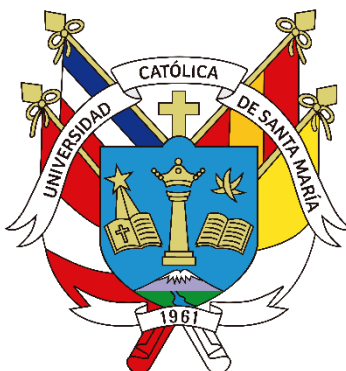


Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



Determinación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del epicarpio de Ayrampo (*Opuntia soehrensii* Britton & Rose) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Tesis presentada por las Bachilleres:

Chambi Mamani, Jimena Lizet

ORCID: 0009-0000-4497-8009

Tito Palaco, Maryori Elizabeth

ORCID: 0009-0005-6453-7987

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Asesora:

Mg. Yugra Condori, Mónica Meylin

ORCID: 0000-0002-0473-7259

Arequipa – Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FARMACIA Y BIOQUIMICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 02 de Junio del 2025

Dictamen: 010965-C-EPFvB-2025

Visto el borrador del expediente 010965, presentado por:

2018800522 - CHAMBI MAMANI JIMENA LIZET

2018247442 - TITO PALACO MARYORI ELIZABETH

Titulado:

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL
EPICARPIO DE AYRAMPO (OPUNTIA SOEHRENSII BRITTON & ROSE) FRENTE A
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923 Y STREPTOCOCCUS PYOGENES ATCC 19615**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

**29630612 - TERAN DIANDERAS ADILMI MILAGRO
DICTAMINADOR**



**41158700 - MARCILLA TRUYENQUE SHANERI
DICTAMINADOR**



**70541954 - CANDIA PUMA MAYRON ANTONIO
DICTAMINADOR**



Determinación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del epicarpio de Ayrampo (*Opuntia soehrensii* Britton & Rose) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes*

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	11%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	repositorio.umsa.bo Fuente de Internet	2%
5	Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC Trabajo del estudiante	1%
6	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	core.ac.uk Fuente de Internet	1%

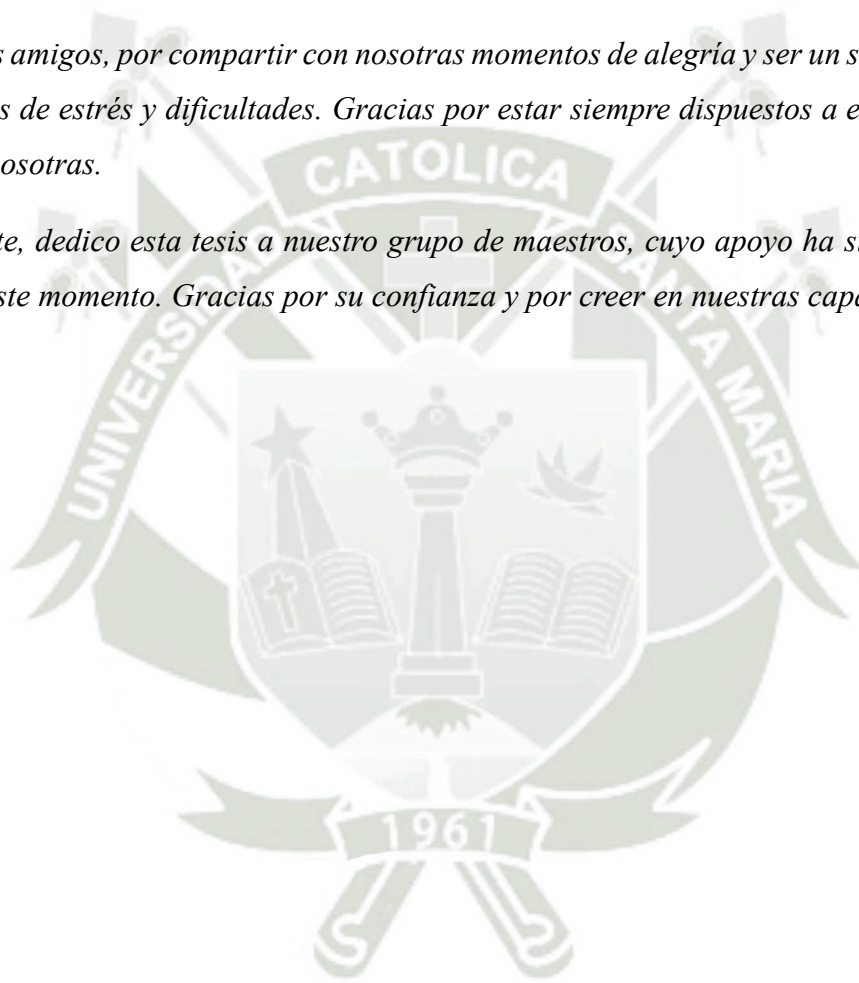
DEDICATORIA

A nuestros padres, por su amor incondicional, apoyo constante y por enseñarnos el valor del esfuerzo y la perseverancia. Sus ejemplos y sus palabras de aliento han sido nuestra mayor motivación en cada paso de este camino.

A nuestros hermanos, por su cariño, comprensión y por estar siempre a nuestro lado en los momentos difíciles. Su apoyo ha sido un pilar fundamental para nosotras.

A nuestros amigos, por compartir con nosotras momentos de alegría y ser un soporte emocional en tiempos de estrés y dificultades. Gracias por estar siempre dispuestos a escucharnos y por creer en nosotras.

Finalmente, dedico esta tesis a nuestro grupo de maestros, cuyo apoyo ha sido esencial para llegar a este momento. Gracias por su confianza y por creer en nuestras capacidades.



AGRADECIMIENTOS

A Dios por habernos dado la fortaleza, la sabiduría y la paciencia necesarias para completar este trabajo. Su guía y protección han sido fundamentales en cada etapa de este proceso.

A la Universidad Católica de Santa María, por brindarnos la oportunidad de formarnos en un ambiente académico de excelencia. Agradecemos a todos los docentes y al personal administrativo por su dedicación y apoyo durante estos años. Gracias por proporcionarnos los recursos y las herramientas necesarias para alcanzar nuestros objetivos académicos.

Un agradecimiento muy especial a nuestra asesora de tesis, Mónica Meylin Yugra Condori, por su invaluable orientación, paciencia y apoyo constante, su conocimiento, dedicación y compromiso fueron esenciales para la realización de este trabajo. Gracias por creer en nosotras y por guiarnos con su experiencia y sabiduría.

También quiero agradecer a nuestros compañeros de estudio y amigos, por sus palabras de aliento y por compartir con nosotras esta experiencia. Su amistad ha sido un pilar importante en este camino.

A nuestra familia, por su amor, comprensión y apoyo incondicional. Sin ustedes, este logro no habría sido posible. Gracias por estar siempre a nuestro lado.

Finalmente, agradecemos a todas aquellas personas que, de una u otra manera, contribuyeron al desarrollo de esta tesis. Sus aportes y su apoyo han sido muy valiosos para nosotras.

RESUMEN

El propósito de este estudio es determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Se realizó una investigación cuantitativa, experimental de tipo transversal y explicativo. La población examinada constaba de 20 kilogramos de *Opuntia soehrensii* (Ayrampo) y la muestra utilizada fueron 5 kilogramos del epicarpio de Ayrampo, además se usó placas inoculadas con *S. aureus* y *S. pyogenes*, por el método de difusión en agar en pozo, Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB).

Para la parte estadística se realizaron tablas de porcentaje, frecuencia e inferenciales para evaluar la significancia de los resultados obtenidos, el análisis fitoquímico evidenció compuestos fenólicos, lactonas α , β -insaturadas, alcaloides, antraquinonas, taninos, antocianinas y flavonoides. Por otro lado, según el análisis microbiológico Kirby-Bauer se evidenció que las concentraciones del 50% frente *S. aureus* y *S. pyogenes* evidenciaron halos de 8.41 mm y 11.39 mm y al 90% frente *S. aureus* y *S. pyogenes* evidenciaron halos de 9.92 mm y 13.87 mm, asimismo, todas las concentraciones evaluadas (25 %, 50 % y 90 %) frente las 2 cepas fueron menores que los del ciprofloxacino 5 ug y eritromicina 15 ug (29,95 mm y 28,01 mm) respectivamente. La prueba de ANOVA registró ($p < 0,05$), de igual importancia se evidenció un CMI a 350 mg/ml y CMB de 450 mg/ml frente *S. aureus* y un CMI de 300 mg/ml y CMB de 350 mg/ml frente *S. pyogenes*. En conclusión, el extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) presentó actividad antibacteriana *in vitro* frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Palabras clave: Ayrampo, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

ABSTRACT

The purpose of this study is to determine the *in vitro* antibacterial activity of the ethanolic extract of the epicarp of *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

A quantitative, cross-sectional, and explanatory experimental study was conducted. The population examined consisted of 20 kilograms of *Opuntia soehrensii* (Ayrampo) and the sample used was 5 kilograms of Ayrampo epicarp. In addition, plates inoculated with *S. aureus* and *S. pyogenes* were used, using the agar diffusion well method, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC).

For the statistical part, percentage, frequency and inferential tables were made to evaluate the significance of the results obtained. The phytochemical analysis showed phenolic compounds, α , β -unsaturated lactones, alkaloids, anthraquinones, tannins, anthocyanins and flavonoids. On the other hand, according to the Kirby-Bauer microbiological analysis, it was shown that the 50% concentrations against *S. aureus* and *S. pyogenes* showed halos of 8.41 mm and 11.39 mm and the 90% concentrations against *S. aureus* and *S. pyogenes* showed halos of 9.92 mm and 13.87 mm. Likewise, all the concentrations evaluated (25%, 50% and 90%) against the 2 strains were lower than those of ciprofloxacin 5 ug and erythromycin 15 ug (29.95 mm and 28.01 mm) respectively. The ANOVA test recorded ($p < 0.05$), of equal importance was evidenced a MIC of 350 mg/ml and CMB of 450 mg/ml against *S. aureus* and a MIC of 300 mg/ml and CMB of 350 mg/ml against *S. pyogenes*. In conclusion, the ethanolic extract of the epicarp of *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) presented antibacterial activity *in vitro* against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Keywords: Ayrampo, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

ÍNDICE

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS.....	2
OBJETIVOS.....	2
TABLA DE VARIABLE E INDICADORES	3
CAPÍTULO I:MARCO TEÓRICO	4
1. <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose (AYRAMPO).....	6
1.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA.....	7
1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	7
1.2.1. EPICARPIO DE <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose	8
1.3. COMPOSICIÓN DE <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose	9
1.4. COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA.....	10
1.4.1. FENOLES	10
1.5. BETALAÍNAS	13
1.5.1. EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA BETALAÍNA.....	15
2. MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS.....	16
2.1. MACERACIÓN	16
2.2. PARÁMETRO QUE INFLUYEN EN LA EXTRACCIÓN	17
2.2.1. NATURALEZA DEL SOLVENTE	17
2.2.2. TAMAÑO DE PARTÍCULA	18
2.2.3. TEMPERATURA	18
2.2.4. AGITACIÓN	19
2.3. CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	19

3.	MARCHA FITOQUÍMICA	19
4.	EFEECTO ANTIBACTERIANO <i>in vitro</i>	21
4.1.	PRUEBAS DE SENSIBILIDAD BACTERIANA	22
4.1.1.	PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD - KIRBY-BAUER	22
4.1.2.	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)	22
4.1.3.	CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB).....	22
5.	ANTIBIÓTICOS:.....	23
5.1.	CIPROFLOXACINO	23
5.1.1.	ACCIÓN TERAPÉUTICA DEL CIPROFLOXACINO EN LA PIEL .	23
5.2.	ERITROMICINA.....	23
5.2.1.	ACCIÓN TERAPÉUTICA DE LA ERITROMICINA EN LA PIEL ...	24
6.	<i>Staphylococcus aureus</i>	24
6.1.	INFECCIONES STAFILOCÓCICAS DE LA PIEL.....	25
7.	<i>Streptococcus pyogenes</i>	25
7.1.	INFECCIONES STREPTOCÓCICAS EN LA PIEL.....	26
8.	ANTECEDENTES DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE <i>Opuntia soherenssi Britton & Rose</i>	27
8.1.	ANTECEDENTES INTERNACIONALES	27
8.2.	ANTECEDENTES NACIONALES.....	29
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS		31
1.	LUGAR DE INVESTIGACIÓN	32
2.	MATERIALES.....	32
2.1.	MATERIALES DE VERIFICACIÓN	32
2.2.	EQUIPOS UTILIZADO	32
2.3.	REACTIVOS	33
2.4.	MATERIAL BIOLÓGICO	33
2.4.1.	MEDIOS DE CULTIVO	33

2.4.2.	INÓCULO	33
2.4.3.	MUESTRA VEGETAL:	33
2.5.	SOFTWARE.....	34
3.	MÉTODOS	34
3.1.	PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL	34
3.1.1.	RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL:	34
3.1.2.	SELECCIÓN Y LIMPIEZA	34
3.1.3.	LAVADO	34
3.1.4.	SECADO	34
3.1.5.	PREPARACIÓN DEL EXTRACTO:	35
3.2.	MARCHA FITOQUÍMICA	35
3.3.	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA.....	37
3.3.1.	PRUEBA DE SOLUBILIDAD PARA PREPARAR LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES	37
3.3.2.	MÉTODO DE DIFUSIÓN EN POZOS (KIRBY BAUER MODIFICADO)	37
3.3.2.1.	PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO.....	37
3.3.2.2.	REACTIVACIÓN DE LA CEPA: KWIK-STIK MICROBIOLOGICS – <i>Streptococcus pyogenes</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i>	39
3.3.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41
3.4.	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)	41
3.5.	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB).....	44
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES		45
1.	IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA	46
2.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose (AYRAMPO).....	46

3. IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose (AYRAMPO) POR TAMIZAJE FITOQUÍMICA.....	47
4. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	48
4.1 PRUEBA DE SOLUBILIDAD PARA PREPARAR LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES:.....	48
4.2. MÉTODO DE DIFUSIÓN EN POZOS (KIRBY BAUER MODIFICADO)	49
4.3. SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA DE <i>Staphylococcus aureus</i> Y <i>Streptococcus pyogenes</i> AL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose (AYRAMPO).....	51
4.4. CONCENTRACIÓN BACTERICIDA MÍNIMA Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose (AYRAMPO) FRENTE A <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932 Y <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.....	54
CONCLUSIONES	60
RECOMENDACIONES	61
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
ANEXOS	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables e indicadores	3
Tabla 2. Composición de <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose	9
Tabla 3. Solventes empleados para la extracción del componente activo de la planta.....	17
Tabla 4. Reacciones de identificación para el tamizaje fitoquímico	20
Tabla 5. Reactivos usados para cada ensayo en la marcha fitoquímica	35
Tabla 6. Solventes usados en la prueba de solubilidad para cada tubo	37
Tabla 7. Diluciones para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)	43
Tabla 8. Tamizaje fitoquímico	47
Tabla 9. Análisis de solubilidad del epicarpio.....	48
Tabla 10. Mediciones del diámetro de los halos de inhibición (mm) en diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Opuntia soherensii</i> Britton & Rose (Ayrampo).....	49
Tabla 11. Comparación de los promedios de los halos de inhibición en diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Opuntia soherensii</i> Britton & Rose (Ayrampo) con la escala de Duraffourd y Lapraz.....	50
Tabla 12. Pruebas de ANOVA frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	51
Tabla 13. Prueba de ANOVA frente <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	51
Tabla 14 . Comparaciones múltiples por Tukey frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	52
Tabla 15. Comparaciones múltiples por Tukey frente <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	53
Tabla 16. CMI y CMB frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	54
Tabla 17. CMI y CMB frente <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose	8
Figura 2. Fruto de <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose	9
Figura 3. Flavonoides, estructuras básicas y tipos	13
Figura 4. Estructuras que componen las betalainas	14
Figura 5. Estructura de la betalaina	15
Figura 6. Modelo de rotulación de placas	40



INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Instrumento	69
ANEXO 2. Certificado taxonómico.....	72
ANEXO 3. Informe de análisis de laboratorio	74
ANEXO 4. Certificado de agar mueller hinton	77
ANEXO 5. Certificado de análisis de cepa <i>Streptococcus pyogenes</i>	81
ANEXO 6. Certificado de análisis de cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	84
ANEXO 7. Certificado de sangre esteril de carnero.....	87
ANEXO 8. Evidencias fotográficas.....	89



LISTA DE ABREVIATURAS

- ATCC: America type culture collection
- CMB: Concentración Mínima Bactericida
- CMI: Concentración Mínima Inhibitoria
- SPSS: Statistical Package for Social Sciences
- ADN: Acido desoxirribonucleico
- DESV: Desviación
- ANOVA: Analysis of Variance
- NaCl: Cloruro de Sodio
- ml: mililitros
- mg: miligramos
- µg: microgramos
- mm: milímetros
- min: minutos
- hr: horas
- °C: grados Celsius
- rpm: revoluciones por minuto
- g: gramos
- conc: concentración
- vol: volumen
- sol: solución
- máx: máximo
- min: mínimo

INTRODUCCIÓN

La resistencia creciente de las bacterias a los antibióticos convencionales ha impulsado la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas en la lucha contra las infecciones bacterianas. En este contexto, la investigación de compuestos naturales provenientes de plantas ha cobrado relevancia debido a su potencial para ofrecer soluciones efectivas y menos propensas a la generación de resistencia. Una de las especies vegetales que ha captado la atención en este ámbito es *Opuntia soehrensii* Britton & Rose, comúnmente conocida como "Ayrampo". La problemática asociada a la escasa información sobre los usos a nivel biológico del Ayrampo presenta un desafío significativo en el ámbito científico. (1). La limitada comprensión de las propiedades biológicas de esta planta genera desconocimiento, lo cual se traduce en una falta de aprovechamiento de sus potenciales beneficios para la salud y la investigación. Esta carencia de datos detallados sobre las interacciones biológicas del Ayrampo impide la exploración de sus aplicaciones en campos como la medicina y la biotecnología. Abordar esta brecha de conocimiento no solo contribuiría al enriquecimiento de la base científica, sino que también podría revelar nuevas perspectivas para el desarrollo de productos y terapias innovadoras. El estudio y la divulgación de las propiedades biológicas del Ayrampo no solo consolidarían su posición como un recurso valioso en la flora, sino que también abrirían oportunidades para aprovechar sus potenciales beneficios en la mejora de la salud humana y el avance científico. (2)

La investigación del Ayrampo abarcará análisis químicos destinados a identificar y cuantificar los compuestos presentes en esta planta, así como estudios microbiológicos para evaluar su efecto antibacteriano frente a diversos patógenos. Además, se llevarán a cabo ensayos para comprender los posibles mecanismos de acción que subyacen a sus propiedades. Esta perspectiva respalda la eventual aplicación del Ayrampo en productos farmacéuticos, proyectando su potencial beneficio para la salud humana y sus posibles contribuciones a la industria médica.

Esta investigación se enfoca en “Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615”.

HIPÓTESIS

Es probable que el extracto etanólico del epicarpio de Ayrampo (*Opuntia soehrensii Britton & Rose*) presente efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, debido a la presencia y la concentración de metabolitos secundarios obtenidos en el proceso de extracción.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener el extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) por maceración.
2. Determinar el análisis cualitativo de los grupos de metabolitos presentes en el extracto etanólico concentrado del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) mediante el análisis cualitativo preliminar para alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos según el método Lock.
3. Determinar el efecto de susceptibilidad *in vitro* del extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 en la concentración del 25%, 50% y 90% según el método de difusión en agar en pozo – Kirby Bauer.
4. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración bactericida mínima (CBM) del extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo).

TABLA DE VARIABLE E INDICADORES

Tabla 1. Variables e indicadores

TIPO DE VARIABLE	VARIABLE	INDICADORES	UNIDADES
Independiente	Extracto etanólico	Concentración del principio activo	% o mg/ml
	Solubilidad	Presencia o ausencia de precipitación	Soluble / Insoluble
	Análisis fitoquímico	Presencia o ausencia de metabolitos secundarios	Presencia / Ausencia
	Rendimiento de extracto seco	Índice de rendimiento	%
Dependientes	Método Kirby bauer	Medición de halo de inhibición	mm
	CMI	Presencia o ausencia de turbidez	mg/ml
	CMB	Presencia o ausencia de colonias de bacterias	mg/ml

*Elaboración propia



1. *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (AYRAMPO)

Pertenece a la familia de las Cactáceas y al género *Opuntia*, es una planta de amplia distribución en los Andes peruanos, encontrándose principalmente en los departamentos de Ayacucho, Huancayo, Apurímac, Puno, entre otros. Este cactus se desarrolla en suelos característicamente arenosos, calcáreos y poco fértiles, adaptándose a altitudes que oscilan entre los 1700 y 3825 metros sobre el nivel del mar. Sin embargo, su crecimiento se ve limitado en suelos húmedos o arcillosos.

La *Opuntia soehrensii* ha sido apreciada por sus diversos beneficios medicinales, es reconocido por albergar diversas propiedades de interés, el epicarpio de esta parte de la planta, que corresponde a la capa externa de la piel o cáscara del cactus, ha despertado el interés de la comunidad científica y medicinal debido a sus atributos beneficiosos (3).

Dentro de sus propiedades destacan sus posibles efectos antimicrobianos. Los compuestos presentes en el epicarpio podrían tener la capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo de diversas bacterias patógenas, como el caso de *Staphylococcus aureus*, que es una especie reconocida por causar infecciones en los seres humanos. Además, el epicarpio de *Opuntia soehrensii* podría poseer componentes con propiedades nutricionales y antioxidantes (4). Estas propiedades podrían contribuir a la salud humana al brindar elementos esenciales para el funcionamiento del organismo y al combatir los radicales libres, que están relacionados con el envejecimiento y diversas enfermedades.

La tradición medicinal también ha valorado las posibles propiedades del epicarpio de esta planta. En diversas culturas, se ha utilizado en infusiones y preparaciones para abordar diversas afecciones, aprovechando sus posibles efectos como laxante, tónico o incluso como relajante del sistema nervioso central (5).

Uno de los aspectos más interesantes y estudiados de *Opuntia soehrensii* es su actividad antimicrobiana. Investigaciones recientes han revelado su potencial bactericida tanto contra bacterias gramnegativas, como el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, como contra especies grampositivas pertenecientes al género *Staphylococcus*. Estos hallazgos señalan la capacidad de esta planta para inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias patógenas que pueden causar infecciones en los seres humanos (6).

