extracto acuoso; *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

#### ABSTRACT

**Objective.** To evaluate whether the antibacterial effect of the aqueous extract of the *Moringa oleifera* (Moringaceae) “moringa” seed on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain is similar to the effect of oxacillin *in vitro*. **Materials and methods.** Experimental study. Preparation of the aqueous extract of *Moringa oleifera* seed in concentrations of 30, 60, 90 y 120 mg/mL (12%) under the names BI, BII, BIII and BIV respectively. 50 microliters (µL) of each were applied to Petri dishes inoculated with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* are compared with a positive and negative control, oxacillin, and physiological solution (NaCl 0.9%), respectively. 12 repetitions were carried out for each concentration applying the Kirby-Bauer method and the classification of the inhibitory effect was carried out according to the Duraffourd Scale. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) corresponding to the lowest turbidity level was also found, using the absorbance (A) as the unit of measurement, found through the use of the spectrophotometer, after inoculation of the test tubes with the bacteria under study. with the concentrations mentioned above. Statistically, it was subjected to an analysis of variance (ANOVA) and the DUNCAN test, both tests with a significance level of  $p < 0.05$ . **Results.** The reading of the test tubes through the spectrophotometer obtained as a result 0.027 A, 0.040 A, 0.032 A, 0.024 A, and 0.024 A for BI, BII, BIII, BIV, and oxacillin respectively. The averages of the inhibition halos of the Petri dishes are 17.42 mm for BI; 20.17 mm, BII; 21.00 mm, BIII; 24.92 mm, BIV. ANOVA test shows a highly significant difference ( $p < 0.001$ ) between the applied treatments. **Conclusions.** The aqueous extract of the *Moringa oleifera* seed does have an antibacterial effect on MRSA. According to the McFarland scale, the 120 mg/mL concentration of the aqueous extract of *Moringa oleifera* seed and Oxacillin 200 mg / mL obtained the response of highly sensitive ( $> 20$  mm), demonstrating a similar inhibitory effect on the growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, both being also the CMI. There is a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the different concentrations of the aqueous extract of the *Moringa oleifera* seed and the positive control (Oxacillin).

**Keywords:** Antibacterial effect; *Moringa oleifera*; aqueous extract; Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.

## INTRODUCCIÓN

La gran problemática desencadenada por la resistencia antibiótica, está en aumento. Dada por falencias y mal uso por parte de la población, o porque nos vemos superados por las capacidades de defensa, adaptación y, por ende, supervivencia de los microorganismos patógenos, llegando a derrotar nuestros antibióticos existentes<sup>(1-3)</sup>. Razones por lo cual se debe enfatizar al máximo el desarrollo de mayores investigaciones en diferentes opciones para tratar de combatir, contrarrestar y controlar esta multiresistencia, así como globalizar y aplicar las estrategias dictadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>(4-7)</sup>.

La Medicina Complementaria y Alternativa, incluyendo la fitoterapia, se encarga del estudio de las propiedades y aplicabilidad de plantas medicinales al servicio de la salud. Estas disciplinas son una opción que considerar, puesto que existe información que confirma la actividad farmacológica de los vegetales<sup>(2, 8-14)</sup>.

*Moringa oleifera* es una planta que posee propiedades medicinales y es considerada una planta ecológica debido a su importante disponibilidad en temas socioambientales.

Es una planta muy versátil debido a su capacidad de adaptación a diferentes terrenos y climas, incluso sobrevive en épocas de sequía. Posee un gran potencial debido a los beneficios que brindan cada una de sus partes<sup>(15-21)</sup>.

Diversos estudios señalan las propiedades de la semilla de *M. oleifera*, ya sea mediante el uso de extractos acuosos, etanólicos o en éter, de cualquier parte de la planta (flor, semilla, hoja, raíz o corteza)<sup>(22-28)</sup>.

En este enfoque se resalta la propiedad antimicrobiana; se puede subdividir en su actividad antibacteriana dada por la presencia de isotiocianato de bencilo, taninos, saponinas y compuestos fenólicos; las semillas también poseen actividad antiviral, dada por isocianato y niazil mínima; asimismo, muestra actividad inhibitoria del crecimiento de larvas de *Anopheles gambiae* y *Aedes aegypti*, debido a la presencia de B-aminina, B-sitosterol. También posee efecto coagulante, floculante y desinfectante del agua, con mucha utilidad para la limpieza de residuos de aceite de palma, fecales y la eliminación de helmintos. Su bajo costo y su propiedad de biodegradabilidad la convierte en una gran candidata para su empleo en países en vías de desarrollo<sup>(16, 18)</sup>.

