

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto liofilizado
de hojas de *Moringa oleifera* Lam. en *Staphylococcus aureus* y
Bacillus cereus.**

Doménica Renata Chávez Jaramillo

Medicina Veterinaria

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 28 de abril de 2025

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. en *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*.

Doménica Renata Chávez Jaramillo

Nombre del profesor, Título académico

Rommel Lenin Vinueza DMVZ, MSc, PhD

Quito, 28 de abril de 2025

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Doménica Renata Chávez Jaramillo

Código: 00320705

Cédula de identidad: 1725457491

Lugar y fecha: Quito, 28 de abril de 2025

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a Ramiro Díaz, tutor principal de este trabajo de titulación, por su valioso acompañamiento, orientación y respaldo a lo largo de todo el proceso.

A Lázaro López, que sin su ayuda en la realización de los experimentos y sin su paciencia y claridad al compartir sus conocimientos sobre las pruebas de laboratorio, el desarrollo práctico de este estudio no habría sido posible.

Un agradecimiento especial a Milena López, estudiante de 3er año de la facultad de Medicina Veterinaria, por su constante colaboración en las pruebas de laboratorio. Su disposición, compañerismo y apoyo durante los experimentos y la obtención de resultados fueron de gran valor para este trabajo.

DEDICATORIA

A mi abuelo Jaime, por todo su apoyo, motivación y confianza a lo largo de mi carrera. Su fe en mí y en que lo lograría me impulsó cada día a esforzarme más y a salir adelante, a pesar de todo. El fruto de este esfuerzo es en honor a ti y para ti. Gracias por haberme acompañado durante todo este camino.

A mi madre, quien desde el inicio me impulsó a ser siempre mejor y me ayudó a no derrumbarme en mis peores momentos. Estuviste ahí cuando me desvelaba hasta altas horas de la madrugada haciendo trabajos, o cuando me amanecía estudiando antes de un examen. Siempre te estaré agradecida por todo el esfuerzo que hiciste para sacarme adelante.

A mis amigos Andrea, Felipe y Andrei, por ser personas en quienes siempre pude contar y por quienes estaré eternamente agradecida con la universidad, que me dio la oportunidad de conocerlos. Son seres realmente increíbles y sé que llegarán muy lejos. Ustedes hicieron de mi experiencia universitaria algo más ameno y divertido. Por eso, y por mucho más, gracias.

Finalmente, a mi primera mascota, mi schnauzer Frida; fuiste el motivo por el que comencé esta hermosa carrera y la razón por la que la termino con tanta emoción. Durante estos 5 años en los que esperabas al filo de la cama a que terminara mis trabajos o en los que me levantabas el ánimo cuando no me sentía tan bien. Te amo con todo mi corazón y espero volver a verte en otra vida.

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

RESUMEN

El uso indiscriminado de los antibióticos en el área de medicina veterinaria con el tiempo ha generado un aumento en la resistencia antimicrobiana lo que implica un gran problema en salud animal y pública. Es tanto así, que hoy en día está en auge la búsqueda por alternativas de origen natural que tengan capacidad antimicrobiana. Este estudio evalúa el efecto inhibitorio del extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. Sobre *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, bacterias Gram positivas de importancia clínica y alimentaria. Para ello, se emplearon técnicas de microdilución en caldo nutritivo, según los lineamientos del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), con el objetivo de evaluar el porcentaje de inhibición a distintas concentraciones del extracto. Los resultados se analizaron mediante ANOVA para evaluar las diferencias significativas entre ambas bacterias en base a la concentración del extracto. Este estudio busca aportar evidencias acerca del potencial antimicrobiano de la *Moringa oleifera* Lam. sobre bacterias Gram positivas.

Palabras clave: *Moringa oleifera* Lam., actividad antimicrobiana, porcentaje de inhibición, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, microdilución, bacterias Gram positivas.

ABSTRACT

The indiscriminate use of antibiotics in the veterinary medicine area over the years has generated an increase in antimicrobial resistance, which implies a serious problem in animal and public health. Such is the case that the search for alternatives of natural origin that have antimicrobial capacity is currently booming. This study evaluates the inhibitory effect of the lyophilized extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves on *Staphylococcus aureus*. and *Bacillus cereus*, Gram-positive bacteria of clinical and alimentary importance. For this, microdilution techniques in nutrient broth were used, according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines, in order to evaluate the percentage of inhibition at different concentrations of the extract. The results were analyzed by using ANOVA to evaluate the significant differences between the two bacteria based on the concentration of the extract. This study seeks to provide evidence about the antimicrobial potential of *Moringa oleifera* Lam. on Gram-positive bacteria.

