



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

**EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Moringa oleífera*  
Lam (MORINGA) FRENTE A LA CEPA DE *Staphylococcus*  
*aureus***

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

**AUTORES:**

**Bach. DÍAZ BUENDÍA, MIRTHA GIOVANNA**

**Bach. DÍAZ GENEPROZO, ROSA BELINDA**

**ASESOR:**

**DR. VÍLCHEZ CÁCEDA, HÉCTOR ALEXANDER**

**LIMA – PERÚ**

**2021**

## **DEDICATORIA**

A Dios

Que por intermedio de la oración me ayudó a tener un espíritu fuerte y de lucha en momentos de dificultad y así continuar con mis ansias de superación. Gracias Dios por terminar mi carrera con éxito.

A la memoria de mi madre

Ynés Buendía López porque si soy una profesional es gracias a ella, me apoyó siempre en cada meta trazada, dándome sus consejos cuando más lo necesité y porque siempre creyó en mí.

A mi novio

William Sánchez Guevara por estar siempre a mi lado prodigándome un amor que me hace feliz, su comprensión, su paciencia y palabras de aliento en el momento preciso con esa alegría contagiosa que nunca me falta.

A la memoria de mi abuelito

Víctor Buendía Ávila porque quiso siempre que en nuestra familia haya buenos profesionales, con su ejemplo me enseñó a ser una buena estudiante, a ser justos en la vida, enseñanzas y valores que los tengo siempre presente.

A la memoria de mi tío

Efraín Buendía López, aunque ya no estés con nosotros me dejaste el ejemplo de que sólo estudiando con esfuerzo y sacrificio se sale adelante. Siempre te llevaré presente querido tío. Aunque más que un tío fuiste un padre para mí y mis hermanos Anne, Nila y Richard.

Mirtha Giovanna Díaz Buendía

## **DEDICATORIA**

A mi padre celestial

A Dios, al forjador de mi camino, él que me acompaña y siempre me levanta de mi continuo tropiezo.

A mi madre

Doña Victoria Genebrozo Bazán quien amo infinitamente después de Dios, ella es mi guía, siempre ha estado conmigo en mis alegrías y tristezas.

A mí

Por ser como soy con mis defectos y virtudes.

A otros seres queridos

A mi padre Don Elíseo Díaz Aparicio que desde el cielo me bendice, a mis hermanos Jesús y Raúl, a una amiga de la infancia que ahora somos hermanas de corazón a Liz Lozano Ramos.

Rosa Belinda Díaz Genebrozo

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a Dios infinitamente por permitirnos llegar hasta donde estamos ahora, y hacer realidad este deseo que tanto soñábamos y seguir continuando para ser grandes profesionales, por estar con nosotras y dirigirnos a lo largo de nuestra carrera, por ser la resistencia en momentos de flaqueza y obsequiarnos una vida de sabiduría, y finalmente por permitir lograr esta meta tan importante en nuestras vidas.

Agradecer a nuestras familias que sin dudar nos ayudan día a día a cumplir con nuestros deseos de tener una profesión y a nuestros amigos que siempre los tendremos presente.

Agradecer a todos los profesores que nos ayudaron desde un inicio y hasta ahora en nuestra labor académica y titulación como nuestro asesor Dr. Héctor Vílchez Cáceda, y a muchos profesionales más que nos faltaría espacio para mencionarlos pues sin su ayuda esto no sería posible.

A la Universidad María Auxiliadora por habernos acogido en su casa de estudio y permitirnos lograr el sueño de obtener el tan ansiado título profesional en esta carrera tan hermosa llena de oportunidades.

## Índice General

	<b>Páginas</b>
<b>Resumen</b>	x
<b>Abstract</b>	xi
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	7
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	7
2.2 Población, muestra y muestreo	7
2.3 Variables de investigación	8
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	9
2.5 Proceso de recolección de datos	9
2.6 Métodos de análisis estadístico	12
2.7 Aspectos éticos	12
<b>III. RESULTADOS</b>	13
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	21
4.1 Discusión de resultados	21
4.2 Conclusiones	23
4.3 Recomendaciones	24
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	25
<b>ANEXOS</b>	33

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b>	Preparación de concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Moringa oleífera</i> Lam para el ensayo experimental <i>in vitro</i>	10
<b>Tabla 2.</b>	Solubilidad del extracto hidroalcohólico desecado de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	13
<b>Tabla 3.</b>	Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	14
<b>Tabla 4.</b>	Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	15
<b>Tabla 5.</b>	Análisis de Varianza para el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	17
<b>Tabla 6.</b>	Análisis de Tukey para el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	17
<b>Tabla 7.</b>	Análisis de Tukey para el efecto antibacteriano de la concentración 75 % del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	18
<b>Tabla 8.</b>	Análisis de Tukey para el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa) en relación al grupo de ciprofloxacino	19

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b>	<i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	3
<b>Figura 2.</b>	Fórmula para determinar el porcentaje del efecto antibacteriano	15
<b>Figura 3.</b>	Promedio de halos de inhibición según grupos de tratamiento en el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	15
<b>Figura 4.</b>	Porcentaje de efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa) frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	16
<b>Figura 5.</b>	Separación de la muestra vegetal	38
<b>Figura 6.</b>	Preparación del macerado del extracto hidroetanólico de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	38
<b>Figura 7.</b>	Obtención del extracto hidroetanólico de la <i>Moringa Oleífera</i> Lam (moringa)	38
<b>Figura 8.</b>	Secado del extracto hidroetanólico de la <i>Moringa Oleífera</i> Lam (moringa)	39
<b>Figura 9.</b>	Prueba de solubilidad	39
<b>Figura 10.</b>	Marcha fitoquímica	39
<b>Figura 11.</b>	Resultado de la marcha fitoquímica	40
<b>Figura 12.</b>	Activación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	40
<b>Figura 13.</b>	Sembrado en placa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	40
<b>Figura 14.</b>	Preparación de pozos en Agar Mueller Hinton	41
<b>Figura 15.</b>	Colocación del disco	41
<b>Figura 16.</b>	Aplicación del extracto hidroalcohólico de la <i>Moringa Oleífera</i> Lam (moringa)	41
<b>Figura 17.</b>	Incubación de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 con el extracto hidroalcohólico y controles a 37 °C por 24 horas	42

<b>Figura 18.</b>	Medición de los halos de inhibición mediante vernier digital	42
<b>Figura 19.</b>	Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la <i>Moringa Oleífera</i> Lam (moringa) al 25 % y 50 % frente a cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	42
<b>Figura 20.</b>	Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la <i>Moringa Oleífera</i> Lam (moringa) al 25 % y 75 % frente a cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	43
<b>Figura 21.</b>	Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la <i>Moringa Oleífera</i> Lam (moringa) al 50 % y 75 % frente a cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	43

## Índice de Anexos

<b>Anexo A.</b>	Operacionalización de las variables	32
<b>Anexo B.</b>	Instrumento de recolección de datos	33
<b>Anexo C.</b>	Clasificación taxonómica	35
<b>Anexo D.</b>	Certificado de la cepa	36
<b>Anexo E.</b>	Evidencias fotográficas del trabajo de campo	38
<b>Anexo F.</b>	Comparaciones múltiples de análisis de tukey	44
<b>Anexo G.</b>	Prueba de normalidad	45
<b>Anexo H.</b>	Escala de Duraffourd para determinar el efecto inhibitorio según el diámetro de inhibición	46
<b>Anexo I.</b>	Matriz de Consistencia	47

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la actividad del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**Métodos:** El diseño de investigación fue experimental, muestreo aleatorio simple, nivel analítico, descriptivo, enfoque cuantitativo y transversal. Se usó cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se formó 6 grupos experimentales: grupo I: blanco con agua destilada; grupo II: etanol 70 %; grupo III: extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (EHHMO) 25 %; grupo IV: EHHMO 50 %; grupo V: EHHMO 75 % y grupo VI: Ciprofloxacino 5 µg. Se realizó análisis varianza y se trabajó con 95 % de confianza.

**Resultados:** El EHHMO fue muy soluble en etanol 70 %, en metanol y soluble en agua destilada, se identificó presencia de alcaloides, taninos, flavonoides compuestos fenólicos, antocianinas, esteroides y/o triterpenoides. El efecto antibacteriano del EHHMO fue a dosis dependiente, en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %. Se obtuvo efecto antibacteriano de 51 %, 62 % y 70 % respectivamente, el efecto de ciprofloxacino fue 73 % frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

**Conclusión:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) presentó efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* a dosis dependiente.

**Palabras claves:** *Moringa oleífera*, antibacteriano, *Staphylococcus aureus*, extracto hidroalcohólico.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the activity of the antibacterial effect *in vitro* of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Moringa oleifera* Lam (moringa) against the strain of *Staphylococcus aureus*.

**Methods:** The research design was experimental, simple random sampling, analytical, descriptive, quantitative, and cross-sectional approach. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strains were used, 6 experimental groups were formed: group I: blank with distilled water; group II: ethanol 70 %; group III: hydroalcoholic extract of the leaves of *Moringa oleifera* Lam (EHHMO) 25 %; group IV: EHHMO 50 %; group V: EHHMO 75 % and group VI: Ciprofloxacin. Variance analysis was carried out and it was worked with 95 % confidence.

