



UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**DEPARTAMENTO ACADEMICO DE MICROBIOLOGIA Y
PARASITOLOGÍA**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, In Vitro DEL EXTRACTO ETANOLICO DE
Morinda citrifolia L. “Noni” FRENTE A CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* y
Staphylococcus aureus.**

TESIS:

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA – MICROBIOLOGIA Y
PARASITOLOGIA**

PRESENTADO POR:

Br. Luis Ángel Altamirano Fernández.

Br. Emeli Maday Castro Bruno.

LAMBAYEQUE – PERU

2017



**UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”**



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**DEPARTAMENTO ACADEMICO DE MICROBIOLOGIA Y
PARASITOLOGÍA**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, In Vitro DEL EXTRACTO ETANOLICO DE
Morinda citrifolia L. “Noni” FRENTE A CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* y
Staphylococcus aureus.**

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN:

BIOLOGIA – MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA

AUTORES:

Br. Luis Ángel Altamirano Fernández.

Br. Emeli Maday Castro Bruno.

LAMBAYEQUE - PERU

2017

**UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO
DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, In Vitro DEL EXTRACTO ETANOLICO DE
Morinda citrifolia L. “Noni” FRENTE A CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* y
Staphylococcus aureus.**

Luis Ángel Altamirano Fernández.

Emeli Maday Castro Bruno.

**TESIS PRESENTADA PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO EN:
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

APROBADA POR:

Mblga. María Teresa Silva García

PRESIDENTE

Dra. Gianina Llontop Barandiaran

SECRETARIA

Lic. Julio Cesar Silva Estela

VOCAL

Lic. Mario Cecilio Moreno Mantilla

ASESOR

Lic. Fransk Amarildo Carrasco Solano

CO-ASESOR

Aquel que obtiene una victoria sobre otro hombre es fuerte, pero
quien obtiene una victoria sobre sí mismo es poderoso.

LAO TZE

DEDICATORIAS

Dedico mi tesis con todo mi corazón y cariño a mi padre Félix Altamirano Campos, que trabajó arduamente para poder darme una carrera universitaria, por su apoyo incondicional y su cariño, sé que desde el cielo está orgulloso de mí y me da fuerzas para seguir superándome.

A mi amada madre Edith Fernández Andía, que con sus consejos y palabras de aliento me daba fuerzas para seguir adelante a pesar de las adversidades.

A mis hermanos Ana, Sonia y Raúl, que se preocuparon por mí y me brindaron su apoyo.

A mi sobrino Deyvis Adrian Altamirano, que siempre me acompañaba en mis noches de lectura y con su curiosidad y amor por la ciencia me impulsaba a ser mejor para dale un buen ejemplo.

A mis amigos, compañeros de estudio por su granito de arena para el desarrollo de mi vida profesional.

A mis profesores de academia, por su colaboración para poder ingresar a la universidad y empezar con mi vida profesional.

A todos mis profesores de las diferentes áreas por las que pase en la universidad, por transmitirme sus conocimientos.

Luis Ángel Altamirano Fernández.

Dedico este trabajo principalmente a Dios por haberme dado la vida y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, ya que sin su guía y fortaleza no hubiera podido concluir mi carrera y con ella una fructífera etapa de mi vida.

A mi amada madre Irma Bruno por ser el pilar más importante en mi vida, por su lucha constante para que yo sea una mejor persona; por enseñarme que todo es posible si realmente uno lo desea, a no rendirme a pesar de las adversidades, a que sin sacrificio y humildad no hay éxito, y por demostrarme su incomparable amor cada día de mi existencia.

A mi amado padre Kennedy Castro, por su invaluable esfuerzo y sacrificio, por sus sabios consejos que me corrigen cuando es necesario, por la confianza que siempre me brinda, por enseñarme a valorar lo que nos da la vida, y por el cariño que siempre me expresa.

A todos los que pusieron su granito de arena para mi superación personal y profesional, a mis maestros, amigos y personas que me aprecian y conocen desde niña, las cuales me expresan su cariño aun sin ser parte de mi familia, las que me aconsejan cada vez que las veo y me impulsan a seguir siempre adelante.

Emeli Maday Castro Bruno.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a nuestro padre celestial, JEHOVA, por darnos cada minuto de nuestra vida y por ayudarnos y protegernos en toda nuestra existencia.

A nuestro maestro y asesor Lic. Mario C. Moreno Mantilla, por su apoyo, confianza y todas las enseñanzas que nos ha brindado, las cuales nos sirven y servirán por el resto de nuestra vida profesional.

A nuestro co- asesor el Lic, Fransk A. Carrasco Solano, por su colaboración incondicional en este trabajo, por su amistad y enseñanzas.

Al MsC Jorge Fupuy por su colaboración en la parte estadística del presente trabajo

A la Bach Sarai Villegas Manay, encargada de servicio técnico y excelente amiga, siempre pendiente y preocupada por el avance de nuestro presente trabajo.

A todos nuestros maestros, por brindarnos sus enseñanzas en los diferentes cursos, vitales para nuestro crecimiento como profesionales.

A todos ellos muchas gracias por lo que hicieron y hacen por nosotros. Gracias.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS

INDICE DE FIGURAS

I.	INTRODUCCION	1
II.	ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	4
III.	MATERIALES Y METODOS	
	3.1. Materiales	
	3.1.1. Material botánico	8
	3.1.2. Material biológico.....	8
	3.2. Métodos y técnicas	
	1. Población y muestra de estudio	8
	2. Procedimientos	
	2.1. Identificación de las cepas de <i>Pseudomona aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	9
	2.2. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> “Noni” sobre cepas de <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	9
	2.2.1. Tratamiento del fruto y obtención del extracto etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> “Noni”. (Raulich y De la Cruz 2008)	9
	2.2.2 Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> “Noni”.....	12
	2.2.3 Preparación de los discos de susceptibilidad	13
	2.2.4 Prueba de susceptibilidad bacteriana según el método modificado de difusión de Kirby Buer.....	14

2.3.	Determinación de la concentración mínima inhibitoria. Método de macrodilución en tubo según Norma Técnica Peruana del INS.....	15
2.4.	Diseño experimental y análisis de datos.....	16

IV.RESULTADOS

4.1.	Del efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L. “Noni” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
4.2.	Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L. “Noni” sobre cepas bacterianas de <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	30

V.DISCUSION.....	35
VI.CONCLUSIONES.....	39
VII.RECOMENDACIONES.....	40
VIII.RESUMEN.....	41
IX.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	42
X.ANEXOS.....	48
Constancia de los ejemplares botánicos.....	49
Taxonomía de bacterias utilizadas.....	50
Taxonomía de la planta – clasificación científica de <i>Morinda citrifolia</i> L.....	51
Descripción de la antraquinona	52
Descripción de la escopoletina	53
Biosíntesis de escopoletina y escopolina.....	54

LISTA DE TABLAS

Tablas	Página
Tabla N°01: Concentraciones del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L. “Noni” obtenidas a partir de la solución madre.....	12
Tabla N°2: Promedio del halo de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”.....	20
Tabla N°3: Análisis de varianza de los promedio de los halos de inhibición para las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> concentración del producto e interacción de los factores del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”	24
Tabla N°4: Prueba de significancia de Tukey (0,05) para <i>Staphylococcus aureus</i> en relación a las concentraciones del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”.....	26
Tabla N°5: Prueba de significancia de Tukey (0,05) de <i>Staphylococcus aureus</i> en el efecto del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”.....	28
Tabla N°6: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”, frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa 01.....	30

Tabla N°7: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *M. citrifolia*
L “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa
02.....32

Tabla N°8: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *M. citrifolia*
L “Noni”. frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa
03.....33

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
Figura N°1: Diagrama de la obtención del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L. “Noni”	11
Figura N°2: Diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Morinda citrifolia</i> L. “Noni”. Obtenidas a partir de la solución madre.....	13
FiguraN°3: Obtención del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”	18
Figura N°4. Promedio del halo de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>M.</i> <i>citrifolia</i> L “Noni”	21
Figura N°5. Halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”	22
Figura N°6. Resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> frente al efecto del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”	23
Figura N°7: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones (400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/ml y 900 mg/ml) en el efecto del extracto etanólico de <i>M. citrifolia</i> L “Noni”	27

Figura N°8: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las cepas de *Staphylococcus aureus* en el efecto del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”29

Figura N°9: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 01.....31

Figura N°10: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 02.....32

Figura N°11: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 03.....33

Figura N°12: Comparación de la concentración inhibitoria mínima (CMI) del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “noni” frente *Staphylococcus aureus*.....34

I.- INTRODUCCIÓN

Noni es el nombre común de *Morinda citrifolia* L., es un arbusto de 3 a 10 m de altura, con abundantes hojas anchas elípticas. Sus flores aromáticas están dispuestas en cabezuelas globosas, su fruto es oval, presenta un color que varía entre verde y amarillo, con tonalidad blanquecina. Presenta una cáscara cubierta de pequeñas protuberancias, cada una de las cuales contiene una semilla. Pertenece a la familia Rubiaceae, es originaria de la Polinesia, Malasia, Australia, India y el Sudeste de Asia, pero hoy en día crece en casi todas las regiones del mundo. Posee un amplio rango de propiedades medicinales el cual es originado de las diferentes partes de la planta. Entre estas se pueden mencionar que el fruto y las hojas ejercen actividad antibacterianas, la raíz elimina las infecciones pulmonares y hemorroides. Además es útil particularmente por su habilidad para tratar dolores e inflamaciones de la piel. Muchas personas toman extractos de la fruta para tratar la hipertensión, dolores menstruales, artritis, úlceras gástricas y diabetes, entre otras afecciones. **(Ulloa et al., 2012; Heinecke RM ,1985).**

En las últimas décadas, la multiresistencia bacteriana a los antibióticos, ha adquirido tal importancia que la Organización Mundial de Salud (OMS) ha identificado este problema como la quinta amenaza para la salud humana. **(Rise LB, 2009)**. La importancia de la multiresistencia radica en que provoca un claro aumento de la morbi-mortalidad de los pacientes tanto en el ámbito hospitalario como ambulatorio y la repercusión en los costos sanitarios siendo esto un problema añadido para la salud pública **(Aloush,V. et al .,2006 ; Boucher et al.)**.

