

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

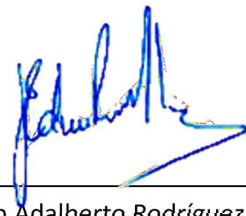
Yo, QUIROZ SOSA DIANA ELIZABETH, con DNI 47768094, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**¹ que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de VEINTIUNO POR CIENTO 21% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 21 días del mes de enero del año 2023.



Diana Elizabeth Quiroz Sosa
DNI: 47768094



Dr. José Edwin Adalberto Rodríguez Lichtenheldt
DNI: 10734121

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

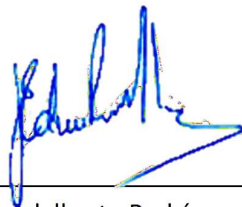
Yo, VASQUEZ JUAREZ KATY JULISSA, con DNI 43375604, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**¹ que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de VEINTIUNO POR CIENTO 21% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 21 días del mes de enero del año 2023.



Katy Julissa Vásquez Juárez
DNI: 43375604



Dr. José Edwin Adalberto Rodríguez Lichtenheldt
DNI: 10734121

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

TESIS ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	14%
2	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	redi.unjbg.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)
FRENTEA *Escherichia coli* ATCC 25922

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. QUIROZ SOSA, DIANA ELIZABETH

<https://orcid.org/0000-0001-8237-1881>

Bach. VASQUEZ JUAREZ, KATY JULISSA

<https://orcid.org/0000-0002-8707-8710>

ASESOR

Dr. RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSÉ EDWIN

<https://orcid.org/0000-0003-1876-6496>

LIMA – PERÚ

2023

DEDICATORIA

A Dios, por ser parte de mi vida, por permitirme lograr mis objetivos y metas trazadas a lo largo de mi camino.

A mis padres Javier y María porque son parte esencial de mi formación y un ejemplo de vida a seguir; gracias a su apoyo, amor y confianza he podido lograr las metas que me he propuesto, a mis hermanos por todo su amor y apoyo.

Katy Julissa Vasquez Juarez

A Dios quien es mi guía y fortaleza, por brindarme su amor infinito que está conmigo hasta el día de hoy.

A mis padres y a mis queridos hijos por ser mi gran motivo en la vida y que gracias a su apoyo incondicional me ayudaron a ser constante y a nunca desistir.

Diana Elizabeth Quiroz Sosa

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo de tesis nos gustaría agradecerle principalmente a Dios por permitirnos hacer realidad una de nuestras metas la cual fue estudiar de manera satisfactoria esta carrera profesional.

Al Dr. José Edwin Rodríguez Lichtenheldt, asesor y gran maestro, por habernos proporcionado valiosa información sobre el tema y habernos guiado durante este periodo de investigación.

A los maestros, por su paciencia y por habernos impartido sus conocimientos, dejándonos grandes enseñanzas.

A todas las personas que han formado parte de nuestra vida profesional y que nos ayudan a crecer y seguir adelante, nuestro más sincero agradecimiento por siempre.

Los autores

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
ÍNDICE GENERAL.....	iv
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
II.1. Enfoque y diseño de la investigación.....	15
II.2. Población, muestra y muestreo.....	15
II.3. Variables de investigación.....	16
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	16
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos.....	16
II.6. Procesamiento del análisis estadístico.....	19
II.7. Aspectos éticos.....	20
III. RESULTADOS.....	21
IV. DISCUSIÓN.....	28
4.1. Discusión de Resultados.....	28
4.2. Conclusiones.....	30
4.3. Recomendaciones.....	31
ANEXOS.....	36
Anexo A. Instrumento de recolección de datos.....	36
Anexo B. Matriz de consistencia.....	37
Anexo C. Operacionalización de las variables.....	38
Anexo D. Certificado de identificación botánica.....	39
Anexo E. Certificado de la cepa microbiológica.....	40
Anexo F. Evidencias fotográficas del estudio.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de Morinda citrifolia L.(NONI)	21
Tabla 2. Estadística descriptiva obtenida de los halos de inhibición por grupo de análisis	22
<i>Tabla 3. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos</i>	24
<i>Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)</i>	24
<i>Tabla 5. Análisis de la varianza (ANOVA)</i>	25
Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	26
Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	27

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1.Recolección de la especie vegetal	42
Figura 2. Preparación de la muestra vegetal	43
Figura 3. Proceso de triturado, pulverizado y macerado de la hoja de noni:	44
Figura 4. Obtención del extracto etanolico de noni	45
Figura 5. Preparación del extrato a diferentes concentraciones	46
Figura 6. Marcha fitoquímica	48
Figura 7. Activación de Escherichia coli	49
Figura 8. Preparación del inóculo bacteriano	49
Figura 9. Sembrado del inóculo bacteriano	50
Figura 10. Preparación de pozos en agar	50
Figura 11. Aplicación del extracto en placa Petri	51
Figura: 12. Placas en incubación	51

RESUMEN

Objetivo: Demostrar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Método: El estudio se basó en un enfoque cuantitativo, experimental, de corte transversal y prospectivo, con una población conformada por *Morinda citrifolia* L.(noni), de la cual se obtuvo extractos etanólicos de las hojas mediante maceración con etanol, además se evaluó la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, mediante la técnica de difusión en pozo, los resultados fueron analizados estadísticamente con un nivel de significancia del 0.05 empleando las pruebas de ANOVA y Tukey.

Resultados: Como resultados en la marcha fitoquímica se obtuvo la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos y triterpenos/esteroides; por otro lado, los valores con respecto a los halos de inhibición obtenidos fueron de $23,73 \pm 0,54$ mm para el extracto etanólico de noni al 100%, de $21,08 \pm 0,41$ mm para el extracto etanólico de noni al 75% y al 50% fue de $17,30 \pm 0,36$ mm; por otro lado, el control negativo (etanol) obtuvo halo de inhibición de $6,27 \pm 0,34$ mm y el control positivo obtuvo halo $29,34 \pm 0,36$ mm.

Conclusión: Se logró demostrar que el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) a las concentraciones del 50%, 75% y 100%, poseen actividad antibacteriana in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

Palabras clave: *Escherichia coli*, *Morinda citrifolia* L., noni, extracto etanólico, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. (noni) leaves against *Escherichia coli* ATCC 25922.

Method: The study was based on a quantitative, experimental, cross-sectional and prospective approach, with a population made up of *Morinda citrifolia* L.(noni), from which ethanolic extracts of the leaves were obtained by maceration with ethanol, in addition the activity was evaluated. antibacterial against *Escherichia coli*, using the well diffusion technique, the results were statistically analyzed with a significance level of 0.05 using the ANOVA and Tukey tests.

Results: As results in the phytochemical march, the presence of alkaloids, phenolic compounds and triterpenes/steroids was obtained; on the other hand, the values with respect to the inhibition halos obtained were 23.73 + 0.54mm for the 100% noni ethanolic extract, 21.08 + 0.41mm for the 75% noni ethanolic extract and at 50% it was 17.30 + 0.36mm; on the other hand, the negative control (ethanol) obtained an inhibition halo of 6.27 + 0.34 mm and the positive control obtained a halo of 29.34 + 0.36 mm.

Conclusion: It was shown that the ethanolic extract of the leaves of *Morinda citrifolia* L.(noni) at concentrations of 50%, 75% and 100%, has in vitro antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922.