El estudio de la actividad antimicrobiana de *Opuntia soehrensii* representa un campo de investigación prometedor. La evaluación de su extracto etanólico frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en un entorno *in vitro* busca determinar su potencial efecto antibacteriano. Dado que esta especie de cactus tiene una amplia distribución en el Perú y se ha reconocido su uso tradicional en la medicina popular, investigar sus propiedades

antimicrobianas puede proporcionar una base científica sólida para la potencial aplicación terapéutica en el futuro.

1.1. Ubicación Taxonómica

La clasificación taxonómica de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) se encuentra en el siguiente orden (7):

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae (Cactáceas)

Género: *Opuntia*

Especie: *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo)

1.2. Descripción Botánica

El tallo de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) es una característica distintiva de esta planta. El tallo de Ayrampo tiene adaptaciones únicas que le permiten sobrevivir en condiciones áridas y desérticas debido a que almacena agua en sus tejidos especializados, el tallo de *Opuntia soehrensii* es carnoso y suculento, está formado por segmentos aplanados y ovalados llamados cladodios, que son una adaptación a la falta de hojas.

Las flores de *Opuntia* son generalmente grandes y vistosas, pueden variar en color, pero a menudo son de tonos brillantes como amarillo, naranja o rojo, tienen una apariencia similar a las flores de cactus en general, con numerosos pétalos y estambres prominentes.

El fruto de Ayrampo, también llamado "tunilla", es ovalado y de tamaño mediano. Su apariencia puede variar, pero a menudo es de color verde cuando está inmaduro y se torna de colores brillantes como rojo o amarillo cuando madura, el fruto de Ayrampo es comestible y se consume tradicionalmente en algunas regiones, tiene una pulpa jugosa y dulce que rodea las semillas en su interior, su sabor es agrídulce y a menudo se describe como refrescante. El interior del fruto contiene numerosas semillas pequeñas y duras, estas semillas son característicamente rugosas y tienen una textura dura, a menudo, las semillas se tragan junto con la pulpa al comer el fruto. Es conocido por su riqueza en nutrientes y compuestos beneficiosos para la salud. Contiene una buena cantidad de vitamina C,

antioxidantes, fibra dietética y varios fitoquímicos, incluyendo betalaínas y flavonoides (8).

Figura 1. Planta de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.



*Elaboración propia

1.2.1. Epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose

El epicarpio del Ayrampo se refiere a la capa exterior o la cáscara de la fruta de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose, que es un tipo de cactus, el epicarpio es la parte más externa del fruto, la que rodea a la pulpa y protege su interior, en algunas frutas, como el Ayrampo, el epicarpio puede ser comestible o tener propiedades beneficiosas, como enriquecimiento nutricional o propiedades medicinales. Por lo tanto, el epicarpio del Ayrampo puede tener aplicaciones culinarias o en la medicina tradicional, y su composición química puede contener compuestos de interés. Puede tener efectos beneficiosos para la salud debido a su contenido de antioxidantes y compuestos bioactivos, se ha investigado su uso tradicional en el tratamiento de diversas afecciones, como trastornos gastrointestinales (9).

Figura 2. Fruto de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.



*Elaboración propia

1.3. Composición de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose

La composición química del Ayrampo puede variar según factores como la ubicación geográfica, las condiciones de crecimiento y la madurez de la fruta (1).

Tabla 2. Composición de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose

DETERMINACIÓN	PORCENTAJE (%)
Humedad	21.2
Ceniza	10.2
Fibra Neta	6.1
Grasa	1.7
Proteínas [N * 6.25]	6.8
Azúcares Reductores	6.7
Colorante Bruto	23.6
Pepa	23.7

*la tabla presenta la composición del Ayrampo. Godenzi J. (1).

Los productos derivados de las plantas cactáceas ofrecen una amplia variedad de sabores, que van desde ácidos hasta neutros y dulces, además de contar con una textura pulposa.

Estos sabores son aprovechados para la elaboración de bebidas tradicionales como la chicha, especialmente cuando las frutas han alcanzado su punto óptimo de madurez. Además, las semillas de estas frutas son utilizadas en la preparación de postres, mazamorras, bebidas refrescantes y una variedad de golosinas.

1.4. Composición fitoquímica

Con excepción de las antocianinas, sus componentes incluyen flavonoides, fenoles, taninos y betalaínas. Los pigmentos naturales hidrosolubles llamados betalaínas, que se elaboran a partir del aminoácido tirosina y contienen nitrógeno en su estructura, confieren al fruto del género *Opuntia* su color distintivo. Poseen propiedades antioxidantes, como la estimulación de la quinona reductasa, una potente enzima desintoxicante en la quimioprevención del cáncer, y también dan color a los frutos que las contienen (10).

En ciertas especies, las betalaínas presentan una concentración de fenol menor, mientras que en otras ocurre lo contrario. Los niveles totales de fenol fueron superiores a los de betalaínas en varias especies de *Opuntia* (11).

1.4.1. Fenoles

Si bien los fenoles naturales no son tóxicos y tienen una amplia gama de usos en diversos campos, comparten muchas de las propiedades de los fenoles sintéticos. Las frutas y verduras contienen fenoles (C_6H_6OH), sustancias químicas ampliamente dispersas (12). Los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles son las tres categorías principales en las que se clasifican los compuestos fenólicos. Los fenoles, incluyendo sus variantes funcionales, se describen químicamente como compuestos con un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo (13).

Al sustituir los 18 hidrógenos del anillo bencénico por radicales alquilo o halógenos, su estructura se ha utilizado para crear derivados con mayor actividad antibacteriana y menor toxicidad (14).

A pesar de la formación de enlaces de hidrógeno, el fenol presenta una relación carbono-OH extremadamente baja, lo que contribuye a su baja solubilidad en agua (15).

1.4.1.1. Mecanismo de acción

Presenta un efecto bacteriostático a bajas concentraciones y acción bactericida a altas concentraciones. El nivel de concentración determina esto. Destruye la pared celular, precipita proteínas celulares e inactiva permanentemente sistemas enzimáticos vitales (oxidasas y deshidrogenasas de membrana). La duración de esta actividad es de entre 15 y 20 minutos (14).

Se cree que es la causa de toxicidad para los microorganismos, ya que provoca que las sustancias químicas oxidadas bloqueen las enzimas, ya sea al reaccionar con grupos sulfhidrilo o al interactuar de forma inespecífica con las proteínas (16).

1.4.1.2. Espectro de actividad

Eficaz contra hongos y bacterias grampositivas y gramnegativas. Algunas especies de hongos, y las pseudomonas, son resistentes. Eficaz contra virus que causan problemas lipídicos. Posee cierta acción antilipídica viral. Su acción esporocida requiere altas temperaturas y es bastante limitada. La formulación afecta su modesta actividad contra micobacterias. La tensión superficial y el coeficiente de partición agua/octanol son dos modificaciones moleculares que influyen en su actividad (14).

1.4.1.3. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos presentes en el epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) pueden actuar interfiriendo con la integridad de la membrana celular bacteriana, provocando desnaturalización de proteínas y disrupción de la bicapa lipídica, lo que lleva a la lisis celular. Las lactonas α , β -insaturadas poseen grupos electrofílicos que pueden reaccionar con grupos nucleofílicos presentes en enzimas bacterianas esenciales, inhibiendo así su función y afectando la viabilidad bacteriana. Los alcaloides, por su parte, pueden actuar inhibiendo la síntesis de proteínas o interfiriendo con los ácidos nucleicos, lo que impacta en la proliferación bacteriana. Las antraquinonas pueden generar especies reactivas de oxígeno (ROS) que inducen daño oxidativo en componentes celulares clave, como lípidos, proteínas y ADN. Los taninos, al ser agentes astringentes, pueden precipitar proteínas en la superficie bacteriana, afectando la adherencia y la formación de biopelículas, mientras que las antocianinas pueden ejercer efectos antimicrobianos al alterar la permeabilidad de la membrana celular. Los flavonoides presentan actividad antibacteriana mediante la inhibición de enzimas esenciales y la modificación de la permeabilidad celular. Estos mecanismos de

acción conjuntos pueden conferir al Ayrampo un potencial terapéutico significativo frente a patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, lo cual resulta prometedor para futuras investigaciones orientadas al desarrollo de agentes antibacterianos naturales, especialmente en el contexto de la creciente resistencia bacteriana. Además, estos estudios podrían fundamentar aplicaciones clínicas que aprovechen los extractos naturales como alternativas o coadyuvantes en el tratamiento de infecciones bacterianas (17) (18).

1.4.1.3.1. Flavonoides

Los flavonoides, a veces denominados antoxantinas, son pigmentos naturales presentes en las plantas. Forman parte de una amplia clase de compuestos fenólicos presentes de forma natural en casi todas las plantas superiores (10).

Las relaciones estructurales entre los diversos componentes de la estructura química de los flavonoides y las características redox de sus grupos hidroxifenólicos determinan su actividad antioxidante. Su naturaleza fenólica, su solubilidad en etanol y agua, y su fuerte absorción en las porciones visible y ultravioleta del espectro, debido a la existencia de sistemas aromáticos y conjugados, son algunas de sus características típicas (15).

1.4.1.3.1.1. Estructura Química

El esqueleto de difenilpirano (C6-C3-C6) de los flavonoides, que son moléculas de bajo peso molecular, está formado por dos anillos de fenilo (A y B) conectados por un anillo C de pirano (heterocíclico). Se pueden dividir en las siguientes categorías en función de sus características estructurales: 1. Flavonas con un grupo -OH en la posición 3 del anillo C, como la catequina. 2. Flavonoides, como la quercitina, que tiene un grupo -OH en la posición 3 del anillo C y un grupo carbonilo en la posición 4. 3. Flavonas que carecen del grupo hidroxilo en la posición C3 y tienen un grupo carbonilo en la posición 4 del anillo C, como la diosmetina. 4. Como se ve en la Figura 3 (18), las antocianidinas presentan un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C, además del grupo -OH unido en la posición 3 (19).

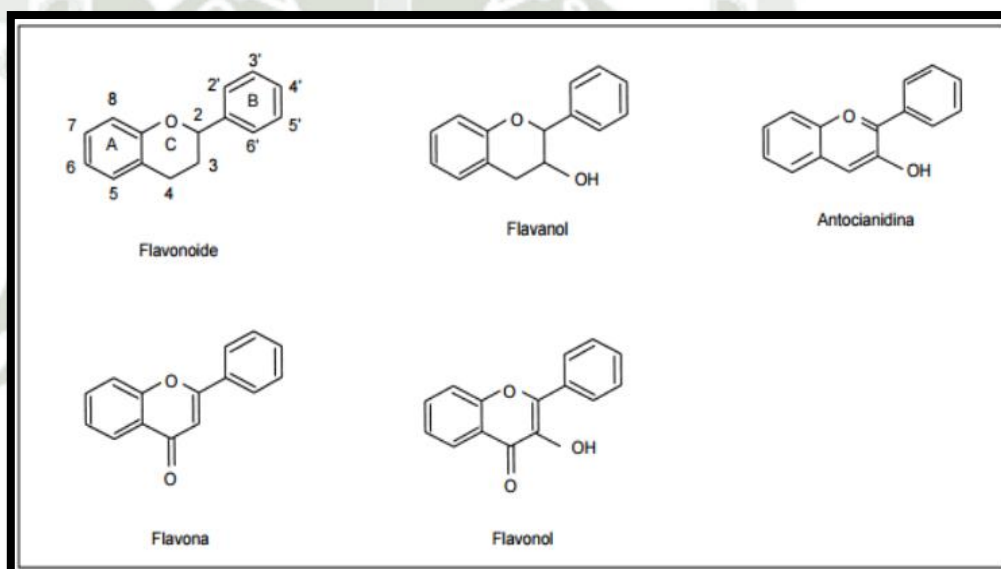
1.4.1.3.1.2. Mecanismo de acción

Su capacidad para formar complejos con proteínas solubles y extracelulares, así como con la pared celular bacteriana, es probablemente la causa de su acción. Las

membranas microbianas también pueden ser alteradas por flavonoides lipofílicos (16).

Mientras su composición permanezca inalterada, los diferentes flavonoides se extraen de material fresco o seco. Las clorofilas, gomas y agliconas se separan primero de los flavonoides altamente metoxilados utilizando disolventes apolares o ligeramente polares. Los flavonoides son sustancias polares que incluyen una gran cantidad de azúcares no sustituidos o grupos hidroxilo. Como resultado, se disuelven parcialmente en disolventes polares como agua, metanol, etanol, acetona y dimetilsulfóxido. Se elimina todo el disolvente y el filtrado resultante se concentra. La mayoría de los flavonoides pueden extraerse mediante este método (20).

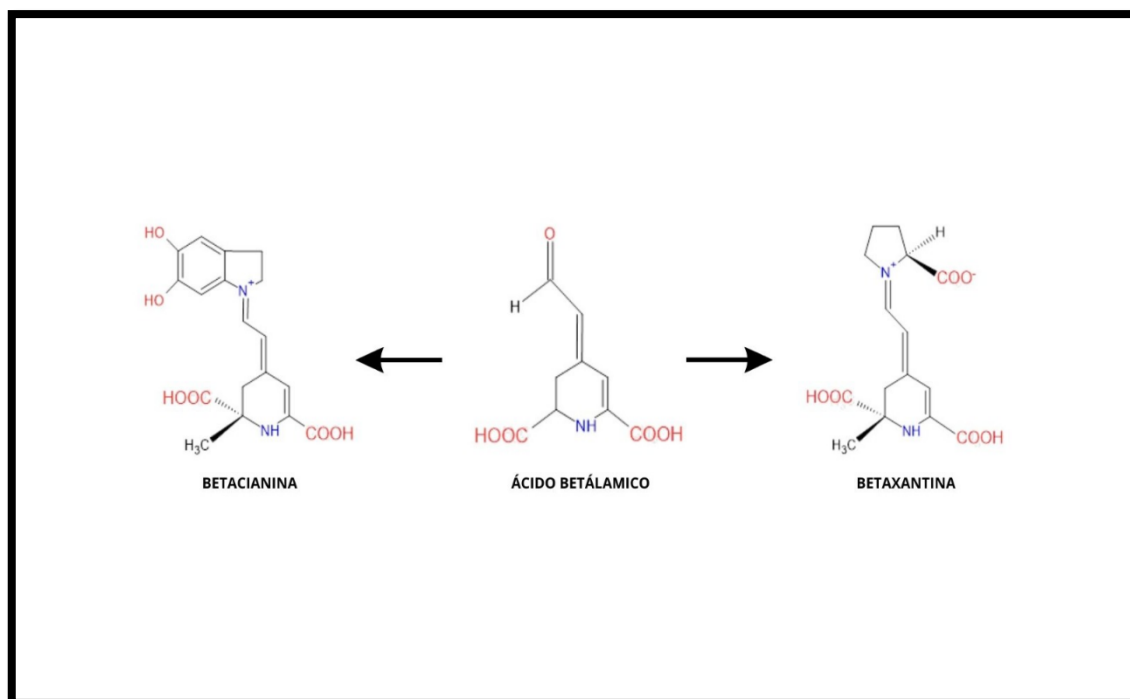
Figura 3. Flavonoides, estructuras básicas y tipos.



* Estructuras de diferentes flavonoides. Martínez F, González G, Tuñón J. (19)

1.5. Betalaínas

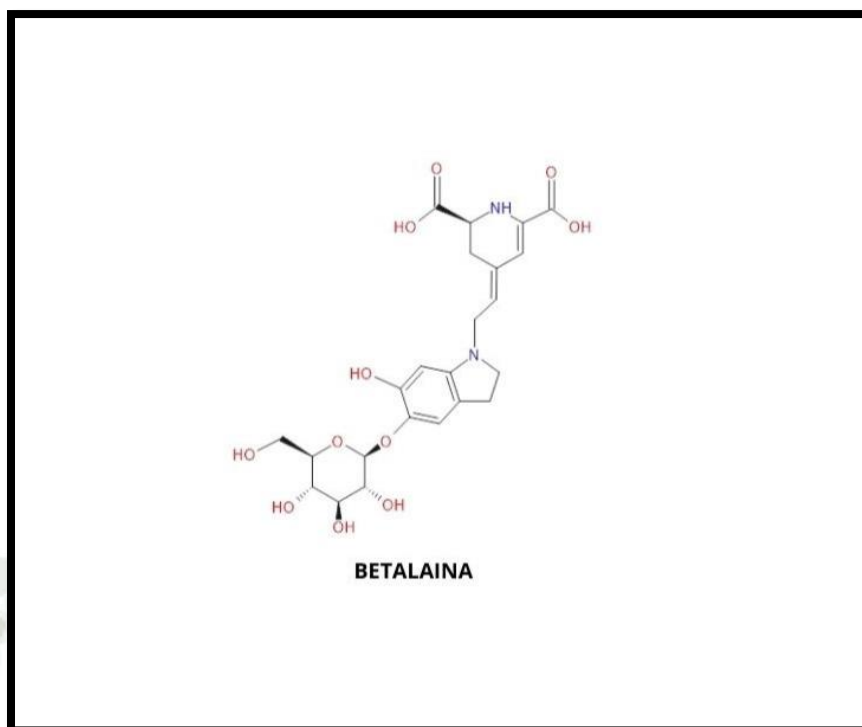
Debido a que poseen dos centros quirales en C-2 y C-15, los dos grupos de compuestos que conforman las betalaínas (betacianinas y betaxantinas) son ópticamente activos. La betanidina, el epímero en C-15, la isobetanina, o una combinación de las dos agliconas, son productos del hidrólisis de la betacianina. Las betacianinas y las betaxantinas se diferencian principalmente en que las primeras poseen un grupo glicósido, mientras que las segundas poseen un grupo indol (21).

Figura 4. Estructuras que componen las betalaínas.

*Elaboración propia

El modelo Push-Pull puede describir la estructura de las betalaínas, lo que las convierte en candidatas potenciales para materiales fotónicos (22). Este modelo recibe su nombre porque la molécula tiene un grupo aceptor de electrones (A) en un extremo, carente de electrones ligados, y un grupo donador de electrones (D) en el otro extremo, rico en electrones (21).

Aunque no son flavonoides, las betalaínas se confunden frecuentemente con alcaloides y flavonoides. Son una clase de pigmentos nitrogenados que se disuelven en agua, mientras que los flavonoides son una clase más general de pigmentos que también incluye las antocianinas. Mientras que las antocianinas, que son un tipo de flavonoide, son más frecuentes en otras plantas y su color varía del rojo al azul, las betalaínas son principalmente pigmentos rojos y amarillos (23). A pesar de tener estructuras similares a las de los alcaloides y producirse a partir de tirosina, no se clasifican como tales (24).

Figura 5. Estructura de la betalaína.

*Elaboración propia

1.5.1. Efecto antibacteriano de la betalaína

Los medicamentos antimicrobianos existentes están perdiendo su eficacia contra bacterias, hongos, virus y otros parásitos. Con el aumento de bacterias patógenas resistentes a los fármacos, la búsqueda de nuevos antimicrobianos se vuelve cada vez más crucial. Esta revisión abarca investigaciones que examinan los efectos inhibidores de las betalaínas en diversos microorganismos, incluidos los patógenos ESKAPE altamente virulentos y resistentes a múltiples fármacos (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp.*). Se demostró *in vitro* la acción antimicrobiana contra bacterias (incluidas las grampositivas, gramnegativas y las que forman biopelículas), hongos y el virus del dengue utilizando betalaínas derivadas de diferentes fuentes. Se emplearon diversos métodos, como la difusión en agar, la prueba virucida y la microdilución en caldo, según el microorganismo en cuestión y de conformidad con protocolos reconocidos mundialmente. Mediante técnicas computacionales, se determinó y examinó la actividad antiviral de la betacianina contra el SARS-CoV-2. Si bien se ha demostrado la acción antiinfecciosa y antipalúdica de las

betalaínas utilizando modelos de infección viva, hasta la fecha se han realizado muy pocas investigaciones *in vivo* para investigar su eficacia antimicrobiana (25).

2. Método de extracción de metabolitos secundarios

La calidad del material de partida determina la calidad del extracto vegetal. La estabilización es necesaria porque los factores previos a la cosecha suelen determinar el contenido de ingredientes activos de una planta. Estos factores pueden incluir el momento de la recolección, la ubicación, el suelo, el tipo de fertilizante, el clima y otros, así como los procesos de envejecimiento o degradación que pueden ocurrir durante el secado y el almacenamiento de la planta (26).

Las diferentes solubilidades de los diferentes compuestos químicos presentes en el material vegetal sirven como base para las técnicas de extracción. Por lo tanto, el éter de petróleo y el cloroformo se utilizan como disolventes para moléculas de baja polaridad (lípidos); el acetato de etilo, el etanol y la acetona se utilizan para compuestos químicos de polaridad media y alta (27).

2.1. Maceración

El término "maceración" se refiere a la interacción prolongada del fármaco con el menstuo, que circula en todas direcciones y disuelve sus componentes activos hasta que la concentración alcanza el equilibrio con el contenido celular. Este es el proceso de extracción más sencillo; los periodos de maceración varían de cuatro a diez días, y la mezcla de fármaco y disolvente debe agitarse constantemente (unas tres veces al día) para evitar cualquier reacción. Con este método, las sustancias químicas extraídas no se agotan. «Cuanto mayor sea la proporción de líquido extractivo respecto al fármaco, mayor será el rendimiento» (28).

La idea es exponer el medicamento al solvente durante un período prolongado, manteniendo el nivel de finura requerido. Para intentar influir en el gradiente de concentración, se debe realizar una agitación frecuente durante varios días. Este gradiente alcanza su máximo al inicio de la extracción y disminuye con el paso de los días, incluso con agitación. El medicamento se suele macerar durante siete días, revolviéndolo frecuentemente y protegiéndolo del sol. El extracto se separa del residuo mediante colado o prensado, que posteriormente se limpia con el líquido de extracción, y ambos líquidos se llevan al contenido de masa predeterminado. Los solventes

empleados en la maceración se enumeran en la tabla 3, junto con los metabolitos que se pueden extraer en función del solvente (26).