El Instituto Nacional de salud (INS) comparte la creciente preocupación de la comunidad médica y científica con respecto al desarrollo de la resistencia antimicrobiana, por ello desde el año 1997 inició la vigilancia de la resistencia a los antibióticos, inicialmente esta vigilancia fue exclusiva para las bacterias relacionadas a la enfermedad diarreica aguda. Sin embargo a partir del 2002 se incorporó la vigilancia de la resistencia para las bacterias de origen hospitalario. **(Laboratorio de infecciones Intrahospitalarias, Centro Nacional de Salud Pública (CNSP) – INS. 2012).**

Es amplia la lista de microorganismos de origen intrahospitalario que poseen resistencia a los diferentes antibióticos, entre estos podemos encontrar a *Pseudomonas aeruginosa*; Que es uno de los principales patógenos oportunistas de individuos inmunodeficientes e inmunodeprimidos **(Kenneth Todar., 2016)**. El perfil de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes hospitalizados es bastante preocupante, pues estudios revelan que la resistencia de esta bacteria es alta, siendo sensible en un 30% a los antibióticos convencionales. **(Enlacenacional, 2016).**

Otro de los microorganismos de origen intrahospitalario es *Staphylococcus aureus* el cual se ha vuelto resistente a antibióticos como a la eritromicina con un 80%, la clindamicina con un 75% así como también a la oxacilina con un 84%, sin embargo los niveles de resistencia más elevados son para penicilina con un 99%.**(J. Alarco, 2014)**. Hoy en día, una nueva cepa ha desarrollado resistencia a la vancomicina, unos de los pocos antibióticos que todavía eran capaces de controlar esta bacteria.

Frente al desarrollo de microorganismos multiresistentes a los antibióticos, existen alternativas en la medicina natural, recurriendo a una gran diversidad de plantas como es el caso de *M. citrifolia* L “Noni”; según las referencias, presenta propiedades antibacterianas. Por este motivo se ha creído conveniente realizar este estudio, que tiene como objetivo principal Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”, frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* y como objetivos específicos: Evaluar el efecto antibacteriano, in vitro del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”, a concentraciones de 400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/l y 900mg/ml. frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* y Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni” sobre cepas de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* según el método de Macrodilución en tubo.

II.- ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Aproximadamente 160 compuestos fitoquímicos se han identificado en la planta de *M. citrifolia* L “Noni”, de los cuales los principales son compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y alcaloides. Entre los compuestos fenólicos más importantes están las antraquinonas, acubina, ácido asperulósido y escopoletina; los principales ácidos orgánicos son el caproico y caprílico mientras que el principal alcaloide reportado es la xeronina. La composición química varía dependiendo de la parte de la planta que se analice. La composición fisicoquímica completa del fruto aún no está disponible y sólo se cuenta con información parcial del jugo de Noni. La fruta contiene 90% de agua y los componentes mayoritarios de la materia seca son sólidos solubles, fibra dietética y proteínas. El contenido proteínico de la fruta es de 11.3% de la materia seca del jugo y los principales aminoácidos son el ácido aspártico, el ácido glutámico y la isoleucina. El contenido de minerales es de 8.4% de la materia seca y los más importantes son potasio, azufre, calcio y fósforo, además de trazas de selenio. Por otra parte, de los compuestos fenólicos con propiedades funcionales identificados en el jugo de Noni destacan: damnacantal, escopoletina, morindona, alizarina, acubina, nor-damnacantal, rubiadina. **(Ulloa et al., 2012).**

En la Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Se realizó un estudio de los factores de riesgo asociados a la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente en pacientes hospitalizados del Hospital Edgardo Rebagliati Martins. En 28 pacientes con bacteremia por *P. aeruginosa*s, de los cuales 21 pacientes tenían SIDA, se obtuvo que al menos 65% de los pacientes habían recibido terapia antibiótica un mes antes de la presentación de la bacteremia, siendo las vías de infecciones más frecuentes pulmonar, sanguínea y tracto respiratorio alto. **(López, 2002).**

Estudios realizados en la Universidad de Pamplona (Colombia), evaluaron de manera in vitro el efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tornillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. Las cepas elegidas fueron de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. El extracto de canela mostró un amplio espectro de acción, al detener el crecimiento de todas las bacterias ensayadas. Los demás extractos, demostraron acción inhibitoria contra algunas de las cepas bacterianas. En este estudio, también se observó, la diferencia en la sensibilidad frente a los extractos, entre las cepas Gram negativas y las Gram positivas. **(Arias, et al., 2006).**

Por otro lado en la facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos se determinó la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos metanólico, etanólico e hidroalcohólicos de cuatro plantas del nor-oriente Peruano: *Cassia reticulada*, *Llex guayusa Loes*, *Piper lineatum*, y *Terminalia catappa*. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar. Los microorganismos utilizados fueron las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*; y los hongos *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Microsporum canis*. De doce extractos investigados, ocho (67%) presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y uno (8%) frente a *Escherichia coli*. De doce extractos investigados, diez (83%) presentaron actividad significativa frente a *Candida albicans*, y seis (50%) contra *Microsporum canis*. **(Ruiz, et al., 2009).**

En la universidad de Trujillo se evaluó el efecto inhibitorio in vitro *Myrciaria dubia* “camu-camu” contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Se preparó el extracto etanólico de la cáscara de *Myrciaria dubia* en cuatro concentraciones: 25%(250 mg/ml), 50%(500 mg/ml), 75%(750mg/ml) y 100%(1000mg/ml). Se utilizó el método de Kirby Bauer (difusión en disco) y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antimicrobiano de las diferentes concentraciones de extracto etanólico de *M.dubia* tanto sobre el crecimiento de *S. aureus* como en el de *C. albicans* ($P<0.05$). Tanto *S. aureus* como *C. albicans* fueron sensibles a las cuatro concentraciones del extracto etanólico, al comparar los halos de inhibición según la escala de Duraffourd. La CMI para *S.aureus* fue del 75% (750mg/ml) y para *C. albicans* la concentración que tuvo efecto inhibitorio fue la del 100%(1000 mg/ml). **(Carranza, C. 2013).**

Se ha reportado que *M. citrifolia* L “Noni” tiene una gran historia de uso en la medicina tradicional en Polinesia para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Un amplio estudio sugiere que el extracto acuoso de *M. citrifolia* L “Noni” contiene sustancias farmacológicamente activas con propiedades antibacterianas. Existen evidencias de que el Noni inhibe el crecimiento de ciertas bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Se estima que el efecto antimicrobiano puede ser debido a ciertos compuestos fenólicos como la acubina, alizarina, escopoletina y otras antraquinonas. Los extractos del fruto maduro mostraron actividad antibacteriana moderada contra *Pseudomona aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *Salmonella typhosa*, *Salmonella montevideo*, *Salmonella schottmuelleri* y *Shigella paradys*. **(Locher, 1995. Citado por Rodríguez.et al.; Leach, 1988; Atkinson, 1956; Bushnell, 1950.).**

En la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, se hizo un estudio para determinar actividad antibacteriana in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L “Noni” y la planta entera de *Notholaena nivea* (Poiret) desv, frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Los métodos utilizados para el presente trabajo de investigación fueron ensayo de Kirby Bauer y determinación de CMI (concentración mínima inhibitoria). Los resultados de disco difusión para el exudado liofilizado del fruto de *M. citrifolia* L “Noni”, fueron: inactivas frente a *Enterococcus faecalis*; en todas las concentraciones ensayadas; frente a *Escherichia coli* demostró inactividad a concentraciones de 100 a 800 mg/ml, poca actividad a concentración de 900 mg/ml; en tanto frente a *Staphylococcus aureus* también demostró ser inactiva a concentraciones de 100 a 800 mg/ml y poco activa a concentración de 900 mg/ml. La concentración mínima inhibitoria fue de 512 mg/ml frente a *Enterococcus faecalis*, también fue de 512 mg/ml frente a *Escherichia coli*, y, 128 mg/ml frente a *Staphylococcus aureus*. **(Rodríguez, et al., 2014).**

En la Universidad Nacional Federico Villarreal se ha demostrado el efecto histopatológico de la *Morinda citrifolia* L “Noni” en alveolos post exodoncia de ratas albinas. Se trabajó con 24 ratas albinas de raza Holtman machos a los que aleatoriamente se dividió en dos grupos: 12 del grupo control y 12 del grupo con Noni. Extrajo un diente superior e inferior a cada una de las ratas y se aplicó directamente en el alveolo 3 gotas de 0,2ml cada una, conteniendo el extracto de *M. citrifolia* L “Noni”, tres veces al día en intervalos de 6 horas en el grupo experimental. Se obtuvieron 4 muestras del grupo control y 4 muestras del grupo con Noni a las 24 horas, 3 días y 7 días. Se concluyó que el extracto de la *Morinda citrifolia* “Noni” favorece la cicatrización post-exodoncia de alvéolos de ratas albinas a través de la formación de más componentes del tejido de granulación. **(Chahua, 2010).**

III.- MATERIALES Y METODOS

1.1. MATERIAL BIOLÓGICO:

- ❖ **Material Botánico:** Frutos de *M. citrifolia* L “Noni”, estos frutos fueron adquiridos del mercado Moshoqueque-Chiclayo, Provincia de Chiclayo, Departamento de Lambayeque.