Keywords: *Escherichia coli*, *Morinda citrifolia* L., noni, ethanolic extract, antibacterial activity.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones a nivel del tracto urinario (ITU), se caracterizan por ser una patología que se repite a menudo y que afecta a todas las edades, sin embargo, tiene una mayor incidencia entre los grupos de riesgo como mujeres y embarazadas, pacientes diabéticos, niños y ancianos. Una ITU no complicada causa síntomas principales como dolor o ardor al orinar, dolor lumbar, micción frecuente o urgente y enuresis nocturna. Los patógenos bacterianos involucrados en este tipo de infecciones son: *Staphylococcus saprophyticus*, *klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Cytobacter*, *enterococos*, pero el uropatógeno responsable del 80% de uretritis, cistitis y pielonefritis, principalmente es *Escherichia coli* y *klebsiella pneumoniae*, bacterias gramnegativas. Además, la ITU es la segunda infección bacteriana que ocurre mayoritariamente en humanos y solo es superada por la infección respiratoria¹.

Escherichia coli, según estudios demuestra resistencia a diferentes antibióticos. Sulfametoxazol más trimetoprima, norfloxacin, ciprofloxacina, nitrofurantoína, amoxicilina más ácido clavulánico, son algunos de los antibióticos en el que se registra su resistencia con cierta frecuencia en todo el mundo. Asimismo, existe evidencias a nivel mundial de la alta incidencia de las ITU, afectando a más de 150 millones de personas y el alto costo económico al que se relaciona, pero existen limitaciones para que este escenario epidemiológico sea bien esclarecido, debido, a falta de vigilancia, la escasez de estudios, la resistencia bacteriana, la variación de índices y perfiles microbiológicos locales².

Por otro lado, en el año 2019, países europeos como Bélgica, Rusia, Italia, Gran Bretaña y España analizaron 2848 aislamientos, provenientes de muestras de orina de mujeres con infecciones del tracto urinario inferior adquiridas en la comunidad. Como era de esperar *Escherichia coli* se presentó con mucha más frecuencia que otros patógenos aislados (72,5 %) y la segunda más frecuente fue *Klebsiella pneumoniae* (8,3%). También, los resultados de este estudio indicaron que sólo tres fármacos tuvieron una actividad in vitro de más del 90 % contra *E. coli*: nitrofurantoína (98,5%), fosfomicina (96,4%) y mecilinam (91,8%)³.

En países sudamericanos como Brasil, la ITU es común en mujeres gestantes, debido a los cambios anatómicos y fisiológicos que ocurren en su cuerpo, por lo que se ha calculado que el 17 al 20% de las mujeres brasileñas embarazadas tendrán un episodio de ITU, especialmente en el segundo trimestre del embarazo. Asimismo, se ha considerado en este país como una de las infecciones bacterianas más frecuentes ya que, de 1.000 consultas clínicas, 80 son por ITU⁴.

Asimismo, en el Perú una ITU es considerado como un problema de la salud pública, con cifras donde refieren que el 50 a 60% de la población femenina ha tenido un evento de ITU durante su vida y el 25% tendrá un evento repetido, además su incidencia aumenta con la edad. La incidencia anual en mujeres es del 6%.⁵

El tratamiento de las infecciones bacterianas como una ITU, se realiza mediante antibioticoterapia específica para cada especie, siguiendo la recomendación de las guías internacionales. Sin embargo, la efectividad de los tratamientos se ha visto mermada en los últimos años por el cambio en el perfil de susceptibilidad de los microorganismos y la aparición de nuevos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, trayendo como consecuencia la falta de opciones de antibióticos. En tal sentido, el presente estudio evaluará las posibles propiedades antibacterianas que puede presentar las hojas de *Morinda citrifolia* (noni) frente a *Escherichia coli*.

Morinda citrifolia, conocido popularmente como noni, es un fruto cuya historia se remonta en las Islas Polinesias en Asia, donde se dice que llegó allí por los migrantes de aquella época, debido a sus propiedades curativas, ya que en ese tiempo se usaba para tratar quemaduras, heridas, reumatismo, tumores, indigestión y cólicos menstruales. Utilizaban todas las partes de las plantas, pero el fruto lo utilizaban frecuentemente por sus efectos en varias enfermedades⁶.

El noni pertenece a la familia Rubiáceas, morfológicamente es un árbol pequeño y sus frutos son suculentas y con muchas semillas, que puede alcanzar hasta los 10 metros de longitud, es considerada como una fruta exótica con un valor nutricional alto, debido que dentro de su composición se encuentran compuestos como: vitamina C, fibras, carotenoides, ácidos fenólicos y carotenoides⁷.

El noni es procesado por las industrias alimentarias en formulaciones de jugos y en capsulas con polvo en su interior con fines nutricionales, dietéticos, ya que contiene una alta cantidad en proteínas, fibra, calcio y vitamina C y medicinales, ya que se le atribuyen efectos como anticancerígeno, antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatorio, anticolesterolémico, entre otros. Las hojas del noni contienen compuestos fitoquímicos como los flavonoides (catequina, Kaempferol, rutina y quercetina), esteroides, carotenoides (β -caroteno y luteína), escopoletina, alcaloides, antraquinonas y ácido ursólico, a los que se les relaciona con su actividad antimicrobiana, cardiovascular, analgésica y anticancerígena⁸.

En el fruto del noni se han podido identificar hasta 100 metabolitos activos, clasificados en flavonoides, cumarinas, ligninas, polisacáridos, antraquinonas, iridoides, polisacáridos, esteroides, terpenos y ácidos grasos; además de vitaminas, aminoácidos y minerales. Todos estos componentes encontrados en la planta *Morinda citrifolia*, hace que crezca el interés en las personas por sus posibles propiedades benéficas en la salud, además de ser un potente reductor de radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica, evitando así las enfermedades relacionadas al estrés oxidativo⁹.

La familia *Enterobacteriaceae* engloba a los principales agentes causales de las

infecciones genito urinarias, como *Klebsiella spp*, *Proteus spp* y *Escherichia coli*, esta última es el organismo más prevalente tanto a nivel local como global y se encuentra en la primera categoría de “prioridad crítica” de la OMS por presentar mayor resistencia. Asimismo, en España por medio de un estudio se pudo demostrar que los uropatógenos resistentes a varios fármacos fueron en primer lugar *Escherichia coli*, seguida por *Klebsiella spp*. Es importante mencionar que *E. coli* productora de β -lactamasas de espectro extendido se le ha relacionado con tasas altas de mortalidad y morbilidad¹⁰.

Como antecedentes internacionales que refuerzan nuestra investigación, citamos a Ahmed A. (2017), de título “Antibacterial efficacy and effect of *Morinda citrifolia* L. mixed with irreversible hydrocolloid for dental impressions: A randomized controlled trial”. Propusieron como objeto de su estudio evaluar la eficacia antimicrobiana de un extracto formado por la mezcla de *Morinda citrifolia* L. con un hidrocóide sobre impresiones de uso dental. Al estar expuesto 48 horas el extracto se pudo evidenciar que el porcentaje de microorganismos disminuyó, de 2.2×10^6 a 0.05×10^6 , comparado con el agua¹¹.

