

EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE MORINDA CITRIFOLIA (NONI) FRENTE A CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Luis Ángel Altamirano Fernández¹
Emeli Maday Castro Bruno¹
Cinthya Santa Cruz-López²
Fransk Amarildo Carrasco-Solano³
Ronald A. Cruz-Silva¹
Mario C. Moreno-Mantilla³

1. Licenciado en biología- Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque-Perú.
2. Doctora en Ciencias Biomédicas, Catedrática de la Universidad Nacional de Jaén, Cajamarca-Perú.
* Autor para la correspondencia: cisantacruz@gmail.com
3. Magister en Microbiología Clínica, Catedrático de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque - Perú.

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de interés y el trabajo es original.

Contribuciones de autoría: Luis Ángel Altamirano Fernández y Emeli Maday Castro Bruno, realizaron la concepción y diseño del estudio, búsqueda bibliográfica, recolección de los datos y participaron en la elaboración del manuscrito. Ronald A. Cruz-Silva, participó en búsqueda bibliográfica, análisis, interpretación de los datos obtenidos y la elaboración del manuscrito.

Fransk A. Carrasco-Solano y Mario C. Moreno-Mantilla, brindaron apoyo en la ejecución de la investigación, revisaron el borrador y la versión final del manuscrito.

Cinthya Santa Cruz-López, realizó la búsqueda bibliográfica, participó en la elaboración del borrador, revisó el borrador y la versión final del manuscrito.

Financiamiento: Autofinanciado.

Correspondencia: Cinthya Yanina Santa Cruz López.

Av. Luis Gonzales 1342 - Chiclayo. Lambayeque.

Teléfono: 945391136

Dirección electrónica: cisantacruz@gmail.com

Recibido: 25/5/2020

Aceptado: 6/6/2020

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Se utilizó la técnica de disco difusión para determinar el efecto inhibitorio del extracto. La concentración mínima inhibitoria se determinó mediante la técnica de macrodilución en caldo. Se encontró que *Morinda citrifolia* presentó efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus*, con diámetro promedio de los halos inhibitorios de 16,22 mm. El efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* resultó ser directamente proporcional a la concentración del extracto, siendo variable en cada cepa evaluada.

Palabras clave: *Morinda*, *Staphylococcus aureus*, fitoterapia, antibacteriano (Fuente: DECS BIREME).

INHIBITORY EFFECT OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF MORINDA CITRIFOLIA (NONI) IN FRONT OF STREPTOCOCCI STOCKS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS

ABSTRACT

The objective of the investigation was to determine the *in vitro* inhibitory effect of the ethanolic extract of *Morinda citrifolia* on *Staphylococcus aureus* strains. The diffusion disk technique was used to determine the inhibitory effect of the extract. The minimum inhibitory concentration was determined using the broth macrodilution technique. *Morinda citrifolia* was found to have an inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*, with an average diameter of inhibitory halos of 16.22 mm. The *in vitro* inhibitory effect of the ethanolic extract of *Morinda citrifolia* turned out to be directly proportional to the concentration of the extract, being variable in each strain evaluated.

Keywords: *Morinda*, *Staphylococcus aureus*, phytotherapy, antibacterial (Source: DECS BIREME).

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un grave problema mundial que amenaza la eficacia terapéutica, facilitando el incremento de la morbi-mortalidad de los pacientes tanto en el ámbito hospitalario como ambulatorio (1). Esto pone en riesgo la seguridad sanitaria, incrementándose los costos para el tratamiento de las enfermedades ocasionadas por microorganismos resistentes, teniendo en consideración el tiempo de hospitalización y los cuidados requeridos para la recuperación de los pacientes (2,3).