El objetivo general es evaluar si el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente es similar al de la oxacilina. Asimismo, determinar el efecto

antibacteriano y demostrar la concentración inhibitoria del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente *in vitro*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño de estudio

Experimental *in vitro*.

### Población de estudio, muestra y muestreo

Conjunto de placas inoculadas con *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. La unidad de muestreo fue el halo de inhibición en placas de Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus* meticilino resistente con extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera*. El tamaño de la muestra se obtuvo a través de la fórmula estadística, donde los valores a tomar en cuenta fueron N: número de repeticiones a realizar en investigaciones,  $Z_{\alpha/2}$ : 1,96 que es un coeficiente de confianza del 95% o para un  $\alpha = 0,05$ ;  $Z_{\beta}$ : 0,84 que es un coeficiente en la distribución normal para una potencia de prueba del 80% o para un  $\beta = 0,20$  y  $S = 0,8 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$ ; valor dado por no haber estudios similares previos. Se obtuvo como tamaño muestral N: 12 repeticiones para cada concentración<sup>(28-30)</sup>.

### Procedimientos

#### a. Recolección e identificación de material vegetal

Las semillas del árbol *Moringa oleifera* se recolectaron del huerto ubicado en la Mz E Lote 15- Las Lomas sector II distrito de Huanchaco, provincia de Trujillo, región La Libertad, Perú (altitud 21 m, 8°05'22.6"S 79°06'51.9"W) Fecha: 26 septiembre 2018.

Se verificó la integridad de la planta, no infectada. Muestra de las partes de la planta se lavaron con agua corriente, eliminando partículas extrañas y polvo, se puso a secar a temperatura ambiente. Luego se envolvió en papel periódico para mantener íntegra y seca la muestra, luego fue identificada y se otorgó como números de registro: 59600 y 59601 en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo. La muestra consistió en partes de la planta; para identificación se utilizaron hojas, flores, semillas, frutos y raíces.

#### b. Preparación de la muestra<sup>(31)</sup>

- Selección: el material vegetal recolectado fue transportado y trabajado en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, se seleccionaron las semillas de *Moringa oleifera* que se encontraban en buenas condiciones; asimismo, se eliminaron aquellas que presentaban algún signo de infestación.

- Lavado: con agua destilada, seguido de una desinfección con hipoclorito de sodio al 0,5%. Se realizó un enjuague con agua destilada estéril para retirar los residuos de hipoclorito.
- Secado: una vez lavadas las semillas se colocaron en papeles Kraft, y luego secadas en una estufa de circulación de aire a 40 °C, durante 72 h.
- Molienda y tamizaje: se procedió a moler las semillas desecadas hasta obtener un polvo grueso que luego se pasó a través de tamiz de # 20 para homogeneizar el tamaño de las partículas.

### c. Preparación de los extractos <sup>(32, 33)</sup>

Se pesaron 100 g de los 37 g de la muestra de semillas en polvo tamizadas, el resto de la muestra se reservó; la muestra pesada se colocó dentro de un balón de vidrio de 2 L de capacidad a la que se añadió 500 mL de agua destilada. Se mezcló adecuadamente y, posteriormente, se aplicó el método de extracción directa por reflujo durante 2 h, el cual consiste en un circuito cerrado continuo, empleando dos sistemas necesarios; el sistema de calentamiento, logrado a través de una hornilla eléctrica portátil y el sistema de refrigerado, aplicado por un circuito de agua continuo; ambos sistemas fueron puestos en contacto con el balón junto con el contenido de la mezcla para extracción. Transcurrido el tiempo, se procedió a filtrar el extracto utilizando la filtración al vacío con papel Whatman N.º 1.

A continuación, se llevó el extracto obtenido a un rotavapor para lograr concentrar la muestra, de donde se obtuvo un extracto blando. Luego se llevó a secar a la estufa de circulación de aire a 40 °C hasta obtener el extracto seco. A partir del extracto seco se preparó las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg/mL, disueltos en agua destilada; es decir, a la concentración porcentual de 3, 6, 9 y 12%, respectivamente. Todos los extractos concentrados fueron esterilizados mediante filtración utilizando membranas de nitrocelulosa con un tamaño de poro de 0,45 µm (Millipore).

Finalmente, las cuatro concentraciones del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* fueron almacenados en frascos de vidrio de color ámbar esterilizados previamente en autoclave y puestos en refrigeración (4-8 °C) hasta su posterior utilización.