**Results:** EHHMO was very soluble in 70 % ethanol, in methanol and soluble in distilled water, the presence of alkaloids, tannins, flavonoids, phenolic compounds, anthocyanins, steroids and / or triterpenoids was identified. The antibacterial effect of EHHMO was dose dependent, at concentrations of 25 %, 50 % and 75 %. An antibacterial effect of 51 %, 63 % and 70 % was obtained respectively, the effect of ciprofloxacin was 73 % against *Staphylococcus aureus* strains.

**Conclusion:** The hydroalcoholic extract of the leaves of *Moringa oleifera* Lam (moringa) showed an antibacterial effect *in vitro* against the *Staphylococcus aureus* strain at a dependent dose.

**Key words.** *Moringa oleifera*, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, hydroalcoholic extract.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones de piel y tejidos a nivel de epidermis es la causa más frecuente de infecciones por *Staphylococcus aureus*, originando un 90-96 % de infectados producidas por esta bacteria <sup>1,2</sup> aconteciendo que es la causa más común de patología ocasionada por cepas resistentes a la meticilina obtenida en la población mundial <sup>3</sup>.

El organismo internacional especializada en salud pública de las Américas también conocida como OPS indica los más perjudicados por *Staphylococcus aureus* son 0,03 % en habitantes que generalmente manifiestan mortalidad, un 4 % en la población infantil y adultos mayores; siendo el 10 % que necesita ayuda galénica <sup>4</sup>.

Son 3 nosocomios limeños donde se separaron a 276 cepas de *Staphylococcus aureus*, lo cual dio como resultado a 170 cepas que se resisten a la acción de la meticilina, son cepas que derivan de cultivos en sangre, lesiones dérmicas y epitelios epidérmicos en enfermos ambulatorios y enfermos internados en cama de hospital <sup>5</sup>.

El nosocomio Belén en la región Lambayeque, obtuvieron pruebas nasofaríngeas en setenta personas del área médica; obteniendo una situación alarmante, debido que hallaron colonias de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pneumoniae* resistentes a los betalactámicos ocasionadas por estos microorganismos <sup>6</sup>.

Los antibióticos son medicamentos que se manejan para tratar infecciones con bacterias. Ciertos microorganismos poseen la función de transformarse utilizando dichos fármacos, ocasionando fármaco-resistencia, causando que las infecciones alcancen niveles complejos de manejar, produciéndose un incremento en los precios de los fármacos y alargando el internamiento hospitalario y acrecentando el peligro de deceso <sup>7,8</sup>.

*Staphylococcus aureus* pertenece a los seis microorganismos más frecuentes en el trabajo sanitario habitual, ocasionando múltiples patologías, iniciando en condiciones muy simples hasta más complejas, así sea por un acto inmediato o mediante sus toxinas. Es una bacteria con una elevada capacidad de producir

enfermedad, invadir dermis, fosas nasales, zona inguinal, axilar, zona del periné y faríngeo <sup>9</sup>.

Nuestro país cuenta con una extensa flora y fauna que es continuamente explotada por profesionales para descubrir propiedades terapéuticas en sus innumerables recursos. Las diferentes regiones del país Costa, Sierra y Selva, cuentan en sus entrañas con especies vegetales las cuales aún no se han desarrollado en estudios de medicamentos <sup>10</sup>.

Los antibióticos son fármacos que al ser administrados a diferentes concentraciones van a inhibir o destruir a los gérmenes causantes de enfermedades. Sin embargo, el uso indiscriminado de antibióticos genera problemas relacionados con los medicamentos, y resistencia bacteriana, es una situación que nos conlleva a indagar nuevas opciones y adquirir un beneficio natural para el tratamiento de estas enfermedades <sup>11,12</sup>.

La *Moringa oleífera* Lam (moringa), corresponde a la clase moringaceae son la familia del género Moringa muy buscada. Esta planta originaria en el sur del Himalaya, al noreste en la India, Afganistán, Pakistán y Bangladesh. Es sembrado a nivel mundial; es conocido con numerosos nombres comunes: árbol de la vida, palo jeringa, acacia y jazmín francés, etc. Es un árbol que resalta por sus variadas utilizaciones y se adecúa a diferentes medios climáticos, siendo una alternativa para la nutrición, especialmente en países de zonas cálidas <sup>13,14</sup>. Las poblaciones del Perú y del mundo reporta que la *Moringa oleífera* Lam (moringa) es utilizada de forma tradicional para numerosos padecimientos, puede usarse como antianémico, antiinflamatorio, diurético; sin embargo, la actividad antibacteriana es poco estudiada con esta planta y los reportes para el estudio son favorables referente a esto <sup>15,16,17</sup>.



**Figura 1.** *Moringa oleífera* Lam (moringa).  
**Fuente.** Pérez et al., 2010

*Staphylococcus aureus* forma parte de la familia *Staphylococcaceae*. Es grampositivo, aun cuando sean cepas antiguas o los microorganismos que se fagocitan se colorean como Gram negativo. Posee aspecto de racimos y aparece en pares, en cadenas o cocos. La dimensión varía desde 0,8 a 1,5 micras de diámetro, está inactivo y ciertas cepas generan una cápsula externa mucoide que incrementa su potencia de infección <sup>18,19</sup>.

Entre los antecedentes al desarrollo del trabajo de investigación se dispone de los siguientes:

**Chero V. (2018)**, comparó la actividad antibacteriana “*in vitro*” en el extracto hidroetanólico acuoso de las hojas de *Moringa oleífera* contra *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Al hacer frente a la bacteria y los extractos hidroetanólicos, consiguió aureolas estándares de inhibición 17,96 y 15,27 mm en densidades 76 mg/mL y 38 mg/mL; por lo tanto, estos extractos acuosos ninguno mostró aureolas de inhibición. Concluyó que estos extractos hidroetanólicos de 76 mg/mL y 38 mg/mL adquieren actividad antibacteriana frente a *S. mutans* ATCC 35668 <sup>20</sup>.

**Cáceres R. (2018)**, determinó la actividad antibacteriana en el extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleífera* “moringa” que comprobó con ciprofloxacino 5 µg, con colonias de *Escherichia coli* ATCC 25922. Utilizaron 4 disoluciones (25 %, 50 %, 75 % y 100 %), otro registro efectivo con ciprofloxacino (5 µg), y otro registro neutral con DMSO. Obteniendo del extracto etanólico de las hojas *Moringa oleífera* se observa halos de inhibición desde la disolución del 75 % es 13,90 mm, y el 100

% con halo de inhibición obtuvo 17,70 mm, no obstante, las medidas ninguno traspasa el halo de inhibición de ese fármaco: ciprofloxacino 29,70 mm. Concluyó con el extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleífera* que posee actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 <sup>21</sup>.

**Arévalo O. (2017)**, desarrolló una investigación donde evidenció la actividad antimicrobiana y citotóxica en un par de extractos metanólicos hecho con *Azadirachta indica* (neem) y *Moringa oleífera* (moringa) con colonias de *Enterococcus faecalis*. Usó la técnica de difusión en agar para el sembrado de los extractos y se empleó la concentración mínima inhibitoria (CMI) donde se pudo observar con el extracto de *Moringa oleífera* una gran capacidad antimicrobiana para *Enterococcus faecalis*, consiguiendo un halo de 34,5 mm y 45,83 mm. La CMI para el par de extractos obtuvo 75 µg/mL. La actividad antimicrobiana con el extracto de *Azadirachta indica* (neem) obtuvo un concentrado al 25 µg/mL y el extracto de *Moringa oleífera* ha sido 75 µg/mL <sup>22</sup>.

**Jarrín J. (2018)**, concluyó el efecto antimicótico con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* en distintos valores para la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231. La concentración conseguida con agua purificada ha sido 6,00 mm, continuando el 25 % Moringa en un promedio 10,67 mm, 50 % Moringa en un promedio 16,17 mm, 75 % Moringa en un promedio 19,0 mm, 100 % Moringa en un promedio 22,25 mm y con la Nistatina 100.000 UI/mL un promedio 31,5 mm. Concluyó las colonias de *Cándida albicans* ATCC 10231 muestra susceptibilidad con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* en dos días de incubarse no obstante la Nistatina sobrepasa el efecto antimicótico en distintos concentrados del extracto en evaluación <sup>23</sup>.

**Lema A. (2018)**, evaluó el efecto antimicrobiano “*in vitro*” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mellisa officinalis* (Toronjil) en *Proteus spp*, usando el método de difusión en discos (Kirby-Bauer) contra *Proteus spp*. Optó *Mellisa officinalis* por obtener un alto indicador de 35,7 %. La marcha fitoquímica dio positivo para: saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, chalconas, auronas, alcaloides, y quinonas que forman metabolitos con efecto antibacteriano a diferentes concentraciones, el extracto presentó efecto antibacteriano contra a *Proteus spp*. Se concluye que es una planta medicinal usada para tratar ciertas

infecciones, la misma que presenta actividad antimicrobiana “*in vitro*” frente a *Proteus spp*<sup>24</sup>.

**Salcedo M. (2017)**, determinó la capacidad inhibitoria con el extracto hidroalcohólico de Moringa (*Moringa oleífera*) frente *Streptococcus mutans*. Estudio “*in vitro*”. Demostraron actividad inhibitoria “*in vitro*” contra *Streptococcus mutans* con concentraciones al 75 % y 100 %. No obstante, 0,12 % clorhexidina manifestó una alta actividad inhibitoria “*in vitro*” que los concentrados del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* en las agrupaciones de estudio investigados<sup>25</sup>.