Key words: *Moringa oleifera* Lam, antimicrobial activity, inhibition percentage, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, microdilution, Gram-positive bacteria.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción.....	10
Pregunta de investigación	12
Hipótesis.....	12
Objetivos.....	12
General:.....	12
Específicos:.....	12
Desarrollo del Tema	13
Metodología.....	13
Resultados.....	18
Discusión	20
Conclusiones	23
Referencias bibliográficas.....	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> por concentraciones del extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. en condiciones in vitro.	18
Tabla 2. Porcentaje de inhibición de <i>Bacillus cereus</i> por concentraciones del extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. en condiciones in vitro.....	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de concentraciones del extracto de <i>Moringa oleifera</i> Lam. en placa de 96 pocillos.	14
Figura 2. División de sectores en cajas Petri para la siembra de diluciones bacterianas.	16

INTRODUCCIÓN

Los agentes antimicrobianos han sido esenciales en la medicina veterinaria para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas en animales de producción y compañía. No obstante, el uso excesivo e indiscriminado de estos fármacos ha acelerado la aparición de resistencia bacteriana (Peacock & Paterson, 2015; Halawa et al., 2024).

Esto no solo compromete la eficacia de los tratamientos, sino que también representa un riesgo para la salud pública debido a la posible transmisión de bacterias resistentes entre animales, humanos y el medio ambiente (Roth et al., 2019).

Ante este problema, la búsqueda de alternativas naturales con actividad antimicrobiana se ha convertido en un tema de creciente interés dentro de la medicina veterinaria. Los extractos de plantas tanto medicinales como no medicinales han demostrado poseer ciertos compuestos bioactivos con un efecto potencialmente inhibitorio sobre diversas bacterias patógenas. Este efecto podría contribuir a reducir la dependencia de los antibióticos convencionales y disminuir el desarrollo de resistencia (Nourbakhsh et al., 2022; Li et al., 2024).

Entre las plantas con potencial antimicrobiano, *Moringa oleifera* Lam. ha despertado un gran interés debido a la presencia de compuestos bioactivos, como flavonoides, taninos y alcaloides, los cuales han mostrado actividad inhibitoria contra diversas bacterias patógenas (Huang et al., 2024; Pareek et al., 2023; Zhang et al., 2023).

Estudios previos han reportado que diferentes tipos de extractos de sus hojas poseen efectos antibacterianos frente a microorganismos de importancia en salud animal y humana (Umamaheswari et al., 2020; Elgamily et al., 2016). En el estudio llevado a cabo por Ibrahim & Kebede (2020) se utilizaron extractos acuosos y metanólicos de las hojas de varias plantas

incluidas *Moringa oleifera* Lam. para evaluar su actividad antibacterial sobre diferentes patógenos incluido *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, en el estudio realizado por Tirado-Torres et al. (2019) se utilizaron extractos etanólicos de las hojas, tallo y semillas de la planta para evaluar su actividad antimicrobiana frente a cepas de *S. aureus* multi-resistente extraído de muestras de leche cruda de vaca. Esto sugiere una posible aplicación como una alternativa natural a los antibióticos para el control de infecciones (Arora & Arora, 2021; Cáceres et al., 1991; Bukar et al., 2010).

Dentro de las bacterias de interés en medicina veterinaria, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* son patógenos relevantes debido a su capacidad para causar infecciones tanto en animales como en humanos.

Staphylococcus aureus está asociado con mastitis en bovinos, infecciones cutáneas y resistencia a antibióticos como la meticilina (MRSA) (Park & Ronholm, 2021; Aires-de-Sousa, 2017), mientras que *Bacillus cereus* es un agente oportunista que puede contaminar alimentos y generar toxinas responsables de provocar enfermedades gastrointestinales (Ehling-Schulz et al., 2019). Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de hoja de *Moringa oleifera* Lam. sobre estas bacterias permitirá determinar su potencial como una alternativa natural para el control de infecciones y la reducción del uso de antibióticos convencionales.

➤ **Pregunta de investigación**

¿A qué concentración el extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*?

➤ **Hipótesis**

El extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* a una concentración específica.

➤ **Objetivos**

▪ **General:**

Evaluar el efecto del extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. sobre *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* a diferentes concentraciones.