Bhardwaj A. (2017), en su estudio “Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of *Morinda citrifolia*, papain and *Aloe vera* (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study”, El objetivo fue ejecutar una evaluación comparativa del efecto sobre *Enterococcus faecalis* de varias formulaciones en gel elaborados a partir de extracto del noni, otro gel con papaína y un gel de *Aloe vera* y clorhexidina en gel al 2% e hidróxido de calcio. Se pudo comprobar que el efecto antimicrobiano del gel con clorhexidina e hidróxido de calcio fue del 100%, le siguió el del noni con un efecto del 86.02%, luego el gel de *Aloe vera* con 78.9%, el gel de papaína con 67.3% y el menor efecto sobre *Enterococcus faecalis* fue con el gel de hidróxido de calcio que obtuvo un porcentaje de 64.3%¹².

Babaji P. (2017), y su investigación “Comparative evaluation of antimicrobial effect of herbal root canal irrigants (*Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica*, *Aloe vera*) with sodium hypochlorite: An in vitro study”. Definió como objeto de estudio evaluar la susceptibilidad de *E. faecalis* sobre una solución elaborada a partir de *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica* y *Aloe vera*, y compararla con una solución

de hipoclorito de sodio. Los halos obtenidos con la solución de hipoclorito de sodio alcanzaron un promedio de 28.5mm y con la solución de las hierbas mencionadas el halo promedio fue de 14.7mm¹³.

Por su parte, los estudios nacionales que sustentan la presente investigación se citan a continuación: Altamirano L. et al (2021), con su estudio llamado “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L.(noni) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*”. el objetivo fue comprobar si el extracto de etanol a base de *Morinda citrifolia* L. (noni) inhibe las cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*. El extracto formulado con el fruto del noni formó en la placa Petri un halo de 16.22mm y también se comprobó que el efecto aumenta si la concentración del extracto es más alta¹⁴.

Díaz M. et al (2021), en su estudio “Sensibilidad del cultivo de *Staphylococcus aureus* frente a la acción antibacteriana de los extractos de *Morinda citrifolia* L.y *Foeniculum vulgare*”, el objetivo fue determinar qué tan sensible puede ser el cultivo de *Staphylococcus aureus* frente a la acción antibacteriana de extractos de *Morinda citrifolia* L.y *Foeniculum vulgare*. Se comprobó que el noni presenta halos de inhibición de 16.99mm y 23.01mm en concentraciones del extracto del 50% y 100% respectivamente, el hinojo al 50% presento un halo de 16.61mm y al 100% 18.07mm¹⁵.

Oliva J. (2019), en su estudio “Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de la fruta *Morinda citrifolia* L.“noni” frente *Streptococcus mutans* ATCC 35668. 2019”. Estableció como objetivo determinar el efecto in vitro antibacteriano del extracto Hidroetanólico de la *Morinda citrifolia* L.frente a *Streptococcus mutans*. Los resultados que se encontraron fueron dosis dependiente, observándose halos con un diámetro de 23.5mm para una concentración de 75mg/ml y de 21mm para una concentración de 50 mg/ml¹⁶.

En ese sentido se plantea el objetivo general, demostrar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Se plantea también la hipótesis general del estudio, el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) tiene actividad antibacteriana in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación^{17,18}

- Tiene un enfoque cuantitativo, porque utilizó la información recolectada para un estudio estadístico con la finalidad de extrapolar dicha información y predecir en base a valores numéricos.
- Es transversal, porque los datos recopilados fueron tomados en un solo momento.
- Es de tipo prospectivo, porque hace referencia a que en el presente las variables interactuaron y en el futuro se presentaron algún efecto o consecuencia.
- Su diseño es experimental, ya que el investigador fue el encargado de controlar o manipular las variables del estudio y explicar la causa-efecto entre ellas

II.2. Población, muestra y muestreo¹⁹⁻²¹

- **Población:** Está referida a los 4 kilogramos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni), del cual se conoció su actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*. Para ello la población fue recolectada del distrito de Pomalca, provincia de Chiclayo y departamento de Lambayeque, correspondiente a las coordenadas geográficas 6.7669° de Latitud Sur y 79.7789° de longitud Oeste a una altura de 43.4 metros sobre el nivel del mar. Asimismo, la emisión de la certificación taxonómica de *Morinda citrifolia* L.(noni) estuvo a cargo por un profesional Biólogo, especialista en botánica.
- **Muestra:** es una parte de la población que se utilizó para realizar la investigación, para el presente estudio se utilizaron 2 kilos de hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni), seguidamente la muestra pasó por un proceso de selección, con el fin de seleccionar las hojas que no estén en mal estado, luego siguieron por un proceso de desinfección con hipoclorito de sodio al 0.1% mezclado en abundante agua.
- **Unidad de análisis:** corresponde a la cepa microbiológica *Escherichia coli* ATCC 25922, la cual fue adquirida del Laboratorio Microbiologics, quien brinda el certificado de análisis correspondiente de la cepa.
- **Muestreo:** Son técnicas utilizadas para que las muestras sean de fácil

acceso, por lo tanto, en nuestro estudio se aplicaron el tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia, debido al fácil acceso y disponibilidad del lugar de recolección de la muestra

II.3. Variables de investigación

- **Variable independiente:** Extracto etanólico de hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni)

Definición conceptual: Es un preparado obtenido de las hojas de la especie vegetal con etanol de 96° la cual posee los metabolitos secundarios.

Definición operacional: Extracción por la técnica de maceración en alcohol

- **Variable dependiente:** Actividad antibacteriana in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Definición conceptual: Inhibición o muerte del crecimiento de la bacteria

Definición operacional: Tamaño del halo inhibitorio

II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Técnicas:

- **La Observación:** Técnica que permite mediante la percepción de los sentidos recolectar información tangible sobre el evento observado.

Instrumento:

- **Ficha de recolección de datos:** instrumento que permitió plasmar los datos recogidos sobre el tamaño de los halos de inhibición en milímetros formados por el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) a diferentes concentraciones, la cual se comparó con el control positivo (ciprofloxacino) y el control negativo (etanol 96°).
- **Vernier digital:** Instrumento de medición de magnitudes pequeñas de alta precisión y fiabilidad que permite recolectar datos de los diámetros de los halos de inhibición.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1 Elaboración del extracto etanólico

Las hojas desinfectadas y secadas a temperatura ambiente fueron colocadas en estufa para su desecado y deshidratación por 24 horas, luego del cual fueron pulverizadas en un molino de cuchillas y posteriormente tamizado para uniformizar las partículas, luego fueron llevadas a un proceso de maceración por 10 días, agregando 800 gr de pulverizado en un frasco ámbar y luego 1.5 litros de etanol de 96°.

Luego de transcurrido este tiempo se llevó a filtrado con papel de filtro Whatman Nro. 01 y posteriormente el filtrado se llevó a evaporación en estufa, obteniendo de esta manera el extracto seco de la muestra.

El extracto fue reconstituido con alcohol etílico a una concentración de 50 mg/ml (50%), 75 mg/ml (75%) y 100 mg/ml (100%).