En la actualidad, existe un gran número de microorganismos que han adquirido genes de resistencia a diversos fármacos sintéticos. Entre ellos se encuentra *Staphylococcus aureus*, una bacteria Gram positiva que ocasiona infecciones cutáneas, mucosas, pleuropulmonares y osteoarticulares (4). Este patógeno es común en el ambiente hospitalario, por lo que las cepas resistentes de estafilococos constituyen un gran riesgo para la salud, haciéndose necesario buscar nuevas alternativas que resulten económicas, seguras y con pocos efectos adversos. Las plantas que poseen principios activos terapéuticos una opción de gran interés para la investigación científica moderna (5).

Al respecto, Perú es un país con una gran diversidad de especies vegetales, lográndose identificar más de 1400 especies con propiedades medicinales, lo que evidencia la enorme reserva de plantas con principios activos terapéuticos que pueden ser útiles para el control de muchos microorganismos patógenos (6).

Morinda citrifolia, conocida comúnmente como noni, es un arbusto de 3 a 10 m de altura que pertenece a la familia *Rubiaceae* (7). Originaria del sur este asiático pero que hoy en día crece en casi todas las regiones del mundo (8). Estudios de caracterización fitoquímica de las hojas de noni, han evidenciado la presencia de compuestos fenólicos (antraquinonas, acubina, ácido asperulósido y escopoletina), ácidos orgánicos y alcaloides (xeronina) (9,10). Cabe resaltar que *M. citrifolia* tiene propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antibacterianas, antivirales, antifúngicas, antitumorales, antihelmínticas e inmunestimulantes (8,9,11), por lo que es utilizado empíricamente para tratar el dolor y combatir infecciones que afectan la

salud de muchas personas. Al respecto, Castillo et al. (12) han evaluado el potencial antimicrobiano del noni frente a *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli* y *Candida sp*. Por su parte, Oliva (13) ha demostrado su efecto sobre *Streptococcus mutans*. También se ha reportado actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, entre otros (14,15). Por lo expuesto anteriormente, la presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de frutos de *M. citrifolia* frente a cepas de *S. aureus*, un microorganismo causante de múltiples patologías y que ha adquirido resistencia a muchos de los fármacos utilizados frecuentemente para su tratamiento. Por tal motivo, se buscan terapias alternativas para controlar su proliferación, además de contribuir al mejor estudio del *M. citrifolia* y de sus propiedades reportadas, que fomentaron el interés por esta investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y población de estudio

El estudio fue experimental de estímulo creciente. La población estuvo conformada por cepas de *S. aureus* y la muestra constituida por tres cepas de *S. aureus* proporcionadas por el cepario del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo situada en la avenida Juan XXIII 391, provincia de Lambayeque, departamento de Lambayeque, Perú. Además, las cepas de *S. aureus* fueron confirmadas microbiológicamente antes de su uso.

Material vegetal

Las hojas y frutos de *M. citrifolia* (noni) fueron adquiridos del mercado Moshoqueque, perteneciente al distrito de Chiclayo, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque - Perú. Se seleccionaron los frutos en mejores condiciones sanitarias y se trasladaron al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Parte del material vegetal adquirido fue llevado al Herbario Pedro Ruiz Gallo para su identificación, caracterización y certificación.

Preparación del extracto etanólico de *Morinda citrifolia*

Para la preparación del extracto etanólico, se desinfectaron previamente los frutos de noni con hipoclorito de sodio al 5%. Se utilizaron 2 kg de noni que fueron colocados en el horno a 60 °C durante 5 días para su deshidratación. El material vegetal seco fue triturado con ayuda de un mortero hasta su pulverización total. Se pesaron 250 g del polvo obtenido y se colocaron en un vaso de precipitación estéril conteniendo etanol al 80°, utilizado como solvente (1:2 m/v) para su maceración durante 7 días en constante movimientos rotatorios a temperatura ambiente y sin contacto directo con la luz solar. Transcurrido el tiempo, se filtró el producto con papel filtro Whatman N°1 (tres veces). El extracto total se llevó a sequedad forzada en el rotavapor, obteniéndose así el extracto seco de *M. citrifolia*. Al extracto seco se le agregó etanol al 40° (1:1 m/v) con la finalidad de obtener una solución madre a 1000 mg/ml. A partir de la solución madre se realizaron diluciones para obtener concentraciones de 400, 500, 600, 700, 800 y 900 mg/ml. Además, cada concentración del extracto fue colocada en un recipiente estéril de color ámbar, tapado herméticamente y refrigerado hasta el momento de la experimentación.