### d. Preparación del control positivo y control negativo

Para control positivo se utilizó el antibiótico oxacilina, la cual se obtuvo en una farmacia local al azar. La presentación fue de un frasco de vidrio que contenía el polvo para solución inyectable vía IM/IV, en la concentración de 1 g, del laboratorio VITALIS, registro sanitario EE00002, fecha de vencimiento 03/01/2022. La oxacilina fue diluida en 5 mL de solución fisiológica (NaCl 0,9%) para su posterior

utilización. La concentración total obtenida fue 1 g/5 mL, expresado porcentualmente es una concentración al 20% equivalente a 200 mg/mL, de esta concentración se utilizaron 50 uL, volumen elegido para la aplicación en las placas de Petri, y 1,6 mL en el tubo de ensayo.

Para control negativo se utilizó solución salina o suero fisiológico (NaCl 0,9%), brindada por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo

### e. Preparación de medio de cultivo

El medio de cultivo utilizado fue agar Müller Hinton, preparado de acuerdo con las instrucciones de fábrica. Se prepararon cuatro placas por cada concentración, en total 16 placas. Las placas con el agar fueron incubadas durante 24 h a una temperatura de 37 °C, para confirmar esterilizadas.

### f. Bacteria

Se utilizó *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente (SAMR) brindado por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

### g. Efecto antibacteriano

- El SAMR se sometió al método de discos de Kirby y Bauer con diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Moringa oleifera* de 30, 60, 90 y 120 mg/mL o en su equivalente porcentual de 3, 6, 9, y 12%, respectivamente. Comparado con un control positivo con oxacilina de 200 mg/mL o 20% y el control negativo con solución salina al 0,09%.
- El agar Müller Hinton se preparó 24 h antes de su utilización y fue colocado durante este periodo en la incubadora para verificar el no crecimiento de otras bacterias. Posterior a su verificación, se realizaron tres hoyos en cada placa de Petri con un sacabocado esterilizado, este método se repitió en cuatro placas para cada concentración; es decir, se obtuvieron doce repeticiones por cada concentración y para el control positivo y negativo se realizó 1 hoyo para cada uno en su respectiva placa de Petri. Todo esto se hizo a una distancia de 15 cm del mechero encendido, al igual que el trabajo siguiente.
- Se impregnó un hisopo estéril con la cepa preparada, luego se procedió al sembrado en las placas Petri preparadas con sus hoyos. Se realizaron tres barridos por toda la superficie del agar, para obtener una siembra uniforme. Las placas inoculadas con la bacteria en estudio, con sus respectivas tapas, se colocaron en posición inversa y llevadas a la estufa, para una incubación de veinte minutos a 37 °C, antes de la aplicación del extracto correspondiente.

- Aplicación del método doble ciego  
La selección de las placas de Petri para cada aplicación fue al azar. Se vertieron 50 uL de las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg/mL o en su equivalente porcentual de 3, 6, 9 y 12%, respectivamente, del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* y también 50 uL de la concentración de oxacilina 200 mg/mL es decir al 20% y solución salina al 0,9%, utilizando una micropipeta con puntas esterilizadas en el autoclave en las 24 h previas. Las placas de Petri fueron rotuladas con las denominaciones «BI, BII, BIII, BIV» y los grupos control con su respectiva denominación. Posteriormente, las placas se invirtieron de posición y se incubaron en un horno Precision modelo Thelco 6 a una temperatura de 37 °C durante 24 h. Este procedimiento fue realizado por personal técnico del área de Microbiología, ajeno al trabajo, para asegurar el método doble ciego.
- Lectura de resultados: se realizó a las 24 h posteriores. Se utilizó una regla graduada sobre el reverso de la placa, y se anotaron los datos bajo las denominaciones «BI, BII, BIII, BIV»; se midió cada diámetro de los halos de inhibición utilizando la unidad de medida «milímetro» (mm). Los datos obtenidos fueron comparados y clasificados basándose en la escala de Duraffourd.

#### h. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

- Se prepararon cinco tubos de ensayo para el microorganismo. Cuatro tubos, uno por cada una de las concentraciones experimentales y el quinto tubo para el control positivo con oxacilina 200 mg/mL; en cada uno de los tubos se les añadió el volumen de 1,6 mL de todas las concentraciones mencionadas; luego se realizó la inoculación de 0,4 mL de la bacteria diluida en concentraciones semejantes al tubo 0,5 de la escala de McFarland. Se obtuvieron 2 mL por cada preparación, luego fueron incubados en estufa a 37 °C durante 24 h. Todos los tubos y placas Petri fueron rotulados por el personal técnico del área de Microbiología.
- La lectura de resultados se hizo con un espectrofotómetro con el fin de cuantificar el nivel de turbidez según su nivel de absorbancia (A). La CMI es la muestra con menor nivel turbidez. Esta medición se realizó en el laboratorio de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego, el cual fue supervisado por personal técnico encargado de dicha área.