Por lo tanto, esta investigación se justifica puesto que cada día se reportan mayores casos de resistencia bacteriana la cual no puede ser controlada con los antibióticos existentes, además de encontrar nuevas alternativas con propiedades antibacterianas ya que nuestro país no tiene un buen suministro de medicamentos en consecuencia la cobertura de salud es deficiente, lo que puede ocasionar que los pacientes con infecciones pueden ver complicada su tratamiento por falta de estos medicamentos, por consiguiente, deben contar con un tratamiento habitual<sup>26,27</sup>.

El presente estudio busca brindar una alternativa fitoterapéutica que no genere resistencia bacteriana a través de un extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) demostrando su efecto sobre *Staphylococcus aureus*<sup>28</sup>.

El objetivo general del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

La hipótesis general del estudio fue:

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de la investigación

**Enfoque:** Cuantitativa, porque se realizó medición numérica de los elementos que conformaron la muestra <sup>29</sup>.

**Experimental:** Porque se manipuló la variable independiente con la finalidad de observar variación en la variable dependiente, asimismo, se trabajó con grupos controles <sup>29</sup>.

**Analítico:** Porque nos permitió analizar la actividad de los metabolitos secundarios presentes en el extracto vegetal sobre la cepa bacteriana investigada <sup>30</sup>.

**Descriptivo:** Porque nos permitió detallar los resultados obtenidos durante la fase de ensayos experimentales ejecutados <sup>30</sup>.

**Transversal:** Porque el estudio se ejecutará en un periodo establecido, la medición será en una única oportunidad <sup>31</sup>.

### 2.2 Población, muestra y muestreo

La población vegetal estuvo conformada por 6 kg de hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) recolectados en Pampa de Villacurí del distrito de Salas, provincia y departamento de Ica a una altura de 405 m.s.n.m. Para la recolección se usó elementos de protección de bioseguridad vistiendo la indumentaria correcta, las hojas recolectadas fueron colocadas sobre papel Kraft y acondicionados en cajas de cartón, luego fueron embaladas y transportadas a la ciudad de Lima, asimismo se recolectó muestras de diferentes partes de la planta para la identificación botánica de la especie en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Después se realizó la selección de las hojas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, se eliminaron las hojas que presentaron signos de deterioro y en aparente estado de descomposición o

tuvieran contusiones propias del traslado, también los que presentaron signos de picaduras de insectos o contaminación. Luego se realizó el lavado con agua destilada, seguidamente fueron deshidratados en estufa de aire circulante a unos 40 °C durante 5 días.

La muestra deshidratada se procedió a la trituración de las hojas secas con molino eléctrico de cuchilla de acero inoxidable, a continuación, se envasó en frascos ámbar boca ancha de 1 litro. Las hojas pulverizadas se maceraron en etanol 70 % en proporción 1 en 10 (1:10) durante 7 días protegido de la luz y oscuridad con agitación diaria dos veces por día (cada 12 horas) a temperatura ambiente. Finalizada el proceso de maceración, la muestra se filtró primero con gasa estéril y luego con papel de filtro N.º 40 hasta obtener un filtrado uniforme, el filtrado fue colocado en fuentes de pyrex, inmediatamente se colocó en estufa a 40 °C hasta obtención del extracto seco, finalmente el extracto obtenido se acondicionó en frasco color ámbar y se refrigeró hasta su uso.

El muestreo del material vegetal fue aleatorizado, se consideró la zona de recolección.

### **2.3 Variables de investigación**

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Definición conceptual: Los extractos vegetales con las concentraciones al 25 %, 50 % y 75 % *Moringa oleífera* Lam (moringa) se obtienen por técnicas muy variadas, la maceración es uno de los mayormente empleados, los metabolitos secundarios se obtienen dependiendo del solvente usado, si el solvente es polar se obtiene metabolitos polares, a los metabolitos secundarios de las plantas se le atribuyen propiedades terapéuticas beneficiosas para la salud de las personas, los metabolitos pueden ser identificados y cuantificados mediante técnicas de análisis químico e instrumental.

Definición operacional: A partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) obtenida por maceración con etanol 70 % se prepararon concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %. Se realizó prueba de solubilidad y tamizaje fitoquímico del extracto obtenido.

**Variable dependiente:** Efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

Definición conceptual: Los ensayos pre clínicos *in vitro* son ampliamente usados para investigaciones de actividad antibacteriana de diferentes moléculas, una de las técnicas es observar el radio del halo de inhibición de las muestras problemas y comparados con grupos controles, mediante análisis estadísticos se acepta o rechaza la actividad frente a un determinado agente infeccioso.

Definición operacional: El efecto antibacteriano se calculó con la ayuda del método de difusión en pozo y se midió el halo de inhibición del crecimiento bacteriano formado por el extracto frente a *Staphylococcus aureus*.

## 2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada en la investigación fue la de observación directa, el instrumento de recolecciones de datos fue una ficha de observación en donde se registró los resultados observados de la marcha de solubilidad, tamizaje fitoquímico y el ensayo microbiológico.

## 2.5 Proceso de recolección de datos

### 2.5.1 Análisis previo del extracto hidroalcohólico

- a) **Índice afrosimétrico:** Se vertió 0,5 g del extracto seco en un tubo de ensayo y luego se trasvasó 5 mL de agua destilada después se agitó por 3 minutos para verificar la presencia de saponinas.
- b) **Determinación de pH a 25°C:** Se adicionó 0,5 g de extracto seco en un tubo de ensayo con 5 mL de etanol al 70 % y se disolvió en permanente agitación a 25 °C. La medición del pH fue con el equipo potenciómetro de marca ISOLAB.
- c) **Prueba de solubilidad:** En diferentes tubos de ensayo se colocó 0,5 g de extracto seco y se agregó en cada tubo 2 mL de un solvente de diferente polaridad como: etanol al 70 %, cloroformo, éter de petróleo, butanol, metanol, agua destilada, hexano y acetona.

### 2.5.2 Marcha fitoquímica

Se realizó marcha fitoquímica para reconocer los metabolitos secundarios presentes en las plantas, mediante respuestas de pigmentación y/o precipitaciones según el método de Olga Lock <sup>32</sup>.

En un beacker de 50 mL se agregó 0,05 g de extracto seco y 20 mL de etanol al 70 %, luego se homogenizó, posteriormente se adicionó 1 mL en diferentes tubos de ensayo, finalmente se añadió en cada tubo 5 gotas de reactivo específico para identificar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios <sup>32,33</sup>.

El reconocimiento de los metabolitos secundarios se realizó con los siguientes reactivos: Molish (azúcares reductores), Ninhidrina (aminoácidos libres), Dragendorff-Bertrand-Sonnenschein-Mayer (alcaloides), Shinoda (flavonoides), Tricloruro férrico (compuestos fenólicos), Gelatina (taninos), Rosenheim (antocianinas), Lieberman-Burchard (esteroides y/o triterpenoides), y prueba de la espuma (saponinas).

### 2.5.3 Actividad antibacteriana método Kirby Bauer o antibiograma

**a) Preparación del extracto a ensayar:** La preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas secas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) fue a partir del extracto hidroalcohólico, se preparó 5 mL de cada concentración como se indica:

**Tabla 1.** Preparación de concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleífera* Lam para el ensayo experimental *in vitro*.

Porcentaje	Peso extracto (g)	Volumen de etanol 70 % (mL)	Volumen total (mL)
25 %	1,25	3,75	5,00
50 %	2,50	2,50	5,00
75 %	3,75	1,25	5,00

**Fuente.** Elaboración propia

**b) Activación de la cepa:** La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 obtenida y conservada fue activado según las exigencias técnicas que figuran en la hoja de adquisición <sup>34</sup>. (ver anexo)

**c) Preparación del inóculo:** Teniendo en cuenta la turbidez del patrón de la escala de 0,5 McFarland ( $1,0 \times 10^8$  UFC/mL), ya preparado, se hizo el caldo nutritivo con la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, verificando con el patrón anteriormente mencionado se constató la semejanza de turbidez de ambas suspensiones con una luz apropiada en un fondo blanco con líneas negras <sup>35, 36, 37</sup>.

**d) Preparación de los medios de cultivo:** Se preparó el agar Mueller Hinton de acuerdo a las indicaciones del laboratorio y después vertemos 20 mL de la solución en cada una de las placas de 100 mm de diámetro y lo dejamos solidificar a temperatura ambiente <sup>38</sup>. (ver anexo)

**e) Inoculación de las placas:** Se cogió un hisopo estéril y se empapó con la muestra del tubo que contiene el inóculo, se presiona en los bordes del tubo para descartar el exceso de líquido y se sembró de manera uniforme sobre el Agar Mueller Hinton de inmediato se procedió a incubar a 37 °C por 24 horas hasta obtener el incremento de bacterias. Se empleó el método de Kirby-Bauer modificado en pozos, con un sacabocado se realizó 5 pozos de 6 mm de diámetro respectivamente, en donde se aplicó a cada pozo 0,1 mL de las diferentes concentraciones del extracto, un blanco (agua destilada), un control negativo (etanol 70 %) y el control positivo (ciprofloxacino 5 µg) en cada placa para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos de la planta *Moringa oleífera* Lam (moringa) <sup>39, 40</sup>.