II.5.3 Marcha fitoquímica

Se realizó la marcha fitoquímica según el método propuesto por Soto M (2015)²² mediante reacciones de coloración con reactivos específicos empleando el extracto etanólico de las hojas de noni de la siguiente manera:

Ensayo de Dragendorff. Se empleó para la identificación de alcaloides en la muestra analizada, se agregó 0.5 ml del extracto etanólico en un tubo de ensayo y luego se agregó 11 gotas del reactivo de Dragendorff, la formación de un precipitado naranja o turbidez confirma la presencia de alcaloides.

Ensayo de Baljet. Este ensayo permite determinar cumarinas o compuestos con grupos lactónicos. En una muestra de 0.5 ml se agregó 11 gotas del reactivo de Baljet y se agitó suavemente, la presencia de una coloración o precipitado es confirmatorio para esta reacción.

Ensayo de Borntrager. Este ensayo permite identificar quinonas. En una muestra de 0.5 ml del extracto etanólico se agregó 0.5 ml de una solución de NaOH (10%), si aparece un color rosado-rojo en la fase acuosa confirma la reacción.

Ensayo de Liebermann-Burchard. Permitió la identificación de triterpenos o esteroides, debido a la presencia del núcleo de androstano. En una muestra de 0.5 ml del extracto etanólico se agregó 0.5 ml del reactivo de Liebermann-Burchard, un color rojo en la interfase muestra una reacción positiva.

Ensayo de Ninhidrina. Permitió identificar aminoácidos, a una muestra de 0.5 ml del extracto etanólico se le agregó 11 gotas del reactivo de Ninhidrina, luego se llevó a baño maría a 45°C por 10 minutos y se observó, la aparición de una coloración azul-violeta que es confirmatorio de la reacción.

El ensayo de Shinoda. Este ensayo se empleó para determinar la presencia de flavonoides. En un tubo se agrega 0.5 ml del extracto etanólico y luego se agregó 0.5 ml de alcohol isoamílico, la presencia de una coloración amarilla, naranja o roja, indica una reacción positiva.

El ensayo de antocianidinas. Esta reacción también permitió identificar flavonoides que presenten la secuencia en su estructura C6-C3-C6 del flavonoide. En un tubo con 0.5 ml se le 11 gotas del reactivo en mención. La coloración roja o marrón mostró la presencia de flavonoide.

El ensayo de espuma. Se empleó para determinar la existencia de saponina. La presencia de espuma luego de agitar el tubo por más de 2 minutos, confirma la reacción.

II.5.4 Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se realizó siguiendo el método propuesto por Guerrero S. (2021)²³.

Primero se activó la cepa microbiológica de *Escherichia coli* ATCC 25922 la cual fue adquirida del laboratorio Microbiologics, esta se activó mediante disolución y sembrado directo en agar MacConkey selectivo para bacterias Gram negativas entéricas, posteriormente se llevaron a incubación por 48 horas hasta observar la formación de colonias.

Para preparar el Agar MacConkey se disolvió 49.53 gr de este agar deshidratado en 1 litro de agua destilada y se llevó hasta disolución completa

mediante calentamiento hasta ebullición, luego fue llevada a esterilización en autoclave a una presión de 15 libras, 121°C por 15 minutos, luego se dejó enfriar hasta aproximadamente 50°C y se agregó a las placas Petri en un ambiente estéril.

Se preparó el inóculo bacteriano a partir de las colonias formadas en la placa con *Escherichia coli*, se realizaron diluciones sucesivas 1/10 en tubos con solución salina fisiológica hasta llegar a la escala 0.5 de McFarland por comparación directa.

A partir del inóculo se sembró *Escherichia coli* en 15 placas donde se preparó pocitos de 6 mm de diámetro mediante sacabocado y posteriormente se aplicó en cada pocito 30 uL del extracto a la concentración de 50%, 75% y 100% respectivamente previa identificación.

Los grupos control se trataron de la misma manera, preparando 15 placas con dos pocitos en cada una donde se aplicaron 30 uL de etanol y 30 uL de ciprofloxacino 100mg/ml.

Se llevaron a incubación por 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$ y se observó luego de este tiempo la formación de crecimiento bacteriano y de halos de inhibición.

Los datos fueron recolectados mediante un vernier digital que sirvió para obtener el tamaño de los halos formados en milímetros (mm) y posteriormente se registraron los datos en la ficha de recolección de datos para el estudio microbiológico.

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

El procesamiento del análisis estadístico fue realizado empleando primero estadística descriptiva para mostrar el comportamiento de los datos recolectados, así mismo, se aplicaron la estadística inferencial para determinar la normalidad y distribución homogéneas de las varianzas mediante la aplicación de la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene, para la contratación de la hipótesis del estudio se aplicó la prueba de ANOVA y Tukey con un nivel de significancia de 0.05 empleando el programa estadístico SPSS versión 26.

II.7. Aspectos éticos

Por ser un estudio experimental in vitro con manejo de material biológico de alto riesgo se aplicaron los criterios y principios de bioseguridad en el laboratorio siguiendo las guías y protocolos de los manuales internacionales en laboratorios de ensayo para evitar riesgo en las personas participantes; así mismo, se dispone de procesos para evitar la contaminación del medio ambiente con la contaminación de residuos biológico mediante las normas establecidos por el Ministerio de Salud^{24,25}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(NONI)

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos Secundarios	Reactivos	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	+++
Saponinas	Espuma	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	+
Aminoácidos	Ninhidrina	-
Mucilagos		-
<u>Triterpenos</u> / Esteroides	Liebermann Burchard	+
Quinonas	Borntrager	-
Flavonoides	Antocianinas	-

Leyenda:

Ausente (-)
Escaso (+)
Leve (++)
Moderado (+++)
Abundante (++++)

En la tabla 1, se observa los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(NONI) obtenidos mediante marcha fitoquímica, donde se observa la presencia de alcaloides en cantidad moderada, compuestos fenólicos y triterpenos/esteroides en cantidad escasa, encontrándose ausencia de saponinas, aminoácidos, mucilagos, quinonas y flavonoides.

Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) al 100% y 75% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Contrastación de la hipótesis

H₀: Los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) al 100% y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

H₁: Los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) al 100% y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

Tabla 2. Estadística descriptiva obtenida de los halos de inhibición por grupo de análisis

Diámetro de inhibición	Descriptivos							
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Ext. etan. Noni - 100%	10	23,73	0,54	0,17	23,34	24,12	23,13	24,75
Ext. etan. Noni - 75%	10	21,08	0,41	0,13	20,79	21,38	20,43	21,85
Ext. etan. Noni - 50%	10	17,30	0,36	0,11	17,04	17,56	16,78	17,80
Control Negativo (Et)	10	6,27	0,34	0,11	6,03	6,52	5,83	6,84
Control Positivo (Cip)	10	29,34	0,36	0,11	29,09	29,60	28,88	30,05
Total	50	19,55	7,80	1,10	17,33	21,76	5,83	30,05