#### Análisis de datos

Los resultados fueron entregados al estadístico bajo las denominaciones asignadas, no se le hizo mención el significado de cada denominación, para mantener el doble ciego y evitar un conflicto de interés; por ende, las tablas y gráficos entregados por él mantienen las denominaciones utilizadas durante el trabajo.

Los datos obtenidos en la lectura de resultados fueron ordenados en Microsoft Excel 2013, los cuales fueron analizados con el programa SPSS versión 22. Para determinar el efecto antibacteriano se utilizaron los diámetros de los halos de inhibición a través de promedios correspondientes de cada concentración del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* y hallando sus medidas de dispersión, entonces se determinó su comparación mediante la Prueba ANOVA de una vía para un diseño completamente al azar (aleatorio); posteriormente, se hizo una prueba de comparaciones múltiples donde utilizamos la prueba *post-hoc* de Duncan, ambas pruebas con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . La CMI se analizó mediante la tabla de datos correspondientes y conclusiones de acuerdo con ellos.

#### Aspectos éticos

El proyecto fue presentado al Comité de Investigación y el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la UPAO. Se revisó la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, cumpliendo sus códigos, no comprometiéndolo ni poniendo en riesgo la vida de personas y el medioambiente <sup>(34)</sup>.

## RESULTADOS

Se realizaron 12 repeticiones por cada diferente concentración (30, 60, 90 y 120 mg/mL); por ende, doce medidas de halos de inhibición para cada concentración de extracto acuoso de semilla de *Moringa oleifera*. Cada concentración recibió una denominación para poder asegurar el doble ciego y evitar conflictos de interés, las cuales fueron BI, BII, BIII y BIV.

Con la lectura de los halos de inhibición de las placas inoculadas luego de 24 h de incubación, se obtuvo como promedios los valores de 17,42 mm para BI ; 20,17 mm, BII; 21,00 mm, BIII; 24,92 mm, BIV y el valor único de 35,00 mm para el control positivo con oxacilina; para el control negativo con suero fisiológico al 0,9% se obtuvo 0,0 mm del halo de inhibición, por lo que no se aprecia en las tablas estadísticas. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico de varianza del cual se obtuvieron las tablas presentadas y de las cuales se puede interpretar:

En la Tabla 1 se observan los promedios de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* sobre *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente, siendo el mayor promedio el valor de 35,00 mm correspondiente al control positivo con oxacilina 200 mg/mL, seguido del promedio de 24,92 mm correspondiente a la concentración

**Tabla 1.** Descripción del efecto antibacteriano del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente comparado con oxacilina *in vitro*

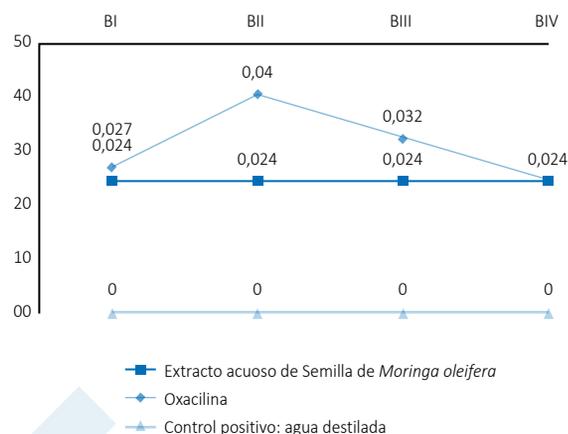
Grupos de Investigación	ni	Promedio	Desviación Estándar
BI	12	17,42	1,16
BII	12	20,17	1,85
BIII	12	21,00	1,86
BIV	12	24,92	0,79
Oxacilina	1	35,00	0,00

denominada «B IV», es decir, la concentración de 120 mg/mL del extracto utilizado.

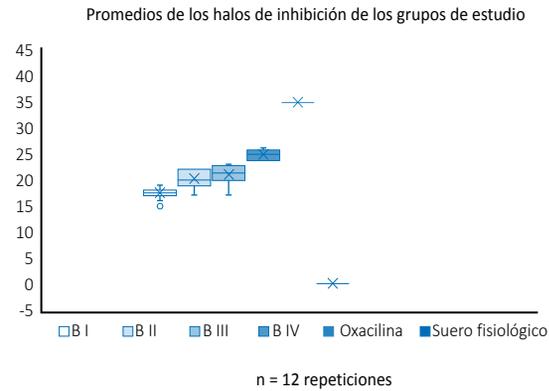
También se aprecian los promedios de los halos de inhibición, los cuales se encuentran dentro de los rangos de sensibilidad según la escala de Duraffourd, específicamente para BI y B II con sus valores 17,42 mm y 20,17 mm respectivamente, se encuentran en el rango de «muy sensible (++)»: diámetro 14 - 20 mm». Las concentraciones de BIII y BIV obtuvieron 21,00 mm y 24,92 mm, respectivamente, las cuales se encuentran dentro del rango «sumamente sensible (+++): diámetro superior a 20 mm».