- ❖ **Material Biológico:** Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* donadas por el área de Microbiología del Hospital Provincial Docente Belén y por el Laboratorio de Microbiología Humana de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque.

1.2. METODOS Y TECNICAS

1. Población y muestra de estudio

- ❖ **Población:** Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* provenientes del área de Microbiología del Hospital Provincial Docente Belén y del cepario del Laboratorio de Microbiología Humana de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque.

- ❖ **Muestra:** Se trabajó con tres cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y tres cepas de *Staphylococcus aureus* las que fueron enfrentadas a seis concentraciones del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”, realizándose tres repeticiones por microorganismo. Se utilizó como control negativo solución salina fisiológica esterilizada.

2. Procedimientos:

2.1 Identificación de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* fueron identificadas según el Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias del instituto nacional de salud.

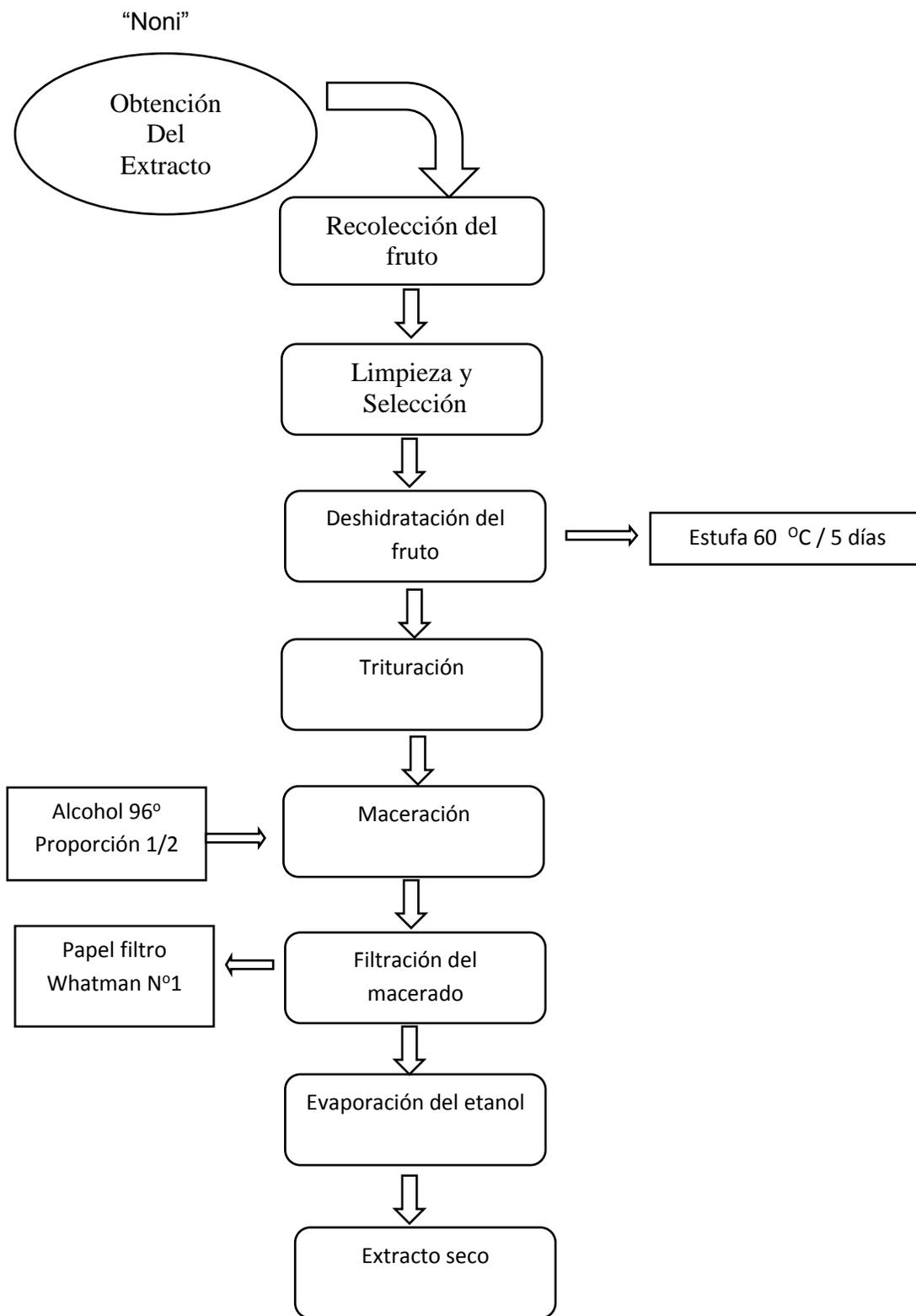
2.2. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

2.2.1. Tratamiento del fruto y obtención del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”. (Raulich y De la Cruz 2008)

- Se seleccionó los frutos aleatoriamente.
- Se desinfecto con hipoclorito de sodio 5%, durante 6 minutos removiéndose el desinfectante con tres enjuagues con agua destilada esterilizada, permaneciendo en agua durante un minuto por enjuague.
- Se limpió finalmente con un algodón embebido con alcohol de 70⁰.
- Se pesó 2kg de Noni, los cuales se trozaron en porciones pequeñas y colocadas en cápsulas de porcelana luego se llevó a estufa a 60°C por un promedio de 5 días. para su deshidratación
- Una vez deshidratadas se procedió a triturar, y procedió a colocarlas en un frasco de vidrio de aproximadamente 1000ml de capacidad.

- Posteriormente al producto triturado se le agregó etanol al 96°, en proporción 1:2 respectivamente, para su posterior maceración durante 7 días en constante movimientos rotatorios, guardadas sin contacto con luz solar.
- Pasados los 7 días se procedió al filtrado, esto se llevó a cabo con papel filtro Whatman N° 1.
- El filtrado se depositó en una cápsula de porcelana, la cual se colocó a estufa de 37°C, esto se hizo para que el etanol de 96° se evapore, de esta manera quedó solo el extracto seco.
- Finalmente se procedió a pesar el extracto etanólico.

Figura N° 1: Diagrama de la obtención del extracto etanólico de *Morinda Citrifolia*. L



2.2.2 Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”.

Se usó 25 g de extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”, al cual se le agregó 25 ml de alcohol al 40° (proporción de 1:1) y así se obtuvo una solución madre con una concentración de 1000 mg/ml.

Partiendo de la solución madre se procedió a realizar las respectivas diluciones para obtener concentraciones de 400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/ml y 900mg/ml. Tomando un volumen de la solución stock y empleando solución salina fisiológica estéril. (Ver tabla N°1).

Tabla N°1: Concentraciones del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* L. “Noni” obtenidas a partir de la solución madre.

Extracto acuoso (ml)	Solución salina fisiológica estéril (ml)	Concentraciones (mg/ml)
4.0	6.0	400
5.0	5.0	500
6.0	4.0	600
7.0	3.0	700
8.0	2.0	800
9.0	1.0	900



Figura N°2: Diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* L. “Noni”. Obtenidas a partir de la solución madre.

2.2.3. Preparación de los discos de susceptibilidad

- Para la preparación de los discos de sensibilidad se utilizó papel filtro Whatman N°1 del cual se obtuvo discos de 5mm de diámetro con ayuda de un perforador.
- Los discos se colocaron dentro de un frasco de vidrio para su esterilización en autoclave (15 Lb. de presión a 121 °C por 15 minutos).
- Se dejó secar en horno a 80 °C por 24 horas.
- Posteriormente en los discos se colocaron 20 μ L de cada una de las concentraciones del extracto acuoso de *M. citrifolia* L “Noni”, y se dejó en reposo por 5 minutos para luego realizar la prueba de susceptibilidad.
- Se tuvo como control negativo solución salina fisiológica esterilizada.

2.2.4. Prueba de susceptibilidad bacteriana según el método modificado de difusión de Kirby Buer.

- En placas de Petri previamente esterilizadas se sirvieron 10 ml de Agar Mueller Hinton.
- Se dejó solidificar y se le realizó el control de esterilización llevándolas a incubación a 37°C por 24 horas.
- Con el hisopo esterilizado se tomó el inóculo estandarizado, eliminando el exceso por rotación firme contra la pared interna del tubo, luego se sembró superficialmente por estrías en tres direcciones diferentes, con el fin de cubrir toda la superficie del agar y se dejó secar durante cinco minutos.
- Se colocaron los discos conteniendo 20 µL de extracto acuoso de *M. citrifolia* L “Noni”, que tengan las diferentes concentraciones descritas anteriormente y además el disco de control con 20 µL de solución salina fisiológica esterilizada, en las placas de Petri servidas anteriormente.
- Posteriormente se llevaron las placas a incubación a 37°C por 24 horas.
- Trascurrido el tiempo se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), usando una regla o calibrador.