Reactivación de las cepas de *Staphylococcus aureus*

Las tres cepas de *S. aureus* se reactivaron, cada una por separado, en 5 ml de caldo nutritivo y se incubaron a 37 °C durante 4 a 6 horas en condiciones de aerobiosis. A partir del cultivo puro se realizó una suspensión bacteriana equivalente al tubo N° 0,5 del nefelómetro de Mac Farland, siendo este el inóculo empleado para la siembra. Preparación de medios de cultivo y discos de difusión evaluar el efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *M. citrifolia* se elaboraron discos de sensibilidad de 6 mm de diámetro a base de papel Whatman N° 01, los cuales se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos (dentro de un sobre de papel kraft). Además, el medio de cultivo utilizado fue el agar Müller Hinton (Merck), el cual fue preparado siguiendo las especificaciones del fabricante y posteriormente fue sometido a control de esterilidad por 24 horas.

Prueba de susceptibilidad antibacteriana de *Morinda citrifolia* mediante el método de difusión en disco

Los discos de difusión esterilizados previamente, fueron impregnados con el extracto etanólico de frutos de *M. citrifolia* a las concentraciones de 400, 500, 600, 700, 800 y 900 mg/ml y con solución salina fisiológica estéril (SSFE) como control negativo. Los discos embebidos fueron secados a temperatura ambiente y en el interior de una cabina de

bioseguridad Nivel II. Posteriormente se sembró el inóculo estandarizado utilizando un hisopo estéril. Transcurridos 5 minutos se colocaron los discos impregnados con extracto etanólico a las diferentes concentraciones evaluadas, separados entre sí por una distancia 20 mm, para evitar la superposición de los halos de inhibición. Así, también se agregó un disco embebido en SSFE. Seguidamente se dejaron reposar las placas durante 15 min a temperatura ambiente y luego se incubaron a 36 °C por 24 h en condiciones de aerobiosis. Posterior al periodo de incubación se midieron los halos de inhibición (mm) obtenidos (16).

Determinación de la concentración mínima inhibitoria mediante la técnica de macrodilución

Para la determinación de CMI se empleó el inóculo bacteriano equivalente al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland que indica una densidad poblacional de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Seguidamente se realizaron diluciones del inóculo en agua destilada estéril hasta obtener una dilución de 1×10^6 UFC/ml. Se utilizó una serie de 12 tubos de ensayo estériles (enumerados del 1 al 12), agregándose 0,5 ml de extracto etanólico en los tubos 1 y 2 y, se colocó 0,5 ml de Caldo Muller Hinton desde el tubo número 2 al 12. Paralelamente se mezcló el contenido del tubo N°2 y se transfirió 0,5 ml de la dilución al tubo N° 3. Se continuó el mismo procedimiento hasta llegar al tubo N° 10, de donde se descartó 0,5 de la dilución obtenida. Enseguida se agregó 0,5 ml del inóculo bacteriano diluido desde el tubo N° 1 al N° 11. El tubo N° 11 sirvió como un control del inóculo, mientras que el N°12 se empleó como control de esterilidad. Una vez terminado el procedimiento se incubaron los tubos a 35 °C durante 16:20 horas. Finalmente se identificó la CMI por la falta de turbidez en el caldo, para lo cual se consideró el tubo de control de crecimiento (16).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron recopilados en una ficha de recolección y para el análisis estadístico se emplearon los programas Microsoft office excel® 2016 y Minitab® 18 para Windows® versión 8. Se aplicó el Análisis de Varianza (ANOVA) con la finalidad de determinar si la inhibición bacteriana era por efecto de la concentración del extracto etanólico del noni o la cepa empleada. Además, se utilizó Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para establecer el efecto del extracto etanólico de *M. citrifolia* a las concentraciones de 400, 500, 600, 700, 800 y 900 mg/ml sobre las cepas de *S. aureus* empleadas, así como el efecto de cada cepa bacteriana evaluada.

Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el comité de expertos de la facultad de Biología de la Universidad Nacional Pedro

Ruiz Gallo (UNPRG) y siguió con todos los criterios y lineamientos éticos establecidos en Declaración de Helsinki. Además, la investigación contó con el permiso de la UNPRG para la utilización de los ambientes de laboratorio con las medidas de bioseguridad adecuadas.

RESULTADOS

En la presente investigación, se determinó el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *M. citrifolia* a las concentraciones de 400, 500, 600, 700, 800 y 900mg/ml sobre el crecimiento de tres cepas de *S. aureus*. Observándose un aumento sostenido en los diámetros de halos inhibitorios entre las diferentes concentraciones evaluadas. Encontrándose para la concentración de 900 mg/ml un diámetro promedio de 16,22 mm (Figura 1). Mediante el análisis de varianza (ANOVA) se evidenció que existen diferencias estadísticas entre los diámetros promedios de los de halos inhibitorios (mm) obtenidos considerando cada cepa de *S. aureus*, las concentraciones del extracto etanólico e interacciones ente ambas. Estos resultados permitieron determinar que el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *M. citrifolia* fue independiente del tipo de cepa de *S. aureus*, pues muestran diferente sensibilidad al extracto etanólico, así mismo la concentración del extracto interfirió en la actividad antibacteriana (Tabla 1). La prueba de significancia evidenció la dependencia en los promedios de los halos inhibitorios de acuerdo a las fuentes de variación del análisis, siendo directamente proporcional el incremento de la concentración del extracto etanólico. De modo que, a la concentración de 400 mg/ml se observó un halo de inhibición promedio de 6,11 mm,

mientras que, a la concentración 900 mg/ml se obtuvo un halo de inhibición promedio de 16,22 mm (Tabla 2).

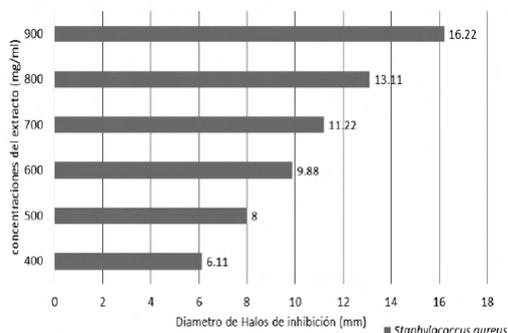


Figura 1. Promedios de los diámetros de halos inhibitorios obtenidos al exponer el extracto etanólico *Morinda citrifolia* (noni) a las concentraciones de 400, 4500, 600, 100, 800 y 90 ng/ml sobre 3 cepas de *Staphylococcus aureus*.

En la tabla 3 se observaron las diferencias entre cada una de las cepas de *S. aureus* (SA1-SA3) empleadas, de acuerdo al halo de inhibición producido por las concentraciones del extracto etanólico. La cepa SA3 presentó la mayor sensibilidad, al obtener un halo de inhibición promedio de 12,77 mm.

La Figura 2 mostró la concentración mínima inhibitoria para cada cepa de *S. aureus* (SA1-SA3), siendo de 50 mg/ml para la cepa SA1, de 100 mg/ml para SA2 y 25 mg/ml para SA3. Por lo que la cepa SA2 resultó ser la más resistente.