El análisis de varianza de una vía (ANOVA) data un valor de «p» de 0,001 para los promedios de los halos de inhibición de los diferentes «tratamientos» o concentraciones del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* aplicados.

En la prueba de Duncan se obtiene una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre cada una de las diferentes concentraciones aplicadas, a excepción de las concentraciones denominadas BII y BIII donde no hay diferencia estadística significativa ( $p > 0,05$ ).



**Figura 2.** Concentración mínima inhibitoria: nivel de turbidez según absorbancia (A).



**Figura 1.** Promedios de los halos de inhibición de los grupos de estudio.

Se aprecia que la denominación «BIV», equivalente a la concentración de 120 mg/mL del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* y la oxacilina 200 mg/mL, se ubican en la categoría de sumamente sensible ( $>20,00$  mm) según la escala de Duraffourd; pero estadísticamente hay una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre ambas.

En el Figura 2 se muestran los datos obtenidos de la lectura correspondiente de los tubos de ensayo haciendo uso de un espectrofotómetro, siendo la absorbancia (A) la unidad de medida para cuantificar el nivel de turbidez, utilizando como control positivo el agua destilada ya que cuenta con un nivel de turbidez de 0,000 A. Considerando como concentración mínima inhibitoria al menor valor de turbidez, es decir el menor valor de absorbancia.

En el gráfico se observa que la concentración denominada «BIV» y el control positivo coincidieron, obteniendo ambas el menor valor de absorbancia (0,024 A) y, por ende, el menor nivel de turbidez, considerándose a estas muestras como la concentración mínima inhibitoria.

## DISCUSIÓN

El aumento de la multiresistencia antibiótica genera una gran problemática en nuestro entorno. Este incremento, en su mayoría, se debe a falencias en el uso dado por parte de la población por causa de una carencia educativa, esto provoca que nos veamos superados por las capacidades de defensa, adaptación de microorganismos patógenos y, por ende, aumentando su supervivencia, volviendo ineficaces a nuestros fármacos actuales<sup>(1-3)</sup>. Lo expuesto nos da razones y la obligación de enfatizar al máximo el desarrollo de mayores investigaciones en busca de alternativas para tratar de combatir, contrarrestar y controlar esta multiresistencia. Es de suma importancia educar y aplicar las estrategias dadas por la OMS<sup>(4)</sup>.

La medicina complementaria y alternativa abarca la fitoterapia, quien se encarga del estudio de las propiedades y aplicabilidad de plantas medicinales al servicio de la salud; siendo una alternativa considerable por la información existente que confirma sus actividades farmacológicas<sup>(2, 11-13)</sup>.

El presente estudio utilizó a la especie *Moringa oleifera* como planta para tratar de representar a la efectividad de la fitoterapia; la elección se basó por su creciente popularidad, la indagación y exposición de las exquisitas propiedades que contiene. Adicionalmente de sus propiedades, la *Moringa oleifera* es considerada una planta ecológica gracias a su disponibilidad eficaz en temas socioambientales. Es una planta muy versátil, partiendo en la utilidad de cada una de sus partes hasta su capacidad de adaptación a diferentes terrenos y climas, incluso sobrevivir a épocas de sequía<sup>(14-17)</sup>.

Diversas investigaciones señalan las propiedades de la semilla de *Moringa oleifera* que fueron identificados a través de estudios experimentales donde utilizaban diversos tipos de extractos, entre ellos el extracto acuoso, y el etanólico o éter; los cuales pueden ser obtenidos de cualquier parte de la planta, como la flor, la semilla, la raíz o su corteza<sup>(22-26)</sup>.

Este trabajo resalta la propiedad antimicrobiana de la especie en estudio. Se puede componer por: a. Actividad antibacteriana brindada por la presencia de isotiocianato de bencilo, taninos, saponinas, compuestos fenólicos; b. Actividad antiviral dada por isocianato y niaziminina, y c. Actividad inhibitoria del crecimiento de larvas, *Anopheles gambides* y *Aedes aegypti*, debido a la presencia de B-aminina, B-sitosterol<sup>(5, 10, 15, 16, 18)</sup>.