2.3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria. Método de Macrodilución en Tubo según Norma Técnica Peruana nº30 del INS.

En cuanto a la población bacteriana, las cepas se sembraron e incubaron en agar Muller Hinton por un tiempo de 24 horas y a una temperatura de 37°C, luego se procedió a la cosecha; se comparó con el tubo número 0.5 del nefelómetro de Mc Farland que indica una densidad poblacional de 1.5×10^8 bacterias/ml. Una vez ajustado el inóculo y dentro de los 15 minutos de preparado la misma, se diluyó en caldo para lograr una dilución de 1/100(inoculo de trabajo= 1×10^6 UFC/ml).

- Colocamos 0.5ml de Caldo Muller Hinton desde el tubo N°2 al N°12.
- Colocamos 0.5ml de solución del extracto etanólico al tubo N°1 y N°2. Mezclamos el tubo N°2 y transferimos 0.5ml del tubo N°2 al tubo N°3.
- Mezclamos el tubo N°3 y transferimos 0.5 ml de este tubo al tubo N°4.
- Continuamos con el mismo procedimiento hasta el tubo N°10.
- Descartamos 0.5ml de la dilución del tubo N°10.
- Colocamos 0.5ml del inóculo desde el tubo N°1 al N°11.
- El tubo N°11 es el control del inóculo y el N°12 el control de esterilidad.
- Incubamos a 35°C, en un tiempo de 16 – 20 horas.
- El punto final se define a simple vista por la falta de turbidez del medio, para ello se comparó cada tubo con el tubo control de crecimiento.

2.4. Diseño experimental y análisis de datos.

Se aplicó el diseño experimental de estímulo creciente (**Goode y Hatt, 1996**). Los grupos experimentales son las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, cada una por triplicado, a las cuales se les aplicó como estudio los extractos etanólicos de *M. citrifolia* L “Noni”, a diferentes concentraciones.

Para el análisis estadístico de los datos se aplicó el análisis de varianza (ANAVA), con arreglo factorial 6x6x3, en el cual: 6 correspondieron a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”, tres cepas fueron el número de cultivos puros de *Pseudomonas aeruginosa* y tres cepas de cultivos puros de *Staphylococcus aureus*, en total fueron seis el número de cepas utilizadas, y por último, tres el número de repeticiones. Este análisis se complementó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05 para la actividad antimicrobiana del extracto etanólico, la concentración y las cepas bacterianas que se probó. Se utilizó el software estadístico: Estadística versión 6.0 y Ms Excel 2010.



A.



B.



C.



D.



E.



F.



G.

Figura 3: Obtención del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni". A) Limpieza; B) Picado; C) Deshidratación; D) Maceración; E) Filtración; F) Evaporación; E) Extracto.

IV.- RESULTADOS.

4.1. Del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Los resultados obtenidos en el desarrollo experimental del presente trabajo demostraron que el crecimiento de las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron inhibidos por el extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”.

Considerando la concentración inicial (1.5×10^8 UFC/ml) de *Staphylococcus aureus* expuestos a la acción del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”, se observó que hubo mayor halo de inhibición del crecimiento conforme se incrementaban las concentraciones del principio activo (400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/ml y 900 mg/ml), siendo la concentración de 900 mg/ml la que mostro mayor halo de inhibición (16.22 mm). En la especie de *Pseudomonas aeruginosa* no presentó sensibilidad al extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”.

Tabla N°2: Promedio del halo de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* por el efecto del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni"

Concentración del Extracto (mg/ml)	Halos de inhibición por especies	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
400	6.11	No presente
500	8.00	No presente
600	9.88	No presente
700	11.22	No presente
800	13.11	No presente
900	16.22	No presente

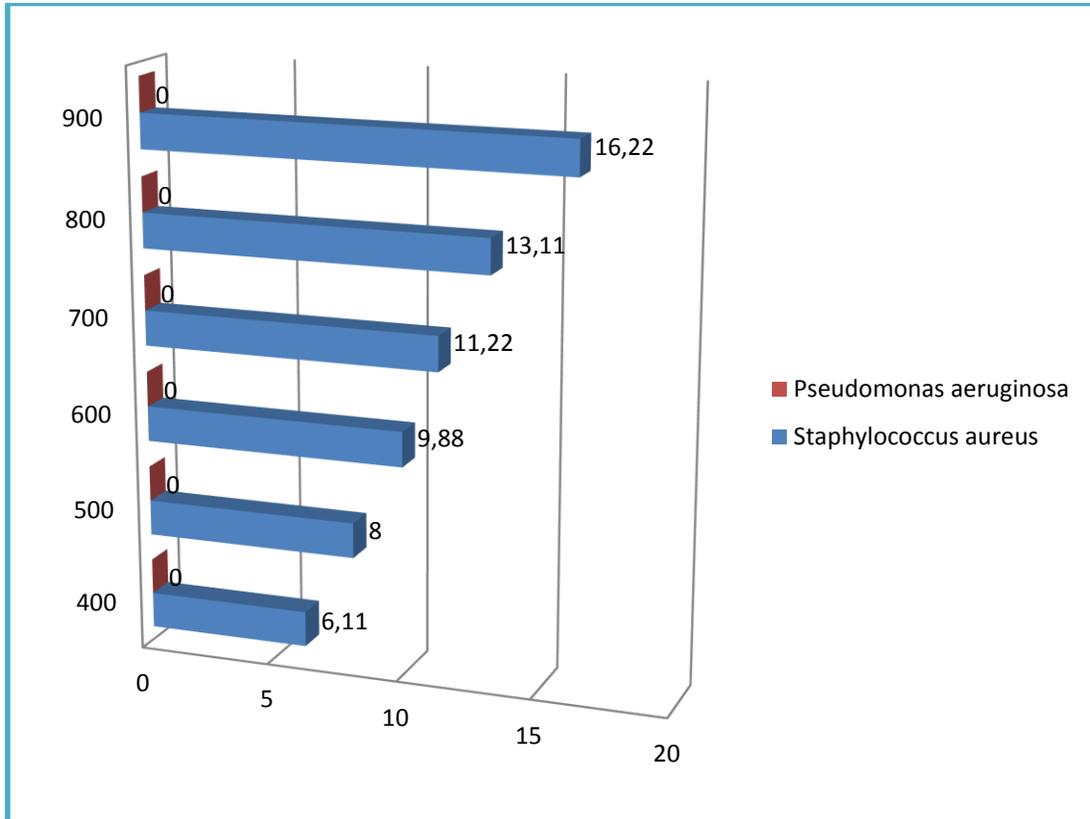


Figura N°4: Promedio del halo de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* por el efecto del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”



Figura N°5: Halos de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* por el efecto del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni"



Figura N°6: Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* frente al efecto del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni"

En el análisis de varianza (ANAVA) (Tabla N°3) se dedujo que existe diferencias estadísticas entre los promedios de los halos de inhibición (mm) obtenidos según cepas y concentraciones e interacciones ente ambas. Estos resultados permiten observar que el efecto inhibitorio de extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni” es independiente del tipo de especie, pues ellas muestran diferente sensibilidad al extracto etanólico, así mismo la concentración del extracto interfiere en la actividad antibacteriana.

Tabla N°3: Análisis de varianza de los promedio de los halos de inhibición para las cepas de *Staphylococcus aureus* concentración del producto e interacción de los factores del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”.

Hipótesis:

Cepas:

H_0 = No existen diferencia significativa

H_a = Si existen diferencia significativa

Concentración:

H_0 = No existen diferencia significativa

H_a = Si existen diferencia significativa

Interacción:

H₀ = No existen diferencia significativa

H_a = Si existen diferencia significativa

FV	SC	GL	CM	F	p
CC	590.093	5	118.019	40.335	0.000000
CEPA	122.259	2	61.130	20.892	0.000001
CC x CEPA	140.185	10	14.019	4.791	0.000222
Error	105.333	36	2.926		

FV = Fuente de variación

GL= Grado de libertad

SC = Suma de cuadrados

CM = Cuadrados medios

P= Probabilidad

Estadísticamente se demostró, a través de la prueba de Tukey que los promedios de halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* expuestas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”. (400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/ml y 900 mg/ml) aumentaba a medida que se incrementaban las concentraciones (figura N°6) así la concentración de 400 mg/ml se observó un halo de inhibición de 6,111 mm mientras la concentración de 900 mg/ml se obtuvo un halo de inhibición de 16,222 mm

Tabla N°4: Prueba de significancia de Tukey (0,05) para *Staphylococcus aureus* en relación a las concentraciones del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”

Concentración	Tamaño del Halo (mm)	Significancia		
400	6.11111	A		
500	8.00000	A	B	
600	9.88889		B	C
700	11.22222			C D
800	13.11111			D
900	16.22222			E