▪ **Específicos:**

- Establecer una alta concentración base del extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. para probarla de manera decreciente en las pruebas antimicrobianas.
- Obtener y ajustar la concentración de *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* a 1×10^6 UFC/ml.
- Exponer estas bacterias a diferentes concentraciones del extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. mediante microdiluciones seriadas.
- Cuantificar el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano en cada concentración del extracto mediante el cálculo de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) en base al conteo manual de colonias.

DESARROLLO DEL TEMA

➤ Metodología

Este estudio de tipo experimental cuantitativo se realizó dentro del laboratorio de bacteriología del Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito. Para la realización del estudio se empleó un extracto de hojas de *Moringa oleifera*, Lam. previamente liofilizado (Ecuamoringa®, Guayaquil, Ecuador) el cual se diluyó en caldo nutritivo para su uso en los ensayos de inhibición bacteriana. Se colocaron 3gr de extracto de *Moringa oleifera* Lam. y 25ml de caldo nutritivo en un tubo Falcon para obtener una concentración base de 120 mg/ml. Se colocó el tubo Falcon en un vortex por 1 a 2 minutos para favorecer su disolución. Debido a la solubilidad del extracto, 120mg/ml fue la mayor concentración que se pudo alcanzar sin presentar problemas disolución o manipulación. Se intentó aumentar la concentración a 200mg/ml diluyendo 5gr del extracto de *Moringa oleifera* Lam. en 25ml de caldo nutritivo. Pero a pesar de los intentos por tratar de disolver por completo el extracto mediante el uso del vortex, esto no fue posible y las puntas de las micropipetas siempre presentaron dificultades al momento de tratar de absorber la dilución.

Se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Bacillus cereus* (ATCC 25922) que fueron reactivadas mediante estriado en agar nutritivo e incubadas a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, en un tubo Eppendorf, se realizó un McFarland 0.5 estándar con caldo nutritivo para ajustar la densidad bacteriana a 1.5×10^8 UFC/ml de ambas cepas. Se tomaron 100 µl de la suspensión McFarland y se diluyeron en 14.9 ml de caldo nutritivo en un tubo Falcon. De esta manera, de cada bacteria, se obtuvo una concentración bacteriana de 1×10^6 UFC/ml que fue usada para la exposición a las diferentes concentraciones del extracto de *Moringa oleifera* Lam.

Para evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano, se utilizó la técnica de microdilución en caldo en placas para cultivo celular de 96 pocillos, siguiendo los protocolos del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). A partir de la solución de 120 mg/ml de *Moringa oleifera* Lam. se realizaron diluciones seriadas 1:2 en caldo nutritivo en placas de 96 pocillos hasta llegar a 0.12mg/ml. Al ser un estudio por triplicado, se colocó cada concentración en 3 pocillos de la placa. Para cada bacteria fueron añadidos en cada pocillo 100 μ l de la dilución del extracto a una concentración de 120 mg/ml y 100 μ l de la suspensión bacteriana ajustada a 1×10^6 UFC/ml. Por lo tanto, una vez colocados ambos componentes, la concentración del extracto de *Moringa oleifera* Lam. quedó en 60 mg/ml y la concentración bacteriana en 5×10^5 UFC/ml. Se incluyeron pruebas de control para validar el ensayo. El control negativo estuvo compuesto por 100 μ l de caldo nutritivo con 100 μ l de la suspensión bacteriana, el control positivo estuvo compuesto por 100 μ l de bacteria con 100 μ l de gentamicina a una concentración de 5 mg/ml y un control de medio únicamente con 200 μ l de caldo nutritivo.