Tabla 1. Análisis de varianza del promedio de los diámetros de halos inhibitorios obtenidos al exponer al extracto etanólico *Morinda citrifolia* (noni) a las concentraciones de 400, 500, 600, 700, 800 y 900 mg/ml sobre 3 cepas de *Staphylococcus aureus*.

| Fuente de Variación | Suma de Cuadrados (SC) | Grados de Libertad (GL) | Cuadrados Medios (CM) | Prueba F | Probabilidad (p) |
|-----------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|----------|------------------|
| Concentración | 590,093 | 5 | 118,019 | 40,335 | 0,000000 |
| Cepa | 122,259 | 2 | 61,130 | 20,892 | 0,000001 |
| Concentración * Cepa | 140,185 | 10 | 14,019 | 4,791 | 0,000222 |
| Error | 105,333 | 36 | 2,926 | | |

Tabla 2. Prueba de significancia de Tukey de los promedios de halos de inhibición ocasionados por efecto del extracto etanólico *Morinda citrifolia* (noni) a las concentraciones de 400, 500, 600, 700, 800 y 900 mg/ml sobre *Staphylococcus aureus*.

Letras iguales: No hay diferencia significativa. *Letras diferentes*: Hay diferencia significativa.

| Concentración del extracto (mg/ml) | Promedio Halo de inhibición (mm) | Nivel de 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 |

Tabla 3. Prueba de significancia de Tukey de los promedios de halos de inhibición obtenidos en las diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* expuestas al extracto etanólico de *Morinda citrifolia* (noni).
Letras iguales: No hay diferencia significativa. *Letras diferentes*: Hay diferencia significativa.

| Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> | Halo de inhibición (mm) | Nivel de Significancia |
|---------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| SA2 | 9,16667 | A |
| SA1 | 10,33333 | A |
| SA3 | 12,77778 | B |

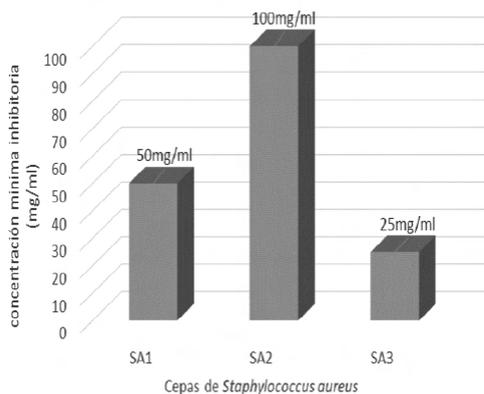


Figura 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* (noni) sobre tres cepas de *Staphylococcus aureus*.

En la Figura 3 se mostró el material vegetal (frutos de *Morinda citrifolia*) empleado en la presente investigación.



Figura 3. Frutos de *Morinda citrifolia* (noni).

DISCUSIÓN

Se evaluaron las concentraciones de 400, 500, 600, 700, 800 y 900 mg/ml del extracto etanólico de *M. citrifolia* sobre 3 cepas de *S. aureus* (SA1-SA3), encontrándose un aumento considerable en el diámetro de los halos de inhibición obtenidos con las diferentes concentraciones del extracto. El mayor promedio de halos de inhibición se obtuvo al exponer las cepas de *S. aureus* a la concentración de 900 mg/ml (16,22 mm).

Cabe resaltar que en el fruto de *M. citrifolia* (Figura 3) se han identificado gran cantidad de compuestos fitoquímicos como componentes fenólicos, ácidos orgánicos y alcaloides (11). Además, se atribuye el potencial antimicrobiano del fruto de noni a la presencia de compuestos fenólicos dentro de los que destacan la acubina, alizarina, escopoletina y otras antraquinonas (10,16).

Los compuestos fenólicos son capaces de atravesar las membranas plasmáticas logrando su ruptura, lo que facilita su ingreso al medio intracelular; precipitando y desnaturalizando las proteínas, además de inactivar enzimas como oxidasas y deshidrogenasas de la membrana (alterando su permeabilidad), lo que ocasiona la lisis del microorganismo (17). Sumado a ello, el uso de solventes polares, como el etanol y el agua, permite la extracción de flavonoides hidroxilados (18), capaces de atravesar las paredes celulares de las bacterias Gram positivas y que resultan tóxicos para la célula bacteriana (19). Solventes como el etanol permiten arrastrar una mayor cantidad de metabolitos secundarios incrementando la concentración del principio activo, lo que a su vez permite potenciar el efecto antibacteriano.

