



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE OPUNTIA SOHERENSII  
(AYRAMPO) SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS.  
UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS. AREQUIPA-2016**

**EDITH SONIA ROSARIO TELLO**  
Tesis para optar el Título Profesional de  
Cirujano Dentista

**AREQUIPA- PERÚ  
2016**

## DEDICATORIA

A mi familia.

A mi padre, por su apoyo y su esfuerzo por brindarme todas las herramientas necesarias para convertirme en lo que soy hoy.

A mi madre, por su comprensión, por sus palabras de aliento, por su apoyo, para que siga adelante.

A mi hermano David por brindarme su confianza, por sus ánimos, por creer en mí, ser mí fuerza.

A mis hermanos Marcos, Nahúm y Luisa por alegrar mis días.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesor Mg. José Quispe; por brindarme su apoyo constante y su desinteresada ayuda para la realización de este trabajo.

Al Dr. Xavier Sacca; por su apoyo permanente, por su orientación y conocimientos impartidos para la realización del presente trabajo.

A la Dra. María Luz Nieto Muriel; por brindarme su apoyo, conocimientos y orientación constante para la realización de este trabajo.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	7
ABSTRACT .....	8
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	9
1. TITULO .....	10
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	10
3. ÁREA DEL CONOCIMIENTO .....	10
4. JUSTIFICACIÓN .....	10
5. OBJETIVOS .....	11
CAPITULO II: .....	12
A. MARCO TEÓRICO .....	13
1. AYRAMPO ( <i>Opuntia soherensii</i> ).....	13
1.1 Descripción botánica de la <i>Opuntia soherensii</i> .....	13
1.2 Distribución geográfica de la <i>Opuntia soherensii</i> .....	13
1.3 Ubicación taxonómica.....	14
1.4 Composición física de la <i>Opuntia soherensii</i> .....	14
1.5 Composición química de la <i>Opuntia soherensii</i> .....	14
1.6 Composición fitoquímica de la <i>Opuntia soherensii</i> .....	15
1.6.1 Fenoles .....	17
1.6.1.1 Mecanismo de acción.....	18
1.6.1.2 Espectro de actividad.....	18
1.6.1.3 Compuestos fenólicos .....	19
1.6.1.3.1 Flavonoides .....	19
1.7 Usos medicinales de <i>Opuntia soherensii</i> .....	22
2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE PRODUCTOS NATURALES.....	23
3. PORPHYROMONAS GINGIVALIS .....	25
3.1 Descripción .....	27
3.2 Taxonomía.....	27
3.3 Nutrición .....	27
3.4 Factores de virulencia .....	28

4	PORPHYROMONA GINGIVALIS Y SU RELACIÓN CON LA PERIODONTITIS.....	28
5	USO DE ANTIBIÓTICOS CONVENCIONALES EN PERIODONCIA.....	29
	5.1 Terapia antibiótica sistémica.....	30
6	MÉTODO DE EXTRACCIÓN.....	30
	6.1 Maceración.....	30
	6.1.1 Etanol.....	33
	6.2 Concentración mediante rotavapor.....	34
7	CULTIVO DE BACTERIAS ANAEROBIAS.....	34
	7.1 Medios de cultivos para bacterias anaerobias.....	35
	7.2 Sistemas anaerobios para el cultivo de bacterias anaerobias.....	35
	B. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN.....	36
	HIPÓTESIS.....	40
	CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	41
1.	ÁMBITO DE ESTUDIO.....	42
2.	TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	42
3.	UNIDADES DE ESTUDIO.....	43
4.	POBLACION Y MUESTRA.....	43
5.	TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	45
	5.1 Definición Operacional de Variables.....	45
	5.2 Técnicas e instrumentos de recolección.....	45
	5.2.1 Técnica.....	45
	5.2.2 Instrumentos.....	46
	5.2.3 Procedimientos para la recolección de datos.....	46
6.	PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS.....	52
7.	TÉCNICAS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	52
8.	RECURSOS.....	53
	A. HUMANOS.....	53
	B. FINANCIEROS.....	53
	C. MATERIALES.....	53
	D. INSTITUCIONALES.....	55

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	57
DISCUSIÓN.....	79
CONCLUSIONES.....	81
RECOMENDACIONES.....	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
ANEXOS.....	87

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar el efecto antibacteriano de la *Opuntia Sorehensii* (Ayrampo), en diferentes concentraciones, sobre la *Porphyromona Gingivalis* y comparar su efecto con dos grupos controles, uno de Metronidazol y el otro de Amoxicilina más Ácido Clavulánico.