Letras diferentes = diferencia significativa

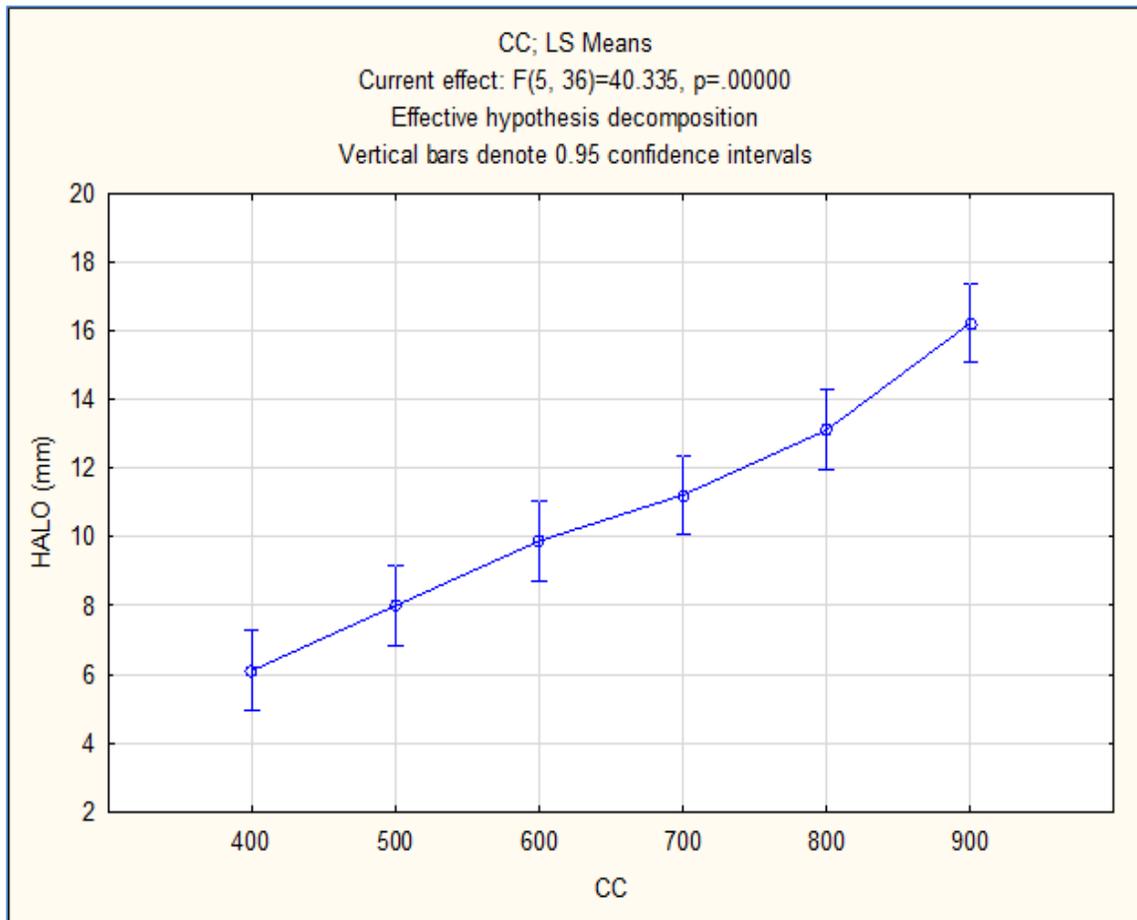


Figura N°7: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones (400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/ml y 900 mg/ml) en el efecto del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”.

Como se observa en la tabla N°5 al realizar la prueba de Tukey para los promedios de halos de inhibición de las cepas de *Staphylococcus aureus* obtenidos después de la prueba de sensibilidad bacteriana al extracto etanólico de *M. citrifolia* L. “Noni”. “Noni” demostró que la cepa 3 es independiente.

Tabla N°5: Prueba de significancia de Tukey (0,05) de *Staphylococcus aureus* en el efecto del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”

CEPA	Tamaño del Halo (mm)	Significancia
<i>Staphylococcus aureus 2</i>	9.16667	A
<i>Staphylococcus aureus 1</i>	10.33333	A
<i>Staphylococcus aureus 3</i>	12.77778	B

Letras diferentes = diferencia significativa

Letras iguales = no hay diferencia significativa

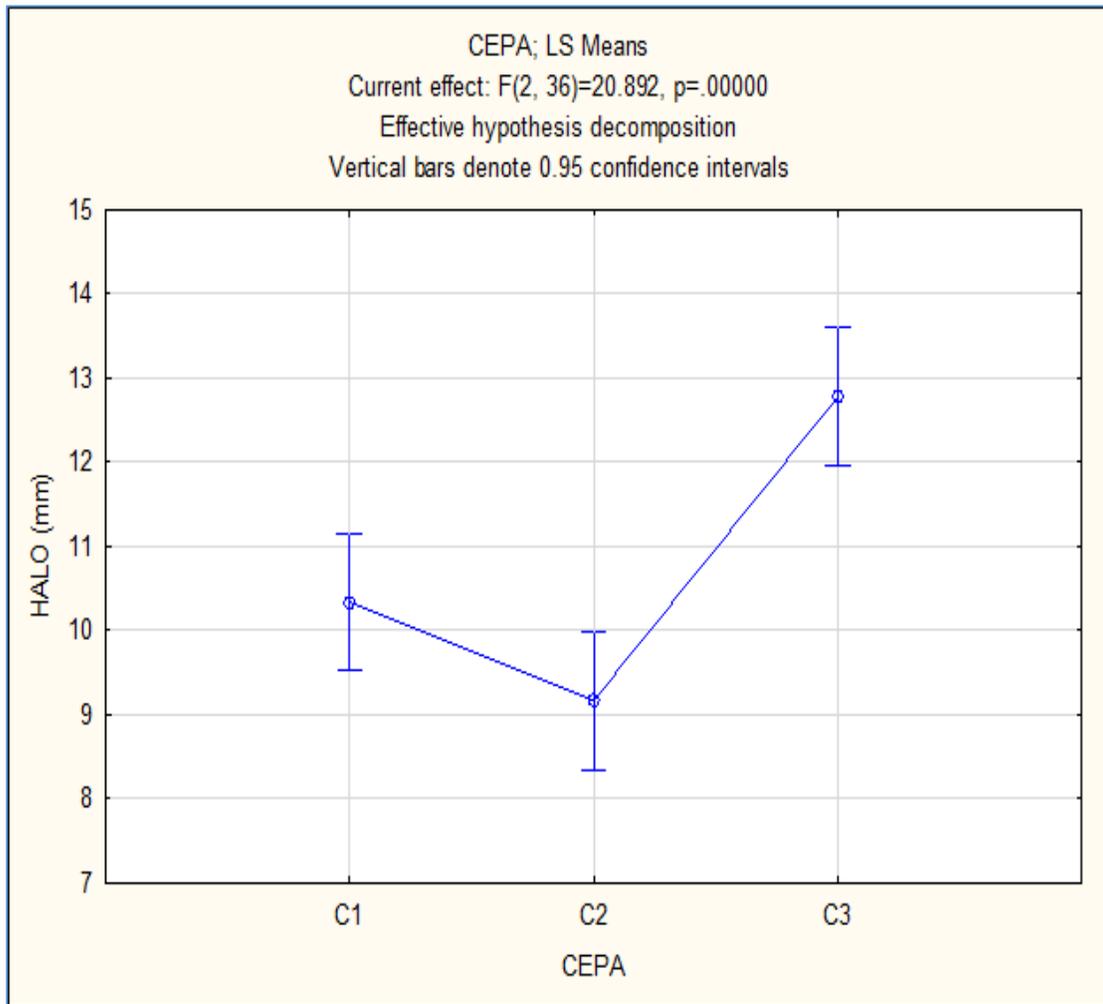


Figura N°8: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las cepas de *Staphylococcus aureus* en el efecto del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni”.

4.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*.

En esta tabla, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo C4 con la concentración 50 mg/ml, esto se evidencia al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo C1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo C4, por la actividad del extracto etanólico de *M. citrifolia* L. “Noni”. Desde el tubo de ensayo C5 (25 mg/ml) hasta el tubo de ensayo C10 (0,78 mg/ml) si se observa turbidez.

Tabla N°6: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa – 01

N° DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
C1	400 mg/ml		SIN TURBIDEZ
C2	200 mg/ml		
C3	100 mg/ml		
C4	50 mg/ml	CMI	
C5	25mg/ml		TURBIDEZ
C6	12.5 mg/ml		
C7	6.25 mg/ml		
C8	3.13 mg/ml		
C9	1,56mg/ml		
C10	0,78mg/ml		

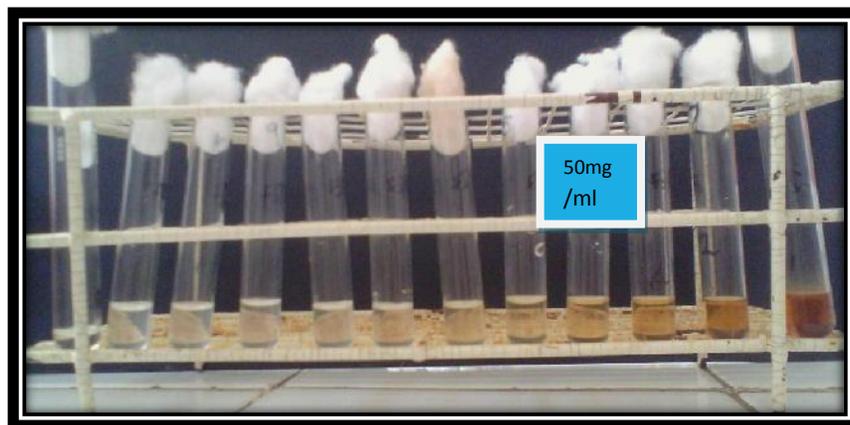


Figura N°9: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni" frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 01.