Tabla 3. Solventes empleados para la extracción del componente activo de la planta

Agua	Etanol	Metanol	Cloroformo	Diclorometanol	Éter	Acetona
Antocianina	Taninos	Antocianinas	Terpenoides	Terpenoides	Alcaloides	Flavonol
Taninos	Polifenoles	Saponinas	Flavonoides		Terpenoides	
Saponinas	Poliacetonas	Terpenoides			Cumarinas	
Terpenoides	Flavonol	Taninos			Ac. Grasos	
Polipectidos	Terpenoides	Lactonas				
Lectinas	Esteroles	Fenonas				
	Alcaloides	Polifenoles				
	Propoleos					

*La tabla representa todos los solventes que se usan para la extracción de diferentes metabolitos. Cowan M. (6).

2.2. Parámetro que influyen en la extracción

2.2.1. Naturaleza del solvente

El tipo de disolvente empleado en el proceso de extracción influye en el rendimiento del extracto resultante. Desde moléculas básicas hasta compuestos altamente condensados, los compuestos fenólicos se presentan en una amplia variedad de formas químicas. Además, estas sustancias pueden estar o no ligadas a otras moléculas, como proteínas o carbohidratos. Dependiendo del disolvente empleado, esta variación en la composición química de los componentes determina su solubilidad y, a su vez, el tipo de extracto resultante.

Por lo tanto, es evidente que las características del disolvente desempeñan un papel crucial en la extracción selectiva de los compuestos deseados. Por el contrario, si el disolvente tiene un punto de ebullición bajo, se necesitará menos energía para concentrar el extracto o, si es necesario, secarlo. Además, es mejor utilizar disolventes que no sean inflamables ni explosivos. El posible uso de los materiales extraídos es otro aspecto a tener en cuenta al elegir el disolvente. Por lo tanto, el uso de disolventes no tóxicos es crucial si estos extractos se van a emplear en la industria alimentaria. Muchas combinaciones de disolventes acuosos, como metanol, etanol, propanol, acetona y acetato de etilo, se han empleado ampliamente en la extracción de compuestos fenólicos,

ya que se ha demostrado que las mezclas de disolventes extraen algunas sustancias químicas de interés con mayor eficacia que los disolventes puros.

Los solventes más populares para producir extractos fenólicos son específicamente combinaciones de agua y etanol debido a su efectividad, selectividad, asequibilidad, baja toxicidad, facilidad de eliminación, etc. Dependiendo de la solubilidad de los diversos compuestos fenólicos que se encuentran en la matriz de la planta, alterar las proporciones de etanol y agua afecta la polaridad del solvente y, por lo tanto, el tipo de extracto que se produce.

2.2.2. Tamaño de partícula

El material vegetal se pica o pulveriza con frecuencia para facilitar la extracción. Tanto la velocidad de extracción como la superficie de intercambio aumentan al disminuir el tamaño de partícula. En el caso de partículas diminutas, la difusión interna también es más rápida. Sin embargo, las partículas muy pequeñas presentan desafíos tecnológicos. Por ejemplo, pueden formar un lecho de sólidos que reduce la permeabilidad del disolvente, lo que resulta en regiones del lecho donde el disolvente no circula y regiones con flujos preferenciales. Tras la extracción, también resulta bastante difícil separar las partículas extremadamente pequeñas del extracto líquido.

2.2.3. Temperatura

Durante la extracción, el aumento de temperatura disminuye la viscosidad de la solución, a la vez que aumenta la solubilidad y la difusividad. Dado que el calor aumenta la permeabilidad de las paredes celulares, también facilita la extracción. Sin embargo, la selectividad de la extracción puede verse afectada. Además, las moléculas aisladas pueden desnaturalizarse debido a las altas temperaturas. Debido a los procesos de degradación química o enzimática, la pérdida por volatilización o la descomposición térmica, las altas temperaturas durante el secado o la extracción pueden comprometer la estabilidad de algunos compuestos fenólicos. El parámetro de extracción que más influye en las características de los polifenoles es la temperatura. Además, se ha demostrado en diversas investigaciones que ciertas antocianinas se destruyen por el calor a altas temperaturas.

2.2.4. Agitación

Dado que reduce la barrera para la transferencia de solutos en la interfaz sólido-líquido y aumenta el coeficiente de transferencia, la agitación mecánica de las partículas en el disolvente permite que permanezcan en suspensión continua y homogeneiza el medio, lo que mejora el funcionamiento. Una agitación excesiva o prolongada podría provocar colisiones entre las distintas partículas, lo que puede provocar la ruptura celular y la liberación de su contenido al medio (29).

2.3. Concentración del extracto

La evaporación del disolvente, como el agua o el alcohol, puede aumentar la concentración de compuestos activos en un extracto o jugo vegetal. Esta evaporación debe realizarse siempre al vacío, ya que podría dañar y alterar los componentes activos. Dado que la presión de vapor de un líquido se determina por la presión total a la que está expuesto, esto garantiza que la evaporación se produzca a una temperatura no superior a 50 °C (26).

3. Marcha fitoquímica

Aunque ahora existen métodos sofisticados para identificar la composición química de los metabolitos vegetales, las pruebas fitoquímicas clásicas siguen siendo un método fiable para analizar cualitativamente los extractos, ya que ofrecen una primera indicación de su composición. Esto resulta útil al estudiar diversos extractos vegetales, ya que permite excluir aquellas especies que no tienen potencial farmacológico, dejando solo aquellas que sí lo tienen. La obtención de extractos vegetales mediante disolventes adecuados, como agua, acetona, alcohol, cloroformo y éter, constituye el proceso de cribado fitoquímico. Los terpenoides se extraen, en particular, utilizando diclorometano, otro disolvente (30).

Tras la extracción, se llevan a cabo procedimientos de coloración y precipitación, sensibles, repetibles y económicos (Tabla 4). Si bien algunas reacciones evalúan la existencia de compuestos adicionales, otras evalúan agrupaciones de sustancias químicas (2).

Tabla 4. Reacciones de identificación para el tamizaje fitoquímico

<	Procedimiento	Metabolito	Interpretación
Borntrager	5 gts de éter de petróleo + 2 gts de NaOH 5%	Antraquinonas	Color rosado a rojo
Cloruro Ferrico	2 gts de FeCl ₃ 1%	Compuestos fenólicos	Color azul, verde o negro
Liebermann Burchard	2 gts Ac ₂ O/ H ₂ SO ₄ (50:1) + 1 gts AcOH 2 gts de (A+B/100 mL H ₂ O)	Terpenos y esteroides	Verde, azul verdoso
Dragendorff	A: 8 g Bi(NO ₃) ₃ .5H ₂ O/20 mL HNO ₃ B: 27,2 g KI/50 mL H ₂ O 2 gts (A+B/100 ml H ₂ O)	Alcaloides	Color rojo a naranja
Mayer	A: 1,36 g HgCl ₂ /60 mL H ₂ O B: 5 g KI/10 mL H ₂ O	Alcaloides	Precipitado blanco amarillento
Wagner	2 gts de [(1,27 g I ₂ + 2 g KI/5 ml H ₂ O)/100 mL H ₂ O]	Alcaloides	Precipitado pardo oscuro rojizo o marrón
Baljet	2 gt de (Acido pícrico 1% en EtOH 95° + NaOH 10 %)	Lactonas α, β- insaturadas	Coloración o precipitado rojo
Gelatina	2 gts gelatina 1%	Taninos	Precipitado blanco
Gelatina-sal	2 gts de (1 g gelatina+ 10 g NaCl/100 mL H ₂ O)	Taninos	Precipitado blanco
NaOH 10%	2 gts NaOH 10%	Antocianinas	Coloración café- anaranjado
Benedict	5 gts de [(1,73 g CuSO ₄ .5H ₂ O+17,3 g citrato de sodio+ 10 g Na ₂ CO ₃)/100 mL H ₂ O] y calentar 10'	Azúcares reductores	Precipitado color rojo ladrillo

	5 gts de CuSO ₄ .5H ₂ O 7% + V gts (17,5		
Fehling A y B	g tartrato de sodio potasio + 5 g NaOH/50 mL H ₂ O) y calentar 10'	Azúcares reductores	Precipitado color rojo ladrillo
Espuma	Agitación por 30 Seg	Saponinas	Presencia de espuma de 1 cm aprox Color rojo (Flavona), rojo carmin (Flavonoles), carmin a magenta (Flavononas), y algunas veces azul o verde. Las chalconas y auronas, dan coloración roja directamente por adición de HCl conc. Al extracto alcohólico.
Shinoda	Mg + 2 gts HCl	Flavonoides	

*La tabla representa las reacciones usadas para el tamizaje fitoquímico. Lock, O. (31)

4. Efecto antibacteriano *in vitro*

El término "*in vitro*" se refiere a un entorno de laboratorio controlado, donde se pueden llevar a cabo experimentos y pruebas bajo condiciones precisas. El "efecto antibacteriano" se refiere a la capacidad de un compuesto o extracto para combatir o inhibir el crecimiento de bacterias, en este estudio, se investiga cómo los componentes de *Opuntia soehrensii* (Ayrampo), posiblemente extraídos del epicarpio del cactus, afectan a las bacterias cuando se les exponen en un ambiente de laboratorio. La investigación puede involucrar la preparación de extractos de la planta y luego evaluar su capacidad para detener el crecimiento de bacterias específicas. Este tipo de investigación es esencial para comprender el potencial antimicrobiano de la planta y cómo podría utilizarse en aplicaciones médicas o de salud.

4.1. Pruebas de sensibilidad bacteriana

4.1.1. Prueba de Susceptibilidad - Kirby-Bauer

Es un método estandarizado y ampliamente utilizado en microbiología clínica para evaluar la susceptibilidad de las bacterias a diversos antimicrobianos. En esta técnica, se cultivan las bacterias en una placa de agar y se aplican discos impregnados con diferentes agentes antimicrobianos. Tras un periodo de incubación, se observa la formación de zonas de inhibición alrededor de los discos, indicando la eficacia del antimicrobiano contra la bacteria. La medición del diámetro de estas zonas permite clasificar la susceptibilidad de las bacterias en categorías como "sensible", "intermedio" o "resistente". Este método proporciona información crucial para la selección precisa de tratamientos antimicrobianos en entornos clínicos, contribuyendo a una terapia más efectiva y personalizada, además de desempeñar un papel crucial en la vigilancia de la resistencia bacteriana y la toma de decisiones clínicas fundamentadas (32).

4.1.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se define como la más baja concentración de un antimicrobiano, expresada en microgramos por mililitro ($\mu\text{g/ml}$), que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de un periodo de incubación de 24 horas a una temperatura de 37°C . Este parámetro se ha consolidado como el "Gold Standard" en la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana, destacándose sobre otros métodos en términos de fiabilidad y precisión. La CMI no solo es fundamental para determinar la eficacia de los agentes antimicrobianos, sino que también desempeña un papel esencial al confirmar resistencias inusuales. Su utilidad se ve especialmente resaltada cuando otros métodos proporcionan resultados indeterminados, ya que la CMI brinda respuestas definitivas, facilitando así la toma de decisiones clínicas informadas y la elección adecuada de tratamientos en situaciones donde la resistencia a los antimicrobianos es un factor crucial (33).

4.1.3. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Se conceptualiza como la concentración más baja de una antimicrobiana necesaria para eliminar a más del 99,9% de los microorganismos viables, luego de un periodo establecido de incubación, generalmente alrededor de 24 horas. Este parámetro es de

suma importancia en la evaluación de la eficacia de los agentes antimicrobianos, ya que va más allá de simplemente inhibir el crecimiento bacteriano, buscando erradicar prácticamente la totalidad de la población microbiana presente. La CMB se destaca como una medida crítica para determinar no solo la capacidad inhibitoria, sino también la capacidad bactericida de un compuesto antimicrobiano, lo cual es crucial en situaciones clínicas donde la erradicación completa de las bacterias es esencial. Su aplicación ofrece información valiosa para la toma de decisiones en el ámbito de la terapia antimicrobiana, contribuyendo así a la formulación de estrategias de tratamiento más efectivas y precisas (34).

5. Antibióticos:

5.1. Ciprofloxacino

Al penetrar en la bacteria a través de las porinas, el ciprofloxacino tiene un efecto bactericida. Una vez dentro de la célula, actúa bloqueando la topoisomerasa IV y el ADN girasa. El enrollamiento de las bandas de ADN, que prepara el ácido desoxirribonucleico para la transcripción, lo realiza la ADN girasa (35).

5.1.1. Acción terapéutica del ciprofloxacino en la piel

Las infecciones del tracto urinario, la gonorrea y el chancroide, las infecciones de piel y tejidos blandos, las infecciones óseas y articulares, la prostatitis, la neumonía, la fiebre tifoidea, las infecciones gastrointestinales, las infecciones de las vías respiratorias inferiores, el ántrax por inhalación (profilaxis pos exposición), la peste y la salmonelosis, y la exacerbación bacteriana aguda de la bronquitis crónica se encuentran entre las afecciones para las que la ciprofloxacina está aprobada por la FDA (36).

La otitis externa aguda causada por cepas susceptibles de *Staphylococcus aureus* o *Pseudomonas aeruginosa* puede tratarse con solución ótica de ciprofloxacina (37). Para la otitis media pediátrica con efusión, la FDA ha autorizado el gel de suspensión de ciprofloxacina (38).

5.2. Eritromicina

Debido a su amplio espectro de actividad antibiótica y a su origen natural de primera generación, la Eritromicina es un macrólido de uso común. Con 14 átomos de carbono y anillos de lactona, la Eritromicina pertenece a la clase de antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas. Posee un efecto bacteriostático, ya que actúa durante la fase de

elongación de la traducción, impidiendo la translocación de la cadena de aminoácidos durante su formación e indirectamente la transpeptidación. Su sitio de acción es la subunidad ribosómica 50S del ARNr 23S (39).

5.2.1. Acción terapéutica de la eritromicina en la piel

Las infecciones cutáneas, la amebiasis intestinal, la fiebre reumática, la profilaxis, la sífilis y la enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) se encuentran entre las afecciones para las que cuenta con la aprobación de la FDA. Es eficaz para tratar el acné cuando se usa con peróxido de benzoilo o crema de tretinoína. Los médicos pueden usarlo para prevenir la infección por estreptococos del grupo B en los bebés durante el embarazo (40).

Es activa contra bacterias grampositivas, gramnegativas y otros microorganismos. Entre las bacterias grampositivas se incluyen *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium minutissimum* y *Corynebacterium diphtheria*. Entre las bacterias gramnegativas se incluyen *Legionella pneumophila*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y *Bordetella pertussis*. Otros microorganismos que la eritromicina protege son *Chlamydia trachomatis*, *Entamoeba histolytica*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Treponema pallidum* y *Ureaplasma urealyticum* (41).

6. *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria grampositiva que normalmente se encuentra en la piel y en las mucosas de los seres humanos sin causar problemas. Sin embargo, en ciertas circunstancias, puede convertirse en un patógeno oportunista y causar infecciones en diferentes partes del cuerpo. Puede provocar desde infecciones cutáneas menores, como forúnculos y abscesos, hasta infecciones más graves como neumonía, infecciones del torrente sanguíneo (bacteriemia) y sepsis (42). Esta bacteria se presenta en forma de cocos agrupados en racimos, lo que le da su nombre "staphylo" (racimo) y "coccus" (bacteria esférica). Entre las características distintivas de *S. aureus* se encuentra su capacidad para producir pigmentos dorados, lo que le confiere un color característico en las colonias, fenómeno que sirve para su identificación en cultivos de laboratorio, esta cepa ha adaptado una amplia gama de hábitats en el cuerpo humano, pero es más comúnmente encontrado en la piel y las cavidades nasales.

Su habilidad para sobrevivir y prosperar en estas áreas se debe a su capacidad para resistir condiciones adversas, como cambios en la temperatura y la presencia de sustancias antimicrobianas producidas por la piel. Sin embargo, a pesar de su convivencia normal, *S. aureus* puede convertirse en un patógeno agresivo cuando se introducen en el cuerpo a través de heridas, cortes o áreas dañadas de la piel. La bacteria puede causar desde infecciones cutáneas leves, como forúnculos y abscesos, hasta enfermedades más graves, como neumonía, infecciones del torrente sanguíneo (bacteriemia) y endocarditis. En cuanto a su crecimiento, *Staphylococcus aureus* puede prosperar en una variedad de entornos. Se adapta bien a condiciones de temperatura corporal y puede crecer en ambientes ricos en nutrientes. Además, es capaz de sobrevivir en entornos menos hospitalarios, lo que contribuye a su capacidad para causar infecciones en diferentes partes del cuerpo, como piel, pulmones, corazón y huesos (43).

6.1. Infecciones estafilocócicas de la piel

Una bacteria frecuente que contribuye significativamente a las enfermedades humanas es el *Staphylococcus aureus*. La Sociedad Neozelandesa de Dermatología estima que entre el 15 % y el 40 % de las personas están infectadas con esta bacteria, que habita principalmente en las fosas nasales. Si bien la bacteria es segura para la mayoría de las personas, algunas, en particular las que tienen piel seca y son propensas a sufrir lesiones cutáneas, pueden contraer infecciones cutáneas a causa de ella. El impétigo es una infección altamente infecciosa causada por *Staphylococcus aureus* que se manifiesta con llagas costrosas y pus. Las enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus* se observan con mayor frecuencia en niños pequeños y en personas que trabajan en el sector sanitario. Una llaga costrosa y pus sobre úlceras cutáneas profundas es un signo de una forma más grave de impétigo. *Staphylococcus aureus* también puede infectar los folículos pilosos (44).

7. *Streptococcus pyogenes*

El *Streptococcus pyogenes*, también conocido como estreptococo del Grupo A, es una bacteria grampositiva que desempeña un papel significativo en la salud humana, pero también puede ser patógena y causar diversas enfermedades. Su morfología se caracteriza por la disposición en cadenas de células cocáceas. Este microorganismo tiene una presencia natural en la garganta y la piel de los seres humanos, donde puede colonizar de manera comensal sin causar enfermedad. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, se convierte en patógeno, dando lugar a una variedad de infecciones. Esta bacteria es responsable de causar

varias enfermedades, siendo la faringitis estreptocócica una de las infecciones más comunes. La epidemiología de *Streptococcus pyogenes* muestra que las infecciones son más comunes en niños, pero pueden afectar a personas de todas las edades. Factores como la debilidad del sistema inmunológico y las condiciones de hacinamiento aumentan el riesgo de infección (45).

La vulnerabilidad inmunológica juega un papel crucial en la propensión a las infecciones por *Streptococcus pyogenes*. Aquellas personas con sistemas inmunológicos debilitados, ya sea debido a condiciones médicas subyacentes o situaciones de estrés, tienen un mayor riesgo de contraer estas infecciones. Además, las heridas y lesiones cutáneas proporcionan una entrada directa para la bacteria. Cortaduras, abrasiones o incluso pequeñas lesiones en la piel pueden convertirse en sitios propicios para la colonización de *Streptococcus pyogenes*, dando lugar a infecciones cutáneas como el impétigo (46).

Las consecuencias de las infecciones por *Streptococcus pyogenes* abarcan una amplia gama de manifestaciones clínicas. La faringitis estreptocócica, caracterizada por dolor de garganta intenso, fiebre y glándulas inflamadas, es una de las consecuencias más comunes. Sin embargo, las infecciones cutáneas, como el impétigo con lesiones cutáneas y costras, también son observaciones frecuentes.

En casos más graves, *Streptococcus pyogenes* puede desencadenar complicaciones sistémicas significativas. La fiebre reumática, que afecta las articulaciones, el corazón y otros órganos, y la glomerulonefritis, que compromete la función renal, son consecuencias graves que pueden derivar de infecciones no tratadas adecuadamente. Además, en situaciones excepcionales, la bacteria puede provocar un síndrome del shock tóxico, una condición potencialmente mortal que afecta múltiples sistemas orgánicos.

La propagación de *Streptococcus pyogenes* en comunidades densamente pobladas puede dar lugar a brotes de infecciones, especialmente en entornos escolares y guarderías. Este fenómeno destaca la importancia de medidas preventivas, como la higiene personal y el control de la transmisión en comunidades de alta interacción (47).

7.1. Infecciones estreptocócicas en la piel

Una de las causas bacterianas más importantes de infecciones de piel y tejidos blandos (IPTB) a nivel mundial es *Streptococcus pyogenes*, también conocido como *Streptococcus* del grupo A. Además, *S. pyogenes* es el patógeno que produce la mayor variedad de

entidades clínicas. Este microorganismo causa específicamente infecciones en el músculo (miositis y mionecrosis), la fascia (fascitis necrosante), el tejido subcutáneo (celulitis), la capa superficial de queratina (impétigo) y la epidermis superficial (erisipela). Además, es el agente causal del síndrome de shock tóxico estreptocócico (SST) y la escarlatina. Aunque el impétigo no representa una amenaza para la vida, puede provocar glomerulonefritis postestreptocócica aguda (GNA). Mientras que la fascitis necrosante, la mionecrosis y el síndrome de Stevens-Johnson (SST) son potencialmente mortales, la celulitis y la erisipela pueden ser de leves a moderadamente graves. Las características clínicas y epidemiológicas de estas enfermedades, los tratamientos disponibles y la patogénesis bacteriana son los temas principales de este capítulo (48).

8. Antecedentes de actividad antibacteriana de *Opuntia Soehrensii* Britton & Rose

8.1. Antecedentes internacionales

En la investigación titulada “Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de Ayrampo (*Opuntia soehrensii*) para el desarrollo galénico de un gel de limpieza de manos” publicado en el año 2018 por Nattes P y Quispe Z, los resultados revelaron halos de inhibición frente a *Escherichia coli* que superan los 20 mm en las tres concentraciones del gel. Esto indicó una alta sensibilidad bacteriana ante el gel en estudio, además, los resultados obtenidos frente a *Staphylococcus aureus* también exhiben halos de inhibición mayores a 20 mm en las tres concentraciones del gel, lo cual corroboraron la sensibilidad bacteriana, por lo que concluyen, los hallazgos indicaron que el gel con extracto etanólico posee una significativa capacidad de inhibición frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, lo cual se refleja en los halos de inhibición observados en las pruebas (49).

En la investigación titulada “Antimicrobial Effect of *Opuntia Ficus-Indica* Extract on *Escherichia coli* Isolated from Patients with Urinary Tract Infection” publicado en el año 2021 por Pourmajed R. Jabbari M y colaboradores, los resultados obtenidos señalan que el extracto etanólico derivado de la planta *Opuntia ficus* presenta una destacada actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, especialmente aquellas cepas aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario, este hallazgo resalta el potencial terapéutico de esta planta en el abordaje de infecciones bacterianas, por lo que concluyen los resultados del estudio indican que los extractos etanólicos de *Opuntia ficus* muestran propiedades antibacterianas, especialmente contra *Escherichia coli* aislada de pacientes

con infección del tracto urinario, estos resultados proporcionan un respaldo científico para considerar a esta planta como una posible opción terapéutica en el tratamiento de infecciones bacterianas, particularmente aquellas relacionadas con el tracto urinario (50).