La población de estudio estuvo constituido por cepas estandarizadas y certificadas de *Porphyromona Gingivalis*, de acuerdo a fórmula se estableció como tamaño muestral cinco (5) unidades por cada grupo de estudio. Se estudió la *Opuntia Sorehensii* en tres concentraciones, al 5%, 10% y 20%.

La técnica de recolección de datos que se utilizó fue la de Campo, observación laboratorial, como instrumento de investigación se aplicó una Ficha de Recolección de Datos Laboratorial. El tipo de investigación aplicado fue experimental y el diseño correspondió a un trabajo prospectivo, longitudinal, laboratorial y comparativo.

Los resultados demostraron que la *Opuntia Soherensii* al 5% tuvo un efecto antibacteriano sobre la *Porphyromona gingivalis* positivas y de acción muy leve. La *Opuntia Soherensii* al 10% también resultó ser positivas pero de acción leve. La *Opuntia Soherensii* al 20% tuvo un efecto positivo y de acción moderada. Comparando estas tres concentraciones, tanto a las 24 como 48 horas de aplicadas, la concentración al 20% fue la mejor.

Comparando su acción antibacteriana del *Opuntia Soherensii* al 20% con el grupo control, tanto a las 24 como 48 horas de aplicadas, el *Opuntia Soherensii* al 20% presenta un efecto antibacteriano intermedio.

### **Palabras Clave:**

*Opuntia Soherensii*. Efecto antibacteriano. *Porphyromona Gingivalis*.

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the antibacterial effect of *Opuntia Sorehensii* (Ayrampo) in different concentrations on *Porphyromona Gingivalis* and to compare its effect with two control groups, one of Metronidazole and the other of Amoxicillin plus Clavulanic Acid.

The study population consisted of standardized and certified strains of *Porphyromona Gingivalis*, according to the formula was established as sample size five (5) units for each study group. *Opuntia Sorehensii* was studied in three concentrations, at 5%, 10% and 20%.

The technique of data collection that was used was the field, laboratory observation, as a research instrument was applied a Data Sheet of Laboratory Data. The type of applied research was experimental and the design corresponded to a prospective, longitudinal, laboratory and comparative work.

The results showed that *Opuntia Soherensii* at 5% had an antibacterial effect on *Porphyromona gingivalis* positive and very mild action. *Opuntia Soherensii* 10% also proved to be positive but mild action. *Opuntia Soherensii* at 20% had a positive and moderate effect. Comparing these three concentrations, at both 24 and 48 hours of application, the concentration at 20% was the best.

Comparing its antibacterial action of *Opuntia Soherensii* to 20% with the control group, both at 24 and 48 hours of application, *Opuntia Soherensii* at 20% has an intermediate antibacterial effect.

Keywords:

*Opuntia Soherensii*. Antibacterial effect. *Porphyromone Gingivalis*.

# **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

## 1. TÍTULO:

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS. UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS. AREQUIPA- 2016**

## 2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

¿Cuál es el efecto antibacteriano de *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) sobre la porphyromona gingivalis?

## 3. ÁREA DEL CONOCIMIENTO:

**A. ÁREA:** Ciencias de la salud

**B. CAMPO:** Odontología

**C. ESPECIALIDAD:** Periodoncia

**D. LÍNEA:** Microbiología Periodontal,

**E. TÓPICO:** Efecto antibacteriano de *Opuntia Soherensii*

## 4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO:

El Perú posee una enorme variedad de plantas medicinales. Desde la antigüedad se ha sabido sobre el beneficio de contar con sus propiedades para todo tipo de dolencias e incluso para enfermedades crónicas. Tanto costa, sierra y selva cuenta con una diversidad de plantas medicinales que no solo son tradición sino que poco a poco la ciencia va aceptando sus bondades curativas. Por los beneficios que brindan muchas de ellas han sido estudiadas durante largos años y se ha descubierto sus múltiples aplicaciones y bondades en el tratamiento de enfermedades.