Los resultados de este estudio guardan relación con lo obtenido por Rodríguez y Zevallos (20), quienes evidenciaron el efecto inhibitorio del extracto acuoso liofilizado de noni sobre *S. aureus*, reportándose el mayor efecto inhibitorio a la concentración de 900 mg/ml, con un promedio de halo de inhibición de 7,3 mm. Posteriormente, Borroto et al. (21) realizaron un estudio para comprobar actividad antibacteriana del extracto diclorometánico de *Morinda royoc* sobre bacterias Gram positivas como *S. aureus* resistente a oxacilina, *S. aureus* ATCC 12598 y *Enterococcus faecalis*, encontrando fuerte actividad inhibitoria del extracto. También Santos demostró la actividad antibacteriana del extracto de la fruta de noni frente a microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* (15).

Diversos investigadores reportan que las bacterias Gram positivas presentan mayor susceptibilidad que las Gram negativas, posiblemente porque estas bacterias tienen una estructura de menor complejidad, ya que carecen de membrana externa, teniendo como única barrera el peptidoglucano, permitiendo un mayor ingreso a las células de compuestos como terpenos y fenoles, principios activos de la planta (1,22). Así también, otros factores como el tipo de especie bacteriana, condiciones del suelo, edad de la planta, porcentajes de los componentes químicos pueden afectar la actividad bactericida de una planta (23). El análisis de varianza demostró que existe diferencia significativa entre los promedios de los halos de inhibición (mm), las concentraciones del extracto etanólico y la interacciones entre ambos, siendo la actividad antibacteriana del extracto etanólico independiente de las cepas empleadas, ya que se observó diferente susceptibilidad en cada una de ellas (Tabla 1). Esta diferencia podría deberse a la

producción de mutaciones en el material genético de los microorganismos, que ocasionan cambios en la estructura bacteriana, limitando la acción diversos compuestos químicos (22,24).

Además, mediante la prueba de Tukey se determinó que a medida que incrementaba la concentración del extracto etanólico se vio afectado el diámetro de los halos de inhibición (Tabla 2). Respecto a las cepas de *S. aureus*, se evidenció que la cepa SA3 presentó mayor sensibilidad al extracto de noni (Tabla 3).

Todas las cepas de *S. aureus* (SA1-SA3) utilizadas resultaron sensibles a la actividad del extracto etanólico de *M. citrifolia*, siendo la cepa SA3 la que presentó mayor sensibilidad al evidenciarse una CMI de 25 mg/ml, mientras que la cepa SA2 fue la más resistente al efecto del extracto (Figura 2). Esto podría relacionarse con las mutaciones que se pueden desarrollar en el ADN bacteriano, ocasionando cambios en la estructura de las células bacteriana, modificando su reacción a distintos compuestos químicos (22,23).

La búsqueda de plantas con propiedades terapéuticas ha incrementado durante los últimos años, lo que ofrece una gran posibilidad para el estudio de especies vegetales y sus metabolitos secundarios, además del desarrollo de investigaciones orientadas a evaluar caracterización fitoquímica, pruebas de citotoxicidad y genotoxicidad, pudiendo emplearse en un futuro como prometedores fármacos alternativos y convirtiéndose en una opción terapéutica importante para el tratamiento de muchas enfermedades.

CONCLUSIÓN

Se concluye que el extracto etanólico de *M. citrifolia* tiene efecto inhibitorio frente a cepas de *S. aureus*, siendo directamente proporcional a la concentración del extracto. Además, la concentración de 900 mg/ml evidenció mayor efecto inhibitorio frente a las tres cepas de *S. aureus*.