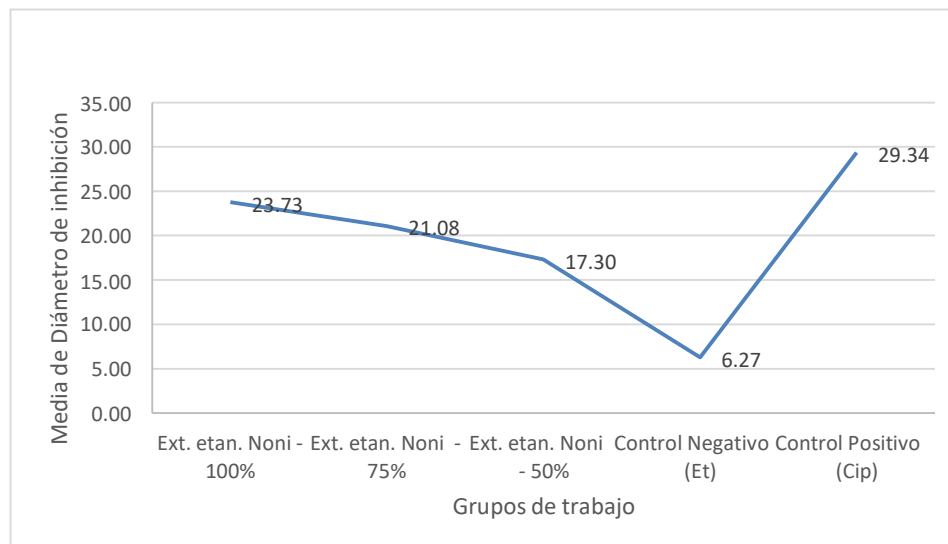
Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se aprecia en la tabla 1, los valores de la media obtenida de las mediciones por cada grupo (grupos experimental y control) con respecto al tamaño del halo de inhibición, así mismo, se obtuvo los parámetros estadísticos de la desviación estándar, desviación del error con respecto a la media, los límites inferior y superior con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo observados en la recolección de los datos. Los valores de los halos de inhibición obtenidos fueron de $23,73 \pm 0,54$ mm para el extracto etanólico de noni al 100%, de $21,08 \pm 0,41$ mm para el extracto etanólico de noni al 75% y al 50% fue de $17,30 \pm 0,36$ mm; por otro

lado, el control negativo (etanol) obtuvo halo de inhibición de $6,27 \pm 0,34\text{mm}$ y el control positivo obtuvo halo $29,34 \pm 0,36\text{mm}$.

Figura 1. Diámetro promedio de los halos de inhibición por grupo de trabajo



Fuente: SPSS ver. 26

De los datos mostrados en la figura 1, se evidencia una clara diferencia en relación a la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de noni, comparados con el grupo control negativo, donde se observa menor halo de inhibición, así mismo, al comparar la actividad antibacteriana entre los extractos y el control positivos en función del tamaño del halo de inhibición, se observa que el ciprofloxacino (control positivo) presenta mayor actividad antibacteriana.

Análisis:

Al evaluar los resultados obtenidos con respecto al tamaño del halo de inhibición para el extracto etanólico de noni al 100%, 75% y 50% observamos que superan el tamaño del halo de inhibición formado por el control negativo (etanol), por lo tanto, se confirma que dichos extractos presentan actividad antibacteriana.

Decisión:

Rechazar H_0 y aceptar H_1 que confirma, los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) al 100% y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

Análisis estadístico paramétrico:**Tabla 3. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos**

Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Ext. etan. Noni - 100%	0,910	10	0,278
Ext. etan. Noni - 75%	0,968	10	0,869
Ext. etan. Noni - 50%	0,936	10	0,506
Control Negativo (Et)	0,947	10	0,635
Control Positivo (Cip)	0,946	10	0,620

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 2 mediante por corresponder a grupo menores de 30 muestras se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar la distribución normal de los datos recolectados, mediante esta prueba se observa que los valores de significancia obtenidos superar al favor de significancia aceptado por el estudio para un nivel de confianza del 95%, por lo tanto, se confirma que existe distribución normal en todos los grupos de datos analizados.

Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Levene			p-valor
		Statistic	df1	df2	
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	1,195	4	45	0,326
	Based on Median	1,143	4	45	0,348
	Based on Median and with adjusted df	1,143	4	41,10	0,350
	Based on trimmed mean	1,190	4	45	0,328

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 3, del mismo modo, permite evaluar la homogeneidad de las varianzas de

los grupos de datos con respecto al valor promedio o media, observándose mediante la prueba de Levene, un valor p superior al valor de significancia del estudio (alfa: 0.05); por lo tanto, se confirma que los grupos de datos analizados presentan homogeneidad en sus varianzas.

Sensibilidad antibacteriana de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) comparado con ciprofloxacino.

Contrastación de la hipótesis

H₀: *Escherichia coli* ATCC 25922 no presenta mayor sensibilidad frente a los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) comparados con ciprofloxacino.

H₁: *Escherichia coli* ATCC 25922 presenta mayor sensibilidad frente a los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) comparados con ciprofloxacino.

Análisis de grupos de datos paramétricos:

Tabla 5. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición

	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2971,416	4	742,854	4427,407	0,000
Dentro de los grupos	7,550	45	0,168		
Total	2978,966	49			

Fuente: SPSS ver. 26

La prueba de ANOVA, observada en la tabla 4, nos permite comparar los datos recolectados de cada grupo y determinar si existe diferencia significativa entre los valores medios de los halos de inhibición formados en cada grupo, del análisis se infiere mediante la evaluación del p-valor observado en la tabla, que los grupos presentan diferencia estadísticamente significativa en sus medias.

Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

HSD Tukey^a

Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (Et)	10	6,27				
Ext. etan. Noni - 50%	10		17,30			
Ext. etan. Noni - 75%	10			21,08		
Ext. etan. Noni - 100%	10				23,73	
Control Positivo (Cip)	10					29,34
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 5, muestra un análisis complementario a la prueba de ANOVA el cual se realizó mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos, corroborando lo observado por ANOVA, todos los grupos muestran diferencias en sus medias, además se confirma la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de noni a diferentes concentraciones (50%, 75% y 100%) al comparar los halos de inhibición con el grupo control negativo, así mismo, se confirma la mayor actividad antibacteriana por parte del ciprofloxacino (control positivo)

Evaluación de la sensibilidad bacteriana de *Escherichia coli*

Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (Et)	6,27			
Ext. etan. Noni - 50%			17,30	
Ext. etan. Noni - 75%				21,08
Ext. etan. Noni - 100%				23,73
Control Positivo (Cip)				29,34

En la tabla 6, se evalúa la sensibilidad bacteriana que presenta *Escherichia coli* a los extractos etanólico de noni y los grupos control mediante la evaluación con la escala de Duraffourd, se observa que esta bacteria presenta sensibilidad nula al control Negativo (etanol), es muy sensible al extracto etanólico de noni al 50% y es altamente sensible al extracto etanólico de noni al 75%, 100% y control positivo (ciprofloxacino).

Análisis:

Al comparar los resultados obtenidos en función del tamaño del halo de inhibición promedio para el extracto etanólico de noni al 100%, 75% y 50% y el control positivo (ciprofloxacino), mediante pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey, además de la valoración mediante la escala de Durrafourd, se demostró la superioridad de la sensibilidad de *Escherichia coli* al ciprofloxacino

Decisión:

Rechazar H_1 y aceptar H_0 que confirma, *Escherichia coli* ATCC 25922 no presenta mayor sensibilidad frente a los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L. (noni) comparados con ciprofloxacino.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de Resultados

Las infecciones bacterianas siempre han sido una problemática difícil de tratar, con el aumento de la resistencia a los antimicrobianos y la facilidad de estos microorganismos para colonizar al hombre, en tal sentido, la lucha de la industria farmacéutica para obtener nuevos medicamentos capaces de combatir a estos microorganismos ha sido constante, sin embargo, estas bacterianas han logrado adoptar mecanismos de protección convirtiendo a los antibióticos, ineficaces a los tratamientos, una de las bacterias que presenta esta particularidad es *Escherichia coli*, por otro lado, las plantas medicinales se han convertido en la fuente de búsqueda de nuevos principios para combatir estas bacterias, motivo por el cual se planteó la presente investigación, la cual muestra y discute los resultados encontrados a continuación.