En esta tabla, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo C3 con la concentración 100 mg/ml, esto se evidencia al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo 1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo C3, por la actividad del extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”. Desde el tubo de ensayo C4 (50 mg/ml) hasta el tubo de ensayo C10 (0,78 mg/ml) si se observa turbidez.

TablaNº7: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa- 02

Nº DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
C1	400 mg/ml	CMI	SIN TURBIDEZ
C2	200 mg/ml		
C3	100 mg/ml		
C4	50 mg/ml	TURBIDEZ	
C5	25mg/ml		
C6	12.5 mg/ml		
C7	6.25 mg/ml		
C8	3.13 mg/ml		
C9	1,56mg/ml		
C10	0,78mg/ml		

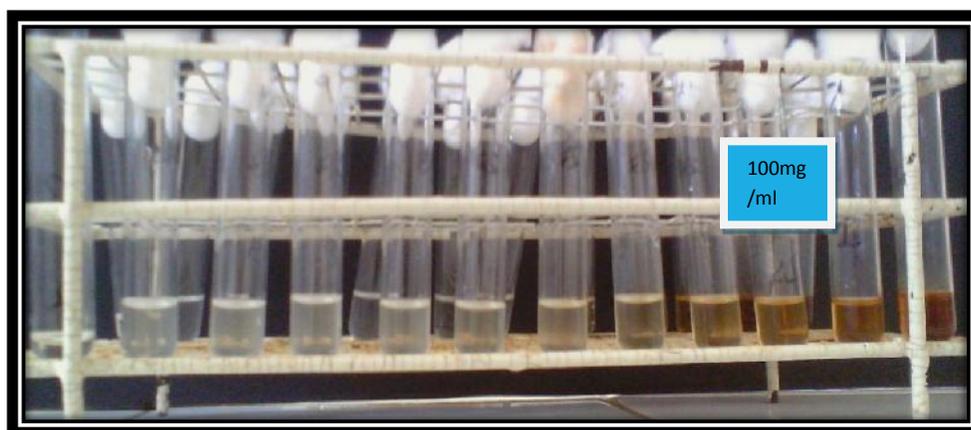


Figura N°10: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa- 02

En esta tabla, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo C5 con la concentración 25 mg/ml, esto se evidencia al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo C1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo C5, por la actividad del extracto etanólico de *M. citrifolia* L. "Noni". Desde el tubo de ensayo C6 (12.5 mg/ml) hasta el tubo de ensayo C10 (0,78 mg/ml) si se observa turbidez

Tabla N°8: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni" frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa-03.

N° DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
C1	400 mg/ml		SIN TURBIDEZ
C2	200 mg/ml		
C3	100 mg/ml		
C4	50 mg/ml		
C5	25mg/ml	CMI	
C6	12.5 mg/ml		TURBIDEZ
C7	6.25 mg/ml		
C8	3.13 mg/ml		
C9	1,56mg/ml		
C10	0,78mg/ml		

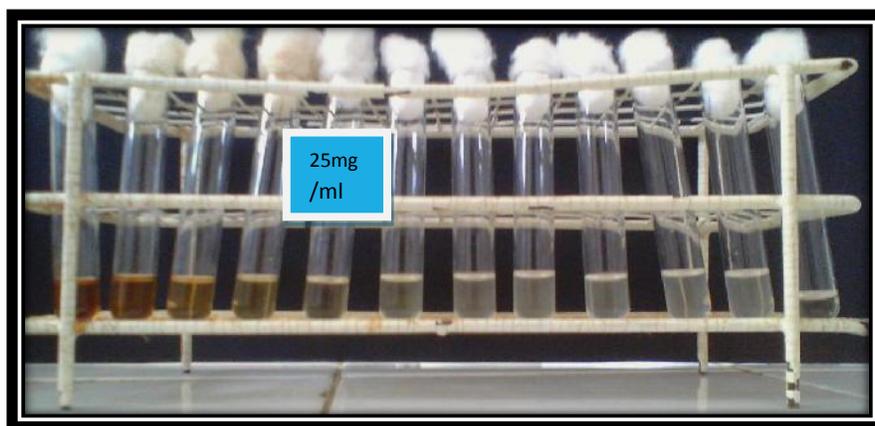
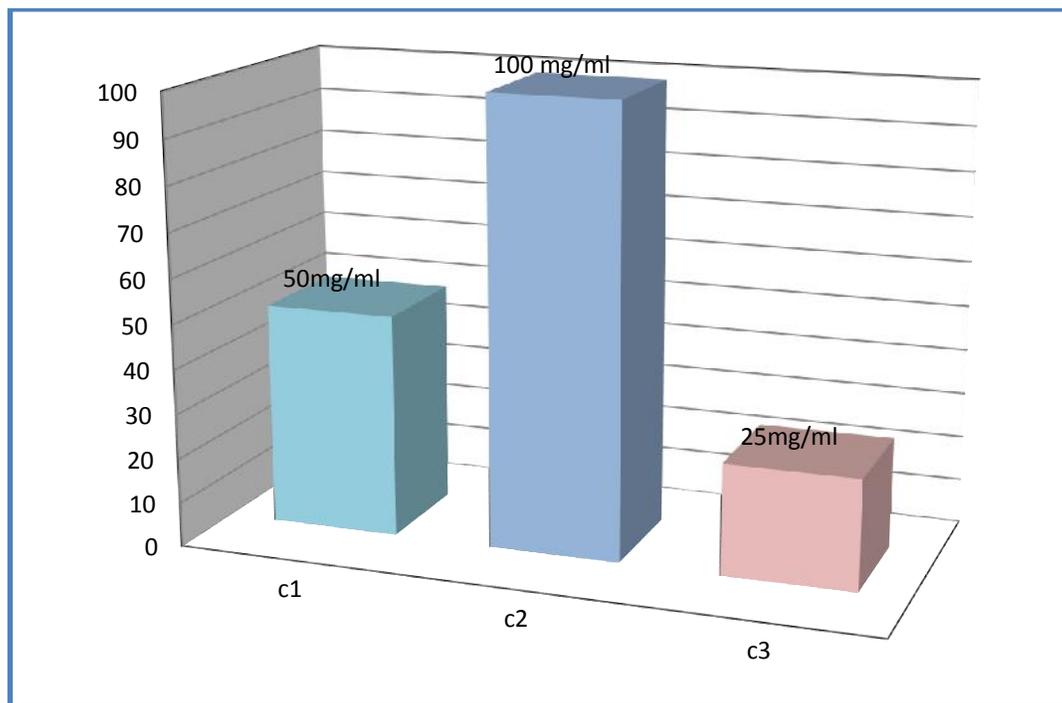


Figura N°11: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni" frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 03.

En el presente gráfico se observa la comparación de los crecimiento mínimo inhibitorios de las cepas utilizadas (c1, c2 y c3); resultando la cepa c2 la más resistente con un CMI de 100 mg/ml, mientras que la cepa mas sensible fue la cepa c3 con un CMI de 25mg/ml.

Figura N°12: Comparación de la concentración inhibitoria mínima (CMI) del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. "Noni" frente *Staphylococcus aureus*.



V.- DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación acerca del estudio de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*; se obtuvieron los siguientes resultados.

El extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* con un promedio de halo de inhibición de 10.76 mm; Sin embargo no presentó actividad antibacteriana sobre *Pseudomonas aeruginosa*. Estos resultados permiten afirmar que el extracto etanólico de *M. citrifolia* L “Noni”, tiene actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, y por el contrario no presenta actividad antibacteriana sobre *Pseudomonas aeruginosa*, concordando con los estudios realizados por Rodríguez y Zevallos en el 2014; quienes llevaron a cabo una investigación donde comprobaron el efecto inhibitorio del extracto acuoso liofilizado de “Noni” sobre *Staphylococcus aureus*. Siendo sensible, con un promedio de halo de inhibición de 7.3 mm a una concentración de 900 mg/ml; asimismo, Borroto J. en el 2011, realizó un estudio donde comprobó la actividad antibacteriana del extracto diclorometánico de *Morinda royoc* L. sobre bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina, *Staphylococcus aureus* ATCC 12598 y *Enterococcus faecalis*.

Por otro lado el extracto diclorometánico de *Morinda royoc* L no fue activo frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae*, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio.

El efecto de las plantas medicinales se debe los metabolitos secundarios denominados principios activos; estos son compuestos químicos cuyas moléculas atraviesan las membranas por transporte pasivo siguiendo parámetros como; el grado de liposolubilidad lo que le permite a las moléculas disolverse en las porciones lipídicas de la membrana celular, facilitándole en ingreso al medio intracelular, el gradiente de concentración facilita el paso de molecular de una zona de mayor concentración a una de menor concentración, también la influencia del pH como en la mayoría de drogas son ácidos o bases débiles tanto de forma ionizada como no ionizada, la porción no ionizada es comúnmente liposoluble por lo que atraviesa la membrana citoplasmática por difusión pasiva, mientras que la fracción ionizada debido a su escasa solubilidad no pueden atravesar las membranas citoplasmáticas. **(Valsecia, 1999).**

La diferencia entre los promedios de los halos de inhibición obtenidos en los estudios de Rodriguez, y lo realizado en el presente trabajo, se debería a la naturaleza del solvente, puesto que en este estudio se utilizo etanol, el cual debido a su polaridad tiene la capacidad de arrastrar una mayor cantidad de los metabolitos secundarios de *M. citrifolia* L “Noni”, incrementando la concentración del principio activo; a su vez genera un mayor efecto antibacteriano, la cual es evidenciada por la formación de un halo de inhibición de mayor diámetro.