En la investigación titulada “Antimicrobial and Antibiofilm Activity against *Staphylococcus aureus* of *Opuntia ficus-indica* (L.)” publicado en el año 2019 por Blando F. Russo R y colaboradores, los resultados obtenidos mostraron que los extractos polifenólicos de los cladodios de *Opuntia ficus-indica* exhibieron una destacada actividad antioxidante, además, se observó que estos extractos presentaron una inhibición selectiva en el crecimiento de bacterias Gram-positivas y también demostraron la capacidad de prevenir la formación por *Staphylococcus aureus*, por lo que concluyen que los hallazgos de este estudio sugieren que los extractos polifenólicos de los cladodios de *Opuntia ficus-indica* podrían tener aplicaciones prometedoras en el ámbito alimentario, debido a su alto contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante, estos extractos podrían ser considerados como alimentos funcionales o utilizados como aditivos naturales para mejorar la seguridad y control de procesos alimentarios (51).

En la investigación titulada “Phytochemical profiling, antimicrobial, and antioxidant activities of hydroethanolic extracts of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit and Pulp” publicado en el año 2023 por Iftikhar K. Siddique F y colaboradores, se encontró que el extracto acuoso al 100% del cladodio exhibió la mayor actividad antioxidante (92%). Además, este extracto mostró actividad antimicrobiana contra *Salmonella typhi*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con concentraciones inhibitoras mínimas, se reveló una correlación negativa significativa entre la actividad antioxidante y la concentración mínima inhibitoria por lo que concluyen que estos resultados proporcionaron información valiosa para seleccionar cladodios de tuna con alto potencial antioxidante, lo cual podría ser útil en el desarrollo de medicamentos alternativos basados en antioxidantes y en la formulación de alimentos con valor agregado (52).

En la investigación titulada “Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of *Opuntia ficus indica*, seeds and peels extracts” publicado en el año 2020 por Fiad M.

El-Masry R y colaboradores, los resultados de este estudio demostraron que los extractos de *Opuntia ficus* exhiben actividad antibacteriana frente a diversas cepas bacterianas, incluyendo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*, este rango de actividad antibacteriana resalta el potencial medicinal de la planta y su posible uso como agente terapéutico en infecciones entéricas y sistémicas, esta acción antimicrobiana fue atribuida a la presencia de diversos grupos fitoquímicos, como taninos, terpenoides, alcaloides y flavonoides, que son conocidos por sus propiedades antimicrobianas, por lo que concluyen que los resultados de este estudio respaldan la prometedora actividad antibacteriana de los extractos de *Opuntia ficus-indica* y sugieren su potencial como fuente de medicamentos alternativos (53).

8.2. Antecedentes nacionales

En la investigación titulado “Efecto Antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de Semillas de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) Frente a Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175” publicado en el año 2023 por Palacios M. y Coila R., se identificaron metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, alcaloides, antocianinas y flavonoides en el extracto etanólico de semillas de *Opuntia soehrensii*, los análisis estadísticos revelaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos experimentales al 25%, 50%, 75% y 90% en comparación con el (Etanol 70°) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, por lo que concluyen que presenta actividad antibacteriana contra las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (54).

En la investigación titulado “Screening fitoquímico y actividad antibacteriana del extracto etanólico de cuatro plantas medicinales, Iquitos – Perú” publicado en el año 2018 por Ruiz D y Arévalo B, los resultados del análisis fitoquímico revelaron la presencia de compuestos fenólicos, taninos, saponinas, aminoácidos-aminas, cumarinas-lactonas y azúcares reductores en las plantas estudiadas, por lo que concluyen que se demostró que algunas de las plantas investigadas presentan compuestos con actividad antibacteriana *in vitro*, con *Physallis angulata* mostrando un efecto inhibitorio contra *Pseudomonas sp* (55).

En la investigación titulada “Sinergismo Antimicrobiano de los Extractos Etanólicos del *Opuntia soherensii* (Ayrampo) y *Psidium guajava* L. (guayaba), frente a *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*” publicado en el año 2018 por Aroni M, se encontró que el extracto etanólico de *Opuntia soherensii* (Ayrampo) al 100% y 50% no mostró halos de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, por lo que

concluyen que los resultados del estudio indican que los extractos etanólicos de *Opuntia soherensii* (Ayrampo) y *Psidium guajava* L. (Guayaba), en combinación, no presentaron un efecto sinérgico antimicrobiano (56).

En la investigación titulada “Efecto *in vitro* del extracto etanólico del cladodio de *Opuntia ficus-indica* en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*” publicado en el año 2021 por Díaz C y Llontop K, indicaron que los promedios de los halos de inhibición del crecimiento en *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron de 9, 13 y 19 mm, y 13, 18 y 24 mm, por lo que concluyen que este estudio proporciona evidencia que respalda la capacidad inhibitoria del extracto etanólico del cladodio de *Opuntia ficus-indica* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (57).

En la investigación titulada “Efecto antibacteriano de *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) sobre la *Porphyromona Gingivalis*. Universidad Alas Peruanas. Arequipa – 2016” publicado en el año 2016 por Rosario, E, los resultados obtenidos revelaron que la *Opuntia Soherensii* al 5% exhibió un efecto antibacteriano positivo sobre las cepas de *Porphyromona Gingivalis*, pero de acción muy leve, al 10% también generó un efecto positivo, mientras que la concentración al 20% presentó un efecto antibacteriano positivo y de acción moderada, por lo que concluyen que los resultados indican que la *Opuntia Soehrensii* (Ayrampo) posee efectos antibacterianos positivos en distintas concentraciones frente a *Porphyromonas Gingivalis* (58).



1. Lugar de investigación

La presente investigación se realizó en Laboratorio Biológico Santa Rosa EIRL que se encuentra ubicada en el departamento de Lima donde se prepararon el extracto etanólico del epicarpio de Ayrampo (*Opuntia soehrensii Britton & Rose*), asimismo los análisis de sensibilidad bacteriana se realizaron en el en Laboratorio Biológico Santa Rosa EIRL. Por otro lado, la clasificación taxonómica del material vegetal en estudio fue identificada por por José R. Campos de la Cruz biólogo colegiado CBP 379,

2. Materiales

2.1. Materiales de verificación:

- Vernier
- Pinza de punta plana
- Placas de Petri de vidrio estériles
- Asa de Drigalsky
- Tubos estériles con tapa rosca
- Tubos de ensayo
- Viales de vidrio con una capacidad de 5 mL
- Puntas para micropipeta de 20-200 μ L y 0.5-5 mL
- Micropipetas calibradas de 20-200 μ L y 0.5-5 mL
- Discos vacíos para difusión en placas
- Frascos de vidrio con una capacidad de 500 mL con tapa rosca
- Fiolas de 1ml

2.2. Equipos utilizados:

- Incubadora a 35°C “Boeco”
- Autoclave “Faith Full”
- Potenciómetro “Hanna instruments”
- Baño María “Improve Medical”
- Balanza analítica “Faith Full”
- Mechero Bunsen “Tipo Meker-Fisher”
- Estufa a 40°C “Eurolab”
- Cabina de Bioseguridad “Biobase”

2.3. Reactivos:

- Etanol al 96°
- Éter de petróleo
- Butanol
- Etanol 70°
- Metanol
- DMSO
- H₂O destilada
- FeCl₃ 1%
- Reactivo de borntrager
- Reactivo Liebermann – Burchad
- Reactivo dragendorff
- Reactivo Mayer
- Reactivo Wagner
- Reactivo Baljet
- NaOH 10%
- Reactivo Benedict
- Reactivo Fehling A y B
- Reactivo shinoda

2.4. Material Biológico

2.4.1. Medios de cultivo

- Agar Mueller Hinton
- Caldo Muller Hinton
- Agar Muller Hinton con sangre de carnero

2.4.2. Inóculo

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

2.4.3. Muestra vegetal:

- La muestra fue recolectada en el distrito de Santa Isabel de Sigua en provincia de Arequipa y fue identificada por José R. Campos de la Cruz biólogo colegiado CBP 3796 en el laboratorio Santa Rosa ubicado en el departamento de Lima.
- Extracto etanólico del epicarpio del Ayrampo al 90%, 50%, 25%.

2.5. Software

- SSPS
- Canva
- Paint

3. Métodos

3.1. Procesamiento del material vegetal

3.1.1. Recolección del Material Vegetal:

- Se recolectó el epicarpio de *Opuntia soehrensii* en condiciones adecuadas de madurez y frescura.
- Se colocó en una caja de tecnopor que contenía papel en las paredes y bolsas de hielo en gel, la caja fue rotulada con los datos de recolección (lugar, hora y fecha) y fue enviada al laboratorio Santa Rosa, la cual está ubicada en el departamento de Lima.

3.1.2. Selección y limpieza

- Se eliminó cuidadosamente las impurezas que pudieran estar adheridas a la superficie del fruto y se separó las que estuvieran en mal estado o que mostraran signos de contaminación microbiana.

3.1.3. Lavado

- Con este proceso se eliminó todos los vestigios de tierra que pudieran haber quedado en fruto aplicando un flujo continuo de agua potable a temperatura ambiente y empleando una escobilla, por último, se enjuago con agua destilada y se dejó escurrir para eliminar exceso de humedad.
- Posteriormente se cortaron los frutos y se procedió a separar la cascara de las semillas y pulpa empleando un utensilio de acero inoxidable

3.1.4. Secado

- Este proceso consiste en eliminar gran parte del agua de la especie. Esto debido a que la presencia de agua es el principal responsable de la alteración de la planta recolectada. Al descender la cantidad de agua, las enzimas detienen su actividad, quedan inhibidas y la muestra se conserva. Así mismo facilita el proceso de extracción.
- Se secó el material vegetal a temperatura ambiente en un lugar oscuro y ventilado.

- Luego se cortó la cáscara en pequeños trozos de 1cm x 1 cm aproximadamente para luego ser distribuida sobre placas petri y secada durante 48 horas empleando una estufa con aire recirculante a una temperatura de 40 °C.

3.1.5. Preparación del extracto:

- Se trituró el epicarpio seco en un molino para obtener un polvo fino, el cual pesaba 71.2g.
- El proceso de extracción se realizó macerando, dentro de un frasco ámbar de 1 litro, el material obtenido luego de la molienda con 480 ml de alcohol de 96°, en una proporción de 1/5. El proceso de maceración se realizó durante 7 días, sometiéndolo a agitación mecánica cada 12 horas. (28)
- El líquido resultante del proceso de maceración fue filtrado empleando papel de filtro Whatman N°1 y un embudo.
- Para la obtención del extracto seco, el líquido filtrado fue vertido sobre placas petri de vidrio y fue llevado a estufa de aire recirculante a una temperatura de 40°C hasta sequedad que fueron 24 horas, donde se obtuvo una muestra de 23g de peso. (31)

3.2. Marcha fitoquímica

- Se procedió a añadir 1 ml de extracto etanólico de Ayrampo (*Opuntia soehrensii* Britton & Rose) en cada tubo de ensayo seguido se adiciono 1 ml de cada reactivo, para realizar los ensayos que se muestran en la tabla 6, con la finalidad, de evidenciar los metabolitos secundarios por medio de coloración y precipitación.

Tabla 5. Reactivos usados para cada ensayo en la marcha fitoquímica

Tubo	Ensayo	Procedimiento	Metabolito
N°1	Borntrager	5 gts de éter de petróleo + 2 gts de NaOH 5%	Antraquinonas
N°2	Cloruro Ferrico	2 gts de FeCl ₃ 1%	Compuestos fenólicos
N°3	Liebermann Burchard	2 gts Ac ₂ O/ H ₂ SO ₄ (50:1) + 1 gts AcOH	Terpenos y esteroides
N°4	Dragendorff	2 gts de (A+B/100 mL H ₂ O)	Alcaloides

		A: 8 g Bi(NO ₃) ₃ .5H ₂ O/20 mL HNO ₃	
N°5	Mayer	B: 27,2 g KI/50 mL H ₂ O 2 gts (A+B/100 ml H ₂ O)	Alcaloides
N°6	Wagner	A: 1,36 g HgCl/60 mL H ₂ O B: 5 g KI/10 mL H ₂ O 2 gts de [(1,27 g I ₂ + 2 g KI/5 ml	Alcaloides
N°7	Baljet	H ₂ O)/100 mL H ₂ O] 2 gt de (Acido pícrico 1% en EtOH 95° + NaOH 10 %)	Lactonas α, β-insaturadas
N°8	Gelatina	2 gts gelatina 1%	Taninos
N°9	Gelatina-sal	2 gts de (1 g gelatina+ 10 g NaCl/100 mL H ₂ O)	Taninos
N°10	NaOH 10%	2 gts NaOH 10%	Antocianinas
N°11	Benedict	5 gts de [(1,73 g CuSO ₄ .5H ₂ O+17,3 g citrato de sodio+ 10 g Na ₂ CO ₃)/100 mL H ₂ O] y calentar 10'	Azúcares reductores
N°12	Fehling A y B	5 gts de CuSO ₄ .5H ₂ O 7% + V gts (17,5 g tartrato de sodio potasio + 5 g NaOH/50 mL H ₂ O) y calentar 10'	Azúcares reductores
N°13	Espuma	Agitación por 30 Seg	Saponinas
N°13	Shinoda	Mg + 2 gts HCl	Flavonoides

*Esta tabla presenta los metabolitos secundarios a identificar con sus respectivas reacciones.
Lock, O. (31)

3.3. Actividad Antibacteriana

3.3.1. Prueba de solubilidad para preparar las diferentes concentraciones

- Se procedió a añadir 1g de extracto seco en cada tubo de ensayo seguido se adiciono 1 ml de cada solvente, luego se agito en un equipo vortex, finalmente se observó la afinidad del extracto seco por cada solvente de estudio, en la tabla 5 se muestra los solventes usados en cada tubo. (6)

Tabla 6. Solventes usados en la prueba de solubilidad para cada tubo

Tubo	Solvente
N°1	Acetato de etilo
N°2	Butanol
N°3	Etanol 96°
N°4	Etanol 70°
N°5	Metanol
N°6	Agua destilada
N°7	Dimetilsulfoxido

*Elaboración propia

3.3.2. Método de difusión en pozos (Kirby Bauer modificado)

Consiste en depositar dentro de pozos elaborados sobre la superficie de una placa con agar previamente inoculada con el microorganismo, diferentes sustancias a evaluar.

3.3.2.1. Preparación de medio de cultivo

Agar Mueller Hinton

- El medio de cultivo fue preparado partiendo de la base deshidratada y siguiendo las indicaciones proporcionadas por el fabricante.
- Se pesó 11.4 gr. de Agar Mueller Hinton deshidratado y se adicionó 300 ml de agua destilada, posteriormente se procedió a calentar con agitación constante hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último, se esterilizó empleando una autoclave sometiendo al medio de cultivo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.

- Una vez finalizado el proceso en la autoclave se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C y se distribuyó en placas petri estériles de 90 x 15 mm (59).

Agar Mueller Hinton con 5% de sangre de carnero

- El medio de cultivo fue preparado partiendo de la base deshidratada y siguiendo las indicaciones proporcionadas por el fabricante.
- Se pesó 4.56 gr. de la base deshidratada y se adicionó 120 ml de agua destilada, a continuación, se procedió a calentar con agitación frecuente hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último, se esterilizó en autoclave sometándolo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
- Una vez terminado el proceso en la autoclave, se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C para agregar posteriormente 5% de sangre bovina estéril al medio fundido y estéril es decir se pesó 3g de sangre de carnero para 60ml.
- Una vez adicionada la sangre se homogenizó el medio de cultivo y se distribuyó en placas petri estériles de 90 x 15 mm.

Caldo Mueller Hinton

- El medio de cultivo fue preparado partiendo de la base deshidratada y siguiendo las indicaciones proporcionadas por el fabricante.
- Se pesó 4.2 gr. de agar Mueller Hinton deshidratado y se adicionó 200 ml de agua destilada, posteriormente se procedió a calentar con agitación constante hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último, se esterilizó empleando una autoclave sometiendo al medio de cultivo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
- Una vez finalizado el proceso en la autoclave se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C y se distribuyó en tubos de ensayo

3.3.2.2. Reactivación de la cepa: Kwik-Stik Microbiologics – *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*

Para preparar el inóculo se empleó el producto Kwik-Stik Microbiologics® que contiene a las cepas *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en un pellet (60).

- a) El Kwik-Stik tiene en la parte superior una ampolla con líquido hidratante, el cual fue liberado al apretar una sola vez la mencionada ampolla que se encuentra en la tapa. Luego de realizar esta operación el Kwik-Stik se mantuvo en posición vertical para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad, que contiene el gránulo.
- b) Por último, se presionó la parte inferior de la unidad para lograr una suspensión homogénea.
- c) De inmediato se procedió a saturar el hisopo, que contiene el producto, con el material hidratado y se transfirió a una placa con agar nutritivo para *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*.
- d) Las placas fueron incubadas a 37 °C. durante 24 horas.

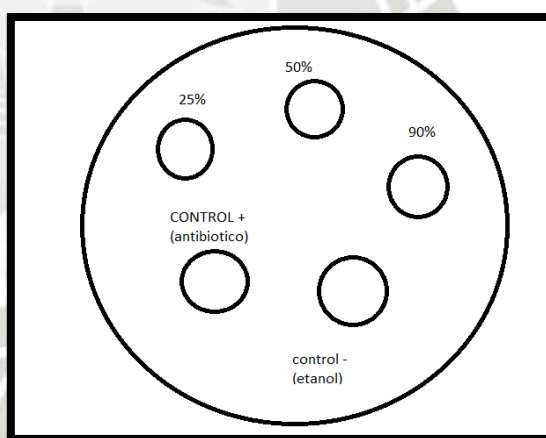
3.3.2.3. Método de preparación del inóculo

- a) En un tubo de ensayo, se realizó una suspensión directa en solución salina (cloruro de sodio 0.9%); para ello con un asa de siembra estéril se cogieron algunas colonias de las placas con agar anteriormente incubada durante 24 horas y se homogenizaron en la solución salina. Obteniendo un tubo que muestra cierta turbidez (59).
- b) La turbidez resultante fue inmediatamente ajustada comparándola de manera visual con la turbidez del estándar 0.5 de Mc. Farland. (Utilizado para prueba de sensibilidad antimicrobiana).
- c) Este procedimiento se realizó con cada una de las cepas en estudio.

3.3.2.4. Inoculación de placas

- a) Dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste de la turbidez del inóculo, se procedió a sumergir un hisopo estéril en la suspensión obtenida; el hisopo se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo y por encima del nivel del líquido, esto con la finalidad de remover el exceso de inóculo (59).
- b) Posteriormente se inoculó sobre la superficie seca del agar Mueller Hinton el *Streptococcus pyogenes* y el *Staphylococcus aureus*, para esto se realizaron estrías en tres direcciones diferentes rotando la placa 60° cada vez, esto con la finalidad de asegurar una distribución uniforme del inóculo.
- c) Previamente todas las placas fueron rotuladas como se muestra en la figura N°4 para posteriormente realizar los pozos empleando un sacabocado de 6 mm de diámetro.

Figura 6. Modelo de rotulación de placas.



*Elaboración propia

3.3.2.5. Preparación de sustancias experimentales

Se preparó las sustancias experimentales a diferentes concentraciones partiendo del extracto seco, para posteriormente adicionar 50 uL de las mismas, con ayuda de una micropipeta, en cada uno de los pozos realizados anteriormente.

- Extracto de epicarpio de Ayrampo 90%
- Extracto de epicarpio de Ayrampo 50%
- Extracto de epicarpio de Ayrampo 25%

- Alcohol de 96°
- Ciprofloxacino 5ug
- Eritromicina 15 ug

3.3.2.6. Incubación

Las placas se incubaron durante 24 horas a 37 °C después de 15 min de adicionados las sustancias experimentales (59).

3.3.2.7. Lectura de resultados

Halos de inhibición fueron medidos empleando un vernier.

3.3.3. Análisis Estadístico

3.3.3.1. Análisis estadístico inferencial - ANOVA

- Se seleccionó la opción de "ANOVA de un factor" en SPSS.
- Se definió la variable dependiente (diámetro del halo) y las variables independientes (concentración del extracto y tipo de bacteria).
- Se ejecutó el ANOVA para determinar si existían diferencias significativas entre las concentraciones del extracto o entre los tipos de bacterias.

3.3.3.2. Prueba de comparación múltiple de Tukey

- Si el ANOVA indicaba diferencias significativas, se procedió con la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples y determinar qué grupos específicos diferían entre sí.
- Se interpretaron los resultados del ANOVA y la prueba de Tukey para identificar las concentraciones de extracto que tenían un efecto significativo sobre la inhibición bacteriana.

3.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

La concentración inhibitoria mínima (CIM) es la mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción de un crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en el sistema de prueba.

3.4.1. Macrodilución

En el método de macrodilución se emplea por cada combinación microorganismo/antimicrobiano una batería de tubos. Este método de dilución se basa

en la presencia o ausencia de crecimiento de un microorganismo en un caldo en presencia de una concentración de antimicrobiano. Para ello se comprueba visualmente si los tubos presentan turbidez. Se recomienda para la mayoría de los microorganismos utilizar caldo Mueller-Hinton.

- **Extractos experimentales**

El extracto etanólico de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* se diluyó de manera seriada, duplicando la concentración final; Los extractos etanólicos evaluados fueron 450 mg/ml, 400 mg/ml, 350 mg/ml, 300 mg/ml, 250 mg/ml, 200 mg/ml, 150 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml y 25 mg/ml.

- **Inoculación**

El inóculo en los métodos de dilución en caldo se prepara a partir de la suspensión 0.5 de la escala de Mac Farland, (se empleó método de suspensión directa). El inóculo final en la técnica de macrodilución será de 5×10^5 UFC.

3.4.2. Suspensión directa de colonias

- Para el método de suspensión directa de colonias, las colonias no deben sobrepasar las 18–24 horas de aislamiento o reactivación.
- Los inóculos se prepararon efectuando una suspensión directa en caldo (Mueller-Hinton), de las colonias aisladas anteriormente, y ajustando su turbidez a 0,5 del estándar de McFarland, la turbidez de las suspensiones se comparó colocando los tubos frente a una tarjeta blanca con líneas negras (32).
- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de turbidez del inóculo al 0,5 del estándar de McFarland, se mezcló la suspensión y diluyó para que la concentración final en cada tubo sea de 5×10^5 UFC.