Gustavo Viera, et al. obtuvieron como resultado, del enfrentamiento del extracto acuoso de semilla de *Moringa oleifera* en la concentración de 30 g/150 mL (20%) contra *S. aureus*, 25,00 mm como mayor valor promedio de halos de inhibición; en la muestra que se utilizaron mayor volumen de aplicación. Este trabajo se basó en la comparación de los diferentes volúmenes aplicados en las placas de Petri<sup>(14)</sup>. Según sus resultados cuan mayor volumen se utilizó, mayor fue el diámetro de inhibición.

María Pérez et al. compararon el efecto inhibitorio del extracto acuoso de la hoja contra la semilla de *Moringa oleifera*, utilizando como concentración 50 mg/mL, para ambas variables, sobre *S. aureus*; hallándose como promedios de los halos a los valores entre 3 y 5 mm, asegurando la existencia de efecto inhibitorio sobre el crecimiento de esta bacteria. Este estudio demuestra que las semillas tienen mayor efecto antibacteriano que la hoja de *Moringa oleifera*.

Peixoto JRO, et al. utilizaron la concentración de 20 mg/180 mL (11%) y compararon la aplicación de diferentes volúmenes: 100, 200, 300 y 400 uL. Donde su mayor promedio de halo de inhibición fue 25,4 mm, correspondiente de las placas de Petri a las que se le había aplicado mayor cantidad de microlitros (400 uL); incluso logró obtener un halo máximo de 38,0 mm.

Kiran Singh, et al. utilizaron el extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleifera*, en las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg/mL contra *S. aureus*; donde el promedio de sus halos de inhibición fueron 3,67 mm, 4,33 mm, 6,67 mm, 7,00 mm respectivamente; como control positivo utilizaron cotrimoxazol con el que se obtuvo 6,00 mm de diámetro. Demostrando la capacidad inhibitoria superior del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleifera* frente un antibiótico tradicional como cotrimoxazol.

Las concentraciones de nuestro estudio fueron 30, 60, 90 y 120 mg/mL es decir 3, 6, 9 y 12%, respectivamente. La elección de las concentraciones fue basada en trabajo de investigación de Kiran Singh et al. que demostró efectividad antibacteriana sobre su población de estudio con estos valores.

Donde nuestras menores concentraciones 30 y 60 mg/mL (3 y 6%) del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* obtuvieron 17,42 mm y 20,17 mm respectivamente, ubicándose según la escala de Duraffourd en la clasificación de muy sensible (++) , en tanto que las concentraciones de 90 y 120 mg/mL, sumamente sensible (+++). El control positivo con 200 mg/mL oxacilina, es decir al 20%, se encuentra en la misma ubicación de «sumamente sensible» por su halo de inhibición de 35,00 mm; se puede afirmar que existe similar efecto antibacteriano entre la concentración del extracto acuoso al 12% y el control con oxacilina al 20% por encontrarse en la misma clasificación según la escala de Duraffourd. Sin embargo, estadísticamente existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre estas muestras.

A la vez, se identifica que estadísticamente existe una diferencia significativa ( $p < 0,001$ ) entre todos los tratamientos y/o concentraciones que hemos aplicado en el estudio, confirmándose la existencia del efecto antibacteriano; sobre todo se comprueba que la semilla de *Moringa oleifera* tiene efecto antibacteriano sobre una bacteria con farmacoresistencia como lo es *S. aureus* metiliclorresistente.

Como concentración mínima inhibitoria (CMI) se considera a la muestra con el menor nivel de turbidez. La concentración al 12% del extracto acuoso de semilla de *Moringa oleifera* y el control positivo con oxacilina al 20% obtuvieron 0,024 de absorbancia. Sabiendo teóricamente

que la absorbancia es proporcional a la concentración, por ende, al nivel de turbidez; el menor valor obtenido fue 0,024 A, resultado de la lectura correspondiente a la concentración del extracto acuoso al 12% (120 mg/mL) y de la oxacilina al 20% (200 mg/mL) siendo consideradas como CMI. Reafirmando que a cierta concentración el extracto acuoso de semilla de *Moringa oleifera* tendría similar efecto inhibitorio que la oxacilina.

Cuantificando las concentraciones utilizadas es evidente que no se ha utilizado las máximas concentraciones en los extractos de *Moringa oleifera*, incluso menores al 50%. A pesar de lo mencionado, el extracto acuoso ha tenido un efecto antibacteriano notorio a pesar de haber sido expuesto frente a una bacteria meticilinorresistente; siendo objetivo de estudios posteriores para lograr su aplicabilidad. Se ha observado en las investigaciones que nos anteceden que ante un mayor volumen aplicado mayor efecto inhibitorio; se podría interpretar usando como ejemplo a nuestra realidad terapéutica, como recibir un volumen adecuado para que haya una dosis efectiva.