**f) Grupos a ensayar:**

Los grupos de ensayos fueron:

Grupo I: Blanco (agua destilada)

Grupo II: Etanol al 70 %

Grupo III: Disolución al 25 % del extracto hidroalcohólico de la moringa

Grupo IV: Disolución al 50 % del extracto hidroalcohólico de la moringa

Grupo V: Disolución al 75 % del extracto hidroalcohólico de la moringa

Grupo VI: Disco con Ciprofloxacino 5 µg

Se realizó seis repeticiones para cada grupo experimental.

**g) Interpretación de los resultados:** Los halos de inhibición de cada placa fueron medidos con una regla digital (vernier) y fueron expresados en milímetros (mm) <sup>41,42</sup>.

## 2.6 Métodos de análisis estadísticos

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se empleó el paquete programa SPSS versión 24. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), las diferencias estadísticas fueron calculados por la prueba de Tukey, se trabajó con nivel de significancia de 95 % ( $p < 0,05$ ). Los datos se presentaron en tablas y gráficas 2018 <sup>43</sup>.

## 2.7. Aspectos éticos

En el estudio se utilizó cuidados específicos en bioseguridad e indumentaria que corresponde a lo largo de toda la indagación haciendo presente el uso de la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*, sobre placas con Agar Mueller Hinton. Al final se respetó los resultados obtenidos durante el proceso de esta investigación siguiendo el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud <sup>44</sup>. Asimismo, se tuvo presente aspectos éticos de no maleficencia porque los datos serán usados con fines académicos y en el futuro puedan ser replicados o sirven de modelo para futuras investigaciones <sup>44</sup>.

### III. RESULTADOS

#### 3.1 De las pruebas de solubilidad

**Tabla 2.** Solubilidad del extracto hidroalcohólico desecado de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

N.º	SOLVENTES	RESULTADOS
1	Etanol 70 %	+++
2	Metanol	+++
3	Agua destilada	++
4	Butanol	+
5	Acetona	-
6	Éter de petróleo	-
7	Cloroformo	-
8	N-hexano	-

**Fuente.** Elaboración propia

Leyenda:

(-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

En la tabla 2, se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico desecado de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa), resultó ser muy soluble en etanol 70 % y en metanol, soluble en agua, poco soluble en butanol e insoluble en acetona, éter de petróleo, cloroformo y n-hexano.

### 3.2 De la marcha fitoquímica

**Tabla 3.** Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico desecado de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Reactivo	Constituyente fitoquímico	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	++
Bertrand	Alcaloides	+
Sonnenschein	Alcaloides	+
Mayer	Alcaloides	++
Rosenheim	Antocianinas	++
Molisch	Azúcares reductores	++
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
Lieberman Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	+
Shinoda	Flavonoides	++
Ninhidrina	Grupo amino libre	-
Espuma	Saponinas	-
Gelatina	Taninos	++

**Fuente.** Elaboración propia

Leyenda:

(-) Ausencia (+) Leve (++) Moderado (+++) Abundante

En la tabla 3, se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa), se detectó presencia moderada de alcaloides, antocianinas, azúcares reductores, flavonoides y taninos, presencia abundante de compuestos fenólicos, presencia leve de esteroides y/o triterpenoides, asimismo, hubo ausencia de grupo amino libre y saponinas.

### 3.3 Del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico

**Tabla 4.** Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Grupos	Tratamiento	Número de placas	Halos de inhibición		% de efecto antibacteriano
			Media	Desviación típica	
I	Blanco (agua destilada)	6	0,00	0,0	0
II	Etanol 70 %	6	6,02	0,4	0
III	EHHMO 25 %	6	12,25*	0,9	51 %
IV	EHHMO 50 %	6	15,73*	0,7	62 %
V	EHHMO 75 %	6	19,98*	0,8	70 %
VI	Ciprofloxacino 5 µg	6	22,38*	1,0	73 %

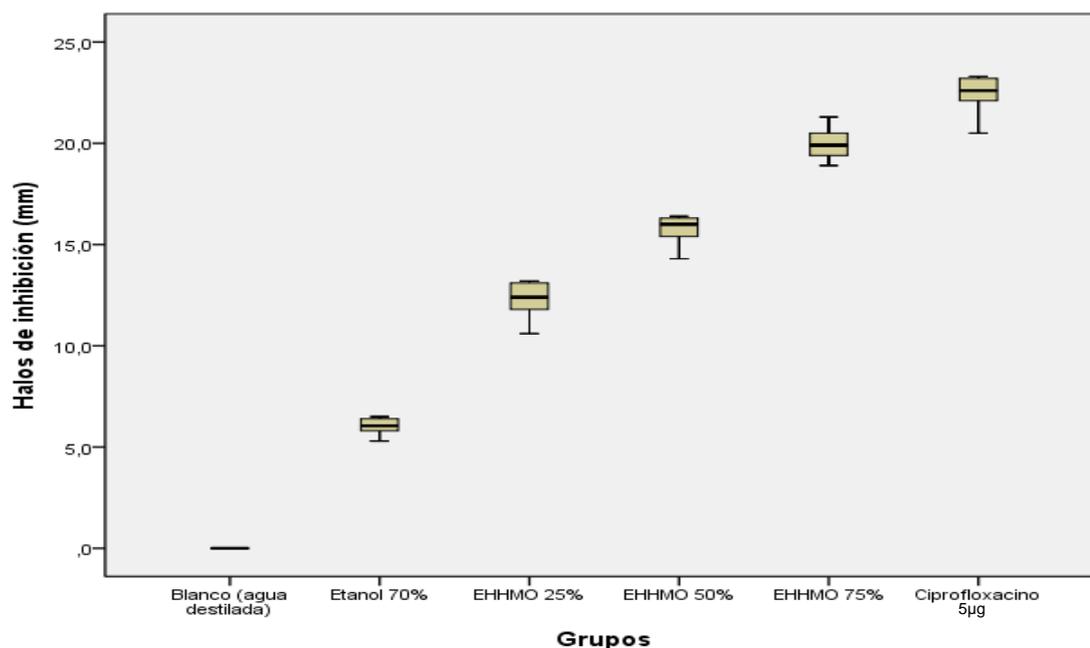
**Fuente.** Elaboración propia

EHHMO = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam

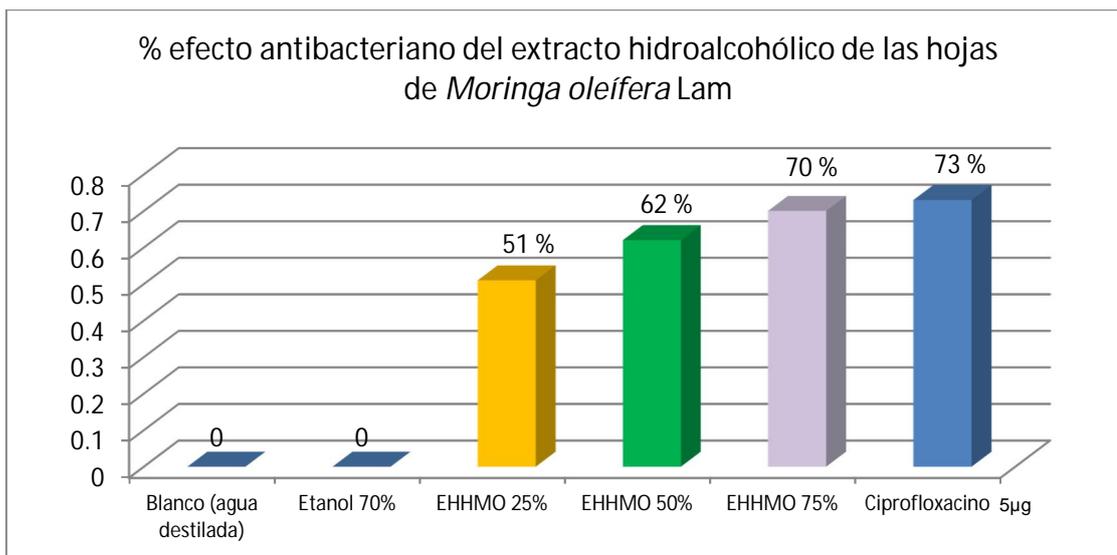
\*p < 0,05

$$\% \text{ efecto antibacteriano} = 100 - \left( \frac{\text{Grupo control}}{\text{Grupo tratado}} \right) \times 100$$

**Figura 2.** Fórmula para determinar el porcentaje del efecto antibacteriano.



**Figura 3.** Promedio de halos de inhibición según grupos de tratamiento en el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam.



**Fuente.** Elaboración propia

**Figura 4.** Porcentaje de efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (moringa) frente a *Staphylococcus aureus*.

En la tabla 4, figura 3 y figura 4 se observan los datos del promedio de halos de inhibición y porcentaje de efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam, el efecto antibacteriano fue a dosis dependiente, es decir, aumentó la concentración del efecto. Hubo 70 % de efecto antibacteriano para la concentración de 75 % del extracto, sin embargo, ciprofloxacino mostró mayor efecto y fue significativo comparado con el extracto.