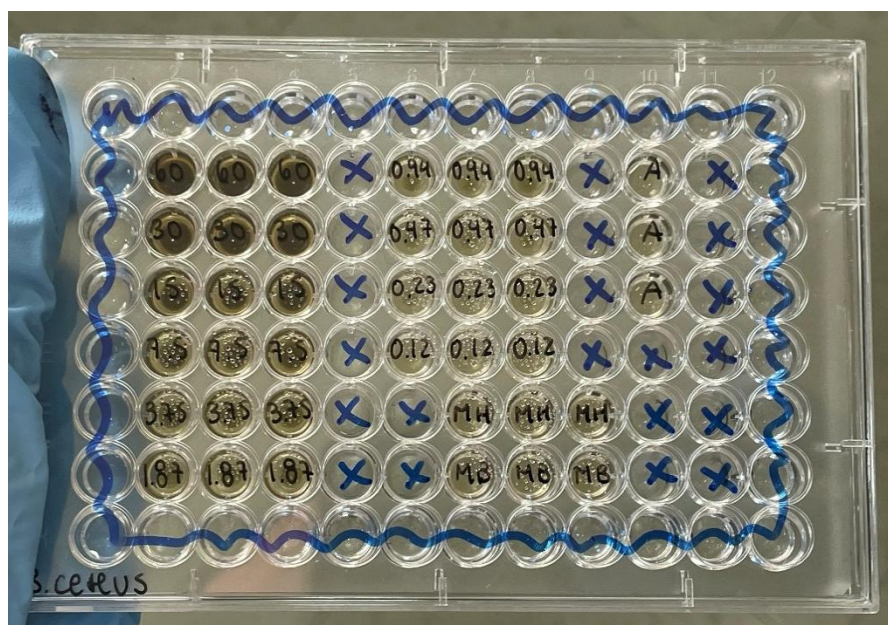


Figura 1. Distribución de concentraciones del extracto de *Moringa oleifera* Lam. en placa de 96 pocillos. MM: Medio solo (control neutro). MB: Medio con bacteria (control negativo). A: Antibiótico (control positivo).

Para evitar la evaporación del contenido de los pocillos durante la incubación, los bordes de estos se llenaron con solución salina estéril y la placa se selló con parafilm previo a su incubación. Las placas de ambas bacterias fueron posteriormente incubadas a 37°C durante 24 horas.

Transcurridas las 24 horas de incubación se realizó una segunda dilución seriada de cada concentración en nuevas placas de 96 pocillos. En las placas se colocaron 180 µl de solución salina estéril y se añadieron 20 µl de cada pocillo con cada una de las concentraciones usadas como tratamiento, de esta manera se obtuvo una dilución inicial de 1×10^{-1} . Este proceso se repitió hasta alcanzar la dilución final de 1×10^{-5} .

Posteriormente, con una micropipeta se extrajeron 10 µl de cada dilución y se los colocó en forma de micro-gotas en agar nutritivo dentro de cajas Petri previamente divididas en seis sectores correspondientes a cada concentración de las diluciones previas. Los sectores de las cajas Petri comenzaron desde la concentración 1×10^0 hasta 1×10^{-5} . Las cajas Petri fueron incubadas a 37°C durante 24 horas.

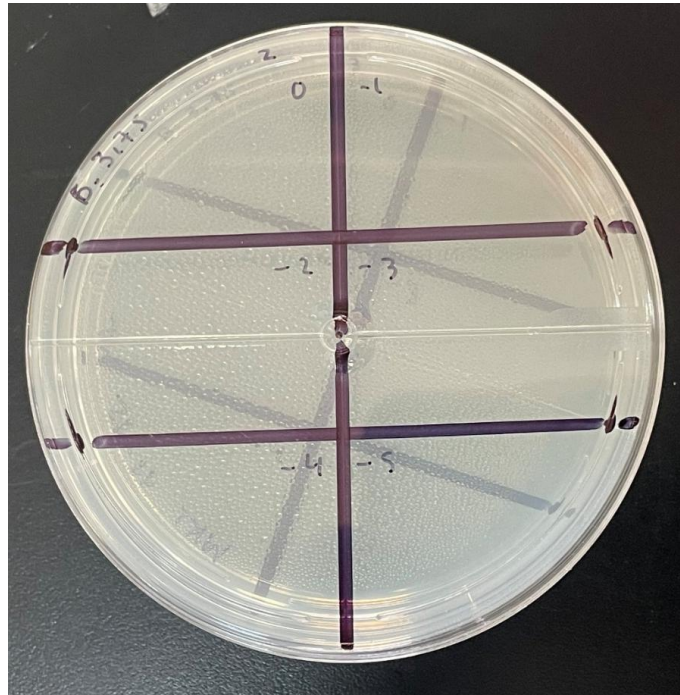


Figura 2. División de sectores en cajas Petri para la siembra de diluciones bacterianas.

Tras las 24 horas de incubación se realizó cuantificación manual de colonias formadas de cada caja Petri en el sector donde estas estuvieran más separadas y fueran fáciles de contar para el ojo humano. Para determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) se utilizó la fórmula:

$$(\# \text{ de colonias} \times \text{Factor de dilución}) \div \text{Volumen sembrado en ml}$$

Donde “Factor de dilución” corresponde al inverso de la concentración del sector de la caja Petri en la que se realizó el conteo manual de colonias, mientras que “Volumen sembrado en ml” corresponde a los 10 µl (0.01 ml) extraídos de las diluciones para su siembra en el agar nutritivo. Esta fórmula se utilizó para el conteo de cada caja Petri incluyendo los controles negativo y positivo.