Se realizó una identificación de los metabolitos secundarios contenidos en los extractos etanólico de noni, mediante un estudio fitoquímico donde se pudo determinar de manera cualitativa la presencia de alcaloides en cantidad moderada, compuestos fenólicos y triterpenos/esteroides en cantidad escasa, sin embargo, no se logró determinar saponinas, aminoácidos, mucilagos, quinonas y flavonoides.

La evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de noni a las concentraciones del 100%, 75% y 50% se realizó mediante la comparación del tamaño de los halos de inhibición formados con el grupo control negativo, los halos de inhibición obtenidos por los extractos fueron de $23,73 \pm 0,54$ mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. al 100%, de $21,08 \pm 0,41$ mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. al 75% y al 50% fue de $17,30 \pm 0,36$ mm; por otro lado, el control negativo (etanol) obtuvo halo de inhibición de $6,27 \pm 0,34$ mm y el control positivo obtuvo halo $29,34 \pm 0,36$ mm, observándose una mayor actividad antibacteriana del grupo control positivo (ciprofloxacino). Los resultados fueron corroborados mediante criterios estadísticos inferenciales empleando las pruebas de ANOVA y Tukey, las que confirmaron con un nivel de confianza del 95% la actividad

antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de noni, pero al comparar esta actividad con el grupo control positivo, resultó ser mayor este último.

Ahmed A. (2017) evaluó la actividad antimicrobiana de *Morinda citrifolia* L. en la flora oral mediante la aplicación de esta planta en un hidocoloide, encontrando una disminución de 2.2×10^6 a 0.05×10^6 en unidades formadoras de colonias (UFC) encontradas comparadas con el control.

Por otro lado, también se observó en el estudio de Bhardwaj A. (2017), actividad antibacteriana de *Morinda citrifolia* L, sobre cepas de *Enterococcus faecalis* al aplicar los extractos de hojas de esta planta en formulaciones en gel, al comparar la efectividad de este gel comparado con clorhexidina en gel al 2%, se logró determinar una eficiencia de la actividad antibacteriana comparada del 86.02%. De similar manera la investigación de Babaji P. (2017), encontró actividad antibacteriana de una solución a base de *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica* y *Aloe vera* obteniendo halos de inhibición de 14.7mm.

A nivel nacional Altamirano L. et al (2021), determinó actividad antibacteriana del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L.(noni) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* obteniendo halos de inhibición de 16.22mm observándose efecto dosis dependiente. Díaz M. et al (2021), por su parte también encontró actividad antibacteriana del *Morinda citrifolia* L.contra *Staphylococcus aureus* demostrando actividad antibacteriana mediante la formación de halos de inhibición de 16.99mm y 23.01mm a las concentraciones del extracto del 50% y 100% respectivamente.

Streptococcus mutans ATCC 35668 fue otra bacteria en la Oliva J. (2019), investigo actividad antibacteriana del extracto Hidroetanólico de la *Morinda citrifolia* demostrando actividad, se observaron halos con un diámetro de 23.5mm para una concentración de 75mg/ml y de 21mm para una concentración de 50 mg/ml

La sensibilidad de *Escherichia coli* a los grupos de tratamientos realizados se evaluó mediante la escala de Duraffourd, la que permitió mediante la valoración del tamaño del halo de inhibición demostrar que *Escherichia coli*

presenta sensibilidad nula al control Negativo (etanol), es muy sensible al extracto etanólico de noni al 50% y es altamente sensible al extracto etanólico de noni al 75%, 100% y control positivo (ciprofloxacino).

Diversos autores han demostrado actividad antibacteriana de los extractos etanólicos e hidroalcohólicos de *Morinda citrifolia* L. de hojas y flores al enfrentarla a distintas bacterias, la investigación sobre *Escherichia coli*, no es muy común, sin embargo, gracias a los metabolitos secundarios presentes en diferentes partes de la planta, se puede deducir esta presenta diferentes propiedades, como antibacteriana entre otras.

Así mismo, la información obtenida en la parte experimental fue confirmada mediante el uso de pruebas estadísticas con un nivel de confianza del 95%, lo que confirma de manera irrefutable los hallazgos encontrados y confirma la hipótesis de investigación en el presente estudio.

4.2. Conclusiones

- Se identificaron los metabolitos secundarios alcaloides en cantidad moderada, compuestos fenólicos y triterpenos/esteroides escasos, los que estuvieron presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(NONI)
- Se determinó actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) al 100% y 75% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante el análisis del tamaño de los halos de inhibición formados, de $23,73 \pm 0,54$ mm para el extracto etanólico de noni al 100%, de $21,08 \pm 0,41$ mm para el extracto etanólico de noni al 75% y al 50% fue de $17,30 \pm 0,36$ mm.
- Al comparar la sensibilidad antibacteriana de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a los extractos etanólicos de las hojas de *Morinda citrifolia* L.(noni) y ciprofloxacino, se observó que es mayor en este último.

4.3. Recomendaciones

- Las propiedades de *Morinda citrifolia* L.han demostrado poseer buena actividad contra diferentes bacterias, por lo que se recomienda, extender a estudios en animales para determinar su acción in vivo.
- Difundir a nivel del sector salud una estrategia terapéutica a base de plantas medicinales que han demostrado efectividad para disminuir los índices de resistencias de los distintos microorganismos.
- Realizar estudios de sinergismo entre *Morinda citrifolia* L.y diferentes antibacterianos y cepas microbiológicas
- Evaluar su aplicación in vivo, mediante estudios de toxicidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva M, Caldas G, Bezerra K, Machado M, Hipolito E. Principales bacterias encontradas en urocultivos de pacientes con Infecciones del Tracto Urinario (ITU) y su perfil de resistencia antimicrobiana. *Research, Society and Development* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 16];10(7). Available from: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/16161/14605>
2. Diamantina M. Prescrição empírica de antibióticos para infecção do trato urinário [Internet]. 2021. Available from: http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/bitstream/1/2627/1/gessiane_fatima_gomes.pdf
3. Palagin I, Perepanova T, Pushka D, Kozlov R. Guerra y paz: difícil tratamiento de las infecciones del tracto urinario y fosfomicina trometamol. *Kmax* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 16];23(1). Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/voyna-i-mir-neprostoje-lechenie-infektsiy-mochevyh-putey-i-fosfomitsina-trometamol/viewer>
4. Martins B, Verônica A, Myra B, Ribeiro D, Ribeiro K, Mata R. Infecciones del tracto urinario en mujeres: acciones terapéuticas y profilácticas. *Brazilian Journal of Health Review* [Internet]. 2021 Dec 19;4(6):28217-30. Available from: <https://scholar.archive.org/work/cbssf2mdkfamfginpczzryxsxa/access/wayback/https://brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/download/41558/pdf>
5. Malpartida M. Infección del tracto urinario no complicada. *Revista Médica Sinergia* [Internet]. 2020;5(3):e382. Available from: <https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/382/763>
6. Lucca N, Lemos A, Correa A, de Souza M, Oliverira R, Oliveira K. Cribado fitoquímico y estudio de actividad antioxidante y toxicidad de hojas y frutos de *Morinda citrifolia*L. ("Noni"). *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 18];17(4). Available from: <https://arquivo.revista.uepb.edu.br/index.php/biofarm/article/view/6120/3832>
7. Zaplana C. Noni, el superalimento que protege tus células [Internet]. *Cuerpamente*. 2021 [cited 2022 Jun 19]. Available from: https://www.cuerpamente.com/alimentacion/superalimentos/noni-beneficios-anticancerigeno-contraindicaciones_1089
8. Valencia M, Ancona J, Reyes J, García M, León F. Evaluación de los