Para probar la hipótesis general se realizó análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey:

**Hipótesis alterna (H1):** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (moringa) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**Hipótesis nula (H0):** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (moringa) no presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**Tabla 5.** Análisis de Varianza para el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

ANOVA	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significancia
Inter-grupos	2173,019	5	434,604	733,577	,000
Intra-grupos	17,773	30	,592		
Total	2190,792	35			

**Fuente.** Elaboración propia

En la tabla 5 se observa el análisis de varianza (ANOVA), el valor de significancia fue menor a 0,05, por el cual se acepta la hipótesis H1, es decir, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

El análisis ANOVA se usa para identificar diferencias o similitudes en los grupos de tratamiento, si el valor de significancia es menor a 0,05 indica que existe diferencia, caso contrario los efectos son similares. En el estudio se observó que el valor fue menor a 0,05.

**Tabla 6.** Análisis de Tukey para el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Grupos	N.º	Subconjunto para alfa = 0,05					
		1	2	3	4	5	6
Blanco (agua destilada)	6	,000					
Etanol 70 %	6		6,017				
EHHMO 25 %	6			12,250			
EHHMO 50 %	6				15,733		
EHHMO 75 %	6					19,983	
Ciprofloxacino 5 µg	6						22,383
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**Fuente.** Elaboración propia

EHHMO = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam

En tabla 6, se observa que el grupo tratado con ciprofloxacino 5 µg tiene mayor efecto antibacteriano cuando aumentó la concentración, es decir, la concentración al 75 % tuvo mayor y significativo efecto que las otras concentraciones ( $p < 0,05$ ). Por tanto, se acepta la hipótesis de trabajo H1.

### Prueba de hipótesis específica 1

**H1:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) tiene metabolitos secundarios.

**H0:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) no tiene metabolitos secundarios.

Esta hipótesis es de tipo cualitativo, por tanto, no requiere análisis estadístico, los resultados se presentan y explican en la tabla 3, el cual evidencia la presencia de metabolitos secundarios en la muestra, por tanto, se acepta la hipótesis H1.

### Prueba de hipótesis específica 2

**H2:** Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) que posee efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**H0:** No existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) que posee efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**Tabla 7.** Análisis de Tukey para el efecto antibacteriano de la concentración al 75 % del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam.

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %	
				Límite inferior	Límite superior
EHHMO 75 %	Blanco (agua destilada)	19,9833	,000	18,632	21,335
	Etanol 70 %	13,9667	,000	12,615	15,318
	EHHMO 25 %	7,7333	,000	6,382	9,085
	EHHMO 50 %	4,2500	,000	2,898	5,602
	Ciprofloxacino 5 µg	-2,4000	,000	-3,752	-1,048

**Fuente.** Elaboración propia

EHHMO = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam

En tabla 7, se observa que la concentración al 75 % del extracto hidroalcohólico tuvo mayor efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* respecto a las otras concentraciones y fue significativa ( $p < 0,05$ ); sin embargo, comparado con el grupo de ciprofloxacino 5  $\mu\text{g}$  su efecto antibacteriano fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ). Por tanto, se acepta la hipótesis H2, es decir; existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) que posee efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

### Prueba de hipótesis específica 3

**H3.** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) tiene efecto antibacteriano *in vitro* en comparación con ciprofloxacino 5  $\mu\text{g}$  frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**H0:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) no tiene efecto antibacteriano *in vitro* en comparación con ciprofloxacino 5  $\mu\text{g}$  frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

**Tabla 8.** Análisis de Tukey para el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) en relación al grupo de ciprofloxacino 5  $\mu\text{g}$ .

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %	
				Límite inferior	Límite superior
Ciprofloxacino 5 $\mu\text{g}$	Blanco (agua destilada)	22,3833	,000	21,032	23,735
	Etanol 70 %	16,3667	,000	15,015	17,718
	EHHMO 25 %	10,1333	,000	8,782	11,485
	EHHMO 50 %	6,6500	,000	5,298	8,002
	EHHMO 75 %	2,4000	,000	1,048	3,752

**Fuente.** Elaboración propia

EHHMO = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam

En la tabla 8 se aprecia que el grupo ciprofloxacino 5  $\mu\text{g}$  tuvo efecto antibacteriano significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) respecto a las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera*

Lam. Por tanto, se acepta la hipótesis H3, es decir; el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) tiene efecto antibacteriano in vitro en comparación con ciprofloxacino 5 µg frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observan en la tabla 2 que el extracto presenta solubilidad frente a solventes de naturaleza polar, fue muy soluble en etanol 70 % y metanol, soluble en agua destilada y poco soluble en butanol, esta propiedad permite deducir que los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam son polares, es decir que sus compuestos estarían formando puentes de hidrógeno con el solvente y facilitarían la solubilidad; Lock O. (2016)<sup>32</sup> indica que compuestos como alcaloides, flavonoides, antocianinas o compuestos fenólicos presentan solubilidad en solventes polares.

En la tabla 3, se observa la presencia de alcaloides, antocianinas, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y/o triterpenoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam, estos compuestos tienen en su estructura química grupos hidroxilos que le confieren característica polar, esto explicaría la solubilidad en solventes polares. Jarrín J. (2018) en su estudio sobre efecto antimicótico de extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleífera*, halló la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos y taninos como principales componentes<sup>23</sup>, resultados que son semejantes a los obtenidos en este estudio. Asimismo, Arévalo O. (2017) en su estudio sobre actividad citotóxica y antibacteriana de extractos de hojas de moringa, encontró la presencia de flavonoides, alcaloides, esteroides y/o triterpenoides, de igual forma resultados que son semejantes a los hallados en este estudio<sup>22</sup>. Lema A. (2018) en su estudio de efecto antibacteriano de extractos de *Mellisa officinalis*, hallaron en el extracto presencia de flavonoides, chalconas, auronas, quinonas y alcaloides los mismos que evidenciaron tener efecto antibacteriano *in vitro*<sup>24</sup>. Estos resultados en base a los componentes químicos similares a lo encontrado en el presente estudio.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 4, se observa que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) presentó efecto antibacteriano *in vitro*, este efecto fue mayor con la concentración 75 % del extracto de moringa, sin embargo este efecto fue

significativamente menor comparado con el grupo control farmacológico ciprofloxacino, Chero V. (2018) en su estudio sobre actividad antibacteriana del extracto de hojas de moringa frente a *Streptococcus mutans*, observaron halos de inhibición promedio entre 15,27 y 17,96 mm de diámetro<sup>20</sup>, estos resultados son parecidos a lo descrito en el presente estudio. Cáceres R. (2018) en su estudio sobre actividad antibacteriana de extracto de hojas de moringa y comparado con ciprofloxacino, hallaron que el mayor halo de inhibición fue 17,70 mm para el extracto de moringa y 29,70 mm para ciprofloxacino, indicaron que el extracto presentó efecto antibacteriano, pero a la vez fue significativamente menor que el efecto de ciprofloxacino, estos hallazgos son semejantes con nuestro estudio. Por otro lado, los resultados son semejantes al estudio de Salcedo M. (2017) sobre capacidad inhibitoria de extractos de hojas de moringa frente a *Streptococcus mutans*, hallaron que concentraciones de 75 % del extracto tuvo efecto antibacteriano *in vitro* significativo comparado con el grupo control.

## 4.2. Conclusiones

Según los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- El extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa), presentó abundantes compuestos fenólicos, presencia moderada de alcaloides, taninos, flavonoides, antocianinas y leve presencia de esteroides y/o triterpenoides, los mismos que podrían ser en conjunto los responsables del efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.
- Se determinó que las concentraciones al 25 % y 50 % del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) presentaron efecto antibacteriano, pero no alcanzaron al grupo control positivo frente a *Staphylococcus aureus*.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) al 75 % presentó efecto antibacteriano *in vitro* ligeramente cercana al grupo control frente a *Staphylococcus aureus*.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) al 75 % presentó un halo de inhibición promedio de 19,98 mm, pero fue inferior a ciprofloxacino 5 µg con halo de inhibición promedio de 22,38 mm. Con esto se concluye la efectividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a dosis dependiente.

### 4.3 Recomendaciones

- Realizar investigaciones más profundas de los recursos vegetales empleados en la terapéutica con la finalidad de evidenciar la seguridad de los mismos mediante estudios de toxicidad aguda y subaguda.
- Realizar investigaciones para cuantificar y elucidar la estructura química de los principales metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa).
- Realizar estudios in vivo sobre actividad antibacteriana y determinar la dosis efectiva media, así como los principales parámetros farmacocinéticos como la concentración plasmática máxima, volumen de distribución, tiempo de vida y principales vías de metabolismo y excreción.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barrios-López M, Rojo-Conejo P, Gómez-González C, Chaves-Sánchez F. Infecciones neonatales por *Staphylococcus aureus* de inicio en la comunidad. Rev Enferm Infecc Microbiol Clin. 2013. [acceso: 13/04/2021]; 31(5): 316-318. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.10.013>
2. Arteaga-Bonilla R, Arteaga-Michel R. Infecciones estafilocócicas. Rev Bol Ped. 2005. [acceso: 13/04/2021]; 44(3): 438-43. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1024-06752005000300010](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752005000300010)
3. Bocchini C, Hulten K, Mason E, Gonzalez B, Hammerman W, Kaplan S. Los genes de leucocidina de Pantón-Valentine están asociados con una mayor respuesta inflamatoria y enfermedad local en la osteomielitis aguda hematógena por *Staphylococcus aureus* en niños. Rev Pediatrics. 2006. [acceso: 13/04/2021]; 117(2): 433-40. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16452363/>
4. Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. 2019. [acceso: 13/04/2021]. Disponible en: [https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10537:sumario-guia-veta-investigacion-brotos&Itemid=41417&lang=es](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10537:sumario-guia-veta-investigacion-brotos&Itemid=41417&lang=es)
5. Tamariz J, Agapito J, Horna G, Tapia E, Vicente W, Silva M, Zerpa R. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. Rev Med Hered. 2010. [acceso: 13/04/2021]; 21(1): 4-10. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v21n1/v21n1ao1.pdf>
6. Aguilar-Gamboa F, Niño-Valiente J, Moreno-Mantilla M. Portadores nasofaríngeos de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en

personal de Salud del Hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque. Rev Exp Med. 2015. [ acceso: 13/04/2021]; 1(2): 47-51. Disponible en: <http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/17>

7. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos. 2020. [acceso: 27/04/2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>
8. Organización Mundial de la Salud. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. 2018. [acceso: 27/04/2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/29-01-2018-high-levels-of-antibiotic-resistance-found-worldwide-new-data-shows>
9. Pacherras-Bustamante L, Aguilar-Gamboa F, Silva-Díaz H. Frecuencia y características epidemiológicas de las bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en la unidad de cuidados intensivos de un hospital del norte del Perú. Rev Exp Med. 2019. [acceso: 27/04/2021]; 5(2): 70-5. Disponible en: <http://www.rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/341>
10. Rengifo E. Legislación de Fitofármacos en el Perú. Rev Inf Cient. 2009. [acceso: 27/04/2021]; 8(1): 58-62. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85680110.pdf>
11. Gonzáles-Mendoza J, Maguiña-Vargas C, Gonzáles-Ponce F. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. Rev Acta Med Perú. 2019. [acceso: 27/04/2021]; 36(2): 145-51. Disponible en: <https://amp.cmp.org.pe/index.php/AMP/article/view/816>
12. Aguirre Y. Determinación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la raíz de *Cúrcuma longa* en *Cándida albicans* y *Estafilococo*

*aureus*. [Tesis para optar al Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2017.

13. Arias C. Estudio de las posibles zonas de introducción de la *Moringa oleífera* en la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias. [Tesis para optar al Grado de Ingeniero]. España: Universidad Politécnica de Madrid; 2014.
14. Olson M, Fahey J. *Moringa oleífera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. Rev. Mex Biodiv. 2011. [acceso: 27/04/2021]; 82(4): 1071-1082. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-34532011000400001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532011000400001)
15. Martín C, Martín G, García A, Fernández Teresa, Hernández Ena, Puls, J. Potenciales aplicaciones de *Moringa oleífera*. Una revisión crítica. Rev Past y Forr. 2013. [acceso: 27/04/2021]; 36(2): 137-149. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942013000200001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000200001)
16. Álvarez A. Valor Nutricional de la *Moringa oleífera*. Mito o Realidad Sistematización de experiencias prácticas de investigación e intervención. [Tesis para optar al título de Ingeniero en Alimentos]. Quito: Universidad San Francisco de Quito; 2017.
17. Chepote M. Siembra del cultivo de Moringa (*Moringa oleífera*) en la Pampa Villacurí, Departamento de Ica. [Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo]. Lima: Universidad Agraria La Molina; 2018.
18. Álvarez I, Ponce J. *Staphylococcus aureus*, evolución de un viejo patógeno. Rev cubana Pediatr. 2012. [acceso: 28/04/2021]; 84(4): 383-391. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75312012000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312012000400007)

19. Cervantes E. *et al.* Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014. [acceso: 28/04/2021]; 61(1): 28-40. Disponible en: [https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf?fbclid=IwAR3ddU0\\_wZQcPIDWhwzX7Lc1FsYju5B\\_kvGtWkmvzNtMh8WIV6JyrkgeEn4](https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf?fbclid=IwAR3ddU0_wZQcPIDWhwzX7Lc1FsYju5B_kvGtWkmvzNtMh8WIV6JyrkgeEn4)
20. Chero, V. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de *Moringa oleífera* sobre *Streptococcus mutans*. [Tesis para optar al Título Profesional de Cirujano Dentista]. Pimentel: Universidad Señor de Sipán; 2018.
21. Cáceres, R. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleífera* “moringa” comparado con ciprofloxacino a 5 µg, sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922. [Tesis para optar al Título Profesional de Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad César Vallejo; 2018.
22. Arévalo O. Efecto antibacteriano y citotóxico de los extractos metabólicos a base de *Moringa oleífera* (moringa) y *Azadirachta indica* (neem) sobre cepas de Enterococos fecales. [Tesis para optar al Título Profesional de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2017.
23. Jarrín J. Actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa Oleífera* al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % sobre cepas de *Cándida Albicans*. [Tesis para optar al Título Profesional de Odontología]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2018.
24. Lema A. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (toronjil) en *Proteus spp.* [Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Farmacia Clínica y Hospitalaria]. Ambato: Universidad Regional Autónoma de los Andes; 2018.
25. Salcedo, M. Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa (Moringa oleífera)* en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % sobre

- Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. [Tesis para optar al Título Profesional de Odontología]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2017.
- 26.** Soria N, Ramos P. Uso de plantas medicinales en la atención primaria de la salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. Rev Mem Inst. Investig Cienc Salud. 2017. [acceso: 28/04/2021]; 13(2): 8-17. Disponible en: [https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013\(02\)08-017](https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013(02)08-017)
- 27.** Pérez M, Cabrera L, Colina G. Actividad antibacteriana in vitro de extractos acuoso de *Moringa oleífera* sobre especies patógenas intrahospitalarias. Rev Investig Estud Univ Zulia. 2018. [acceso: 28/04/2021]; 8(2): 61-67. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/353464043\\_ITEMS\\_ALIMENTICIOS\\_DE\\_Echinometra\\_lucunter\\_EN\\_LITORALES\\_ROCOSOS\\_DEL\\_NOROCCIDENTE\\_DE\\_VENEZUELA](https://www.researchgate.net/publication/353464043_ITEMS_ALIMENTICIOS_DE_Echinometra_lucunter_EN_LITORALES_ROCOSOS_DEL_NOROCCIDENTE_DE_VENEZUELA)
- 28.** Rojas J, García A, López A. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. Rev Inf Cient. 2005. [acceso: 29/04/2021]; 4(2): 28-32 Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85640204.pdf>
- 29.** Sánchez H, Reyes C, Mejía K. Manual de términos en investigación científica, tecnológica y humanística. 1ed. Lima: Editorial Universidad Ricardo Palma; 2018.
- 30.** Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 5ed. México: Editorial McGraw-Hill; 2010.
- 31.** Arispe C, Yangali J, Guerrero M, Lozada O, Acuña L, Arellano C. La investigación científica. 1ed. Guayaquil: Editorial Departamento de investigación y Postgrados Universidad Internacional del Ecuador; 2020.

32. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos para el estudio de productos naturales. 3ed. Lima: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
33. Cabrera J. Evaluación del contenido de alcaloides, flavonoides, taninos y aceites esenciales en tres estados de maduración y recolección de la moringa (*Moringa oleífera*). [Tesis para optar al título de Bioquímico Farmacéutico]. Machala: Universidad Técnica de Machala; 2014.
34. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Rev Fefmur. 2006. [acceso:29/04/2021]; 36(1): 665-668. Disponible en: [https://scholar.google.com/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=es&user=XgRmdOgAAAAJ&citation\\_for\\_view=XgRmdOgAAAAJ:Y0pCki6q\\_DkC](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=XgRmdOgAAAAJ&citation_for_view=XgRmdOgAAAAJ:Y0pCki6q_DkC)
35. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades y Organización Mundial de la Salud. Apéndice 2 (Continuación). Medios, reactivos y control de calidad. Rev Med Labo. 2009. [acceso: 29/04/2021]; 15(11-12): 549-587. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2009/myl0911-12d.pdf>
36. Barbarán C. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos vegetales de las especies de Tabernaemontana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico]. Loreto: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2014.
37. Prats G. Microbiología y Parasitología Médica. 1ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2006.
38. Montero-Recalde M, Vayas L, Avilés-Esquivel D, Pazmiño P, Erazo-Gutiérrez V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. Rev Inv Vet Perú. 2018. [acceso: 30/04/2021]; 29(4): 1543-1547. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/15185/13328>

39. W-Bauer A, M-Kirby W, C-Sherris J, Turck M. Prueba de susceptibilidad a los antibióticos mediante un método estandarizado de disco único. Rev Am J Clin Pathol. 1966. [acceso: 30/04/2021]; 45(4): 493-496. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/45/4 ts/493/4821085>
40. Bernal-R M, Guzmán-U M. El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. Rev Biomed. 1984. [acceso: 30/04/2021]; 4(3-4): 1-10. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891/1917>
41. Zhurbenko R, Viera-Oramas D, Rodríguez-Martínez C, Ortega-Surís A. Optimización de la formulación de agar de Mueller-Hinton. Rev Cienc Biol. 2010. [acceso: 30/04/2021]; 41(1): 1-12. Disponible: [https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220509011.pdf?fbclid=IwAR0z\\_vZxY1m5sPPze\\_S3EcJ-8OVRe\\_GJdpGJ5Y3xjrsbJyD-cWENn-anGy0](https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220509011.pdf?fbclid=IwAR0z_vZxY1m5sPPze_S3EcJ-8OVRe_GJdpGJ5Y3xjrsbJyD-cWENn-anGy0)
42. Picazo J, Prieto J. Compendio de Microbiología. 2ed. Madrid: Editorial Elsevier; 2016.
43. Salas A. Métodos estadísticos para la Investigación Científica. 1ed. Guayaquil: Editorial Grupo Compás; 2018.
44. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3ed. Ginebra: Editorial de la OMS; 2017. [acceso: 04/05/2021]. Disponible en: [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf)