Para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano se usó la fórmula:

$$\%Inhibición = \left[\left(1 - \frac{UFC\ tratamiento}{UFC\ control} \right) \times 100 \right]$$

Donde “UFC tratamiento” corresponde a la cantidad de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) de cada una de las cajas Petri en las que se sembró la dilución de la mezcla de bacteria y las diferentes concentraciones del extracto de *Moringa oleifera* Lam. Por otro lado, “UFC control” hace referencia a la cantidad de UFC/ml de las cajas Petri en las que se sembró la dilución del control negativo.

Finalmente, los datos obtenidos fueron tabulados en Excel y posteriormente sometidos a un análisis estadístico mediante ANOVA de una vía, utilizando el software R (V 4.5.0, R Core Team; Vienna, Austria) para determinar diferencias entre las concentraciones usadas como tratamiento siendo que las diferencias fueran significativas cuando $p < 0.05$.

Finalmente, los datos obtenidos sobre la inhibición bacteriana, expresados como el porcentaje de inhibición, fueron tabulados en Excel y posteriormente analizados estadísticamente con el software R (versión 4.5.0, R Core Team; Vienna, Austria). Se empleó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para comparar el efecto de las distintas concentraciones del extracto de *Moringa oleifera* Lam. sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Las diferencias entre tratamientos se consideraron estadísticamente significativas cuando el valor de p fue menor a 0.05.

➤ Resultados

Los valores expuestos en la tabla 1 muestran el promedio del número de colonias y la cantidad de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) por cada concentración y su respectivo porcentaje de inhibición. El porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* varió en función de la concentración del extracto de *Moringa oleifera*. Lam. A concentraciones de 60, 30, 15, 7.5 y 3.75 mg/ml, se pudieron observar porcentajes de inhibición superiores al 99.9%, evidenciando así una alta efectividad antimicrobiana del extracto en estas concentraciones. A medida que la concentración disminuyó, también lo hizo el porcentaje de inhibición, obteniéndose porcentajes del 98.18% a 1.87 mg/ml, 93.48% a 0.94 mg/ml, 93.21% a 0.47 mg/ml, 51.19% a 0.23 mg/ml y 30.95% a 0.12 mg/ml.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* por concentraciones del extracto de *Moringa oleifera* Lam. en condiciones in vitro.

Concentración (mg/ml)	Número de colonias	UFC/ml	Porcentaje de inhibición
60	0	0	100%
30	0	0	100%
15	3.67	3.67×10^2	99.999%
7.5	81.00	1.05×10^4	99.996%
3.75	175.33	1.99×10^4	99.993%
1.87	12.00	5.10×10^6	98.179%
0.94	29.75	1.82×10^7	93.488%
0.47	19.00	1.90×10^7	93.214%
0.23	13.67	1.37×10^8	51.190%
0.12	19.33	1.93×10^8	30.952%

El análisis estadístico mediante ANOVA de una vía evidenció diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas ($F = 22.12$, $p = 1.62 \times 10^{-8}$), indicando que la concentración del extracto afecta de manera significativa la inhibición bacteriana.

El comportamiento de los datos sugiere que concentraciones iguales o superiores a 3.75 mg/ml son altamente efectivas para inhibir el crecimiento de *S. aureus* en condiciones in vitro.

Para *Bacillus cereus*, en sus valores en la tabla 2 también se observaron porcentajes de inhibición elevados a partir de concentraciones de 0.12 mg/ml y 0.94 mg/ml en adelante, donde se alcanzaron inhibiciones cercanas o iguales al 100%. A 0.47 y 0.23 mg/ml los porcentajes de inhibición disminuyeron a 80% y 54.31% respectivamente.

Tabla 2. Porcentaje de inhibición de *Bacillus cereus* por concentraciones del extracto de *Moringa oleifera* Lam. en condiciones in vitro.

Concentración (mg/ml)	Número de colonias	UFC/ml	Porcentaje de inhibición
60	0.67	6.67×10^2	99.995%
30	0.00	0	100%
15	0.00	0	100%
7.5	0.00	0	100%
3.75	0.00	0	100%
1.87	1.33	1.33×10^2	99.999%
0.94	0.00	0	100%
0.47	23.33	2.93×10^6	80%
0.23	37.00	6.70×10^6	54.318%
0.12	49.67	1.07×10^5	99.273%

El análisis con ANOVA de una vía mostró diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones evaluadas ($F = 16.00$, $p = 2.64 \times 10^{-7}$), demostrando que la concentración del extracto también influye significativamente en la inhibición de *B. cereus*.