A diferencia de otros estudios se logra identificar la variedad de factores que pueden influir en la obtención de resultados efectivos como la concentración mg/mL, porque se ha observado que a mayor concentración (mg/mL) mayor el diámetro del halo de inhibición. Adicionalmente, existen otros factores influyentes como los diferentes de métodos de extracción, tipo de bacteria, volumen de aplicación, temperatura de incubación y tiempo de incubación. Variables que podrían controlarse y lograr establecer cierto protocolo logrando avanzar en este tipo de investigaciones y una posterior aplicación del espécimen de interés.

La *Moringa oleifera* sembrada en nuestra región ha tenido buen efecto antibacteriano ante una cepa con resistencia antibiótica. Su aplicación sería una alternativa de bajo costo y ecológica para nuestro medio.

## CONCLUSIONES

1. Se determina que el extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente *in vitro*, observándose que a mayor concentración mayor efecto antibacteriano.
2. La concentración del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* 120 mg/mL y oxacilina 200 mg/mL demuestran similar efecto inhibitorio según categoría cualitativa en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente, pero con diferencia significativa a nivel estadístico.

3. La concentración mínima inhibitoria corresponde a la concentración del extracto acuoso de semilla de *Moringa oleifera* a 120 mg/mL y al control positivo con oxacilina a 200 mg/mL.
4. Existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones del extracto acuoso de la semilla de *Moringa oleifera* y el control positivo (oxacilina).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valdés- La resistencia microbiana en el contexto actual y .pdf [Internet]. [citado 12 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/re-vhabciemed/hcm-2017/hcm173k.pdf>
2. Rahman *et al.* - Antibacterial Activity of Leaf Juice and Extracts .pdf [Internet]. [citado 23 de noviembre de 2018]. Disponible en: [http://www.columbusmoringa.com/wp-content/uploads/2014/03/Chiang\\_Mai\\_University\\_-\\_Antibacterial\\_Activity.pdf](http://www.columbusmoringa.com/wp-content/uploads/2014/03/Chiang_Mai_University_-_Antibacterial_Activity.pdf)
3. Vinoth *et al.* - Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity.pdf [Internet]. [citado 23 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/0446/74d12e940166d5a6e56c3a0c113fcd0e00e3.pdf>
4. Rocha *et al.* - 2015 - Resistencia emergente a los antibióticos una amen.pdf [Internet]. [citado 12 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v32n1/a20v32n1.pdf>
5. Pérez M, Cabrera L, Colina G. Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos acuoso de *Moringa oleifera* sobre especies patógenas intrahospitalarias. REDIELUZ [Internet]. 16 de noviembre de 2016 [citado 10 de agosto de 2018];5(1y2). Disponible en: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/redieluz/article/view/21691>
6. CARRIÓN- Evaluación del contenido de alcaloides, flavonoide.pdf [Internet]. [citado 10 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1330/7/CD000243-TESES.pdf>
7. Moringa oleifera: Revisión sobre aplicaciones y usos en alimentos [Internet]. [citado 18 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.alanrevista.org/ediciones/2017/2/art-3/>
8. Cercenado - Procedimientos en Microbiología Clínica.pdf [Internet]. [citado 10 de agosto de 2018]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1a.pdf>
9. f2bbad80-cb68-0130-27bb-263316c03650.pdf [Internet]. [citado 12 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://public-files.prbb.org/publicaciones/f2bbad80-cb68-0130-27bb-263316c03650.pdf>