## ANEXOS

### Anexo A. Operacionalización de las variables

VARIABLES	Tipo de variable	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	N° DE ITEMS	VALOR FINAL	CRITERIOS
INDEPENDIENTE Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa).	Cualitativo	Los extractos vegetales se obtienen por técnicas muy variadas, la maceración es uno de los mayormente empleados, los metabolitos secundarios se obtienen dependiendo del solvente usado, si el solvente es polar se obtiene metabolitos polares, a los metabolitos secundarios de las plantas se le atribuyen propiedades terapéuticas beneficiosas para la salud de las personas, los metabolitos pueden ser identificados y cuantificados mediante técnicas de análisis químico e instrumental.	A partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) obtenida por maceración con etanol 70 % se prepararon concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %. Se realizó prueba de solubilidad y tamizaje fitoquímico al extracto obtenido.	Marcha fitoquímica y prueba de solubilidad	Presencia de metabolitos secundarios	13	(+++) Abundante (++) Moderado (+) Leve (-) Ausencia	Presencia o ausencia
					Solventes de variada polaridad	8	(-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble	
				Extracto hidroalcohólico seco	Concentración del extracto	3	25 % 50 % 75 %	Concentración de la solución
DEPENDIENTE Efecto antibacteriano frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Cuantitativo	Los ensayos pre clínicos in vitro son ampliamente usados para investigaciones de actividad antibacteriana de diferentes moléculas, una de las técnicas es observar el radio del halo de inhibición de las muestras problemas y comparados con grupos controles, mediante análisis estadísticos se acepta o rechaza la actividad frente a un determinado agente infeccioso.	El efecto antibacteriano se calculó con la ayuda del método de difusión en pozo y se midió el halo de inhibición del crecimiento bacteriano formado por el extracto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	Efecto antibacteriano	Halo de inhibición expresado en milímetro (mm)	6	% de efecto antibacteriano	Promedios de halo de inhibición

## Anexo B. Instrumento de recolección de datos

### a. Prueba de solubilidad

Nº	SOLVENTES	RESULTADOS
1	Etanol 70 %	
2	Metanol	
3	Agua destilada	
4	Butanol	
5	Acetona	
6	Éter de petróleo	
7	Cloroformo	
8	N-hexano	

**Fuente.** Elaboración propia

Leyenda:

(-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

### b. Marcha fitoquímica

Reactivo	Constituyente fitoquímico	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	
Bertrand	Alcaloides	
Sonnenschein	Alcaloides	
Mayer	Alcaloides	
Rosenheim	Antocianinas	
Molisch	Azúcares reductores	
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	
Lieberman Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	
Shinoda	Flavonoides	
Ninhidrina	Grupo amino libre	
Espuma	Saponinas	
Gelatina	Taninos	

**Fuente.** Elaboración propia

Leyenda:

(-) Ausencia (+) Leve (++) Moderado (+++) Abundante

### c. Efecto antibacteriano

Grupos	Tratamiento	Número de placas	Halos de inhibición		% de efecto antibacteriano
			Media	Desviación típica	
I	Blanco (agua destilada)				
II	Etanol 70 %				
III	EHHMO 25 %				
IV	EHHMO 50 %				
V	EHHMO 75 %				
VI	Ciprofloxacino 5 µg				

**Fuente.** Elaboración propia

EHHMO = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam

## ANEXO C. Clasificación Taxonómica

 <p>VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO</p>	<p><b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b> Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b></p>	 <p>100 años Museo de Historia Natural UNMSM Fundado en 1919</p>
---	--	---

---

**"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"**

**CONSTANCIA N° 401-USM-2019**

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Mirtha Giovanna Díaz Buendía y Rosa Belinda Díaz Genebrozo**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Moringa oleifera* Lam.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: DILLENIIDAE**

**ORDEN: CAPPARALES**

**FAMILIA: MORINGACEAE**

**GENERO: *Moringa***

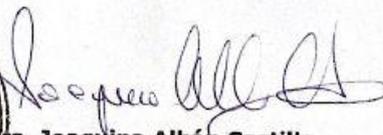
**ESPECIE: *Moringa oleifera* Lam.**

Nombre vulgar: "Moringa"  
Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo y Blgo. José Campos

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere conveniente.

Lima, 25 de noviembre de 2019





**Dra. Joaquina Albán Castillo**  
JEFE JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb

## ANEXO D. Certificado de la Cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Staphylococcus aureus subsp. aureus <b>Catalog Number:</b> 0360 <b>Lot Number:</b> 360-419** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25923™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2020/10/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Kieshia L Negen <b>Release Date:</b> 2018/11/29
---	--

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic	<b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	<b>Method:</b> Gram Stain (1)

<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm
	 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Meaning of Score Values

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

### Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*  
 Sample Description: 0380  
 Sample ID: 360-407  
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++)(A)	360-407	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.34

Comments:

N/A
-----

## ANEXO E. Evidencias fotográficas del trabajo de campo



**Figura 5.** Separación de la muestra vegetal



**Figura 6.** Preparación del macerado del extracto hidroetanólico de *Moringa oleifera* Lam (moringa)



**Figura 7.** Obtención del extracto hidroetanólico de la *Moringa Oleífera* Lam (moringa)



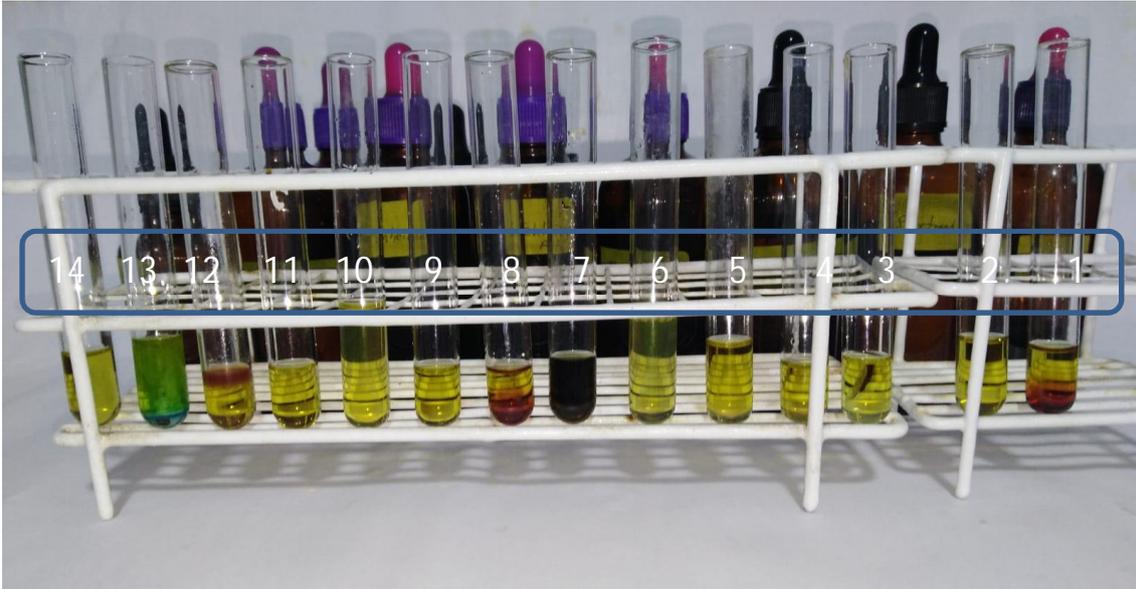
**Figura 8.** Secado del extracto hidroetanólico de la *Moringa Oleifera* Lam (moringa)



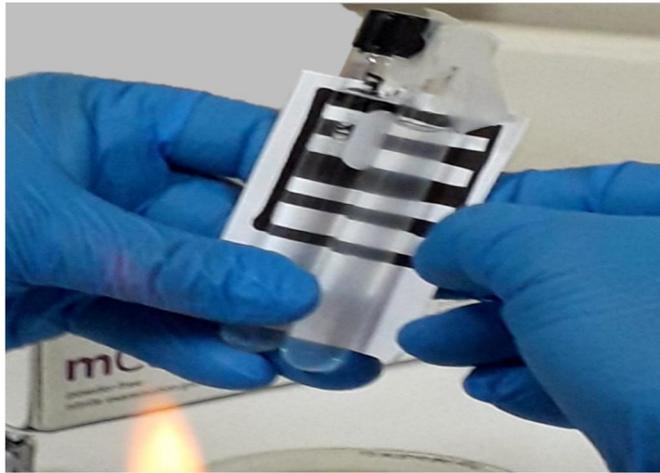
**Figura 9.** Prueba de solubilidad



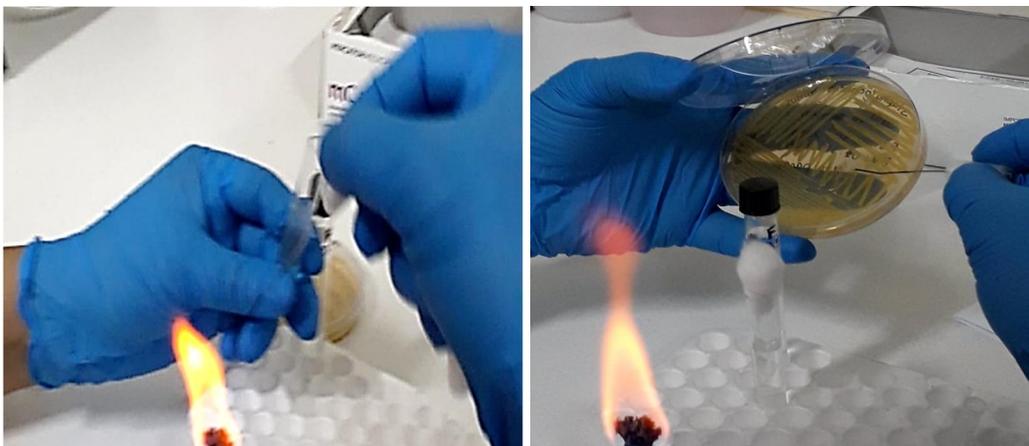
**Figura 10.** Marcha fitoquímica



**Figura 11. Resultado de la marcha fitoquímica:** 1=Dragendorff; 2=Bertrand, 3=Sonnenschein; 4=Mayer; 5=Gelatina; 6=Shinoda; 7=Tricloruro férrico; 8=Rosenheim; 9=Lieberman Burchard; 10=Prueba de espuma; 11=Ninhidrina; 12=Molisch; 13= Fehling; 14=Blanco