De acuerdo con los resultados, el extracto de *Moringa oleifera* Lam. presenta una fuerte capacidad antimicrobiana frente a *B. cereus*, principalmente a concentraciones iguales o mayores a 0.94 mg/ml.

➤ **Discusión**

Resultados obtenidos durante las pruebas de laboratorio muestran que el extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. posee una capacidad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Esto confirma su potencial como una alternativa natural a los antimicrobianos convencionales. Se observó una relación directa entre el aumento de la concentración del extracto y el porcentaje de inhibición antimicrobiana, lo que coincide con lo reportado previamente en la literatura en la que atribuyen a los flavonoides, taninos y saponinas las propiedades antimicrobianas de la Moringa (Bukar et al., 2010; Li et al., 2024; Wang et al., 2016).

En el caso de *S. aureus*, las concentraciones iguales o superiores a 3.75 mg/ml lograron inhibiciones superiores al 99%, mientras que en *B. cereus* se observaron inhibiciones similares a partir de 0.94 mg/ml. Estos hallazgos son compatibles con los estudios de Zhang et al. (2023) y Yuan et al. (2021), que reportan mayor susceptibilidad de bacterias Gram positivas a componentes vegetales como los flavonoides. En la revisión bibliográfica realizada por Soto et al. (2025) se reportó la acción antimicrobiana de una variedad de extractos de diferentes partes de *Moringa oleifera* Lam. frente a varios patógenos; entre ellos el extracto etanólico de las hojas de la moringa sobre *S. aureus* cuya concentración mínima inhibitoria fue de 250 µg/ml.

Sin embargo, se obtuvo un resultado atípico en la concentración de 0.12 mg/ml en *B. cereus*, donde se registró un porcentaje de inhibición de más del 99%, a pesar de ser una concentración inferior a 0.23 mg/ml. La inhibición casi total observada a dicha concentración podría atribuirse a posibles variaciones en la preparación del inóculo o a condiciones técnicas del ensayo que influyeron en los resultados. Estudios previos han demostrado que incluso pequeñas diferencias en la concentración del inóculo pueden afectar significativamente los resultados de inhibición antimicrobiana (Bhalodi et al., 2021). Además, la variabilidad entre cepas

bacterianas y las condiciones propias del laboratorio donde se realiza el ensayo pueden llegar a influir en la capacidad de reproducir los resultados (Mouton et al., 2018).

Aunque el estudio experimental incluyó tanto controles positivos y negativos, como la resiembra en placas agar para la confirmación del crecimiento bacteriano, el estudio presenta ciertas limitaciones. En primer lugar, el número de réplicas por concentración fue limitado, lo cual puede llegar a influir en la variabilidad de los resultados, especialmente en concentraciones bajas. Por otra parte, el trabajo se enfocó únicamente en dos especies bacterianas Gram positivas; por lo tanto, no se puede generalizar su efecto a un espectro más amplio de microorganismos.

Si bien no se realizó una caracterización química del extracto utilizado, diversos estudios han documentado la presencia de ciertos metabolitos con posible actividad antimicrobiana en las hojas de *Moringa oleifera* Lam., tales como flavonoides, taninos y alcaloides (Cabrera et al., 2017; Capacho, 2021; Liu et al., 2022). Por lo tanto, es razonable concluir que estos compuestos pudieron haber contribuido al efecto observado, aunque su participación específica no fue determinada en este estudio. Para entender mejor el papel de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de *Moringa oleifera* Lam., futuras investigaciones podrían enfocarse en su caracterización química mediante técnicas como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Kumar, 2017; Boligon & Athayde, 2014), la espectrometría de masas (MS) y sus variaciones (Jorge et al., 2016; Gemperline et al., 2016) o la resonancia magnética nuclear (RMN) (Ocampos et al., 2024; Wishart, 2008). Una vez bien identificados los compuestos activos, su efecto antimicrobiano podría ser evaluado de forma individual y combinada, mediante ensayos de sensibilidad. Estos enfoques permitirían no solo confirmar su contribución al efecto de inhibición observado, sino también perfeccionar su uso en aplicaciones tanto clínicas como agroindustriales.

Sin embargo, los resultados obtenidos al sugerir el potencial efecto inhibitorio del extracto de *Moringa oleifera* Lam. sobre bacterias Gram positivas, resultan especialmente relevantes en el contexto actual de la creciente resistencia a los antibióticos convencionales. En medicina veterinaria este tipo de evidencia inicial puede servir como base para futuras investigaciones dirigidas a la reducción del impacto de la resistencia antibacteriana. De esta manera, se puede llegar a contribuir a la salud pública desde un enfoque integral.