Entre los principales metabolitos secundarios que presenta el fruto de *M. citrifolia* L “Noni” , se encuentran los compuestos fenólicos, los cuales son potentes bactericidas (incluyendo las micobacterias), fungicidas y capaces de inactivar los virus lipofílicos. Sin embargo no son útiles para eliminar las esporas. Los compuestos fenólicos, actúan rompiendo las paredes y membranas celulares de las bacterias; precipitando las proteínas

y desnaturalizándolas; también inactivan enzimas como oxidasas y deshidrogenasas de la membrana. **(Universidad pontificia javeriana, Bogotá).**

La actividad antibacteriana del extracto etanólico de *M. citrifolia* L. “Noni” sobre *Staphylococcus aureus*, se debe a que carece de membrana externa, teniendo como única barrera el peptidoglucano el cual no impide la entrada de moléculas de mediano peso molecular como es el caso de terpenos y fenoles, componentes mayoritarios del fruto de *M. citrifolia* L.(Noni). Por el contrario las bacterias Gram negativas estructuralmente presentan una pared celular formada por una delgada capa de peptidoglucano seguido de una compleja membrana externa. Aparte de ello en el caso específico de *Pseudomonas aeruginosa*, posee en su membrana externa proteínas de transporte (porinas) muy pequeñas las cuales impiden el paso de moléculas de mayor peso molecular **(Cabrera, et al., 2007).**

En el análisis de varianza (ANAVA) se demuestra que existe diferencia significativa entre los promedios de los halos de inhibición (mm), cepas, concentraciones e interacciones entre ambas. Por lo tanto se observa que la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *M. citrifolia* L. “Noni”, es independiente a la cepa, pues presentan diferente sensibilidad.

En la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L Noni , de acuerdo a la prueba de Tukey de las concentraciones utilizadas (400 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml, 700 mg/ml, 800 mg/ml y 900 mg/ml), las de 800 mg/ml y 900 mg/ml fueron las mas efectivas en la inhibición de los microorganismos , en los que se produjo un promedio de halo de inhibición de 13,11 y 16,22mm respectivamente, mientras que con las concentraciones de 400 mg/ml y 500 mg/ml el efecto fue menor (6,11 y 8mm). Con

referencia a las cepas; la cepa número 2 es la más resistente, mientras que la cepa número 3 es la más sensible, esto es debido a los cuadros infecciosos de donde procedieron y a la terapia antibacteriana a la que pudieron haber sido expuestas.

Con respecto al CMI de *Morinda citrifolia* L "Noni" sobre las diferentes cepas de *Staphylococcus aureus*, se obtuvo un promedio de 58.33 mg/ml estos resultados no concuerdan con los estudios de Rodriguez quien obtuvo una concentración mínima inhibitoria de 128mg/ml. Esto es debido a que Rodriguez utilizo cepas ATCC (estandarizadas) mientras que en este estudio se uso cepas aisladas de pacientes con infecciones hospitalarias.

VI.- CONCLUSIONES

- ✓ El extracto etanólico de *Morinda citrifolia* “Noni” presentó actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y no presentó actividad antibacteriana frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

- ✓ La concentración de 900mg/ml fue la más efectiva, mientras que la concentración de 400 mg/ml fue la menos efectiva.

- ✓ El promedio de la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 58,3mg/ml.

VII RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda realizar ensayos de actividad antibacteriana usando los aceites esenciales del fruto, hojas, tallo y raíz de la especie de *Morinda citrifolia*. Asimismo usar otras especies de cepas bacterianas.

- ✓ Realizar pruebas para evaluar la toxicidad del fruto, hojas, raíz y tallo de la especie de *Morinda citrifolia*.

- ✓ Realizar evaluaciones fitoquímicas de *M. Citrifolia* “Noni” para determinar las moléculas que poseen efecto antibacteriano.

VIII.- RESUMEN

Morinda citrifolia L “Noni”, posee compuestos fenólicos (antraquinonas, acubina, ácido asperulósido y escopoletina) que poseen actividad antibacteriana, las especies de bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* están presentado un alto índice de resistencia frente a los antibióticos y sobre todo en el ámbito hospitalario

El objetivo del presente estudio fue determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se utilizó el método modificado de Kirby Bauer, para determina la formación de halos de inhibición y el método de Macrodilución en Caldo para determinar la concentración mínima inhibitoria. Los resultados de disco difusión para el e extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. “Noni” fueron: sensible para *Staphylococcus aureus* con un promedio del halo de inhibición 16,222mm y un promedio de 58,3 mg/ml respecto a la CMI. Mientras que *Pseudomonas aeruginosa* no presento sensibilidad. Concluimos que el extracto etanólico de *M. citrifolia* L. “Noni” mostró actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, pero no, sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Alarco J. Resistencia bacteriana: una pandemia silente. Rev méd panacea. 2014; 3 (1):1-2
- 2) Aloush V, S. Navon-Venezia, Y. Seigman-Igra, S. Cabili y Y. Carmeli . 2006. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*, 50:43–48.
- 3) Álvarez Lerma, F., M. Palomar, J. Insausti, P. Olaechea, E. Cerdá, G. Sánchez y M.Torre. 2006. Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en pacientes críticos en unidades de cuidados intensivos. *Medicina Clínica*, 126(17), pp.641-646.
- 4) Anon, 2016. [online] Available at: 1, <http://www.who.int/patientsafety/campaigns/amr/en/index.html> [Accessed 1 Nov. 2015].
- 5) Arias, F. Y R. Rico. 2013. Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. *Bistua Revista De La Facultad De Ciencias Basicas*, 4(2).
- 6) Atkinson N. Antibacterial substances from flowering plants. 3. Antibacterial activity of dried Australian plants by a rapid direct plate test. *Australian J Exper Biol* 1956; 34: 17- 26.

- 7) Borroto, J, R. Trujillo, Y. De la Torre, N. Waksman, M. Hernández Y R. Salazar. 2011. Actividad antimicrobiana y toxicidad frente a *Artemia salina* del extracto diclorometánico de raíces de *Morinda royoc* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(1), 34-42. Recuperado en 16 de septiembre de 2016, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000100004&lng=es&tIng=es
- 8) Boucher, H, G. Talbot, J. Bradley. 2009 Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 48: 1-12.
- 9) Bushnell, O, M. Fukuda, T. Makinodian. The antibacterial properties of some plants found in Hawaii. *Pacific Science* 1950; 4: 167-83.
- 10) Cabrera, C, R. Gómez Y A. Zúñiga. 2007. Resistance to bacterial antibiotics, antiseptics and disinfectants a manifestation of the survival and adaptation mechanisms. *Colombia Médica*, 38(2), 149-158.
- 11) Cantón, R, S. Morosini, E. Loza, F. Baquero. 2006. Mecanismos de Multiresistencia e importancia actual en microorganismos grampositivos y gramnegativos. *Enf Infec Microbiol Clin, Monogr*, 5(5):3-16.
- 12) Castillo, C. 2013. Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* “camu-camu” sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

- 13) Chahua. 2010. Efecto histopatológico de la Morinda citrifolia en alveolos post exodoncia de ratas albinas. (en línea).Perú. Universidad Nacional Federico Villarreal. disponible en: <http://www.cop.org.pe/biblioteca/index.php/tesis/5-cirugia-bucal-y-maxilo-facial/143-efecto-histopatologico-de-la-morinda-citrifolia-en-alveolos-post-exodoncia-de-ratas-albinas> (2015, 31 de octubre).
- 14) Domingo, D, M. López. 2003. Plantas con acción antimicrobiana. Rev. Esp. Quimioterap. 16(4):385-393.
- 15) Duke J. Handbook of phytochemicals. Boca Ratón, FL: CRC Publishing; 1992.
- 16) Duncan, S, H. Flint, C. Stewart. Inhibitory activity of gut bacteria against Escherichia coli 0157 mediated by dietary plant metabolites. FEMS Microbiol Lett 1998; 164: 283-58.
- 17) Enlace Nacional. 2016. Pseudomona aeruginosa: Un problema de salud pública. [online] Available at: <http://enlacenacional.com/2009/02/19/pseudomona-aeruginosa-un-problema-de-salud-publica/> [Accessed 7 Apr. 2016].
- 18) Heinicke R. The pharmacologically active ingredient of Noni. Bulletin of the National Tropical Botanical Garden, 1985.
- 19) Heinicke R. The Xeronine system: a new cellular mechanism that explains the health promoting action of NONI and Bromelian. Direct Source Publishing; 200.