3.4.3. Dilución del inóculo estandarizado para pruebas de CIM

- A partir de la suspensión obtenida anteriormente será necesario realizar una dilución, ya que la concentración de 0.5 de McFarland se encuentra en 1×10^8 UFC, y el inóculo final requiere estar 5×10^5 UFC por tubo.
- Dentro de los 15 min de la estandarización del inóculo al 0.5 de McFarland y con ayuda de una micropipeta, se realiza una dilución 1:100 empleando como diluyente Caldo Mueller Hinton; de esta forma se obtiene una concentración aproximada de 1×10^6 UFC/ml.

- Finalmente, al adicionar en un tubo con antimicrobiano la misma cantidad de inóculo, esta dilución 1:2 dará como resultado un inóculo de 5×10^5 UFC/ml.
- Una vez realizada la dilución 1:100 del inóculo y dentro de los 15 min de haberla realizado, se inoculó 1 ml (empleando una micropipeta) a cada tubo de prueba con antimicrobiano, así como en el tubo con caldo sin antimicrobiano como control de crecimiento, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Diluciones para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

TUBOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Concentración (mg/ml)	450	400	350	300	250	200	150	100	50	25	C(-)	C(+)
Extracto solución madre (ml) (solo el primer tubo)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5		
Caldo Muller Hinton (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	2	1
Inoculo (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1

- Solución madre (900mg/ml)
- Incubar a 37°C durante 24 horas

*Elaboración propia

3.4.4. Incubación

Las placas de macrodilución se taparon para evitar la evaporación del medio de cultivo durante la incubación. Las placas fueron incubadas a 37° C durante 24 horas (32).

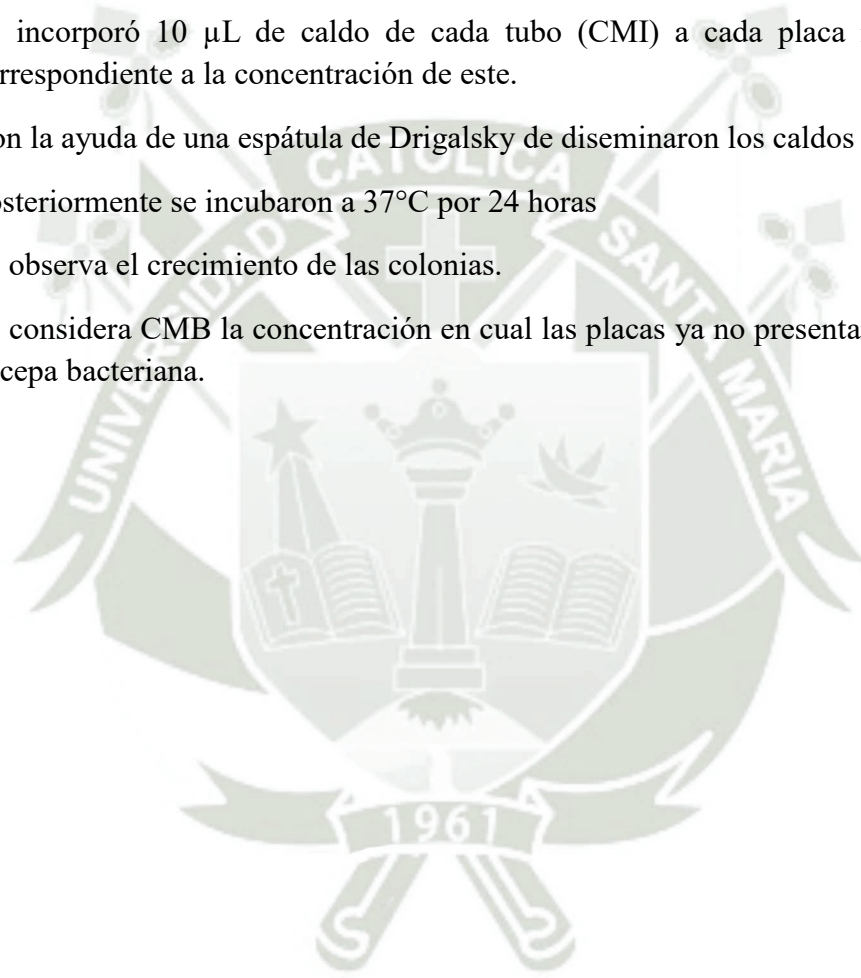
3.4.5. Determinación de los puntos finales de la concentración inhibidora mínima

- La CMI es la concentración más baja de agente antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento del organismo en los tubos de macrodilución detectado a simple vista.
- Se compara la cantidad de crecimiento en los tubos que contienen el agente experimental con la cantidad de crecimiento en los tubos de control de crecimiento utilizados en cada conjunto de pruebas.
- Para observar el crecimiento de los tubos, a veces resulta necesario limpiar la parte inferior de la placa de macrodilución, lo que puede realizarse con papel absorbente.
- Para que una prueba se considere válida, debe producirse un crecimiento aceptable (botón ≥ 2 mm o turbidez definitiva) en el tubo de control de crecimiento.

3.5. Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

La concentración mínima bactericida se determinó a partir de la concentración mínima inhibitoria, de la siguiente forma (32):

- Se prepararon placas con agar sangre y placas con agar Mueller Hinton. (se rotularon ambas).
- Se seleccionaron tubos consecutivos considerando los tubos que no muestran turbidez y 1 con caldo turbio.
- Se incorporó 10 μ L de caldo de cada tubo (CMI) a cada placa rotulada de forma correspondiente a la concentración de este.
- Con la ayuda de una espátula de Drigalsky se diseminaron los caldos en las placas.
- Posteriormente se incubaron a 37°C por 24 horas
- Se observa el crecimiento de las colonias.
- Se considera CMB la concentración en cual las placas ya no presentaron crecimiento de la cepa bacteriana.





CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIONES

La presente investigación tuvo como objetivo general evaluar el efecto antibacteriano de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y los resultados se presentarán en detalle en el presente capítulo.

1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

Opuntia soehrensii Britton & Rose (Ayrampo) procedente del distrito de Santa Isabel de Siguaná ubicada en la provincia de Arequipa fueron trasladadas al laboratorio Santa Rosa que está ubicada en el departamento de Lima donde fue identificada por José R. Campos de la Cruz biólogo colegiado CBP 3796, como se muestra en el anexo 2.

2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (AYRAMPO)

Posterior a su identificación como *Opuntia Soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) se procedió con la obtención del extracto etanólico por el método de maceración usando la muestra vegetal.

Una vez obtenido el extracto fue llevado a una estufa con aire recirculante donde se concentró la muestra y se evaporó el solvente a sequedad y así calcular su rendimiento con la siguiente fórmula.

$$\%E = \frac{PF}{Pi} \times 100$$

Donde:

%E = porcentaje de rendimiento

PF= peso final (extracto seco) = 23g extracto seco obtenido

Pi= peso inicial (muestra molida) = 71.2 g muestra molida

$$\%E = \frac{23 \text{ g}}{71.2 \text{ g}} \times 100 = 32.30\%$$

Donde se obtuvo como resultado 32.30 % de rendimiento de la muestra vegetal

3. IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (AYRAMPO) POR TAMIZAJE FITOQUÍMICA

Obtenido el extracto etanólico se realizó un tamizaje fitoquímico con la finalidad de identificar las principales familias de metabolitos secundarios obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 8. Tamizaje fitoquímico

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	Presencia
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	Presencia
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	Ausencia
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	Presencia
N° 5	Mayer	Alcaloides	Presencia
N° 6	Wagner	Alcaloides	Ausencia
N° 7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	Presencia
N° 8	Gelatina	Taninos	Presencia
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	Presencia
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	Presencia
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	Presencia
N° 12	Fehling A y B	Azúcares reductores	Presencia
N° 13	Espuma	Saponinas	Ausencia
N° 14	Shinoda	Flavonoides	Presencia

*Elaboración propia

En la tabla 8 respecto con el epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) se puede observar abundante presencia en las pruebas de Cloruro férrico, Baljet, Benedict, Benedict, Fehling A y B encontrando lo siguiente: compuestos fenólicos, lactonas α , β -insaturadas y azúcares reductores; mediana presencia en gelatina-sal y Shinoda encontrando lo siguiente: taninos y flavonoides; mínima presencia en las pruebas de Borntrager, Dragendorff, Mayer, gelatina y NaOH 10% hallándose lo siguiente: antraquinonas, alcaloides, taninos y antocianinas, como se muestra en las evidencias fotográficas del anexo 8.

4. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

4.1 Prueba de solubilidad para preparar las diferentes concentraciones:

El análisis de solubilidad con solventes orgánicos, tanto polares como apolares, es fundamental en la caracterización fisicoquímica de plantas medicinales. Este proceso permite identificar la naturaleza química de los compuestos activos presentes en las plantas, ya que diferentes solventes extraen distintos tipos de compuestos según su polaridad. Al emplear una gama de solventes, se puede determinar qué principios activos son solubles en medios específicos, lo que facilita su aislamiento, purificación y posterior formulación en productos farmacéuticos

Tabla 9. Análisis de solubilidad del epicarpio

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
Nº 1	Acetato de etilo	Insoluble
Nº 2	Butanol	Insoluble
Nº 3	Etanol 96°	Soluble
Nº 4	Etanol 70°	Soluble
Nº 5	Metanol	Soluble
Nº 6	Agua destilada	Soluble
Nº 7	Dimetilsulfoxido	Soluble

*Elaboración propia

En la tabla 9 se muestra que la máxima solubilidad se registró en dimetilsulfóxido y etanol 96°, indicando que estas dos sustancias son los solventes más eficaces, seguido se observó una solubilidad mediana en etanol 70°, metanol y agua destilada, siendo los solventes menos efectivos en comparación con los demás el acetato de etilo y el butanol, como se muestra en las evidencias fotográficas del anexo 8.

4.2. Método de difusión en pozos (Kirby Bauer modificado)

En la Tabla, 10 se expresan los datos en milímetro (mm) que es la medición del diámetro de los halos de inhibición que demuestra el efecto antibacteriano a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) por el método de difusión de pozos donde se hicieron cinco repeticiones.

Tabla 10. Mediciones del diámetro de los halos de inhibición (mm) en diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo)

Microorganismo	Diámetro de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Ciprofloxacino 5 ug	Etanol 96°
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	9.96	8.45	6	29.80	6
	9.89	8.40	6	30.10	6
	9.87	8.42	6	29.85	6
	9.92	8.37	6	30.05	6
	9.95	8.39	6	29.96	6
Promedio	9.92	8.41	6	29.95	6
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	90%	50%	25%	Eritromicina 15 ug	Etanol 96°
	13.92	11.40	6	27.99	6
	13.90	11.45	6	28.05	6
	13.80	11.35	6	27.90	6
	13.85	11.42	6	28.10	6
Promedio	13.90	11.37	6	28.02	6
Promedio	13.87	11.39	6	28.01	6

*Elaboración propia

En la tabla 10, al utilizar la escala de Duraffourd, se observó que al 50% y 90% de concentración, el extracto mostró una baja sensibilidad con medidas de 8.4060 mm y 9.9180 mm, respectivamente. Además, el ciprofloxacino 5 µg demostró ser sumamente eficaz contra *S. aureus*, con una zona de inhibición de 29.9520 mm.

Tabla 11. Comparación de los promedios de los halos de inhibición en diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) con la escala de Duraffourd y Lapraz

Microorganismo		Promedios (mm)	Resultados
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Etanol 96°	6	-
	Ciprofloxacino 5ug	29.95	+++
	25%	6	-
	50%	8.41	+
	90%	9.92	+
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Etanol 96°	6	-
	Eritromicina 15 ug	28.01	+++
	25%	6	-
	50%	11.39	+
	90%	13.87	+

* (-): No tiene efecto <8 mm; (+): Sensibilidad baja 8 – 14 mm; (++) : Sensibilidad media 14 – 20 mm; (+++) Sumamente sensible > 20 mm. Elaboración propia

En la tabla 11 la cual sostiene que el epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, la cual se verificó mediante la comparación con la escala de Duraffourd y Lapraz.

Por otro lado, al 50% y 90% de concentración, el extracto presentó una baja sensibilidad contra *S. pyogenes*, con una medida de 11,3980 mm y 13,8740 mm. Sin embargo, *S. pyogenes* mostró una alta sensibilidad ante el Eritromicina 15 ug, con una zona de inhibición de 28,0120 mm. Estos resultados resaltan la eficacia diferencial de los antibióticos comerciales en comparación con el extracto investigado.

4.3. Sensibilidad antibacteriana de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* al extracto etanólico de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo)

se muestra las pruebas de ANOVA y comparaciones múltiples por Tukey de dos cepas para la comparación de las medias de los diámetros de los halos si hubo diferencias significativas en el grupo de las concentraciones y en el grupo de controles con el fin de verificar la actividad antibacteriana.

Tabla 12. Pruebas de ANOVA frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ANOVA			
Microorganismo		gl	Sig.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Entre grupos	4	0,000
	Dentro de grupos	20	
	Total	24	

*Elaboración propia

Tabla 13. Prueba de ANOVA frente *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

ANOVA			
Microorganismo		Gl	Sig
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Entre grupos	4	0,000
	Dentro de grupos	20	
	Total	24	

*Elaboración propia

Al revisar las tablas 12 y 13, se identificó un $p < 0.05$ tanto para *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* que indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias del diámetro de los halos de sus grupos experimentales y sus grupos controles respectivamente para cada cepa. Por lo que se puede presenciar que hay actividad antibacteriana debido a la diferencia entre las medias.

Para determinar las diferencias específicas entre los distintos métodos, se llevó a cabo un análisis POST HOC mediante la prueba de Tukey. Este análisis permitió identificar con precisión qué métodos eran más efectivos en comparación con otros.

Tabla 14 . Comparaciones múltiples por Tukey frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Ciprofloxacino 5ug	Etanol	23,95200*	0,000
	25 %	23,95200*	0,000
	50 %	21,54600*	0,000
	90 %	20,03400*	0,000
Etanol	Ciprofloxacino 5ug	-23,95200*	0,000
	25 %	,00000	1,000
	50 %	-2,40600*	0,000
	90 %	-3,91800*	0,000

*Elaboración propia

En la tabla 14, se observó $p < 0.05$ entre Ciprofloxacino 5 ug (control positivo) y las concentraciones experimentales evidenciando diferencias estadísticamente significativas, esto implica que el grupo Ciprofloxacino 5 ug (control positivo) marca la diferencia por lo que presenta un efecto inhibitor mayor que los experimentales al 25%, 50 % y 90 % ante *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, se muestra un valor de $p > 0.05$, que significa que no existe diferencias estadísticamente significativas entre el grupo al 25 % de experimentación y el etanol (control negativo), evidenciando que no existe actividad en el grupo al 25%. Sin embargo, las medias de los diámetros de los halos de los experimentales al 50 %, y 90 % marcan la diferencia en comparación del etanol (control negativo), por lo que presentan un $P < 0,05$ esto evidencia de que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales al 50 % y 90 % y el etanol (control negativo).

Tabla 15. Comparaciones múltiples por Tukey frente *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Eritromicina	Etanol	22,01200*	0,000
15 ug	25 %	22,01200*	0,000
	50 %	16,61400*	0,000
	90 %	14,13800*	0,000
Etanol	Eritromicina	-22,01200*	0,000
	15 ug		
	25 %	,00000	1,000
	50 %	-5,39800*	0,000
	90 %	-7,87400*	0,000

* Elaboración propia

En la tabla 16, se observó $p < 0.05$ entre Eritromicina 15 ug (control positivo) y las concentraciones experimentales evidenciando diferencias significativas, esto implica que el grupo Eritromicina 15 ug (control positivo) marca la diferencia por lo que presenta un efecto inhibitor mayor que los experimentales al 25%, 50 % y 90 % ante *Streptococcus pyogenes*.

Por otro lado, se muestra un valor de $p > 0.05$, que significa que no existe diferencias estadísticamente significativas entre el grupo al 25 % de experimentación y el etanol (control negativo), evidenciando que no existe actividad en el grupo al 25%. Sin embargo, las medias de los diámetros de los halos de los experimentales al 50 %, y 90 % marcan la diferencia en comparación del etanol (control negativo), por lo que presentan un $P < 0,05$ esto evidencia de que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales al 50 % y 90 % y el etanol (control negativo).

4.4. Concentración bactericida mínima y concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25932 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Tabla 16. CMI y CMB frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923					
	Concentración (mg/ml)	Turbidez	Observación	Crecimiento en placa	Observación
1	450	-		-	CMB
2	400	-		+	
3	350	-	CMI	+	
4	300	+		+	
5	250	+		-----	
6	200	+		-----	
7	150	+		-----	
8	100	+		-----	
9	50	+		-----	
10	25	+		-----	
11	Control -	-		-----	
12	Control +	+		-----	

* (-): Ausencia; (+): Presencia; CMI: Concentración Mínima Inhibitoria; CMB: Concentración Mínima Bactericida. Elaboración propia

La tabla 17 presenta los resultados de la prueba de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a un agente antimicrobiano (cascara de Ayrampo), donde a 450 mg/ml se observa la CMB al no haber crecimiento en la placa ni turbidez en el medio, mientras que a 350 mg/ml se alcanza la CMI, ya que no hay turbidez, pero aún se observa crecimiento en la placa, lo que indica inhibición del crecimiento, pero no muerte bacteriana. A concentraciones de 300 mg/ml y menores, se reporta turbidez en los tubos y crecimiento en placa, lo que refleja la ineficacia del agente antimicrobiano (cascara de Ayrampo) a esas dosis, como se muestra en las evidencias fotográficas del anexo 8.

Tabla 17. CMI y CMB frente *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615					
	Concentración (mg/ml)	Turbidez	Observación	Crecimiento en placa	Observación
1	450	-		-	
2	400	-		-	
3	350	-		-	CMB
4	300	-	CMI	+	
5	250	+		+	
6	200	+		-----	
7	150	+		-----	
8	100	+		-----	
9	50	+		-----	
10	25	+		-----	
11	Control -	-		-----	
12	Control +	+		-----	

* (-): Ausencia; (+) Presencia; CMI: Concentración Mínima Inhibitoria; CMB: Concentración Mínima Bactericida. Elaboración propia

La tabla 18 describe los resultados de la prueba de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente a un agente antimicrobiano (cascara de Ayrampo). A concentraciones de 450 mg/ml y 400 mg/ml, no se observa turbidez ni crecimiento en placa, lo que indica la ausencia de crecimiento bacteriano, sugiriendo que estas concentraciones son bactericidas. A 350 mg/ml, se define la CMB, ya que no hay turbidez ni crecimiento en placa, lo que indica que a esta concentración el agente es capaz de matar las bacterias. La CMI se establece en 300 mg/ml, donde no hay turbidez (lo que significa inhibición del crecimiento), como se muestra en el anexo 8, pero aún se observa crecimiento en la placa, lo que indica que, aunque el agente inhibe el crecimiento bacteriano, no es bactericida. A concentraciones de 250 mg/ml y menores, se observa turbidez y crecimiento en placa, lo que indica que estas concentraciones no son efectivas para inhibir ni matar a *Streptococcus pyogenes*, como se muestra en las evidencias fotográficas del anexo 8.

En el caso de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se observó que la CMI se alcanzó a una concentración de 350 mg/ml, lo que indica que esta es la dosis mínima necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano en el medio líquido, demostrado por la ausencia de turbidez. Sin embargo, a esta concentración, el crecimiento bacteriano persiste en la placa, lo que significa que las bacterias siguen siendo viables, aunque su multiplicación se haya detenido temporalmente. Solo a 450 mg/ml, se alcanzó la CMB, la concentración mínima bactericida, en la cual no se observó crecimiento en placa ni turbidez, lo que confirma la capacidad de esta concentración para matar la población bacteriana. Este comportamiento sugiere que el agente antimicrobiano (cascara de ayrampo) actúa como bacteriostático a concentraciones cercanas a la CMI y como bactericida únicamente a concentraciones más altas. La diferencia entre la CMI y la CMB indica que se necesita una dosis significativamente mayor para eliminar las bacterias y detener su crecimiento. Por otro lado, en el caso de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, la CMI se registró a 300 mg/ml, ya que a esta concentración no se observó turbidez, lo que indica inhibición del crecimiento bacteriano. No obstante, el crecimiento en placa a esta misma concentración revela que las bacterias aún son viables, por lo que no se ha alcanzado la capacidad bactericida. La CMB se identificó a 350 mg/ml, donde no hubo crecimiento ni en el medio líquido ni en la placa de cultivo, esto indica que esta concentración es efectiva para matar la población bacteriana. La diferencia entre la CMI y la CMB en *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 refleja un patrón en el que el agente antimicrobiano (cascara de Ayrampo) actúa como inhibidor del crecimiento bacteriano a concentraciones más bajas, pero requiere dosis superiores para eliminar completamente las bacterias. Esta disparidad sugiere que el mecanismo de acción del agente antimicrobiano (cascara de Ayrampo) es inicialmente bacteriostático, y solo alcanza una actividad bactericida efectiva a concentraciones más altas, lo que puede ser relevante en el contexto clínico. En infecciones graves o crónicas, donde es necesario eliminar completamente el patógeno, puede ser crítico ajustar las dosis para alcanzar o superar la CMB, especialmente considerando que concentraciones por debajo de este umbral podrían permitir la supervivencia de bacterias viables, lo que a su vez podría generar resistencia a largo plazo. El hecho de que las concentraciones de 250 mg/ml y menores no hayan mostrado inhibición o efecto bactericida resalta la necesidad de administrar dosis adecuadas y monitorizar la efectividad durante el tratamiento de infecciones por *S. pyogenes*. También la importancia de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana personalizadas, ya que la resistencia bacteriana varía considerablemente según la cepa y el contexto clínico.

Finalmente, este estudio destaca la importancia de continuar explorando nuevos agentes antimicrobianos derivados de plantas naturales, ante la creciente amenaza de la resistencia

bacteriana a los fármacos convencionales. Los resultados obtenidos con el Ayrampo (*Opuntia soehrensii*) revelan su notable capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, lo que posiciona a esta planta como una alternativa terapéutica prometedora. A diferencia de los antibióticos sintéticos, el Ayrampo ofrece una solución potencialmente menos propensa a generar resistencia, gracias a su compleja composición bioactiva. Este estudio no solo refuerza la viabilidad de integrar el Ayrampo en futuros regímenes antimicrobianos, sino que también abre la puerta a un enfoque más sostenible y natural en el tratamiento de infecciones, promoviendo su incorporación en la medicina moderna.

DISCUSIONES

En la investigación de **Fiad M, El-Masry R, et al.** (53), de la evaluación de propiedades antioxidantes y antimicrobianas de extracto de semilla y cascara de *Opuntia ficus indica* quienes identificaron la presencia de diversos grupos fitoquímicos en *Opuntia ficus indica*, tales como taninos, terpenoides, alcaloides y flavonoides, todos ellos reconocidos por sus propiedades antimicrobianas, en comparación de nuestra investigación en el tamizaje fitoquímico, se halló compuestos fenólicos, lactonas α , β -insaturadas y azúcares reductores, donde se puede observar resultados similares. La coincidencia entre ambos estudios radica en la identificación de compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas en diferentes especies de *Opuntia*, lo que respalda la prometedora actividad antibacteriana de estos extractos y sugiere su potencial como una fuente viable de medicamentos alternativos.

El estudio de **Rosario E** (58) del efecto antibacteriano de la pulpa *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) frente a *Porphyromona gingivalis* en sus resultados evidenciaron que el halo de inhibición observado en la concentración del 5% de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) tiene un promedio de 11,20 mm. Este efecto indica una capacidad moderada de la planta para inhibir el crecimiento bacteriano a una concentración relativamente baja. A medida que aumenta la concentración, la actividad antibacteriana se incrementa notablemente. En una concentración del 10%, el halo de inhibición alcanza un valor de 16,80 mm, lo que refleja una mejora significativa en la eficacia antibacteriana. Finalmente, al aumentar la concentración al 20%, el halo de inhibición llega hasta los 21,40 mm, demostrando una fuerte actividad antibacteriana a esta concentración más alta, en comparación de nuestro estudio podemos observar que el extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo), presentó actividad antibacteriana al (50% y 90%) ante *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con

una medida de 8,4060 y 9,9180; y ante *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 al 50% y 90% con una medida de 11,3980 y 13,8740 mm, donde de igual manera a medida que se aumenta la concentración tiene un halo de inhibición mayor y por ende un mejor efecto antibacteriano. La coincidencia entre estos dos estudios se debe probablemente a la presencia de compuestos bioactivos comunes, como flavonoides y polifenoles, estos compuestos son conocidos por sus propiedades antimicrobianas, y su efectividad puede incrementarse con la concentración debido a una mayor disponibilidad de moléculas activas capaces de interactuar y destruir las membranas celulares bacterianas.

Así mismo podemos observar en el estudio de **Palacios M y Coila R** (54) quien en su ensayo del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de semillas de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Airampo) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observaron resultados significativos en concentraciones del 75 % y 90 %. Específicamente, la concentración del 75 % del extracto demostró un halo de inhibición con un diámetro de 9.13 mm, mientras que la concentración del 90 % mostró un halo de inhibición aún mayor, con un diámetro de 10.27 mm. En comparación de nuestro estudio presentó actividad antibacteriana con halo de inhibición ante *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 en extracto al 50% y 90% con una medida de 11,3980 y 13,8740 mm, lo que podemos indicar, que esto se puede deber a la diferencia de partes utilizadas de la planta, ya que en una se usa semillas y en otra se usa el epicarpio por lo que pueden que concentren diferentes cantidad de metabolitos en las distintas partes utilizadas, ya que las cepas usabas en ambos estudios pertenecen a la misma familia bacteriana

En el estudio de **Aroni M** (56), sobre el sinergismo antimicrobiano de los extractos etanólicos de la pulpa *Opuntia Soehrensii* (Airampo) y hojas *Psidium Guajava* (Guayaba) frente a *Staphylococcus aureus* Y *Listeria monocytogenes* quien encontró que el extracto etanólico de *Opuntia Soehrensii* (Airampo) al 50% y 100% no presenta halo de inhibición por lo que significa que no tiene efecto antibacteriano a esas concentraciones en ese estudio. En comparación de nuestro estudio donde se preparó extracto etanólico en concentraciones de 50% y 90% del epicarpio de *Opuntia soehrensii* (Ayrampo) donde si presento halo de inhibición de 8,4060 y 9,9180 mm, esta diferencia de resultados podría deberse a los factores ambientales que influyen en la concentración de los metabolitos secundarios presentes en las plantas que se ven influenciadas por los cambios en el entorno abiótico y biótico.

En el estudio de **Nattes y Quispe** (49) de la determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de *Opuntia soehrensii* (Airampo) para el desarrollo galénico de un gel de limpieza de manos en el cual evidenciaron resultados significativos en la prueba de CMI y CMB a

0.00025mg/mL para el extracto etanólico y acuoso de semillas de Ayrampo frente *Staphylococcus aureus*. En comparación de nuestro estudio donde se realizó extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soeherensii Britton & Rose* (Ayrampo) donde el resultado para CMI fue a una concentración de 350 mg/ml y para CMB fue a 450 mg/ml para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, lo que se puede decir que en nuestro estudio hubo un efecto antibacteriano para CMB y CMI a una concentración mucho más mayor. Esto puede significar la deferencia de concentraciones de metabolitos secundarios en diferentes partes de la planta.



CONCLUSIONES

PRIMERA: Se logró evaluar efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

SEGUNDA: Se obtuvo un extracto seco de apariencia rojo oscuro viscosa olor y sabor característico con un rendimiento de 32.30%.

TERCERA: Se identificó los grupos de metabolitos presentes en el extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) mediante el análisis cualitativo preliminar correspondió a compuestos fenólicos, lactonas α , β -insaturadas y azúcares reductores.

CUARTA: La concentración que presenta actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 fue en la concentración del 50% y 90% según el método de difusión en agar en pozo – Kirby Bauer.

QUINTA: La prueba de análisis antimicrobiano para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 demostró que ambos microorganismos presentan una relación dosis-efecto que define su respuesta al tratamiento. En *S. aureus*, la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 350 mg/ml y la concentración mínima bactericida (CMB) de 450 mg/ml, mientras que en *S. pyogenes*, la CMI fue de 300 mg/ml y la CMB de 350 mg/ml. Esto indica que el extracto etanólico del epicarpio de *Opuntia soehrensii Britton & Rose* (Ayrampo) tiene un efecto bacteriostático a concentraciones cercanas a la CMI en ambos casos, pero requiere una dosis mayor para alcanzar el efecto bactericida completo. Estos resultados subrayan la importancia de ajustar la dosis en función del patógeno para lograr un tratamiento eficaz y evitar la persistencia bacteriana o el desarrollo de resistencia.

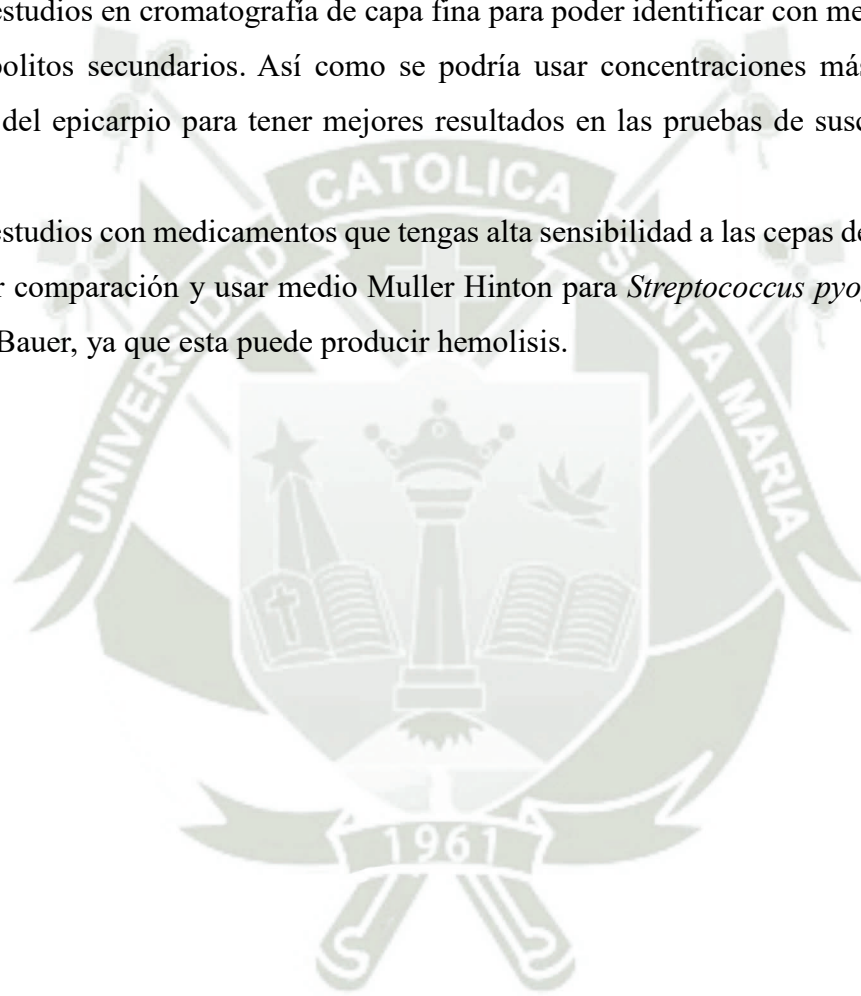
RECOMENDACIONES

Se sugiere seguir con estudios experimentales usando cepas nativas aisladas de pacientes, que puedan presentar resistencia a los antibióticos, para obtener resultados más efectivos.

Se recomienda recolectar la muestra vegetal en lugares que tenga una condición climática apropiada y suelo fertilizado, para obtener mejores concentraciones de metabolitos secundarios y a futuro hacer estudios in vivo en modelos de animales.

Realizar estudios en cromatografía de capa fina para poder identificar con mejor presión y aislar los metabolitos secundarios. Así como se podría usar concentraciones más altas de extracto etanólico del epicarpio para tener mejores resultados en las pruebas de susceptibilidad Kirby-bauer.

Realizar estudios con medicamentos que tengas alta sensibilidad a las cepas de estudio para tener una mejor comparación y usar medio Muller Hinton para *Streptococcus pyogenes* en la prueba de Kirby Bauer, ya que esta puede producir hemólisis.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Godenzi J. El ayrampo, potencial frutícola en vías de extinción en la región Ayacucho. , 2013.
2. Sharapin N. Fundamentos de la tecnología de productos fitoterapéuticos. Colombia:, 2000.
3. Apaza A. Influencia de parametros fisicoquimicos en la extraccion de pigmentos de ayrampo (Opuntia soehrensii B.), sobre el contenido de fenoles totales , betacianinas totales y capacidad antioxidante. [Tesis para optar título profesional]. Moquegua: Universidad Nacional de Moquegua, 2017.
4. Cupido M. Análisis por GC-MS de compuestos fitoquímicos en Opuntia megarrhiza (CACTACEAE), una especie mexicana en peligro de extinción. [Internet]. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2021.
5. Quispe V. Sustitución del colorante carmin por un colorante natural a base de Ayrampo (Opuntia soehrensii) en la elaboración del salame”. [Internet]. Lima: Universidad Le Cordon Bleu, 2019.
6. Briones Z, Mendez R, Reyes C, Lazalde B. Determinación del efecto antibacteriano y antimicótico del extracto etanólico de mucílago de nopal. Acta Bioquim Clin Latinoam. 2018; 52(1)(201–11).
7. Kiesling R, Demaio P, Cáceres F. Ayrampu (Tunilla soehrensii). [Internet]. The IUCN Red List of Threatened Species. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Tunilla_soehrensii, 2022.
8. Quispe J. El Ayrampo, bueno para controlar la fiebre y otros. [Internet]. Periódico Digital UNAHALDIA. Disponible en: <https://www.aldia.unah.edu.pe/el-ayrampo-bueno-para-controlar-la-fiebre-y-otros/>, 2023.
9. Villar C. Evaluación de la capacidad antioxidante y fotoprotectora in vitro de la crema gel elaborada con extracto acuoso de la cáscara de la variedad amarilla del fruto de opuntia soehrensii B. (Ayrampo). [Tesis para optar título profesional]. Lima: Universidad Maria Auxiliadora, 2020.
10. Soto H. Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos del Zea Mays L. (maíz morado), Rubus glaucus (mora andina); Opuntia soherensii (ayrampo) y

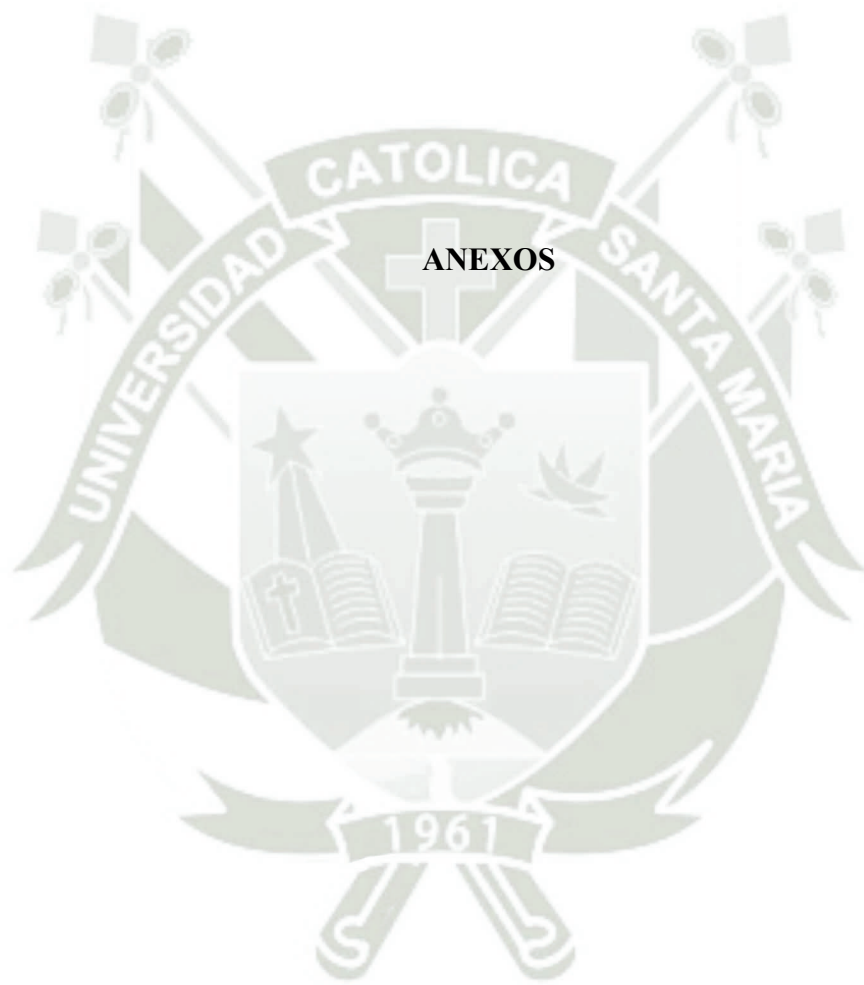
- Diseño de un gel de limpieza cutánea. [Tesis Para Optar El Título De Químico Farmacéutico].
Lima: E.A.P. De Farmacia Y Bioquímica UNMSM, Facultad De Farmacia, 2014.
11. Garcia L, Salinas Y, Valle S. Betalainas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en Pitaya de Mayo (*Stenocereus griseus* H.). *Revista Fitotécnica Mexicana*. 2012; 5(35).
 12. Meislich H, Herbert N, Howard S. *Química Orgánica*. Tercera edición ed.: Editorial McGrawHill; 2001.
 13. Porras A, López A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos.. *Temas selectos de Ingeniera de Alimentos*. 2009; Num.3(Vol.1).
 14. Rojas J, Abad J. *Química orgánica e inorgánica*. 2nd ed.: Fondo Editorial RODO; 2011.
 15. Requena L. *Vamos a Estudiar Química Orgánica*. 4th ed.: Editorial ENEVA; 2001.
 16. Cowan M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 1999; 12(4).
 17. Juniarti D, Kusumaningsih T, Setyari W. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Purple Leaf Extract [*Graptophyllum pictum* (L.) Griff] Against *Streptococcus mutans*. *Acta Med Philipp*. 2021; 55(8 (1–13)).
 18. Corvianindya Y, Sabir A, Setyorini D. Antibacterial activity of red dragon fruit extract (*hylocereuspolyrhizus*) on *streptococcusmutans*. *Int J App Pharm*. 2019; 11((4):60–3).
 19. Martínez F, González G, Tuñón J. Los Flavonoides: Propiedades Y Acciones Antioxidantes. *Nutr. Hosp*. 2002; Vol. XVII(Núm. 6).
 20. Pacheco D. Analisis de flavonoides en plantas medicinales del Sur De Chile Con tecnica HPLC. Universidad Austral de Chile, 2016.
 21. Marañón V, Rizo L. Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por espectroscopía Uv-Vis y barrido en Z. *Superficies y Vacío*. 2011; 24((4) 113-120).
 22. Verbiest T, Houbrechts S, Kauranen M. J. *Mater. Chem*. 1997; 7(2175).
 23. Markakis P. *Food Colors*. Third Edition ed.: Encyclopedia of Physical Science and Technology; 2003.

24. Strack D, Vogt T, Schliemann W. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*. 2003; 62(3 (247-269)).
25. Nilakshi V, Sim Choo W. Antimicrobial betalains. *Journal of Applied Microbiology*. 2022; 133(6 (3347–3367)).
26. Guerra A. Obtencion, caracterizacion y evaluacion de las propiedades fisicoquimicas de los extractos fluidos, blandos y secos asi como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*Phlebodium pseudoaureum*) a nivel da nivel del laboratorio. Guatemala:, 2005.
27. Lizcano A, Vergara J. Evaluacion de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a los microorganismos patogenos. Bogota:, 2008.
28. Carrión A, García C. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de Metódica. Tesis para Optar título de Químico Farmacéutico. [Tesis para optar por el título profesional]. Cuenca: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, 2010.
29. Carrion A, Garcia C. Preparacion de extractos vegetales: Determinacion de eficiencia de metodica. Obtenido de cdjv.ucuenca.edu.ec/ebooks/ , 2010.
30. Prashant T, Bimlesh K, Mandeep K. Gurpreet, K. and Harleen, K. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: a Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011; (1)(1: 98-106).
31. Lock O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2nd ed. Editorial F, editor. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
32. Cavalieri S. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. En Coyle M, editor.; 2005. p. 55 -61.
33. Kowalska B, Dudek R. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens* [Internet]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7913839/pdf/pathogens-10-00165.pdf>. 2021; 10(2):1–21).

34. Horna G, Silva M, Vicente W. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Rev Medica Hered* [Internet] Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v16n1/v16n1ao6.pdf>. 2012; 16(1)(39–45).
35. Alavez J. Farmacocinética in vitro de ciprofloxacina: modelo abierto de dos compartimentos en administración oral e intravenosa. [Tesis para optar título profesional]. Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, 2016.
36. Thai T, Salisbury B, Zito P. Ciprofloxacino. *StatPearls* [Internet], 2023.
37. Wiegand S, Berner R, Schneider A. Otitis externa. *Dtsch Arztebl Int*. 2019; 116((13): 224-234).
38. Edmunds A. Otiprio: Un gel de suspensión de ciprofloxacino aprobado por la FDA para la otitis media pediátrica con efusión. *PT*. 2017; 42((5):307-311).
39. Lopez D. Análisis de la resistencia a eritromicina de *Streptococcus Pneumoniae* Serotipo 19a en hospitales pertenecientes a la red Givebpvac durante el periodo 1993-2019. [Tesis para obtener el título profesional]. Morelos: Universidad Autonoma del Estado de Morelos, Facultad de ciencias biológicas, 2022.
40. Farzam K, Nessel T, Quick J. Eritromicina. *StatPearls* [Internet], 2025.
41. Amsden G. Erythromycin, clarithromycin, and azithromycin: are the differences real? *Clin Ther*. 1996; 18((1):56-72).
42. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS [Internet]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>. Organización Panamericana de la Salud, 2021.
43. Lee A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Prim* [Internet] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29849094/>. 2018; 4((1):1–23).

44. Sejia V. Etiopatogenia microbiológica. *Bacteriología y Virología medica*. 2012; 1((1)101-105).
45. Pascual M. Mecanismos de patogenicidad de *Streptococcus pyogenes* [Internet]. Disponible en:
http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/146041/Pascual_MariadelMar.pdf?sequence=1; Mecanismos. Universidad de Illes Balears, 2017.
46. Organización Mundial de la Salud (OMS). Casos de enfermedad causadas por estreptococo del grupo A en Uruguay [Internet]. Disponible en:
<https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2022-12/streptococcus-pyogenes>. Ministerio de Salud Argentina, 2022.
47. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Enfermedades causadas por estreptococos del grupo A [Internet]. Disponible en:
<https://www.cdc.gov/groupastrep/diseases-public/index-sp.html>. CDC, 2022.
48. Stevens D, Bryant A. *Streptococcus pyogenes* Impetigo, Erysipelas, and Cellulitis. 2nd ed.: *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations* [Internet]; 2022.
49. Nattes P, Quispe Z. Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de ayrampu (*Opuntia soehrensii*) para el desarrollo galénico de un gel de limpieza de manos [Internet]. [Tesis para optar título profesional]. Universidad Mayor de San Andres, 2018.
50. Pourmajed R, Jabbari M, Karami P. Antimicrobial effect of *Opuntia ficus-indica* extract on *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Iran J Public Health* [Internet]. 2021; 50((3):634–6).
51. Blando F, Russo R, Negro C. Antimicrobial and Antibiofilm Activity against *Staphylococcus aureus* of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Antioxidants* [Internet]. 2019; 8((117):1–13).
52. Iftikhar K, Siddique F, Ameer K. Phytochemical profiling, antimicrobial, and antioxidant activities of hydroethanolic extracts of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit and pulp. *Food Sci Nutr* [Internet]. 2023; 11((4):1916–30).

53. Fiad M, El-Masry R, Gomaa A. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of *Opuntia ficus indica*, seeds and peels extracts. *Zagazig J Agric Res* [Internet]. 2020; 47((2):587–96).
54. Palacios M, Coila R. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. [Tesis para optar título profesional]. Universidad Maria Auxiliadora, 2023.
55. Ruiz D, Arévalo B. Screening fitoquímico y actividad antibacteriana del extracto etanólico de cuatro plantas medicinales, Iquitos - Perú [Internet]. [Tesis para optar título profesional]. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, 2023.
56. Aroni M. Sinergismo Antimicrobiano de los Extractos Etanólicos del *Opuntia soherensii* (ayrampo) y *Psidium guajava* L. (guayaba), frente a *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* [Internet]. [Tesis para optar título profesional]. Universidad Alas Peruanas, 2023.
57. Díaz C, Llontop K. Efecto in vitro del extracto etanólico del cladodio de *Opuntia ficus-indica* en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* [Internet]. [Tesis para optar título profesional]. La Libertad: Universidad Nacional de Trujillo, 2021.
58. Rosario E. Efecto antibacteriano de *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) sobre la *Porphyromona Gingivalis* [Internet]. [Tesis para optar título profesional]. Arequipa: Universidad Alas Peruanas, 2016.
59. Ministerio de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. En. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2002. p. 10 - 18.
60. Microbiologics. Instrucciones de Uso Kwik-Stik : SPAN.LA Rev A; 2022.



ANEXO 1. INSTRUMENTO



Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Ciprofloxacino 5 µg	Etanol 96°
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923					
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	90%	50%	25%	Eritromicina 15 ug	Etanol 96°

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Bortrager	Antraquinonas	
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	
N° 5	Mayer	Alcaloides	
N° 6	Wagner	Alcaloides	
N° 7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	
N° 8	Gelatina	Taninos	
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	
N° 12	Fehling A y B	Azúcares reductores	
N° 13	Espuma	Saponinas	
N° 14	Shinoda	Flavonoides	



ANEXO 2. CERTIFICADO TAXONÓMICO

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. 3796
Cel: 963689079
Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA – RESOLUCIÓN DIRECTORAL N.º 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, las Bachilleres CHAMBI MAMANI JIMENA LIZET y MARYORI ELIZABETH TITO PALACO, egresadas de la Universidad Católica de Santa María, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímica y Biotecnológicas, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación para el desarrollo de la tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO *In Vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (AYRAMPO) FRENTE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, han solicitado la identificación y certificación botánica de la planta de cocona procedente del departamento de Arequipa, provincia de Arequipa, distrito de Santa Isabel de Siguan, la muestra ha sido estudiada y determinada como: *Opuntia soehrensii* Britton & Rose, que es un sinónimo de *Airampoa ayrampo* (Azara) Doweld. Según la base de datos de W³Tropicos del Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, este sistema evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Mark W. Chase & James L. Reveal (2009 – APG III) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de la base de W³Tropicos, APG III y APG IV, la especie identificada tiene las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Caryophyllanae
Orden: Caryophyllales
Familia: Cactaceae
Género: *Opuntia*
Especie: *Opuntia soehrensii* Britton & Rose

Nombre vulgar: “ayrampo”

Sinónimos: *Airampoa ayrampo* (Azara) Doweld.

Tunilla soehrensii (Britton & Rose) D.R.Hunt & Iliff

Se expide la presente certificación para fines de investigación.

Lima, 13 de junio del 2024




José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C. B. P. 3796

Jr. Sánchez Silva 156 – Piso 2–Urb. Santa Luzmila –Lima 07 -Lima



ANEXO 3. INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO



Santa Rosa EIRL

LABORATORIO BIOLÓGICO Y ANÁLISIS CLÍNICO

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración
de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

Informe de Resultados

Solicitado por: Chambi Mamani Jimena Lizet
Maryori Elizabeth Tito Palaco
Muestra: Extracto de *epicarpio de Opuntia soehrensii Britton & Rose*
Fecha: 10-12-2024

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Ciprofloxacino 5 ug	Etanol 96°
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	9.96	8.45	6	29.80	6
	9.89	8.40	6	30.10	6
	9.87	8.42	6	29.85	6
	9.92	8.37	6	30.05	6
	9.95	8.39	6	29.96	6
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	90%	50%	25%	Eritromicina 15 ug	Etanol 96°
	13.92	11.40	6	27.99	6
	13.90	11.45	6	28.05	6
	13.80	11.35	6	27.90	6
	13.85	11.42	6	28.10	6
	13.90	11.37	6	28.02	6

*Tamaño de pozo: 6mm, por lo que al reportarse 6 mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL

Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida
Staphylococcus aureus ATCC 25923

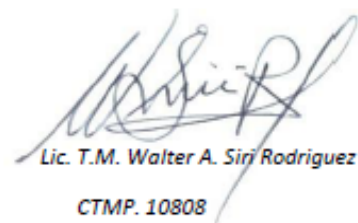
	Concentración (mg/ml)	Turbidez	Observación	Crecimiento en placa	Observación
1	450	-		-	CMB
2	400	-		+	
3	350	-	CMI	+	
4	300	+		+	
5	250	+		-----	
6	200	+		-----	
7	150	+		-----	
8	100	+		-----	
9	50	+		-----	
10	25	+		-----	
11	Control -	-		-----	
12	Control +	+		-----	

Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida
Streptococcus pyogenes ATCC 19615

	Concentración (mg/ml)	Turbidez	Observación	Crecimiento en placa	Observación
1	450	-		-	
2	400	-		-	
3	350	-		-	CMB
4	300	-	CMI	+	
5	250	+		+	
6	200	+		-----	
7	150	+		-----	
8	100	+		-----	
9	50	+		-----	
10	25	+		-----	
11	Control -	-		-----	
12	Control +	+		-----	

Leyenda

- : Ausencia
- + : Presencia
- CMI : Concentración Mínima Inhibitoria
- CMB : Concentración Mínima Bactericida



Lic. T.M. Walter A. Sirí Rodríguez
CTMP. 10808



ANEXO 4. CERTIFICADO DE AGAR MUELLER HINTON



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g

LOT NUMBER 3681362

EXPIRY DATE 2028.06.05

DATE OF MANUFACTURE 2023.06.07

Delivery/Customer information

Date Printed
2023.06.30
Delivery No.

Customer
Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2-3	Straw 2-3
pH (25°C)	7.3	7.2 - 7.4
Clarity	Clear	Clear

Microbiological Performance

Antibiotic susceptibility tests are performed in accordance with, and meet the acceptance limits of, the current ISO/TS 16782. Performance is assessed using EUCAST methodology.

Staphylococcus aureus ATCC®25923 WDCM00034
Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Erythromycin E15	29	22 - 30
Tetracycline TE30	27	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	26	22 - 30
Amoxicillin-clavulanate AMC30	34	28 - 36
Ampicillin-sulbactam SAM20	35	29 - 37
Linezolid LZD30	25	25 - 32
Cefoxitin FOX30	29	23 - 29
Gentamicin CN10	26	19 - 27
Penicillin P10	35	26 - 37

Staphylococcus aureus ATCC®29213 WDCM00131
Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Penicillin P1	15	12 - 18
Cefoxitin FOX30	28	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	22	21 - 27
Erythromycin E15	25	23 - 29
Gentamicin CN10	22	19 - 25
Linezolid LZD10	22	21 - 27
Tetracycline TE30	26	23 - 31



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxid@thermofisher.com www.oxid.com

FDA Reg No. 8010026

Certificate No. FM 09014



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g
LOT NUMBER 3681362

***Staphylococcus aureus* ATCC®43300 WDCM00211**

Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Cefoxitin FOX30	11	<21

***Staphylococcus aureus* NCTC12493 WDCM00212**

Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

Cefoxitin FOX30	20	14 - 20
-----------------	----	---------

***Escherichia coli* ATCC®25922 WDCM00013**

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP10	16	15 - 22
Chloramphenicol C30	24	21 - 27
Gentamicin CN10	20	19 - 26
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	29	23 - 29
Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	18 - 24
Ciprofloxacin CIP5	33	30 - 40
Sulfisoxazole SF300	21	15 - 23
Tetracycline TE30	22	18 - 25
Cefotaxime CTX5	28	25 - 31
Tigecycline TGC15	22	20 - 27

***Escherichia coli* ATCC®35218**

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	17 - 22
-------------------------------	----	---------

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 WDCM00025**

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Gentamicin CN10	19	16 - 21
Imipenem IPM10	22	20 - 28
Aztreonam ATM30	24	23 - 29
Ciprofloxacin CIP5	25	25 - 33
Tobramycin TOB10	23	19 - 25
Ceftazidime CAZ10	24	21 - 27
Piperacillin-tazobactam TZP36	25	23 - 29

***Enterococcus faecalis* ATCC®33186 WDCM00210**

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	25	20 -
-------------------------------------	----	------

***Enterococcus faecalis* ATCC®29212 WDCM00087**

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP2	18	15 - 21
Imipenem IPM10	26	24 - 30
Linezolid LZD10	22	19 - 25
Nitrofurantoin F100	22	18 - 24



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxid@thermofisher.com www.oxid.com

FDA Reg No. 8010096

Certificate No. FM 00914



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g
LOT NUMBER 3681362

Trimethoprim W5	30	24 - 32
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	31	26 - 34
Vancomycin VA5	13	10 - 16

Streptococcus pneumoniae ATCC®49619
Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO2

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Vancomycin VA5	21	<23

Haemophilus influenzae ATCC®49247
Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO2

Ampicillin AMP2	10	6 - 12
-----------------	----	--------

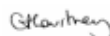
Haemophilus influenzae ATCC®49766
Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO2

Cefixime CFM5	31	29 - 35
---------------	----	---------

Control Medium: Mueller-Hinton Agar

Refer to product specification for full details.

The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of the Quality Control Laboratory, Oxoid Limited, Basingstoke. The results reported were obtained at the time of release.
Lot Accepted. 2023.06.16



Carissa Courtney
Director Quality, EMEA

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
NCTC and National Collection of Type Cultures are registered trade marks of the Health Protection Agency.



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxid@thermofisher.com www.oxid.com

FDA Reg No. 8010096

Certificate No. FM 09014

ANEXO 5. CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE CEPA *Streptococcus pyogenes*

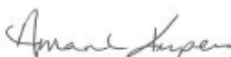




Microbiologics

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS: Product Name: Streptococcus pyogenes (group A) Catalog Number: 0385 Lot Number: 385-250** Reference Number: ATCC® 19615™** Passage from Reference: 3 Expiration Date: 2024/10/31	RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Jacob A Lohman Release Date: 2022/12/15
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Two colony types, both are circular, convex, entire edge; one is medium & beta hemolytic, other is small and alpha hemolytic, turning to beta as culture ages.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram positive cocci	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1)	
See attached ID System results document.	
Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase(3% Hydrogen Peroxide): negative Bacitracin differential: Sensitive	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



REFERENCE MATERIAL PRODUCER
CERT #2855.02

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a highconfidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2022-12-06T10:20:21.906 JAL

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C11 (+++) (A)	385-250	Streptococcus pyogenes	2.62


Comments:

Species canis / dysgalactiae / pyogenes of the genus Streptococcus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.



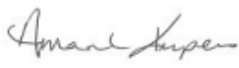
ANEXO 6. CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE CEPA *Staphylococcus aureus*





Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>SPECIFICATIONS:</p> <p>Product Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus</p> <p>Catalog Number: 0360</p> <p>Lot Number: 360-571**</p> <p>Reference Number: ATCC® 25923™*</p> <p>Passage from Reference: 3</p> <p>(7) Mean Assay Value (MAV): 4.9E+03 CFU per pellet</p> <p>Expiration Date: 2024/07/31</p>	<p>RELEASE INFORMATION:</p> <p>Quality Control Technologist: Jackie L Mackedanz</p> <p>Release Date: 2022/08/15</p>
---	--


Performance	
<p>Macroscopic Features:</p> <p>Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic</p> <p>Microscopic Features:</p> <p>Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p>	<p>Medium:</p> <p>SBAP</p> <p>Method:</p> <p>Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p>	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.


Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01

(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



REFERENCE MATERIAL PRODUCER
CERT #2655.02

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303

Page 1 of 1

DOC.286

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a highconfidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2022-08-11T11:50:06.462 JLM

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library


Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++) (A)	360-571	Staphylococcus aureus	2.25

Comments:

n/a

ANEXO 7. CERTIFICADO DE SANGRE ESTERIL DE CARNERO



	Certificado de Análisis	Fecha de Emisión 07/04/2024
---	--------------------------------	--------------------------------

Código Producto: SC001

Descripción: Sangre de Carnero, Estéril.

Lote: B01834

Fecha de Colección: 05/04/2024

Fecha de Vencimiento: 05/05/2024

El producto fue colectado empleando técnica aséptica y se comprobó la esterilidad por cultivo en medio nutritivo.



Rosa Ramirez Heredia
CQFP 23650

AREZ E.I.R.L. www.arezperu.com – email: correo@arezperu.com

Teléfono: 994534088



ANEXO 8. EVIDENCIAS FOTOGRAFICAS

1. Recepción de muestra

2 kg de *Opuntia soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo)

2. Tratamiento y extracción de la droga vegetal

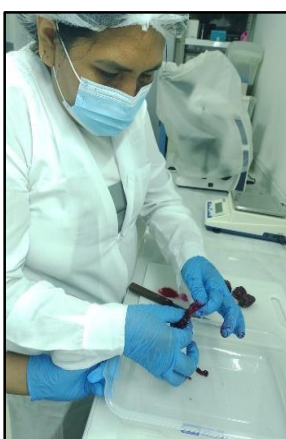
2.1 Tratamiento de la droga vegetal

Con el fin de adecuar la muestra para el posterior proceso de preparación del extracto alcohólico, se realizaron las siguientes operaciones previas:

a. Selección y Limpieza



b. Lavado

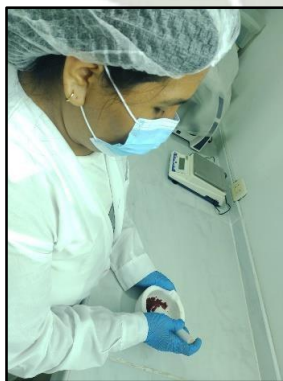


c. Secado



Proceso de secado

d. Molienda



Proceso de molienda

2.2 Extracción

a. Macerado

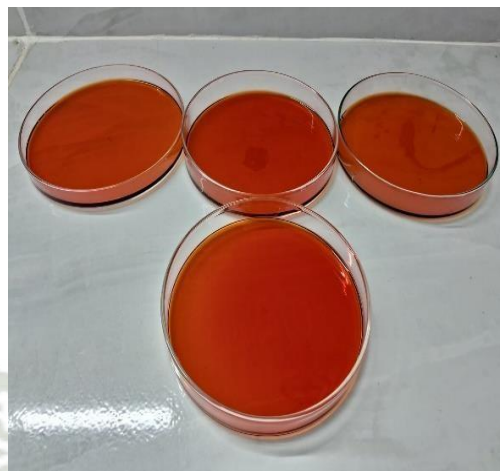


Proceso de maceración y agitación

b. Filtrado

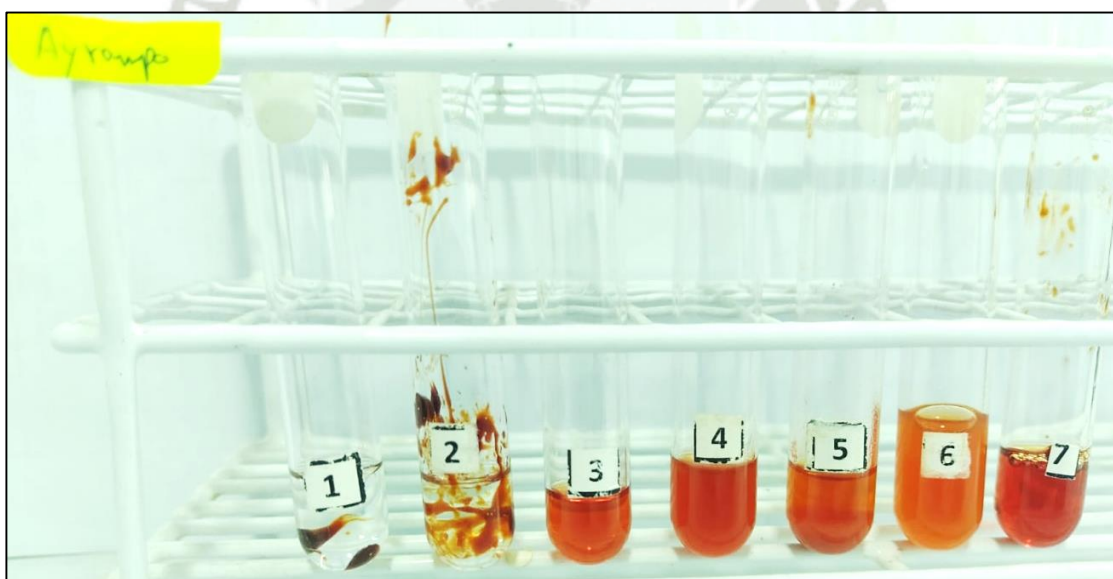


c. Obtención extracto seco

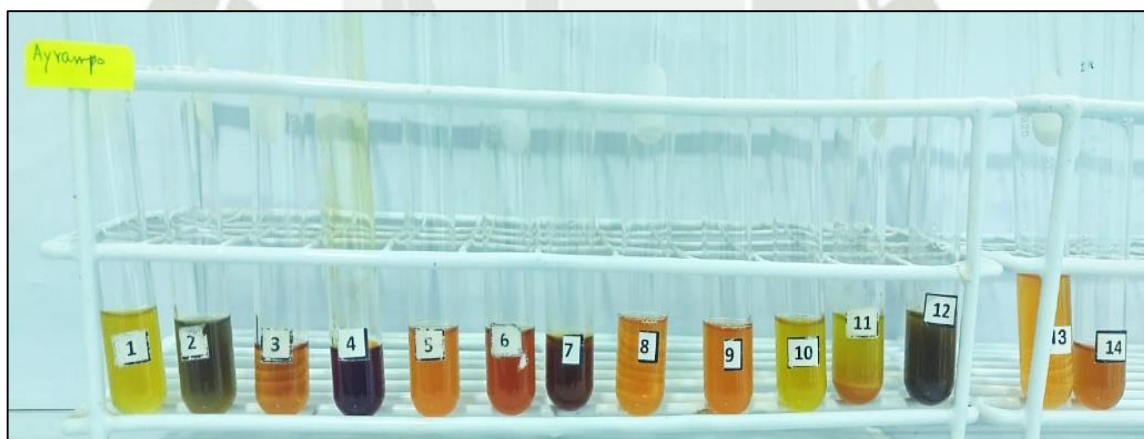


Proceso de secado de macerado hasta extracto seco

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE SOLUBILIDAD



PROCEDIMIENTO DE MARCHA FITOQUÍMICA

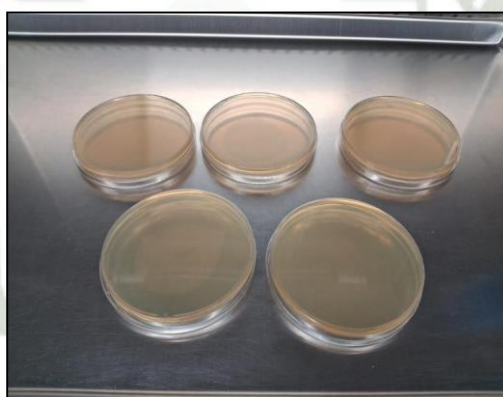


INFORME ENSAYO MICROBIOLÓGICO

I. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO

Preparación de Medio de Cultivo

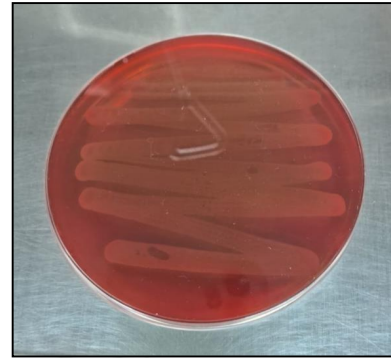
1.1. Agar Mueller Hinton



2. Reactivación de la cepa: Kwik-Stik Microbiologics – *Streptococcus pyogenes*
y *Staphylococcus aureus*



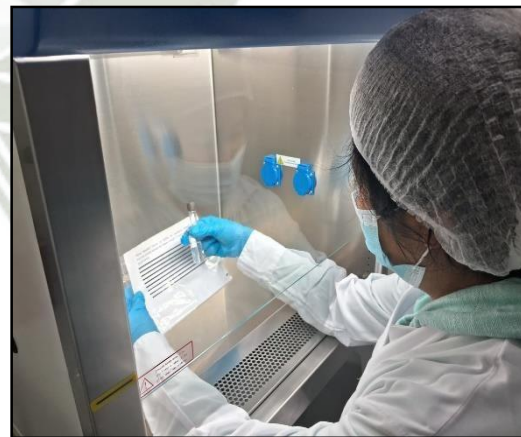
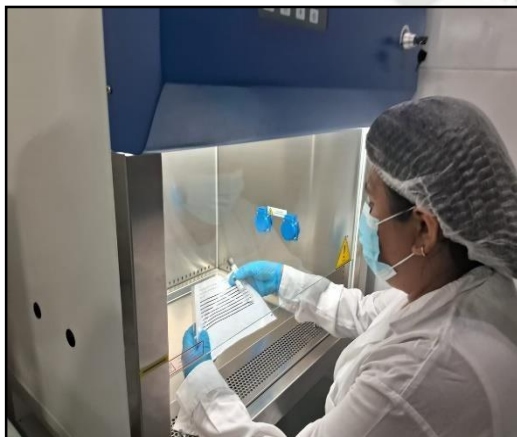
Staphylococcus aureus



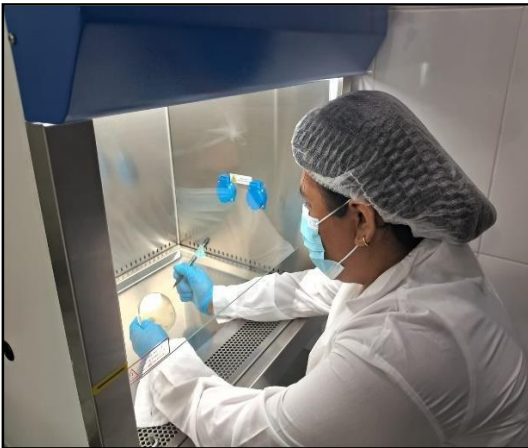
Streptococcus pyogenes



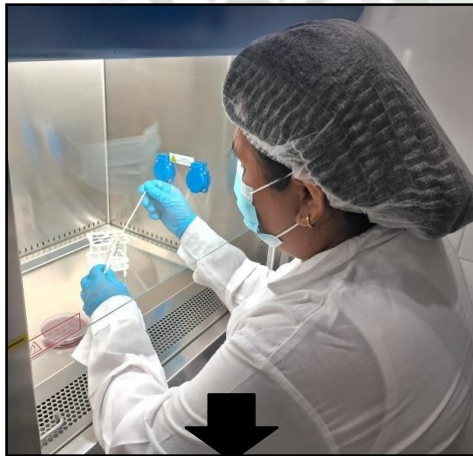
3. Método de preparación del inóculo



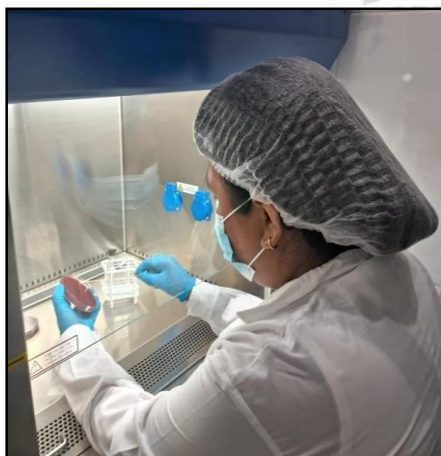
4. Inoculación de placas

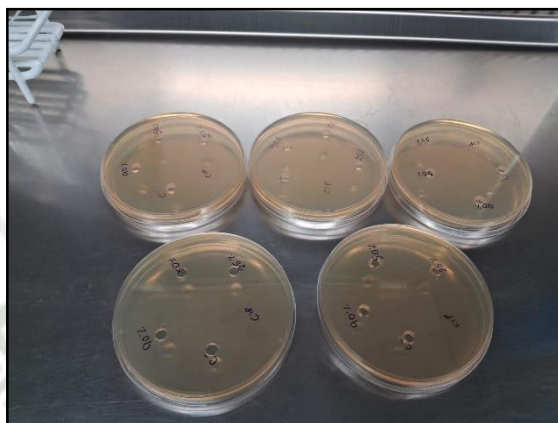


Rotulado de placas



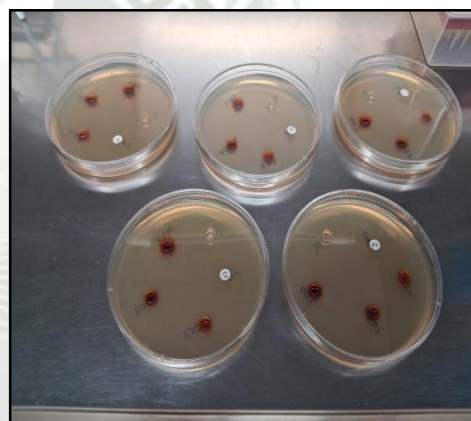
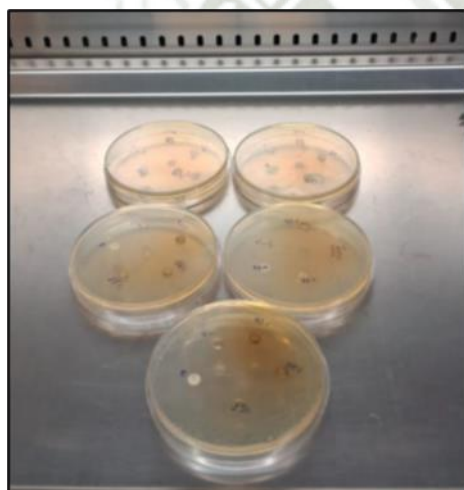
Siembra de placas



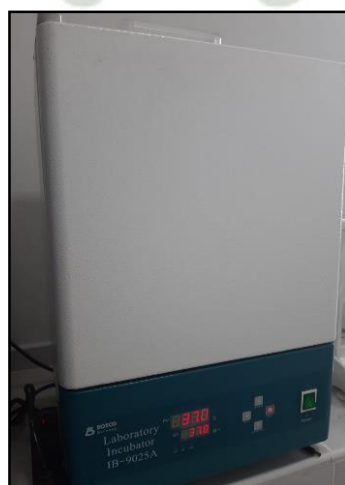


Pozos en agar con ayuda de un sacabocado

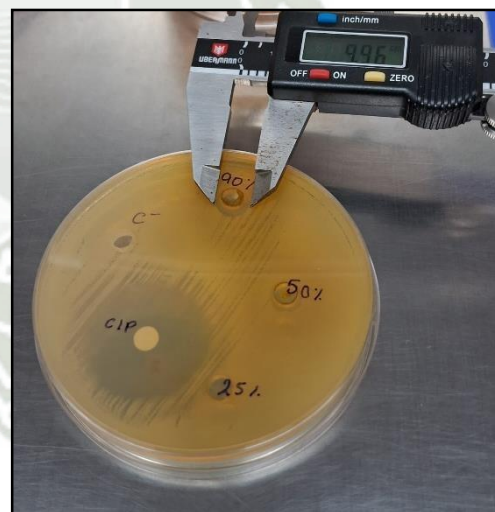
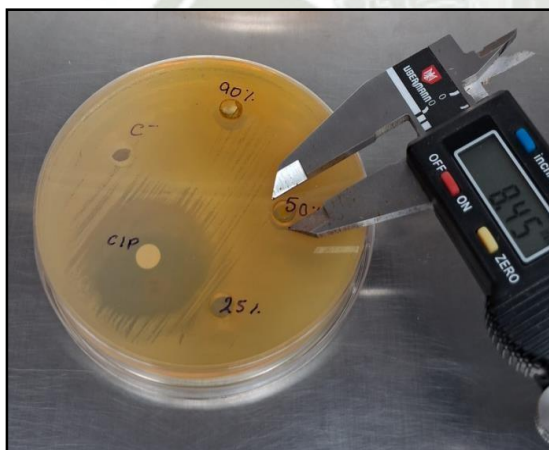
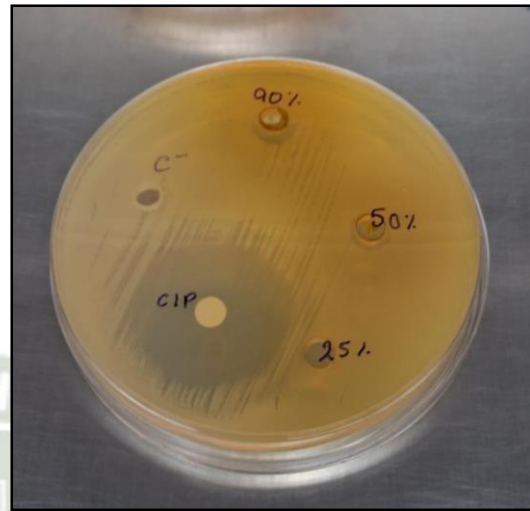
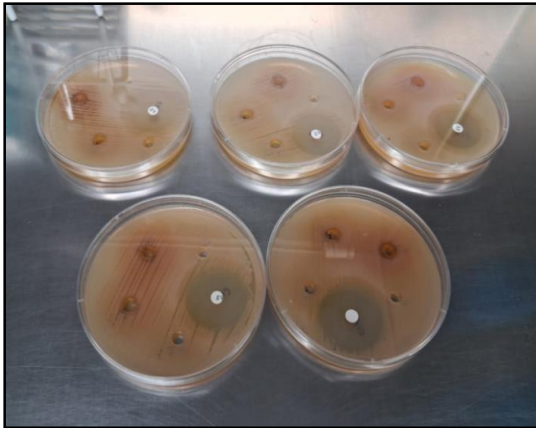
5. Preparación de sustancias experimentales



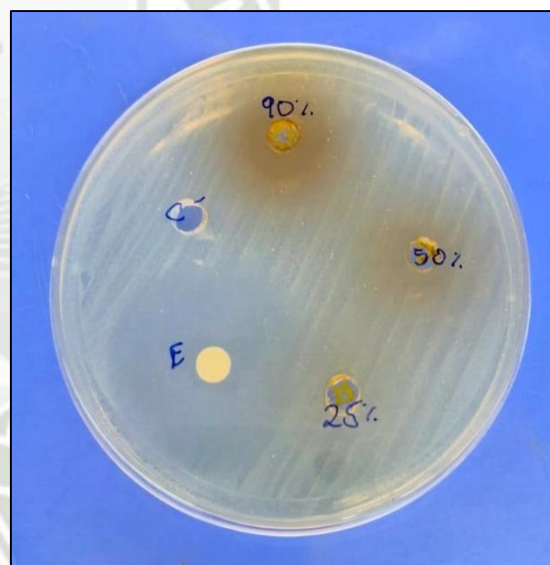
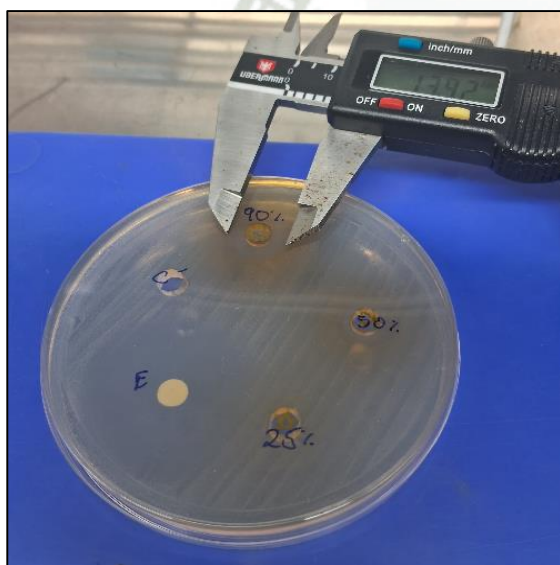
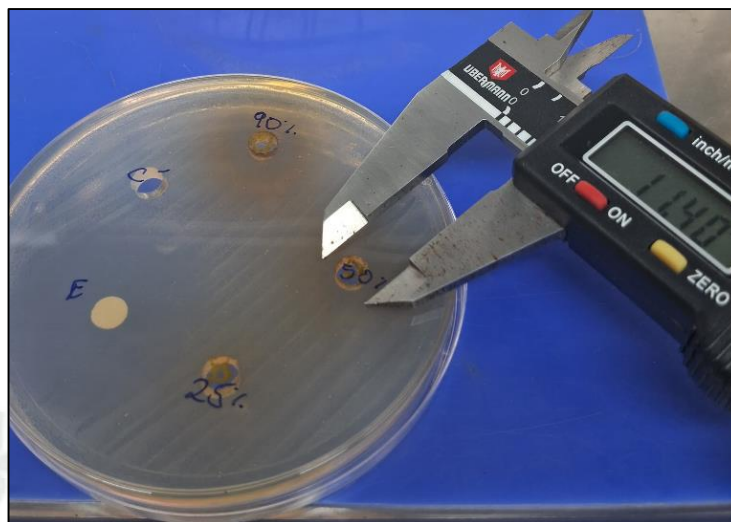
6. Incubación



7. Lectura de resultados



Staphylococcus aureus



Streptococcus pyogenes

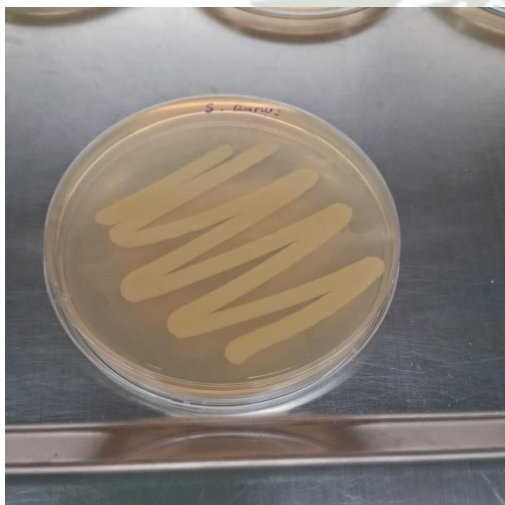
II. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

1. Macrodilución

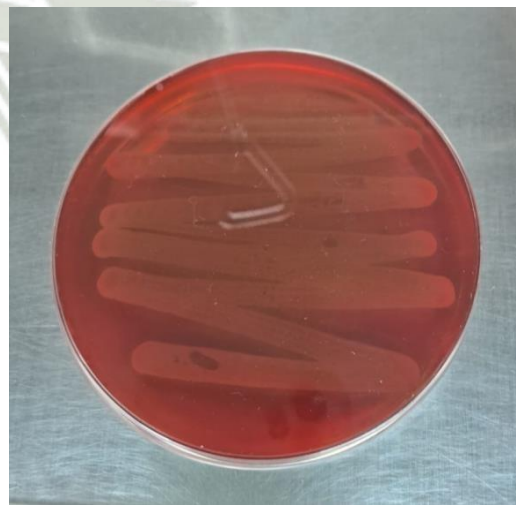


Extractos experimentales

- **Cepas bacterianas**



Staphylococcus aureus



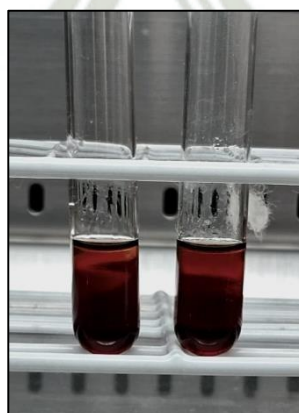
Streptococcus pyogenes

2. Dilución del inóculo estandarizado para pruebas de CIM

Streptococcus pyogenes



Tubo N° 1



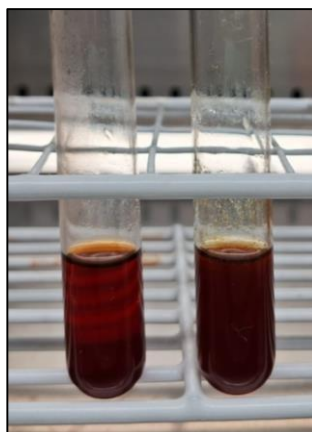
Tubo N° 2



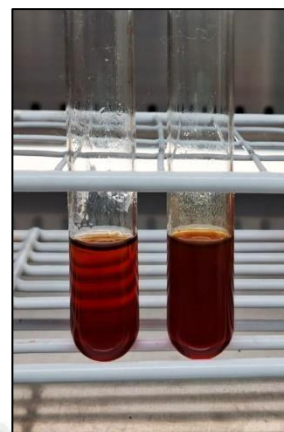
Tubo N° 3



Tubo N° 4



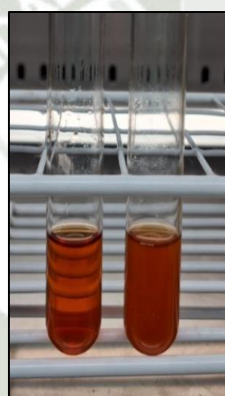
Tubo N° 5



Tubo N° 6



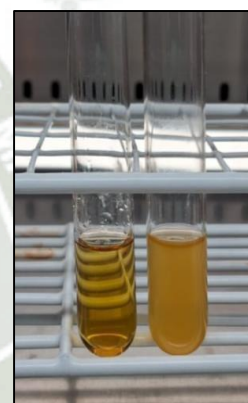
Tubo N° 7



Tubo N° 8



Tubo N° 9

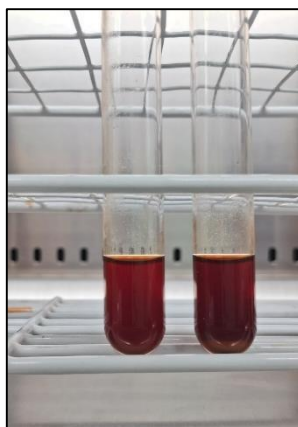


Tubo N° 10

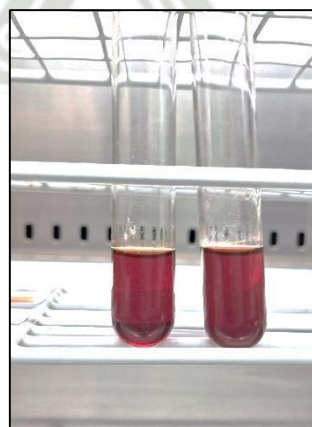


	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Caldo MH Extracto	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	2 mL Caldo MH	1 mL Caldo MH
Inóculo	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	-	1 mL
Conc. Final mg/mL	450	400	350	300	250	200	150	100	50	25	-	-
				CM I								

Staphylococcus aureus



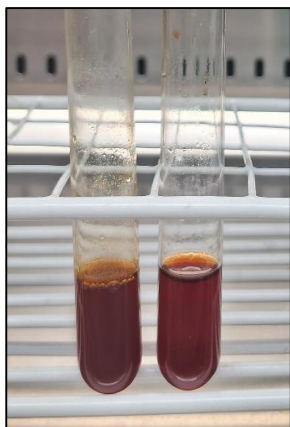
Tubo N° 1



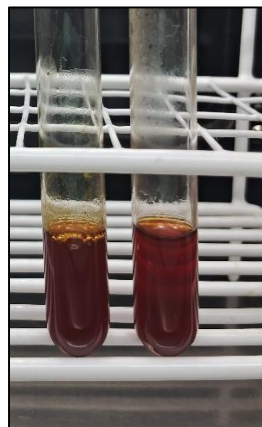
Tubo N° 2



Tubo N° 3



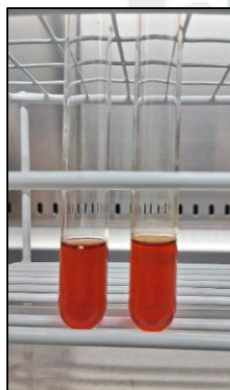
Tubo N° 4



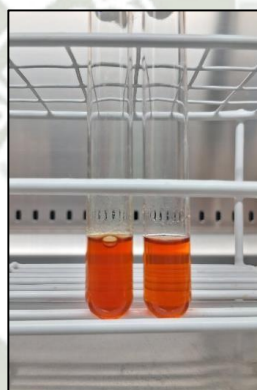
Tubo N° 5



Tubo N° 6



Tubo N° 7



Tubo N° 8



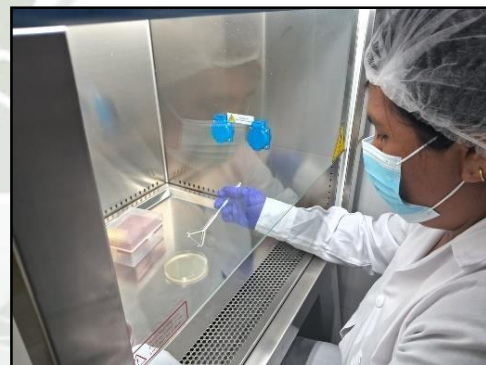
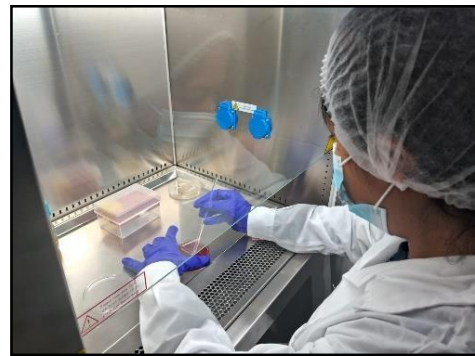
Tubo N° 9



Tubo N° 10

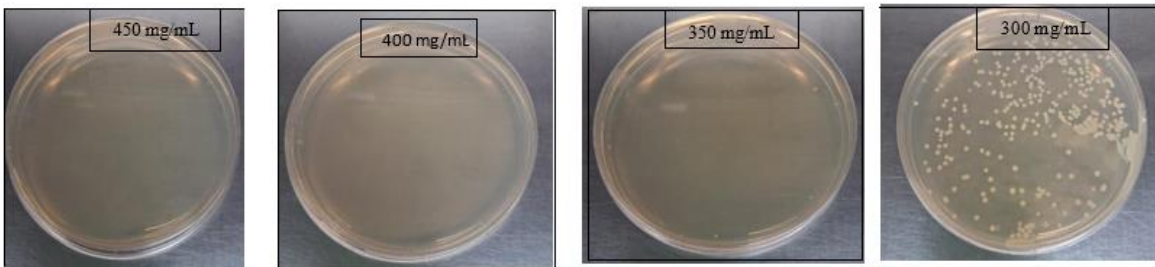
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Caldo MH Extracto	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	2 mL Caldo MH	1 mL Caldo MH
Inóculo	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	-	1 mL
Co nc. Final mg/mL	450	400	350	300	250	200	150	100	50	25	-	-
			CMI									

III. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)



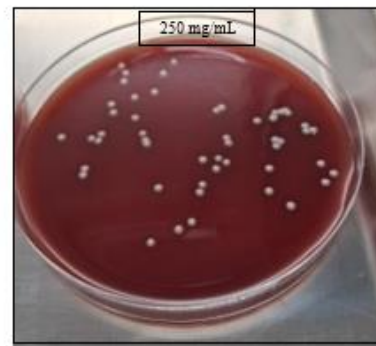
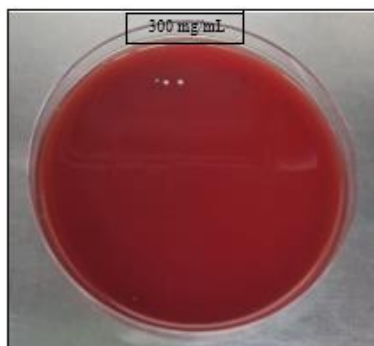
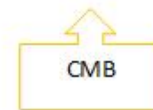
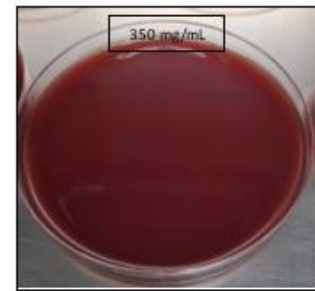
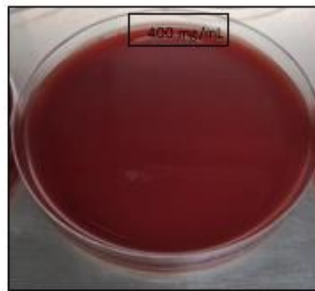
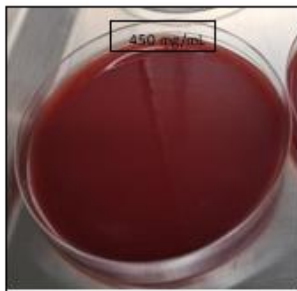
Incubación de placas

<i>S. aureus</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Conc. Final mg/mL	450	400	350	300	250	200	150	100	50	25	-	-
	CMB		CMI									



Resultados de CMB frente *S. aureus*

<i>S. pyogenes</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Conc. Final mg/mL	450	400	350	300	250	200	150	100	50	25	-	-
			CMB	CMI								



Resultados de CMB frente *S. pyogenes*