Considerando la actividad antimicrobiana del extracto, este podría explorarse como un posible aditivo natural para la conservación de alimentos y piensos destinados a los animales de producción, con el fin de prevenir la proliferación bacteriana y contribuir a mejorar la calidad sanitaria de la dieta animal, reduciendo así el riesgo de infecciones, el uso de antibioticoterapia y pérdidas económicas en la industria agropecuaria.

CONCLUSIONES

El extracto liofilizado de hojas de *Moringa oleifera* Lam. demostró una considerable capacidad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* en condiciones in vitro. Los resultados obtenidos muestran que el efecto inhibitorio del extracto está directamente relacionado con la concentración del mismo, llegándose a observar porcentajes de inhibición superiores al 99% a partir de 3.75 mg/ml en *S. aureus* y 0.94 mg/ml en *B. cereus*.

Estos hallazgos reafirman que el extracto de moringa tiene potencial como una alternativa natural a los antibióticos convencionales frente a bacterias Gram positivas. Sin embargo, se reconoce que los ensayos de este estudio fueron desarrollados en un único entorno de laboratorio controlado, con un número limitado de especies bacterianas y pocas réplicas, por lo que se recomienda ampliar la investigación hacia otras cepas y grupos microbianos e identificar, mediante análisis fitoquímicos, los compuestos bioactivos responsables de la actividad antimicrobiana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aires-de-Sousa, M. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23(6), 373–380.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.11.002>
- Arora, S., & Arora, S. (2021). Nutritional significance and therapeutic potential of *Moringa oleifera*: The wonder plant. *Journal of Food Biochemistry*, 45(10), e13933.
<https://doi.org/10.1111/jfbc.13933>
- Bhalodi, A. A., Oppermann, N., Campeau, S. A., & Humphries, R. M. (2021). Variability of Beta-Lactam Broth Microdilution for *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(10), e00640-21. <https://doi.org/10.1128/AAC.00640-21>
- Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2014). *Importance of HPLC in Analysis of Plants Extracts*.
<https://austinpublishinggroup.com/chromatography/fulltext/chromatography-v1-id1011.php>
- 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). <https://doi.org/10.4314/bajopas.v3i1.58706>
- Cabrera, J. L., Jaramillo, C., Dután, F., Cun, J., García, P. A., & Rojas de Astudillo, L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53–60.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1316-33612017000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Cáceres, A., Cabrera, O., Morales, O., Mollinedo, P., & Mendia, P. (1991). Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 33(3), 213–216. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90078-r](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90078-r)
- Capacho, Y. (2021). *Actividad biológica de extractos de moringa oleifera. Revisión Documental 2010-2021*. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/22a7339f-4f41-4e96-b925-a314d33e774e>
- Ehling-Schulz, M., Lereclus, D., & Koehler, T. M. (2019). The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential. *Microbiology Spectrum*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0032-2018>
- Elgamily, H., Moussa, A., Elboraey, A., El-Sayed, H., Al-Moghazy, M., & Abdalla, A. (2016). Microbiological Assessment of *Moringa Oleifera* Extracts and Its Incorporation in Novel Dental Remedies against Some Oral Pathogens. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 4(4), 585–590. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.132>
- Gemperline, E., Keller, C., & Li, L. (2016). Mass Spectrometry in Plant-omics. *Analytical Chemistry*, 88(7), 3422–3434. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b02938>
- Halawa, E. M., Fadel, M., Al-Rabia, M. W., Behairy, A., Nouh, N. A., Abdo, M., Olga, R., Fericean, L., Atwa, A. M., El-Nablaway, M., & Abdeen, A. (2024). Antibiotic action and resistance: updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1305294>
- Huang, J., Zaynab, M., Sharif, Y., Khan, J., Al-Yahyai, R., Saddar, M., Ali, M., Alarab, S. R., & Li, S. (2024). Tannins as antimicrobial agents: Understanding toxic effects on pathogens. *Toxicon*, 247, 107812. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2024.107812>