metabolitos del Noni (*Morinda citrifolia*). Revista Iberoamericana de Ciencias [Internet]. 2017;4(4):16-22. Available from: www.budapestopenaccessinitiative.org/read

9. Djuramang R, Retnowati Y, Bialangi N. The Effect of Noni Fruit Extracts (*Morinda Citrifolia*) on *Staphylococcus aureus* growth. Jurnal Pendidikan Glasser [Internet]. 2018;2(2):62-8. Available from: https://www.researchgate.net/publication/327771636_PENGARUH_EKSTRAK_BUAH_MENGGKUDU_MORINDA_CITRIFOLIA_TERHADAP_PERTUMBUHAN_STAPHYLOCOCCUS_AUREUS_The_Effect_of_Noni_Fruit_Extracts_Morinda_Citrifolia_on_Staphylococcus_aureus_growth
10. Sousa E, de Jesus C, Carmo D, Cordovil H. Perfil de prevalencia y resistencia de *Escherichia coli* aislada de infecciones del tracto urinario. Research, Society and Development [Internet]. 2022 [cited 2022 Jun 16];11(1). Available from: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/24280/21572>
11. Ahmed AS, Charles PD, Cholan R, Russia M, Surya R, Jailance L. Antibacterial efficacy and effect of *Morinda citrifolia* L. mixed with irreversible hydrocolloid for dental impressions: A randomized controlled trial. J Pharm Bioallied Sci [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2022 Jun 19];7(Suppl 2):S597-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26538926/>
12. Bhardwaj Anuj, Ballal Suma, Velmurugan Natanasabapathy. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of *Morinda citrifolia*, papain and aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. J Conserv Dent [Internet]. 2012 Jul [cited 2022 Jun 19];15(3):293-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22876022/>
13. Babaji Prashant, Jagtap Kiran, Lau Himani, Bansal Nandita, Thajuraj S, Sondhi Priti. Comparative evaluation of antimicrobial effect of herbal root canal irrigants (*Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica*, *Aloe vera*) with sodium hypochlorite: An in vitro study. J Int Soc Prev Community Dent [Internet]. 2016 May 1 [cited 2022 Jun 19];6(3):196-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27382533/>
14. Altamirano L, Castro E. Actividad Antibacteriana, In Vitro del Extracto Etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” Frente a Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. [Internet]. 2017 [cited 2022 Jun 19]. Available from:

https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UPRG_eafa44a97107efd8e72ffff0d7ef2361

15. Díaz M, Vidarte J. Sensibilidad del cultivo de *Staphylococcus aureus* frente a la acción antibacteriana de los extractos de *Morinda citrifolia* L. y *Foeniculum vulgare* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 19]. Available from: <https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/446>
16. Oliva J. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de la fruta *Morinda citrifolia* L. "noni" frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 [Internet]. 2019 [cited 2022 Jun 19]. Available from: <https://repositorio.uss.edu.pe/handle/20.500.12802/5735>
17. Hernández R. Metodología de la Investigación: Las rutas de la investigación cuantitativa, cualitativa y mixta [Internet]. 1era edici. Mc Graw Hill. Mexico; 2018. 387-410 p. Available from: <https://virtual.cuautitlan.unam.mx/rudics/?p=2612>
18. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento* [Internet]. 2020;4(3):163-73. Available from: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
19. Hernández C. y Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. *Revista Científica del Instituto Nacional de Salud "Alerta."* 2019;2(1):75-9.
20. Otzen T, Manterola C. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *International Journal of Morphology* [Internet]. 2017;35(1):227-32. Available from: <https://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v35n1/art37.pdf>
21. Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. *Revista Científica del Instituto Nacional de Salud "Alerta"* [Internet]. 2019;2(1):75-9. Available from: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
22. Soto M. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región amazónica. *Universidad Nacional de Trujillo*. 2015;6(1):33-43.
23. Guerrero S, Santamaría M. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Melissa officinalis* L. (toronjil) y *Piper aduncum* (matico) frente a *Fusobacterium nucleatum*, en los laboratorios forense Lambayeque y Microclin Trujillo, 2021 [Internet]. 2021. Available from:

<http://50.18.8.108:8080/bitstream/handle/ROOSEVELT/577/TESIS%20SAYRA%20-%20MILAGROS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

24. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;
25. Organización Mundial de la Salud. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos. Red PARF Documento técnico N° 6. 2010;(6):87.

ANEXOS

Anexo A. Instrumento de recolección de datos

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Morinda citrifolia</i> L.(NONI) FRENTE A <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922					
Número de repetición	GRUPOS EXPERIMENTALES Extracto de noni			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Control Negativo (etanol)	Control positivo Ciprofloxacino
N°01	24,39	20,96	17,27	6,43	29,76
N°02	23,41	21,36	17,23	5,85	28,96
N°03	23,13	21,85	17,66	6,70	29,39
N°04	24,75	21,19	17,43	6,84	29,43
N°05	23,14	20,87	17,07	6,37	29,20
N°06	23,38	21,34	17,20	6,15	30,05
N°07	23,97	20,43	17,76	6,19	29,42
N°08	23,36	20,74	17,80	6,41	29,25
N°09	23,89	20,77	16,78	5,95	29,10
N°10	23,92	21,32	16,81	5,83	28,88

Anexo B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Presentará actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(NONI) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	demostrar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(noni) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(noni) tiene actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuáles serán los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(NONI)?	Identificar los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(NONI)	El extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(NONI) presenta metabolitos secundarios con actividad antibacteriana
¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(NONI) al 100% y 75% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(noni) al 100% y 75% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	Los extractos etanólicos de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(noni) al 100% y 75% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, in vitro.
¿Cuál será la sensibilidad antibacteriana in vitro de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 frente a los extractos etanólicos de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(NONI) comparado con Ciprofloxacino?	Comparar la sensibilidad antibacteriana de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 frente a los extractos etanólicos de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(noni) comparado con ciprofloxacino.	Los extractos etanólicos de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(noni) presentan mayor sensibilidad frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 comparados con ciprofloxacino.

Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N. DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico de hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L.(noni)	Es un preparado obtenido de las hojas de la especie vegetal con etanol de 96° la cual posee los metabolitos secundarios.	Extracción por la técnica de maceración en alcohol	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
Actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición o muerte del crecimiento de la bacteria	Tamaño del halo inhibitorio	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

Anexo D. Certificado de identificación botánica

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como “NONI” proporcionada por los Bachilleres, **Diana Elizabeth Quiroz Sosa** y **Katy Julissa Vásque Juárez**, Tesis de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como **Morinda citrifolia L.** y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Rubiales
Familia: Rubiaceae
Genero: **Morinda**
Especie: **Morinda citrifolia L.**

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 22 julio del 2022


Blgo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilner Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.R.P. 7719

Anexo E. Certificado de la cepa microbiológica



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™** Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2024/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2022/4/8</p>
Performance	
<p>Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough</p> <p>Microscopic Features: Gram negative straight rod</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

**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 Vittek®: Although the Vittek® 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. It 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)	High consistency: 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)	Low consistency: 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 genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 K LH
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

Anexo F. Evidencias fotográficas del estudio

Figura 1. Recolección de la especie vegetal



Figura 2. Preparación de la muestra vegetal





Figura 3. Proceso de triturado, pulverizado y macerado de la hoja de noni:





Figura 4. Obtención del extracto etanólico de noni



Figura 5. Preparación del extracto a diferentes concentraciones



Figura 6. Marcha fitoquímica



Figura 7. Activación de *Escherichia coli*



Figura 8. Preparación del inóculo bacteriano

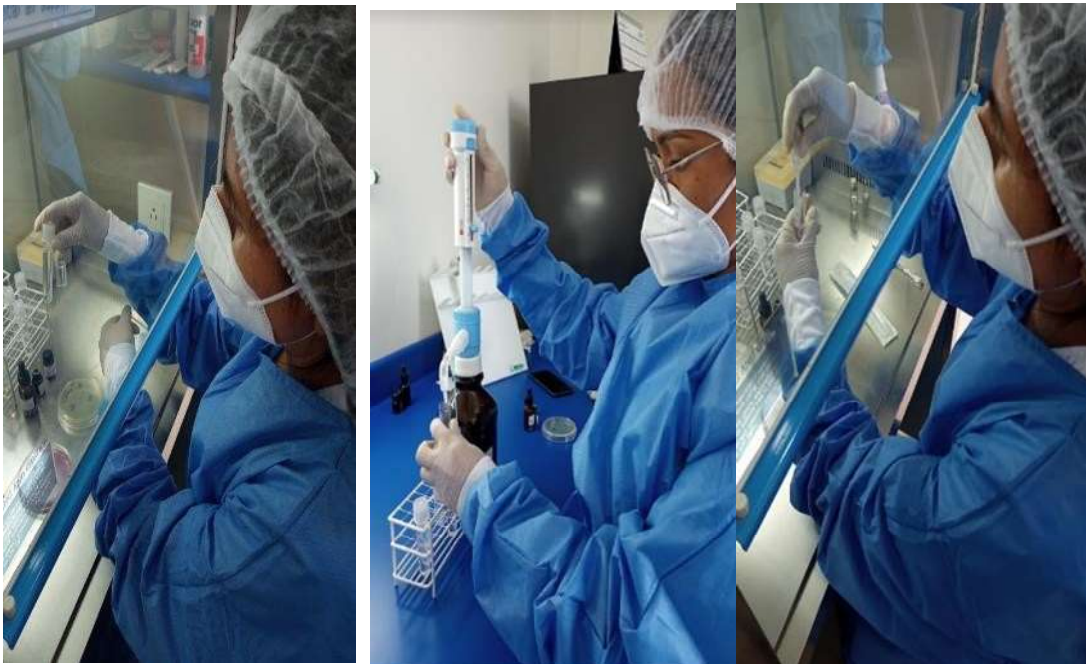


Figura 9. Sembrado del inóculo bacteriano

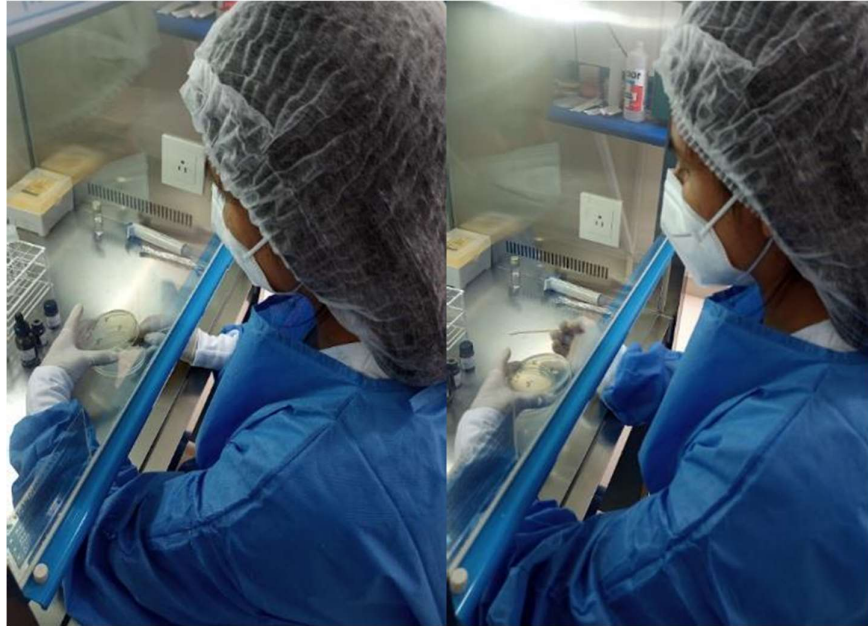


Figura 10. Preparación de pozos en agar



Figura 11. Aplicación del extracto en placa Petri

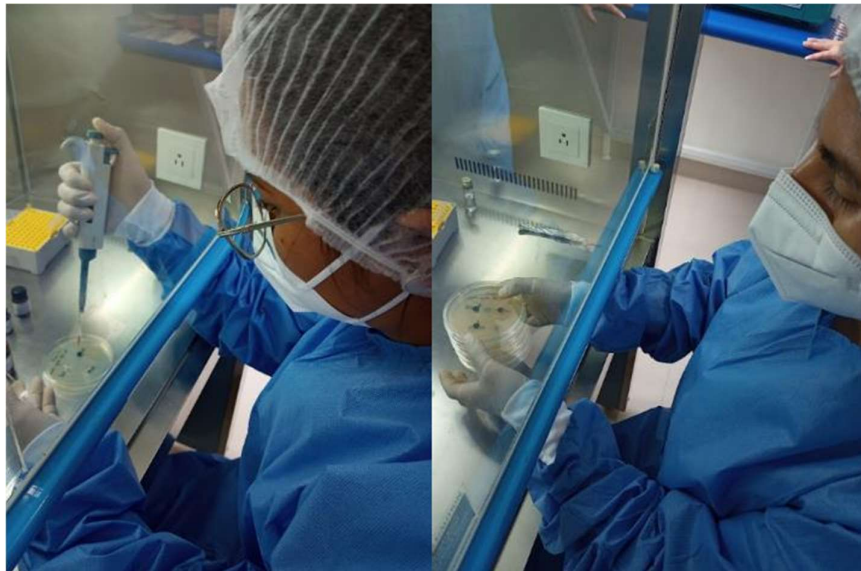


Figura: 12. Placas en incubación