10. Llajaruna G, Pilar S del. Efecto antibacteriano *In Vitro* del aceite esencial de pelargonium hortorum sobre la cepas de pseudomonas aeruginosa atcc 27853 y staphylococcus aureus atcc25923. Universidad Privada Antenor Orrego- UPAO [Internet]. 2015 [citado 21 de noviembre de 2018]; Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/1309>
11. Cañigüeral *et al.* - 2003 - Plantas Medicinales y Fitoterapia ¿Indicadores de.pdf [Internet]. [citado 23 de noviembre de 2018]. Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\\_22\\_3\\_6\\_1\\_S966JS548J.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf)
12. HERNÁNDEZ- 2011- CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIBACTERI.pdf [Internet]. [citado 8 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/2265/54764C146.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
13. Darriba Rodríguez y Méndez Gómez- 2003- Medicina tradicional versus medicina oficial ¿com.pdf [Internet]. [citado 24 de noviembre de 2018]. Disponible en: [https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/4816/1/CC\\_13\\_08.pdf](https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/4816/1/CC_13_08.pdf)
14. Viera GHF, Mourão JA, Ângelo ÂM, Costa RA, Vieira RHS dos F. Antibacterial effect (in vitro) of Moringa oleifera and Annona muricata against Gram positive and Gram negative bacteria. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. junio de 2010;52(3):129-32.
15. Martín C, Martín G, García A, Fernández T, Hernández E, Puls J. Potenciales aplicaciones de Moringa oleifera. Una revisión crítica. Pastos y Forrajes. junio de 2013;36(2):137-49.
16. Brilhante RSN, Sales JA, Pereira VS, Castelo-Branco D de SCM, Cordeiro R de A, de Souza Sampaio CM, et al. Research advances on the multiple uses of Moringa oleifera: A sustainable alternative for socially neglected population. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 1 de julio de 2017;10(7):621-30.
17. Abdallah E. Antibacterial Properties of Leaf Extracts of Moringa oleifera Lam. Growing in Sudan. Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences. 16 de octubre de 2015;5:1-5.
18. Instituto Politécnico Nacional, Velázquez-Zavala M, Peón-Escalante IE, Instituto Politécnico Nacional, Zepeda-Bautista R, Instituto Politécnico Nacional, et al. Moringa (*Moringa oleifera* Lam.): usos potenciales en la agricultura, industria y medicina. Revista Chapingo Serie Horticultura. 2016;XXII(2):95-116.
19. Al\_husnan LA, Alkahtani MDF. Impact of Moringa aqueous extract on pathogenic bacteria and fungi in vitro. Annals of Agricultural Sciences. diciembre de 2016;61(2):247-50.
20. Sánchez P, Julieth J. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de anís estrellado (*Illicium verum*) contra staphylococcus epidermis, bacillus subtilis y escherichia coli. 2010 [citado 31 de octubre de 2020]; Disponible en: <http://repositorio.javeriana.edu.co/handle/10554/8448>
21. Texto completo [Internet]. [citado 31 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://scialert.net/qredirect.php?doi=pjbs.2003.1888.1890&linkid=pdf>
22. Franco-Ospina *et al.* - Actividad Antibacteriana in vitro de Extractos y F.pdf [Internet]. [citado 8 de agosto de 2018]. Disponible en: [http://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/004\\_articulo\\_2\\_4.pdf](http://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/004_articulo_2_4.pdf)
23. Full Text PDF [Internet]. [citado 20 de noviembre de 2018]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3092/1/Purca\\_pt.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3092/1/Purca_pt.pdf)
24. MARCA HMP. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD FISIQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE UN EXTRACTO ACUOSO DE MORINGA (*Moringa oleifera* Lam), COSECHADA EN LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA. :71.
25. Rojas C, Rodrigo L. Eficacia antibacteriana in vitro del gel natural de Aloe Barbadensis, Clorhexidina e hidróxido de Calcio sobre enterococcus faecalis ATCC 29212. Universidad Privada Antenor Orrego - UPAO [Internet]. 29 de septiembre de 2016 [citado 20 de noviembre de 2018]; Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/1879>
26. Singh K, Tafida GM. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MORINGA OLEIFERA (LAM) LEAVES EXTRACTS AGAINST SOME SELECTED BACTERIA. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2014;6(9):52-4.
27. Peixoto JRO, Silva GC, Costa RA, de Sousa Fontenelle J res L, Vieira GHF, Filho AAF, et al. In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic Moringa leaf extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 1 de marzo de 2011;4(3):201-4.
28. Estudios experimentales en la práctica clínica Investigación terapéutica. Ensayos clínicos. [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.fisterra.com/mbe/investiga/7ensayos/7ensayos.asp#Consideraciones>
29. Determinación del tamaño muestral [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.fisterra.com/mbe/investiga/9muestras/9muestras2.asp>
30. Biblioteca U. Bibliogúías: Citas y elaboración de bibliografía: el plagio y el uso ético de la información: Estilo Vancouver [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2018]. Disponible en: [https://biblioguias.uam.es/citar/estilo\\_vancouver](https://biblioguias.uam.es/citar/estilo_vancouver)
31. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba.2002.
32. Pulla H. Evaluación de la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de un extracto acuoso de moringa (*Moringa oleifera* LAM), cosechada en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de

- Machala. [Tesis Bioquímico Farmacéutico]. Machala el Oro. Ecuador.2014.
33. Gómez K. Evaluación de rendimiento de extracción y caracterización fitoquímica de la fracción extraíble de semilla de moringa (*Moringa oleifera* Lam.), a nivel laboratorio. Universidad de San Carlos de Guatemala. [Tesis de Ingeniería Química]. Guatemala 2013.
34. WMA- The World Medical Association-Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. [citado 27 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>