BIBLIOGRAFÍA

- Galán JC, Moreno A, Baquero F. Impacto de los movimientos migratorios en la resistencia bacteriana a los antibióticos. *Rev Esp Salud Pública* 2014; 88 (6):829-37.
- World Health Organization. Anti-Infective Drug Resistance Surveillance and Containment Team. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. 2001.
- Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: ¡no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009; 48(1):1-12.
- Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology,

pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol*. 2015; 28 (3): 603-661.

- Corell-Doménech M. Terapeutas alternativos en México y la estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023: comunicación, creencias y factores socio-económicos. *Perspect. comun* 2019; 12(1): 59-77.
- González P, León B, Cano A, Jørgensen PM. Flora vascular y conexiones fitogeográficas de las montañas Carabaya, Perú. *Rev. Peru biol*. 2018; 25(3): 191-210.
- Chan-Blanco Y, Vaillant F, Pérez AM, Reynes M, Brillouet JM, Brat P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006; 19: 645-54.
- Ulloa JA, Rosas P, Ramírez-Ramírez JC, Ulloa BE. El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. *Revista Fuente*. 2012; 4(10): 44-9.
- García CM, Kim BN, Bich TN, Tillan CJ, Romero DJA, Darío LO, et al. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. *Rev Cubana Plant Med*. 2009;14(2):14-20.
- Valencia M, Ancona J, Reyes J, García M, León F. Evaluación de los metabolitos del Noni (*Morinda citrifolia*). *RelbCi*. 2017; 4(4): 16-22.
- Wang MI, West BJ, Jensen CJ, Nowicki D, Su C, Palu AK, et al. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacol Sin*. 2002; 23 (12): 1127-41.
- Castillo A, Pascual YM, Cunha-Nune C, de la Paz C, Cañete F. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de *Morinda citrifolia* L. (noni). *Rev cubana Plant Med*. 2014; 19(4): 374-82.
- Oliva JJ. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de la fruta *Morinda citrifolia* "noni" frente *Streptococcus mutans* ATCC 35668. 2019. [Tesis para optar el título profesional de Cirujano dentista]. Lambayeque: Universidad Señor de Sipan; 2019.
- Ramesh S, Harikrishnan R, Anburaj R, Mathavan E, Patharajam S. Physicochemical, phytochemical and antimicrobial studies on *Morinda citrifolia* L. fruits at different maturity stages. *Int J Pharm Sci*. 2012;4(5):473-6.
- Natheer SE, Sekar C, Amutharaj P, Rahman MSA, Khan KF. Evaluation of antibacterial activity of *Morinda citrifolia*, *Vitex trifolia* and *Chromolaena odorata*. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2012;6(11):783-8.
- Sacsquispe R. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Lima: Ministerio de Salud- Instituto Nacional de Salud. 2002.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbek D, Idaomar M, et al. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46: 446-75.

18. Soto-García M, Rosales-Castro M. Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. Maderas. Ciencia y tecnología. 2016; 18(4): 701-14.
19. Domingo D, López M. Plantas con acción antibacteriana. Rev. Esp. quimioterap. 2003; 16(4):385-393.
20. Rodríguez M, Zevallos F. Actividad antibacteriana *in vitro* del fruto de *Morinda citrifolia* L. y planta entera de *Notholaena nivea* (Poir) Desv, frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, IMET-ESSALUD. [Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2014.
21. Borroto JR, Trujillo Y, De la Torre N, Waksman M, Hernández YR, Salazar R. Actividad antimicrobiana y toxicidad frente a *Artemia salina* del extracto diclorometánico de raíces de *Morinda royoc* L. Rev Cubana de Plant Med. 2011; 16(1): 34-42.
22. Cabrera CE, Gómez RF, Zúñiga AE. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes: una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colomb Med. 2007; 38(2): 149-58.
23. Aranda R, Rodríguez Y, Garza B, López L, Torres N. Evaluación de la actividad biológica de productos herbolarios comerciales. Medicina Universitaria. 2009; 11:156- 64.
24. Echevarría-Zarate J, Iglesias-Quilca D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. Rev Med Hered. 2003; 14(4):195-203.