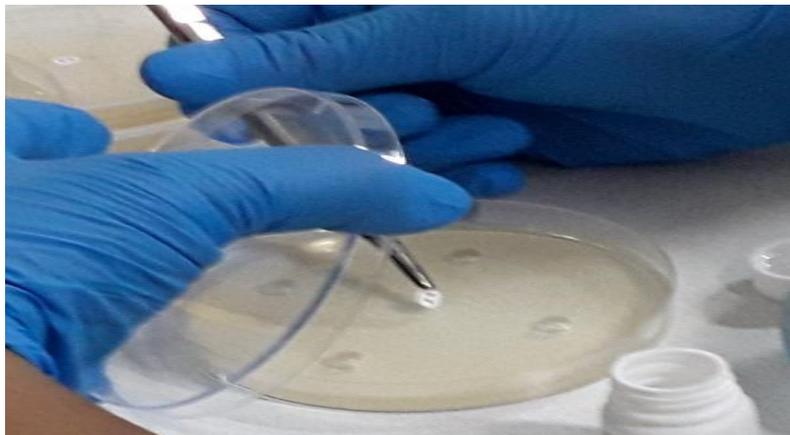
**Figura 12. Activación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**Figura 13. Sembrado en placa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**Figura 14.** Preparación de pozos en Agar Mueller Hinton



**Figura 15.** Colocación del disco



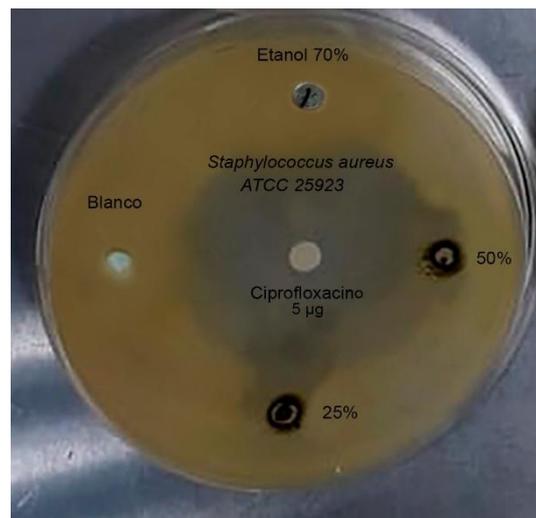
**Figura 16.** Aplicación del extracto hidroalcohólico de la *Moringa Oleífera* Lam (moringa)



**Figura 17.** Incubación de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con el extracto hidroalcohólico y controles a 37 °C por 24 horas



**Figura 18.** Medición de los halos de inhibición mediante vernier digital



**Figura 19.** Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la *Moringa Oleífera* Lam (moringa) al 25 % y 50 % frente a cepa de *Staphylococcus aureus*



**Figura 20.** Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la *Moringa Oleífera Lam* (moringa) al 25 % y 75 % frente a cepa de *Staphylococcus aureus*



**Figura 21.** Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la *Moringa Oleífera Lam* (moringa) al 50 % y 75 % frente a cepa de *Staphylococcus aureus*

## Anexo F. Comparaciones múltiples de análisis de tukey

Análisis	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %	
					Límite inferior	Límite superior
Tukey	Blanco (agua destilada)	Etanol 70 %	-6,0167	,000	-7,368	-4,665
		EHHMO 25 %	-12,2500	,000	-13,602	-10,898
		EHHMO 50 %	-15,7333	,000	-17,085	-14,382
		EHHMO 75 %	-19,9833	,000	-21,335	-18,632
		Ciprofloxacino 5 µg	-22,3833	,000	-23,735	-21,032
	Etanol 70 %	Blanco (agua destilada)	6,0167	,000	4,665	7,368
		EHHMO 25 %	-6,2333	,000	-7,585	-4,882
		EHHMO 50 %	-9,7167	,000	-11,068	-8,365
		EHHMO 75 %	-13,9667	,000	-15,318	-12,615
		Ciprofloxacino 5 µg	-16,3667	,000	-17,718	-15,015
	EHHMO 25 %	Blanco (agua destilada)	12,2500	,000	10,898	13,602
		Etanol 70 %	6,2333	,000	4,882	7,585
		EHHMO 50 %	-3,4833	,000	-4,835	-2,132
		EHHMO 75 %	-7,7333	,000	-9,085	-6,382
		Ciprofloxacino 5 µg	-10,1333	,000	-11,485	-8,782
	EHHMO 50 %	Blanco (agua destilada)	15,7333	,000	14,382	17,085
		Etanol 70 %	9,7167	,000	8,365	11,068
		EHHMO 25 %	3,4833	,000	2,132	4,835
		EHHMO 75 %	-4,2500	,000	-5,602	-2,898
		Ciprofloxacino 5 µg	-6,6500	,000	-8,002	-5,298
	EHHMO 75 %	Blanco (agua destilada)	19,9833	,000	18,632	21,335
		Etanol 70 %	13,9667	,000	12,615	15,318
		EHHMO 25 %	7,7333	,000	6,382	9,085
		EHHMO 50 %	4,2500	,000	2,898	5,602
		Ciprofloxacino 5 µg	-2,4000	,000	-3,752	-1,048
	Ciprofloxacino 5 µg	Blanco (agua destilada)	22,3833	,000	21,032	23,735
		Etanol 70 %	16,3667	,000	15,015	17,718
		EHHMO 25 %	10,1333	,000	8,782	11,485
EHHMO 50 %		6,6500	,000	5,298	8,002	
EHHMO 75 %		2,4000	,000	1,048	3,752	

Fuente. Elaboración propia

EHHMO = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam

## Anexo G. Prueba de normalidad

Halos	Grupos	Kolmogórov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halos de inhibición (mm)	Etanol 70 %	,160	6	,200	,945	6	,700
	EHHMO 25 %	,187	6	,200	,914	6	,466
	EHHMO 50 %	,222	6	,200	,851	6	,161
	EHHMO 75 %	,172	6	,200	,978	6	,944
	Ciprofloxacino 5 µg	,225	6	,200	,866	6	,212

Fuente. Elaboración propia

EHHMO = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam

$p > 0,05$  (Datos son normales)

## Anexo H. Escala de Duraffourd para determinar el efecto inhibitorio según el diámetro de inhibición

Nula	-	Menor igual a 8 mm
Sensible	+	9 – 14 mm
Muy sensible	++	15 – 19 mm
Sumamente sensible	+++	Mayor igual a 20 mm

**Fuente.** Elaboración propia

Grupos	Tratamiento	Halos de inhibición	Escala de Duraffourd
		Media	
I	Blanco (agua destilada)	0	Nula
II	Etanol 70%	6	Nula
III	EHHMO 25%	12	Sensible
IV	EHHMO 50%	16	Muy sensible
V	EHHMO 75%	20	Sumamente sensible
VI	Ciprofloxacino 5 µg	22	Sumamente sensible

**Fuente.** Elaboración propia

Efecto inhibitorio de cada grupo experimental según escala de Duraffourd

## Anexo I. Matriz de Consistencia

### EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Moringa oleifera* Lam (moringa) FRENTE A LA CEPA DE *Staphylococcus aureus*.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		
¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> .	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) presenta efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .	V1.	DIMENSION	INDICADORES
			El extracto hidroalcohólico de las hojas de moringa.	Fitoquímica.	Identificación de metabolitos secundarios.  Reacciones químicas de precipitación, coloración y pruebas de solubilidad.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	V2.	DIMENSIÓN	INDICADORES
¿Qué metabolitos secundarios tiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa)?	Detectar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) mediante análisis fitoquímico cualitativo.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (Moringa) presenta metabolitos secundarios como posibles responsables del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Efecto antibacteriano frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Microbiológico.	Medición del diámetro de inhibición (Halos de inhibición).
¿Cuál es la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) que posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Precisar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) que posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) que posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .			
¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) en comparación con ciprofloxacino frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) en comparación con ciprofloxacino frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> Lam (moringa) tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> en comparación con ciprofloxacino frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .			