



Original

Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Moringa oleifera* Lam. cultivada en Cuba
Evaluation of Anti-Microbial Activity of Extracts of *Moringa oleifera* Lam. Cultivated in Cuba

Raisa Monteagudo Borges ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-4926-8783>

Odalys Fidalgo Perera ² <https://orcid.org/0000-0003-0015-4061>

Ernesto Almora Hernández ¹ <https://orcid.org/0000-0002-1431-7004>

Vivian Lago Abascal ¹ <https://orcid.org/0000-0002-3229-1872>

Olga Echemendia Arana ¹ <https://orcid.org/0000-0002-2916-1524>

Graciela Bolaños Queral ² <https://orcid.org/0000-0001-5829-8645>

¹ Laboratorio de Investigaciones. Proyecto “Moringa como suplemento nutricional”, Centro de Investigaciones en Plantas Proteicas y Productos Bionaturales.

² Instituto Finlay de Vacunas.

* Autor par al correspondencia(email): rmonteagudo@bionaturasm.cu

RESUMEN

Antecedentes: *Moringa oleifera* (Moringaceae) es una planta altamente valorada, distribuida en muchos países de los trópicos y subtropicales. Tiene una impresionante gama de usos medicinales con alto valor nutricional.

Objetivo. Evaluar la actividad antimicrobiana “in vitro” de extractos acuoso e hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam. cultivada en Cuba.

Métodos: Utilizando el método del MTT, se evaluó la citotoxicidad y la actividad antiviral *in vitro* de diferentes concentraciones de los extractos de las hojas secas de *Moringa oleifera* contra los virus del Herpes Simple tipo 1 (HSV-1) y Herpes Simple tipo (HSV-2). Se determinó

Como citar (APA)

Monteagudo Borges, R., Fidalgo Perera, O., Almora Hernández, E., Lago Abascal, V., Echemendia Arana, O., & Bolaños Queral, G. (2022). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Moringa oleifera* Lam. cultivada en Cuba. *Revista de Producción Animal*, 34(1). <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e4153>



©El (los) autor (es), Revista de Producción Animal 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Attribution-NonCommercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), asumida por las colecciones de revistas científicas de acceso abierto, según lo recomendado por la Declaración de Budapest, la que puede consultarse en: Budapest Open Access Initiative's definition of Open Access.

mediante el método de micro dilución, la actividad antimicrobiana frente a cepas bacterianas de referencias y de aislamientos clínicos y se calculó la concentración mínima inhibitoria (CMI).

Resultados: El extracto hidroalcohólico mostró toxicidad a partir de la concentración de 125 µg/ml mientras que el extracto acuoso no fue tóxico a partir de 500 µg/ml en las células *Vero* en el rango de las concentraciones evaluadas. Ninguno de los extractos inhibió la replicación “in vitro” de los virus HSV 1 y HSV 2 en células *Vero*, pero mostraron una potente actividad frente a las cepas bacterianas y levadura ensayadas en diversos grados.

Conclusiones: Los extractos no presentaron actividad antiviral “in vitro” frente a HSV 1 y HSV 2, en células *Vero*, pero si potente actividad antibacteriana, lo que sugiere que las hojas de *Moringa oleifera* podrían ser un buen candidato en la búsqueda de nuevos agentes antibacterianos a partir de productos naturales contra diferentes patógenos.

Palabras clave: Actividad antimicrobiana, antiviral, herpes simple, *Moringa oleifera* Lam. (Fuente: NAL-USDA)

ABSTRACT

Background: *Moringa oleifera* (Moringaceae) is a highly praised plant that has spread in many tropical and subtropical countries. It has an impressive variety of medicinal uses with a high medicinal value.

Aim. To evaluate the *in vitro* anti-microbial activity of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Moringa oleifera* Lam. cultivated in Cuba.

Methods: The MTT method was used to evaluate *in vitro* cytotoxicity and antiviral activity of different concentrations of the extracts from dry leaves of *Moringa oleifera* against Type 1 Herpes Simplex Virus (HSV-1), and type 2 Herpes Simplex Virus (HSV-2). The determinations were made by microdilution, antimicrobial activity against the reference bacterial strains, and clinical isolates, then the minimum inhibitory concentration was calculated (MIC).

Results: The hydroalcoholic extract showed toxicity at the 125 µg/ml concentration, whereas the aqueous extract stopped being toxic at 500 µg/ml in the *Vero* cells within the range of the concentrations evaluated. None of the extracts inhibited the *in vitro* replication of the HSV-1 and HSV-2 viruses, but they showed a powerful activity against the bacterial strains and yeast assayed at different levels.

Conclusions: The extracts did not show *in vitro* antiviral activity against HSV-1 and HSV-2 in *Vero* cells, whereas the antibacterial activity was strong, suggesting that the leaves of *Moringa oleifera* might be a good candidate for an antibacterial agent from natural products against the different pathogens.

Keywords: Antimicrobial activity, antiviral, herpes simplex, *Moringa oleifera* Lam. (Source: NAL-USDA)

Recibido: 12/2/2022

Aceptado: 26/2/2022

INTRODUCCIÓN

La proliferación de enfermedades causada por microorganismos patógenos es una preocupación generalizada, que constituye un factor de riesgo para la salud. La resistencia a los antibióticos y los antivirales es uno de los temas más importantes en salud pública a nivel mundial. La utilización de sustancias naturales en el tratamiento de diferentes enfermedades, incluidas las de etiología infecciosa, constituye en la actualidad un desafío en la medicina y se ofrece como una alternativa (Domingo, 2003).

Moringa oleifera es la especie más importante y cultivada de la familia Moringaceae y del género *Moringa* (Alegbeleye, 2018). Sus hojas son el principal punto de interés de esta planta, ya que las hojas secas conservan una cantidad notable de macro y micronutrientes. Es conocida mundialmente como el árbol de la vida o la planta milagrosa por sus diversos usos y aplicaciones, destacando principalmente en la medicina y nutrición. Esta planta posee innumerables propiedades nutritivas y terapéuticas de la cual se puede aprovechar todas sus partes (semillas, raíz, hojas, flores, vainas y frutos). Varios estudios demuestran las propiedades medicinales de la *Moringa* como antioxidante, en enfermedades respiratorias, cardiovasculares, gastrointestinales, endocrinas, en el sistema nervioso central, cáncer, en el sistema inmunológico, antiviral y como antibacteriano (Jung, 2014).

Existen reportes en la literatura de numerosas investigaciones que están encaminadas a la búsqueda de nuevos compuestos con actividades biológicas a partir de fuentes naturales, mientras otras están destinadas a verificar las propiedades que se les atribuyen (Miranda y Cúellar, 2001). Teniendo en cuenta las potencialidades de *Moringa oleifera*, el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la actividad antimicrobiana de diferentes extractos de hojas secas de *Moringa oleifera* Lam. cultivada en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal correspondió a las hojas de *Moringa oleifera* Lam cosechadas en la finca “Futuro Lechero”, en terrenos destinados a el cultivo con fines farmacéuticos en Cuba. Posteriormente las hojas fueron lavadas con agua potable, secadas en horno solar a temperatura de 45 -50 °C y molinadas. Se almacenaron en bolsas de nylon de polietileno a temperatura ambiente, en un lugar fresco, protegido de la luz hasta su análisis.

Preparación de los extractos

A partir de las hojas secas de *Moringa oleifera* se prepararon extractos acuosos y etanólicos al 70% (V/V), según la metodología descrita por Miranda y Cúellar (2001). La extracción hidroalcohólica (etanol/agua) se realizó por el método de maceración a una proporción de 1/10,

durante 6 días, con cambio del solvente al 3^{er} día, a temperatura entre 25 y 28 °C. La extracción acuosa fue preparada por maceración a una temperatura menor de 50 °C.

Cultivos celulares

Se utilizó como sustrato celular la línea celular *Vero* (riñón de mono verde africano) procedente de la *American Type Culture Collection* (ATCC), crecida en medio 199 (ICN, FLOW), suplementado con 10% de Suero Bovino Fetal Inactivado (SFBI, HYCLONE) y 1 mg/ml de sulfato de neomicina (SIGMA).

Virus

Los virus empleados fueron: cepa de referencia 8 WC del virus Herpes simple tipo 1 (HSV-1), proveniente del Instituto Carlos III de Madrid y la cepa MS del virus Herpes simple tipo 2 (HSV-2), procedente del Instituto Pasteur. Los virus se inocularon en frascos de 25 cm³ con monocapa confluyente de células *Vero*, a una multiplicidad de infección (m.d.i.) de 0.1, y se incubaron durante una hora para permitir la adsorción; pasado el tiempo de incubación, se añadió medio 199, con SFBI al 2% y fueron incubados a 37 °C nuevamente. Las cosechas fueron realizadas cuando el 70% de la monocapa mostró Efecto Citopático (ECP) característico. Se empleó Aciclovir como control positivo, como control celular (células sin tratar) y el control de los virus.

Titulación de los virus

Las cepas virus se titularon mediante el ensayo de punto final 50 %, el resultado se expresó como dosis infectiva media en cultivo celular por mililitro (DICT50.mL-1). El cálculo del título infectivo se realizó según el procedimiento planteado por Reed y Muench (1938).

Ensayo de citotoxicidad

La determinación de citotoxicidad se realizó mediante el ensayo de reducción del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolio (MTT). Se emplearon placas de 96 pozos de fondo plano con monocapa confluyente de células *Vero*, sembradas 48 horas antes. El rango de concentraciones evaluadas fue de 62.5 a 1000 µg/ml (siete réplicas por concentración), las placas se incubaron a 37 °C, en atmósfera con 5% de CO₂. Se realizó la observación diaria al microscopio invertido, con el objetivo de apreciar cambios morfológicos que indicaran toxicidad. A las 72 horas se añadió a cada pocillo 10 µl de MTT 5 000 µg/ml, disuelto en solución salina tamponada con fosfato (SSTF) (0.01 mol/l; pH 7). Se agitó levemente y se incubó durante 4 horas a la temperatura de crecimiento de la línea celular, protegido de la exposición a la luz. Posteriormente se eliminó cuidadosamente todo el contenido de la placa y se disolvieron los cristales de formazán con 100 µl de DMSO por pocillo. La absorbancia se midió a 540 nm en un lector de ELISA (Organon Teknika Reader 530).

El porcentaje de viabilidad celular asociado a cada concentración del extracto se calculó dividiendo el valor medio de la absorbancia de los cultivos tratados con dicha concentración, entre el valor medio de absorbancia de los controles de células (sin tratar), los cuales se

consideraron el 100% de viabilidad celular. Se determinó el valor de la Concentración Citotóxica media (CC₅₀) mediante regresión lineal, a partir de la ecuación de la línea de tendencia de la curva dosis-respuesta, obtenida al graficar (concentración del extracto-porcentaje de viabilidad celular).

Método del MTT (Mosmann, 1983; Freshney, 1994)

Se añadieron 20 µl de MTT por pozo, diluido en solución salina tamponada de fosfato (SSTF) 0.1 M pH 7, a una concentración de 5 mg/ml y se incubaron durante tres horas a 37 °C, en atmósfera de CO₂ al 5%. Transcurrido el tiempo de incubación se eliminó el medio de los pozos y se añadieron 100 µl de dimetilsulfóxido (DMSO) (BDH); las placas se agitaron en un agitador KS 500 a 300 r.p.m., durante 10 minutos. Se leyó a 540 nm en lector de ELISA (Organon Teknika Reader 530).

Estudio de la actividad antiviral

Determinación de la concentración efectiva media antiviral (CE₅₀).

El ensayo de CE₅₀ se realizó en placas de 96 pozos de fondo plano sembradas con monocapa confluyente de células *Vero*, a razón de 2x10⁵ células/ml, a las que se le añadieron 50 µl por pozo de las diferentes concentraciones de cada una de las fracciones (cuatro réplicas por concentración). Se incubaron durante 1 h a 37 °C, en atmósfera de CO₂ al 5%. Concluido el tiempo de incubación, se infectaron los pozos con 50 µl de 100 Dosis Infecciosa en Cultivo de Células (DICC₅₀) de los virus. Las placas se incubaron nuevamente a 37 °C, en atmósfera de CO₂ al 5%, hasta la aparición del ECP en todos los pozos controles de virus sin tratar. Como control positivo se utilizó el Aciclovir. Se aplicó el método colorimétrico del MTT para determinar la viabilidad celular. El experimento se realizó por triplicado.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

Cepas bacterianas

Se utilizaron cepas de referencia: *Escherichia coli* (ATCC10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Candida albicans* (ATCC 10231) *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027), *Salmonella thyphi* (ATCC9992), recomendadas por el Comité Nacional de Laboratorio Clínico Estándar (NCCLS por sus siglas en inglés) para estudio de sensibilidad antimicrobiana (NCCLS, 2000) y microorganismos aislados a partir de muestras clínicas: *Staphylococcus aureus* (3cepas), *Acinetobacter iwoffii* (2 cepas), *Enterobacter agglomerons* (1 cepa), *Pseudomonas aeruginosa* (1 cepa), *Escherichia coli* (2 cepas) procedentes del Hospital Pediátrico "Juan Márquez" en La Habana.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La actividad antimicrobiana se determinó por el método de microdilución según el NCCLS (NCCLS, 2000) para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Se prepararon inóculos de las cepas microbianas ajustadas a 0.5 de la escala de Mc. Farland, a partir de crecimiento bacteriano en placas con Agar Triptona Soja y de levaduras en medio Sabouraud e

incubadas a 37 °C, durante 18-24 horas. Se realizaron diluciones dobles de los extractos, desde 100 mg/ml hasta 0.78 mg/ml. Se determinó la CMI como la concentración más baja del extracto capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y levaduriforme, Se empleó como control negativo la incubación con solución de etanol al 70% (v/v).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo de citotoxicidad y actividad antiviral

La exposición de las células *Vero* a los extractos mostró que el extracto acuoso a la concentración de 500 µg/ml no evidenció efecto tóxico sobre las células, mientras que el extracto hidroalcohólico no expresó toxicidad a partir de la concentración de 125 µg/ml, presentando una viabilidad celular de 80%, en ambos extractos. A partir de estos valores la viabilidad celular disminuyó en la medida que aumentó la concentración de los extractos. La observación microscópica de los cultivos evidenció un daño característico provocado por los extractos, como la producción de gránulos en el citoplasma y la alteración en la morfología de las células, que aumentó en la medida que aumentaba la concentración. Por lo que los extractos, a bajas concentraciones no produjeron toxicidad.

Conocido el comportamiento tóxico de las fracciones sobre las células, se procedió a determinar la posible actividad antiviral frente a HSV-1 y HSV-2. Las concentraciones de los extractos utilizadas fueron aquellas que no mostraron actividad citotóxica y que se correspondieron con una viabilidad celular superior al 50%.

Los resultados de los ensayos primarios de actividad antiviral “in vitro” avalaron que ninguno de los extractos inhibió la multiplicación de las cepas de los virus del Herpes simple ensayadas.

Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los extractos frente a los patógenos probados se observa en la **tabla 1**. El extracto hidroalcohólico al 70 % obtuvo mayor actividad en comparación al extracto acuoso, tanto frente a las cepas bacterianas como levadura en las diferentes concentraciones, inhibiendo el 100 % de las cepas evaluadas, alcanzando los mejores valores de CML (3,13 mg/g) frente a las cepas de *Vibrio cholerae* (ATTC7258), *Salmonella typhi* (ATCC9992), *Acinetobacter iwoffii* (1 cepa de aislamiento clínico), *Staphylococcus aureus* de Referencia (ATCC6538) y las 3 cepas de aislamientos clínicos, mientras que el extracto acuoso inhibió el 46,66 % de las cepas estudiadas: *Salmonella typhi* (ATCC9992), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) y 3 las cepas de aislamientos clínico. La actividad disminuyó con el decrecimiento de las concentraciones.

Tabla 1. Actividad antimicrobiana de los extractos de *Moringa oleifera* Lam.

Microorganismos	Extractos (CMI)	
	Acuoso	Hidroalcohólico
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	N	12.55

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC9027)	N	12.55
<i>Vibrio cholerae</i> (ATCC 7258)	N	3.13
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	11,1	3.13
<i>Salmonella tphi</i> (ATCC9992)	11,1	3,13
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC6538)	11,1	3,13
<i>Staphylococcus aureus</i> (ac)	11,1	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> (ac)	11,1	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> (ac)	11,1	3.13
<i>Acinetobacter iwoffii</i> (ac)	N	3.13
<i>Acinetobacter iwoffii</i> (ac)	N	12.55
<i>Enterobacter agglomerons</i> (ac)	N	12.55
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ac)	N	12 55
<i>Escherichia coli</i> (ac)	N	12.55
<i>Escherichia coli</i> (ac)	N	12.55

Leyenda: N negativo.

Actividad citotóxica y antiviral

Para el desarrollo de este ensayo se utilizó el método colorimétrico del MTT, cuya utilidad en la evaluación de la citotoxicidad y la proliferación celular ha sido ampliamente reconocida. En ambos extractos se demostró que altas concentraciones producen toxicidad sobre los cultivos celulares, lo que pudiera deberse a la presencia de los fitoconstituyentes citotóxicos en estos. Los resultados están en concordancia con otros estudios de citotoxicidad de extractos de hojas de *Moringa oleifera* que reflejaron variabilidad en los resultados, coincidiendo que a bajas concentraciones no se detecta toxicidad en las células. En Tailandia en un estudio con extractos etanólicos y acuosos de *Moringa oleifera* mostraron citotoxicidad a concentraciones por encima de 100 µg/ml en células de cáncer. (Saetung *et al.*, 2005). La citotoxicidad de extractos acuosos de hojas de *Moringa oleifera* sobre células *Hela* causaron una alta mortalidad de las células a partir de 100 µg/ml (Nair y Varalakshmi, 2011).

Ensayos a extractos metanólicos de *A. indica* y *M. oleifera* indicaron que inhibieron el 50% de la viabilidad celular (CC₅₀), a una concentración de 70 µg /ml, igualmente no mostraron ninguna citotoxicidad contra la línea celular de MDCK, en concentraciones bajas (Arévalo-Híjar *et al.*, 2018). Jumba *et al.* (2015), evaluaron la citotoxicidad del extracto metanólico *M. oleifera* frente a la línea celular Vero-E6 y determinaron una CC₅₀ de 149 µg/ml.

Estudios de *Moringa oleifera* empleando un cultivo primario de leucocitos de *S. aurata* HK, tanto los extractos acuosos como etanólicos mantuvieron la viabilidad durante 24 h de incubación, excepto cuando se utilizó una alta concentración del extracto acuoso (Othmen *et al.*, 2020). Rahaman *et al.* (2015) ensayó el efecto de extractos acuosos de hojas y semillas de *Moringa oleifera* sobre células MCF-7 y comprobó que la viabilidad celular disminuyó de la misma forma que el fármaco utilizado para este propósito.

Actividad antiviral

Las concentraciones de los extractos utilizadas fueron aquellas que no mostraron actividad citotóxica significativa y que se correspondieron con una viabilidad celular superior al 50%.

Los resultados de los ensayos primarios de actividad antiviral “in vitro” avalaron que ninguno de los extractos inhibió la multiplicación de los virus del Herpes simple en las células *Vero*. En este sentido es posible que la ausencia de actividad esté relacionada a las características de los receptores celulares que median en el proceso infeccioso en las células *Vero*, así, hay una susceptibilidad diferencial en los distintos tipos de líneas celulares. Aunque la actividad contra estos virus se ha reportado principalmente en ensayos *in vivo*, retrasando el desarrollo de lesiones herpéticas cutáneas, prolongando los tiempos medios de supervivencia y reduciendo la mortalidad de ratones infectados con Herpes simple.

Diversos trabajos refieren actividad de diferentes partes de la planta *Moringa* con actividad contra el Herpes, en ensayos “in vivo”, donde demuestran que retardan la progresión de las lesiones producidas por estos virus. Lipipuna *et al.* (2003), evaluando extractos provenientes de diferentes plantas, entre estas, *Moringa*, encontró que la administración a ratones de extractos de hojas de *Moringa* por peso, retardó la progresión de las lesiones, prolongaron el tiempo de supervivencia y redujeron la mortalidad después de haber sido infectados los ratones con HSV-1 y que el efecto protector de *Moringa oleifera* en lo ratones no se relacionó con un efecto antiviral directo, sino que pudo resultar en parte de una actividad inmunomoduladora o una mayor biodisponibilidad de *Moringa oleifera* y que por tanto, este extracto podría contener los compuestos activos que serían eficaces en el tratamiento de la infección cutánea por HSV-1.

Kurokawa *et al.* (2016) utilizando como modelo de infección el HSV-1 en ratones, suministrando dosis de 300 mg/kg de extractos acuosos de hojas de *Moringa oleifera* Lam. limitó el desarrollo de lesiones herpéticas y redujo el título del virus en el cerebro, indujo la producción de interferón por lo que los extractos tuvieron un efecto inductor en la inmunidad celular. En el ensayo “in vitro” en células *Vero* con extractos alcohólicos y acuosos encontró actividad contra el HSV-1, a una CE₅₀ de 100 µg/ml, mientras que el extracto acuoso no tuvo actividad “in vitro”, refiriendo que posiblemente los componentes con actividad en este extracto hayan sido eliminados durante el proceso de extracción.

En este estudio los extractos de *Moringa oleifera* no neutralizaron las cepas de virus Herpes estudiadas. Sin embargo, se necesitan más investigaciones en esta área para indagar su potencial contra los virus del Herpes simple, ensayando en diferentes líneas celulares, así como con otros virus donde se ha reportado que extractos de las hojas de *M. oleifera* tienen buen efecto inhibitorio como: Herpes zoster, Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV), Hepatitis B entre otros (Abd rani, 2018; Mattar, 2019).

Actividad antibacteriana

Diversas investigaciones señalan las propiedades de la planta *Moringa oleifera* a través de estudios experimentales utilizando diversos tipos de extractos (Franco-Ospina *et al.*, 2013). En el presente trabajo se evaluó la actividad de extractos hidroalcohólico y acuoso provenientes de *Moringa oleifera* Lam frente a patógenos causantes de bacteriemias.

Ambos extractos resultaron activos contra el género *Staphylococcus*, evidenciándose una mejor

respuesta con el extracto hidroalcohólico respecto al acuoso. El extracto hidroalcohólico presentó actividad contra todas las cepas ensayadas mientras que el acuoso solo inhibió seis de las cepas. Esta actividad antimicrobiana confirma que los fitoquímicos presentes en las hojas de *Moringa oleifera* le atribuyen estas propiedades. Estos resultados corroboran lo reportado por Vivian *et al.* (2021) que encontraron presencia de altas concentraciones de polifenoles y flavonoides en las hojas de diferentes ecotipos de *Moringa oleifera* cultivada en Cuba, demostrando que estos compuestos contribuyen a la inhibición del crecimiento microbiano por diversos mecanismos. Akinpelu (2001) planteó que dentro de los compuestos secundarios están comprendidos los principios activos, los que poseen propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antitumorales, analgésicas, antiinflamatorias, hipotensoras e inmunoestimulantes.

La variación de la actividad antibacteriana de los extractos frente a las diferentes cepas pudiera deberse al grado de polaridad y solubilidad relacionada con los solventes en la captación de los metabolitos activos con acción directa sobre la pared celular de los patógenos (Seleshe y Kang, 2019). El etanol tiende a arrastrar mayor cantidad de compuestos polares como fenoles, taninos, flavonoides y otros metabolitos. Se ha reportado que estos compuestos poseen actividad antimicrobiana, debido a que inhiben la formación de la pared celular y la síntesis de ADN o ARN e impiden el crecimiento bacteriano ya que actúan en la inhibición de enzimas por los compuestos oxidados posiblemente mediante reacciones del grupo sulfhidrilo o por interacciones no específicas con proteínas (Domingo, 2003). Además, las mezclas hidroalcohólicas favorecen una mejor solubilidad de los componentes activos responsables de la actividad bactericida y aumentan la permeabilidad de la pared celular (Sahin y Samli, 2013). Así el extracto hidroalcohólico presentó mayor actividad antimicrobiana, que alcanzó los mejores valores de CMI (3,13 mg/g) comparado con el acuoso lo cual pudiera deberse a la elevada concentración de metabolitos presentes en los extractos hidroalcohólicos

La menor actividad del extracto acuoso puede atribuirse a que el agua extrae otros metabolitos que pueden interactuar antagónicamente en esta actividad y probablemente necesite altas concentraciones para tener mejor efecto antibacteriano. Martin (1998) reportó que los extractos acuosos presentan poca actividad antimicrobiana y que los principios activos de las plantas no son fácilmente extraídos con agua.

Rahman (2009) estudió la actividad antibacteriana de extractos acuosos y etanólicos de las hojas de *Moringa oleifera* "in vitro", en el que ambos extractos mostraron actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram [-] y Gram [+], presentando el extracto etanólico mayor actividad que el acuoso.

La especie *S. aureus* es una especie patógena capaz de provocar la aparición de numerosas infecciones en la piel, que pueden incluso tornarse muy complicadas de eliminar. La actividad biológica de los extractos etanólicos y acuosos de *Moringa* inhibió el crecimiento de las distintas cepas de *S. aureus*. Los valores de CMI frente a las cepas de *S. aureus* concuerdan con el estudio de Benavides (2019) que demostró la actividad antibacteriana contra *S. aureus* en extractos de hojas de *Moringa*.

La actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico fue mayor contra especies de *S. aureus* que contra *E. coli.*, siendo los organismos Gram [+] ligeramente más sensibles que los Gram [-]. Estudios similares realizados por Bukar *et al.* (2010), reportaron que extractos etanólicos de las hojas de *Moringa oleifera* fueron sensibles a *S. aureus* y a *E. coli* a concentraciones de 200 mg/ml. El hecho de encontrar una mayor efectividad frente a bacterias Gram [+] que en las Gram [-] puede estar relacionada con la estructura de la pared celular. Las bacterias Gram [+] poseen una pared celular interna y una pared de peptidoglucano mientras que las bacterias Gram [-] poseen una pared celular de mayor complejidad con una pared celular interna, la pared de peptidoglucano y una bicapa lipídica externa o membrana externa que forma un saco rígido alrededor de la bacteria, lo que constituye una barrera impermeable a macromoléculas y le ofrece protección en condiciones adversas, actúan como una barrera a un gran número de sustancias incluyendo los antibióticos (Ali *et al.*, 2001). Esto podría también explicar por qué las plantas medicinales tienden a ser más efectivas contra cultivos de bacterias Gram [+] que Gram [-].

El estudio además reveló actividad antibacteriana de los extractos frente a las cepas de bacterias de *Salmonella typhi* y *Candida albicans*. Doughari y Pukuma (2007) reportaron similares resultados empleando la técnica de difusión en placa, con un halo de inhibición de 8 mm. (Manikandan, 2016) en un estudio con extractos de *Moringa* en varios solventes orgánicos a diferentes concentraciones frente a bacterias Gram [+] y Gram [-] observó que la mayoría de los extractos inhibieron ambos organismos.

La eficiencia de extractos de *Moringa oleifera* como agente antibacteriano parece ser debido a algunos componentes activos que contienen, los cuales podrían trabajar juntos en sinergismo como antagonistas del crecimiento y viabilidad celular. Estos compuestos responsables de la actividad pueden fácilmente pasar a través de la membrana celular debido a la presencia de los grupos etílicos los cuales inhiben las enzimas esenciales de la membrana celular y la síntesis de peptidoglucano, también pueden generar radicales libres cargados negativamente que pueden desorganizar o romper la membrana celular. Asimismo, algunos compuestos solubles presentes en *Moringa oleifera* pueden dañar la membrana celular afectando la permeabilidad celular, el crecimiento y supervivencia bacteriana (Wang *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

La búsqueda constante de nuevas sustancias antimicrobianas que permitan ofrecer alternativas fitoterapéuticas contra cepas multiresistentes de microorganismos basados en las actividades biológicas de la base científica proporciona el sistema para su uso en los servicios de salud. Los resultados del estudio sugirieron que los extractos acuosos y etanólicos de hojas secas de *M. oleifera* de forma general presentan un potencial de compuestos que le atribuyen propiedades antimicrobianas prometedoras con efectos inhibidores frente a especies patógenas tanto Gram [+] como Gram [-], lo cual podría contribuir al tratamiento de enfermedades infecciosas provocadas por estos microorganismos. Estos resultados avalan la continuidad de otras investigaciones en la

búsqueda de compuestos en las hojas secas de *M. oleifera* que presentan actividad antimicrobiana, que puede tener relevancia, ya que se trata de agentes antimicrobianos naturales que constituyen un método barato y sostenible para el control de enfermedades y para mejorar la calidad de vida.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración de los profesionales y trabajadores del “Centro de Investigaciones en Plantas Proteicas y Productos Bionaturales”, al financiamiento FONCI y al Instituto Finlay de Vacunas para el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS

- Abd Rani, N. Z., Husain, K., & Kumolosasi, E. (2018). Moringa genus: a review of phytochemistry and pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 108. DOI: [10.3389/fphar.2018.00108](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00108)
- Akinpelu, D. A., & Ojewole, J. A. (2001). Antimicrobial activity of Anacardium occidentale bark. *Fitoterapia*, 72(3), 286-287. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00310-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00310-5)
- Alegbeleye, O. O. (2018). How functional is Moringa Oleifera? A review of its nutritive, medicinal, and socioeconomic potential. *Food and Nutrition Bulletin*, 39(1), 149-170. DOI: [10.1177/0379572117749814](https://doi.org/10.1177/0379572117749814)
- Ali, N. A., Jülich, W. D., Kusnick, C., & Lindequist, U. (2001). Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of ethnopharmacology*, 74(2), 173-179. DOI: [10.1016/S0378-8741\(00\)00364-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00364-0)
- Arévalo-Híjar, L., Aguilar-Luis, M. A., Caballero-García, S., Gonzáles-Soto, N., & Valle-Mendoza, D. (2018). Antibacterial and cytotoxic effects of Moringa oleifera (Moringa) and Azadirachta indica (Neem) methanolic extracts against strains of Enterococcus faecalis. *International journal of dentistry*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1071676>
- Benavides, J. & Ramírez, V. (2019). Evaluación de actividad antimicrobiana de MORINGA (*Moringa oleifera*). <https://repository.unab.edu.co/handle/20.500.12749/11864>
- Bukar, A., Uba, A., & Oyeyi, T. (2010). Antimicrobial profile of Moringa oleifera Lam. extracts against some food-borne microorganisms. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(1). DOI: [10.4314/bajopas.v3i1.58706](https://doi.org/10.4314/bajopas.v3i1.58706)
- Domingo, D., & López-Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Rev Esp Quimioterap*, 16(4), 385-393. <http://www.seq.es/seq/0214-3429/16/4/385.pdf>

- Doughari, J. H., Pukuma, M. S., & De, N. (2007). Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella typhi*. *African Journal of biotechnology*, 6(19). <https://worldveg.tind.io/record/47604/>
- Franco-Ospina, L. A., Matiz-Melo, G. E., Pajaro-Bolivar, I. B., & Gomez-Estrada, H. A. (2013). Actividad antibacteriana in vitro de extractos y fracciones de *Physalis peruviana* L. y *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 12(3), 230-237. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-723569>
- Freshney, R. I. (1994). Measurement of viability and cytotoxicity. *Culture of animal cells*, 3, 287-307.
- Jumba, B. N., Anjili, C. O., Makwali, J., Ingonga, J., Nyamao, R., Marango, S., ... & Khayeka-Wandabwa, C. (2015). Evaluation of leishmanicidal activity and cytotoxicity of *Ricinus communis* and *Azadirachta indica* extracts from western Kenya: in vitro and in vivo assays. *BMC research notes*, 8(1), 1-11. <https://bmcresnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-015-1605-y>
- Jung, I. L. (2014). Soluble extract from *Moringa oleifera* leaves with a new anticancer activity. *PloS one*, 9(4), e95492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095492>
- Kurokawa, M., Wadhwani, A., Kai, H., Hidaka, M., Yoshida, H., Sugita, C., ... & Hagiwara, A. (2016). Activation of cellular immunity in herpes simplex virus type 1-infected mice by the oral administration of aqueous extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Phytotherapy Research*, 30(5), 797-804. <https://doi.org/10.1002/ptr.5580>
- Lipipun, V., Kurokawa, M., Suttisri, R., Taweechotipatr, P., Pramyothin, P., Hattori, M., & Shiraki, K. (2003). Efficacy of Thai medicinal plant extracts against herpes simplex virus type 1 infection in vitro and in vivo. *Antiviral research*, 60(3), 175-180. [https://doi.org/10.1016/S0166-3542\(03\)00152-9](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(03)00152-9)
- Manikandan, P., Gnanasekaran, A., Julikarthika, P., & Prasanth, D. A. (2016). Antibacterial efficacy of *Moringa oleifera* leaf against medically important clinical pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(4), 109-116. <https://www.ijemas.com/abstractview.php?ID=308&vol=5-4-2016&SNo=15>
- Martini, N., & Eloff, J. N. (1998). The preliminary isolation of several antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 62(3), 255-263. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00067-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00067-1)
- Mattar Ph, S. (2019). Las zoonosis reemergentes bajo el enfoque de “Una salud”. *Revista MVZ Córdoba*, 24(3), 7280-7284. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1777>
- Miranda, M., & Cúellar, A. (2001). Farmacognosia y Química de los Productos Naturales. Editorial Félix Varela, MES. Cap. XI. 2001. Mibikay M. Therapeutic potential of *Moringa*

- oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Front. Pharmacol*, 3, 24. <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/rt/printerFriendly/476/202>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Nair, S., & Varalakshmi, K. N. (2011). Anticancer, cytotoxic potential of *Moringa oleifera* extracts on HeLa cell line. *J Nat Pharm*, 2(3), 138-142. <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA270950085&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=22295119&p=AONE&sw=w&userGroupName=anon%7E9fff07f1>
- NCCLS (Comité Nacional de Laboratorio Clínico Estándar). (2000). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A5, 13. https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf
- Othmen, K. B., Elfalleh, W., Beltrán, J. M. G., Esteban, M. Á., & Haddad, M. (2020). An in vitro study of the effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocyte activities. Antioxidant, cytotoxic and bactericidal properties. *Fish & Shellfish Immunology*, 99, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.02.005>
- Rahaman, M. H. A., Kadir, N. H. A., Amin, N. M., & Omar, W. B. W. (2015, November). Cytotoxicity effect of water extracts of *Moringa oleifera* leaves and seeds against MCF-7 cells. In *I International Symposium on Moringa 1158* (pp. 279-286). DOI: [10.17660/ActaHortic.2017.1158.31](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1158.31)
- Rahman, M. M., Sheikh, M. M. I., Sharmin, S. A., Islam, M. S., Rahman, M. A., Rahman, M. M., & Alam, M. F. (2009). Antibacterial activity of leaf juice and extracts of *Moringa oleifera* Lam. against some human pathogenic bacteria. *CMU J Nat Sci*, 8(2), 219. https://cmuj.cmu.ac.th/uploads/journal_list_index/842304671.pdf
- Reed, L. J. and Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 27(3), 493-97. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
- Saetung, A., Itharat, A., Dechsukum, C., Wattanapiromsakul, C., Keawpradub, N., & Ratanasuwan, P. (2005). Cytotoxic activity of Thai medicinal plants for cancer treatment. *Songklanakarinn J Sci Technol*, 27(2), 469-478. <http://www.sjst.psu.ac.th/journal/Thai-Herbs-pdf/02-cancer-treatment.pdf>
- Şahin, S., & Şamlı, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 595-602. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>
- Seleshe, S., & Kang, S. N. (2019). In vitro antimicrobial activity of different solvent extracts from *Moringa stenopetala* leaves. *Preventive nutrition and food science*, 24(1), 70. DOI: [10.3746/pnf.2019.24.1.70](https://doi.org/10.3746/pnf.2019.24.1.70)

- Vivian, L. A., Olga, E. A., Kethia, G. G., Yasnay, H. R., Ernesto, A. H., Raisa, M. B., ... & Gretel, L. S. (2021). Determinación de polifenoles totales, flavonoides y evaluación antimicrobiana en tres ecotipos de *Moringa oleifera* cultivadas en Cuba. In *I Simposio de Investigaciones sobre Plantas Medicinales*. <http://www.rcfa.uh.cu/index.php/RCFA/article/view/181>
- Wang, L., Chen, X., & Wu, A. (2016). Mini review on antimicrobial activity and bioactive compounds of *Moringa oleifera*. *Med. Chem*, 6(9), 2161-0444. DOI:[10.4172/2161-0444.1000402](https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000402)

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Concepción y diseño de la investigación RMB, OFP, OEA; análisis e interpretación de los datos: RMB, OFP, EAH, VLA, OEA, GBQ; redacción del artículo: RMB, EAH, VLA.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.