- Ibrahim, N., & Kebede, A. (2020). *In vitro* antibacterial activities of methanol and aqueous leave extracts of selected medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(9), 2261–2268.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.047>
- Jorge, T. F., Mata, A. T., & António, C. (2016). Mass spectrometry as a quantitative tool in plant metabolomics. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 374(2079), 20150370.
<https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0370>
- Kumar, B. R. (2017). Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(6), 349–364. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2017.06.005>
- Li, S., Jiang, S., Jia, W., Guo, T., Wang, F., Li, J., & Yao, Z. (2024). Natural antimicrobials from plants: Recent advances and future prospects. *Food Chemistry*, 432, 137231.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137231>
- Liu, R., Liu, J., Huang, Q., Liu, S., & Jiang, Y. (2022). *Moringa oleifera*: a systematic review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 74(3), 296–320. <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab131>
- Mouton, J. W., Meletiadis, J., Voss, A., & Turnidge, J. (2018). Variation of MIC measurements: the contribution of strain and laboratory variability to measurement precision. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(9), 2374–2379.
<https://doi.org/10.1093/jac/dky232>
- Nourbakhsh, F., Lotfalizadeh, M., Badpeyma, M., Shakeri, A., & Soheili, V. (2022). From plants to antimicrobials: Natural products against bacterial membranes. *Phytotherapy Research: PTR*, 36(1), 33–52. <https://doi.org/10.1002/ptr.7275>

- Ocampos, F., de Souza, A. J., Ribeiro, G., Almeida, L., Cônsolo, N., & Colnago, L. (2024, July 29). *Frontiers | NMR-based plant metabolomics protocols: a step-by-step guide*. <https://www.frontiersin.org/journals/natural-products/articles/10.3389/fntpr.2024.1414506/full>
- Park, S., & Ronholm, J. (2021). Staphylococcus aureus in Agriculture: Lessons in Evolution from a Multispecies Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(2), 10.1128/cmr.00182-20. <https://doi.org/10.1128/cmr.00182-20>
- Pareek, A., Pant, M., Gupta, M. M., Kashania, P., Ratan, Y., Jain, V., Pareek, A., & Chuturgoon, A. A. (2023). Moringa oleifera: An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities, Ethnomedicinal, Phytopharmaceutical Formulation, Clinical, Phytochemical, and Toxicological Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2098. <https://doi.org/10.3390/ijms24032098>
- Peacock, S. J., & Paterson, G. K. (2015). Mechanisms of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. *Annual Review of Biochemistry*, 84(Volume 84, 2015), 577–601. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034516>
- Roth, N., Käsbohrer, A., Mayrhofer, S., Zitz, U., Hofacre, C., & Domig, K. (2019). The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in Escherichia coli: A global overview. *Poultry Science*, 98(4), 1791–1804. <https://doi.org/10.3382/ps/pey539>
- Soto, J. A., Gómez, A. C., Vásquez, M., Barreto, A. N., Molina, K. S., & Zuniga-Gonzalez, C. A. (2025). Biological properties of Moringa oleifera: A systematic review of the last decade. *F1000Research*, 13, 1390. <https://doi.org/10.12688/f1000research.157194.2>
- Tirado-Torres, D., Chan-Keb, C. A., Pérez-Balán, R. A., Ake-Canché, B., Gómez-Solano, M. I., Aragón-Gastélum, J. L., Gómez-López, I., Aguirre-Crespo, F. J., López-Ramos, M.

- C., & Gutiérrez-Alcántara, E. J. (2019). Antimicrobial activity of moringa oleifera against multidrug-resistant staphylococcus aureus isolated from raw milk. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(1), 587–599. [10.15666/aeer/1701_587599](https://doi.org/10.15666/aeer/1701_587599)
- Umamaheswari, A., Lakshmana Prabu, S., & Grace Felciya, S. J. (2020). Investigation on the biofilm eradication potential of selected medicinal plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biotechnology Reports*, 28, e00523. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00523>
- Wang, L., Chen, X., & Wu, A. (2016). Mini Review on Antimicrobial Activity and Bioactive Compounds of Moringa oleifera. *Medicinal Chemistry*, 6(9), 578–582. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000402>
- Wishart, D. S. (2008). Quantitative metabolomics using NMR. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(3), 228–237. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.12.001>
- Yuan, G., Guan, Y., Yi, H., Lai, S., Sun, Y., & Cao, S. (2021). Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Scientific Reports*, 11(1), 10471. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90035-7>
- Zhang, L., Yan, Y., Zhu, J., Xia, X., Yuan, G., Li, S., Deng, B., & Luo, X. (2023). Quinone Pool, a Key Target of Plant Flavonoids Inhibiting Gram-Positive Bacteria. *Molecules*, 28(13), 4972. <https://doi.org/10.3390/molecules28134972>