- 20) Leach, A, D. Leach, G. Leach. Antibacterial activity of some medicinal plants of Papua New Guinea. *Sci New Guinea* 1988; 14: 1-7.
- 21) Levand O. y H. Larson. Some chemical constituents of *Morinda citrifolia*. *Planta Med* 1979; 36:186-7.
- 22) Locher C, M. Burch, H. Mower, J. Berestecky, H. Davis, B. Van Poel. Antimicrobial activity and anti-complement activity of extract obtained from selected Hawaiian medicinal plants. *J Ethnopharm* 1995; 49: 23- 32.
- 23) Lopez De Lama, L. 2002. Factores de riesgo asociados a la presentación de *Pseudomona* Multirresistente en pacientes hospitalizados. Hospital Edgardo Rebagliati Martins. Febrero 2000-Marzo 2002. Tesis para optar el Título De Especialista En Medicina Intensiva. Universidad Nacional Mayor De San Marcos.
- 24) Mandell G., J. Benett, R. Dolin. 2010. *Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica.* 7^o Edición. Editorial Elseiver.
- 25) Med.javeriana.edu.co. 2016. Departamento de Ciencias Fisiológicas. [online] Available at: <http://med.javeriana.edu.co/fisiologia/fw/c712.htm> [Accessed 16 Sep. 2016].
- 26) Morell, J. 1998. Infecciones por *Staphylococos*. *Rev. Medicine* 7(78): 4505-08.
- 27) Noni plant may help TB. *AI DS patient care STDS* 2001; 15: 175.

- 28) Peydró, A. Y A. Reyes. Antecedentes y estado actual de investigaciones sobre la utilidad médica de La Morinda Citrifolia (Noni Tahitiano).
- 29) Rodríguez, M. Y F. Zevallos. 2014. Actividad antibacteriana in vitro del fruto de Morinda citrifolia L. y planta entera de Notholaena nivea (Poiret) Desv, frente a Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Enterococcus faecalis, IMET-ESSALUD 2013.
- 30) Ruiz, J. y M. Roque. 2009. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-orientes peruano. Ciencia e Investigación, 12(1), 41-47.
- 31) Textbookofbacteriology.net. 2016. Pseudomonas. [online] Available at: <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> [Accessed 20 Ago. 2016].
- 32) Ulloa, J., P. Ulloa, J. Ramírez y B. Rangel. 2012. El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. Revista Fuente Año, 4(10).
- 33) Valsecia, M. 1999. Farmacología general. Farmacocinética. Primera edición. Editorial oriental. España.
- 34) Wang M, H. Kikuzaki, K. Csiszar, C. Boyd, A. Maunakea, S. Fong, et al. Novel trisaccharide fatty acid ester identified from the fruits of Morinda citrifolia (Noni). J Agric Food Chem 1999; 47: 4880-2.
- 35) Wang M, H. Kikuzaki, Y. Jin, N. Nakatani, N. Zhu, K. Csiszar, et al. Novel glycosides from noni (Morinda citrifolia). J Nat Prod 2000; 63: 1182-3.

36) Yeaman, M. Y N. Yount. 2003. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Revista Pharmacol.* 55:27-55.

X.- ANEXOS



HERBARIO PEDRO RUIZ GALLO
UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



CONSTANCIA

La que suscribe, hace constar que los ejemplares botánicos que están presentando al herbario los señores: **Altamirano Fernández Luis Angel** y **Castro Bruno Emeli Maday** pertenece a la especie ***Morinda Citrifolia* L.** de la familia Rubiaceae, las que serán incorporadas a nuestro herbario como constancia de su identificación.

Lambayeque, 27 de Agosto de 2016.


Msc. Josefa Ecurra Puicón
Jefa(e) del HPRG



Taxonomía de bacterias utilizadas

Clasificación científica de *Staphylococcus aureus*

Reino: Bacteria.
Filo: Firmicutes.
Clase: Bacilli.
Orden: Bacillales.
Familia: Staphylococcaceae.
Género: *Staphylococcus*.
Especie: *S. aureus*.

Clasificación científica de *Pseudomonas aeruginosa*

Dominio: Bacteria.
Filo: Proteobacteria.
Clase: Gamma Proteobacteria.
Orden: Pseudomonadales.
Familia: Pseudomonadaceae.
Género: *Pseudomonas*.
Especie: *P. aeruginosa*.

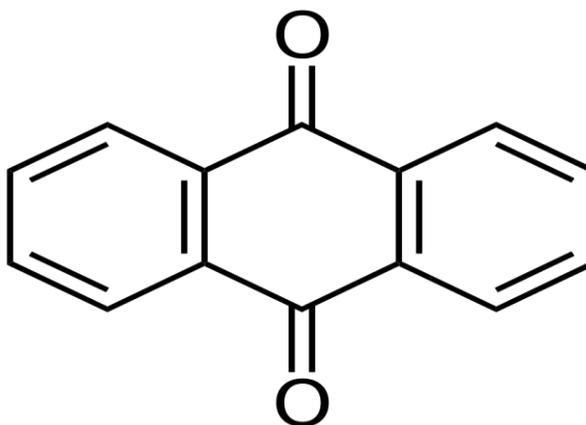
Taxonomía de la planta

Clasificación científica de *Morinda citrifolia* L.

Reino: Plantae.
División: Magnoliophyta.
Clase: Magnoliopsida.
Orden: Gentianales.
Familia: Rubiaceae.
Subfamilia: Rubioideae.
Tribu: Morindeae.
Género: *Morinda*.
Especie: *Morinda citrifolia* L.



Descripción de la Antraquinona



Formula molecular

 $C_{14}H_{10}O_2$ **Propiedades físicas**

Densidad

1.44 g/cm³

Punto de fusión

284 - 286 °C (-199 °F)

Punto de ebullición

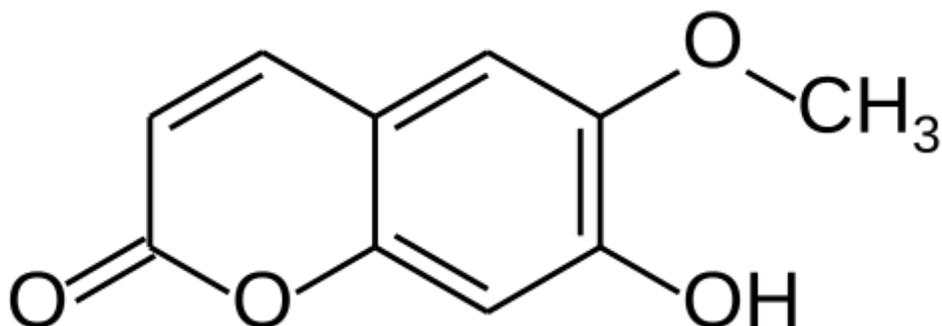
379 - 381 °C (-275 °F)

Propiedades químicas

Solubilidad en agua

No soluble

Descripción de la Escopoletina



Fórmula C₁₀H₈O₄

Peso mol. 192.16 g/mol

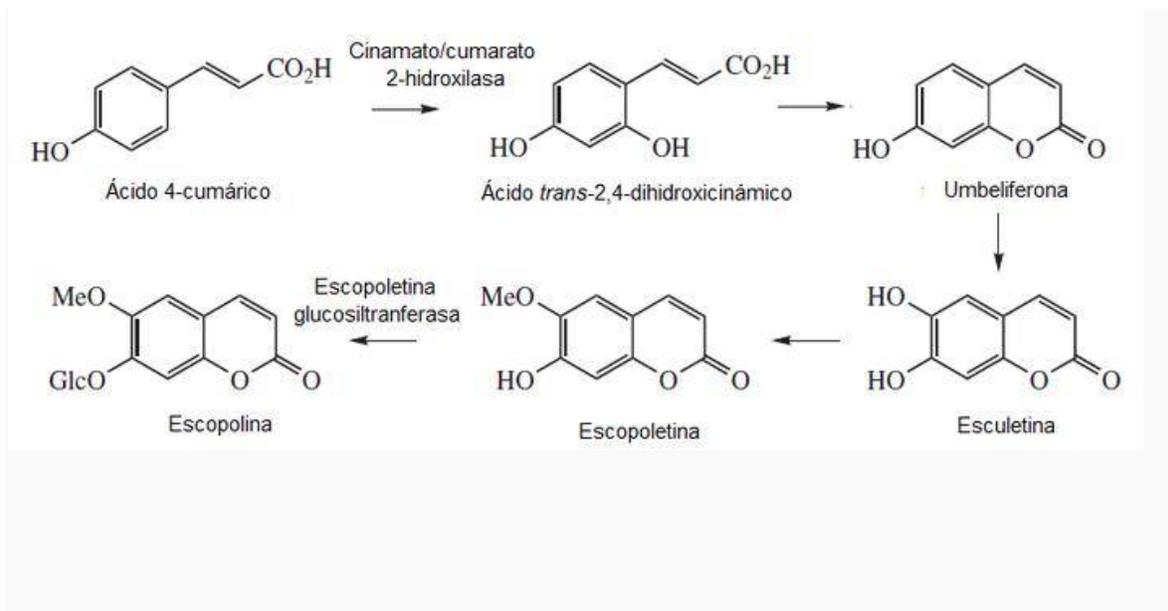
Sinonimos: Acido gelseminico

Escopoletina 6- Metilesculetina

Escopoletol

La escopoletina ha mostrado actividad bacteriostática contra varias especies de bacterias incluyendo *Escherichia coli*, *Streptococcus sp* y *klepsiella pneumoniae*.

Biosíntesis de escopoletina y escopolina



La escopoletina es una cumarina que se encuentra en la raíz de las plantas del género *Scopolia*. Es biosintetizada por la vía del ácido shikímico, por la ruta de los fenilpropanoides, siendo el precursor el ácido 4-cumárico. La biosíntesis de la escopoletina está relacionada con la de la umbeliferona y la esculetina.