Las plantas medicinales se han usado por varios siglos debido a sus propiedades curativas y en la actualidad su demanda va aumentando por su valor natural porque disminuye el riesgo de toxicidad a diferencia de los fármacos usados comúnmente por el personal de salud para combatir enfermedades; además, la medicina tradicional a través de las plantas tienen mayor aceptación por la población por su bajo valor económico, por lo que han sido motivo de estudio científico para su uso adecuado, tal es el caso de la ***Opuntia Soherensii*** “**AYRAMPO**”, la cual tiene pocos trabajos de investigación que indican sus propiedades tales como antipirética, antiinflamatoria, antiviral y antibacteriana, que se debe a su composición fitoquímica (Betalainas, fenoles, taninos, flavonoides), para ser usada en el campo odontológico como complemento al tratamiento en pacientes periodontales, por sus beneficios.

La presente investigación contribuirá con el conocimiento porque se podrá difundir sobre los beneficios de la mencionada planta medicinal disponible y cómo utilizarla; alternativa terapéutica en atención primaria de salud, por la actividad antibacteriana de ***Opuntia Soherensii*** “**AYRAMPO**” sobre la ***Porphyromona Gingivalis***, la cual permitirá elegir una opción natural para los tratamientos frente esta bacteria que predomina en la enfermedad periodontal y de esta manera favorecer en la calidad de vida del paciente.

## 5. OBJETIVOS:

- Determinar la actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* al 5%, 10% y 20% sobre la *Porphyromona gingivalis*.
- Determinar la actividad antibacteriana de la amoxicilina más ácido clavulánico y metronidazol sobre la *Porphyromona gingivalis*.
- Comparar la actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* al 5%, 10% y al 20% sobre la *Porphyromona gingivalis*.
- Comparar la actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* al 20% con la amoxicilina más ácido clavulánico y metronidazol sobre la *Porphyromona gingivalis*.

# **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

## A. MARCO TEÓRICO

### 1. AYRAMPO (*Opuntia soherensii*)

#### 1.1 Descripción botánica de la *Opuntia soherensii*

Es una planta herbácea, pequeña, perenne. Es propia de zonas cálidas o templadas; las hojas con las que cuenta son modificadas y reducidas a espinas que desempeñan la función de protección contra animales de pastoreo. Sus tallos son aplanados y ovoides, carnosos, suculentos denominados cladiolos o pencas. El tamaño varía de 13 a 20 cm cuya principal función es sintetizar alimentos (por medio de la fotosíntesis) y sobre todo almacenar agua. Sus flores de color amarillo. Los frutos son bayas carnosas cuyas semillas recubiertas de un tejido parenquimatoso contienen abundante colorante del grupo de betalaínas (color escarlata). Cuando maduros se vuelven de color vinoso rojizo y son muy jugosos de sabor ligeramente dulce. (28, 32)

#### 1.2 Distribución geográfica de la *Opuntia soherensii*

El Ayrampo es una especie silvestre, originaria de los andes peruanos, en los departamentos de Ayacucho, Apurímac, Arequipa y Junín (pardo, 2002). Se desarrolla en laderas y cimas de cerros, formando densas colonias, junto a torales y pajonales. (18, 32).

Se desarrolla bien a temperaturas 12 a 34°C, con un rango óptimo de 17°C a 23°C, y con una precipitación promedio entre 400 a 800mm. Esta planta se desarrolla en suelos sueltos, arenosos calcáreos en tierras marginales y poco fértiles, superficiales, pedregosos, caracterizando una amplia tolerancia edáfica; sin

embargo los suelos altamente arcillosos y húmedos no son convenientes para el cultivo. Crece desde el nivel del mar hasta los 3000 m.s.n.m., alcanzando su mejor desarrollo entre los 1700 y 2500m.s.n.m, (28).

### 1.3 Ubicación taxonómica.(32)

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ División: Antofitas
- ✓ Clase: Dicotiledóneas
- ✓ Orden: Opuntiales Cactaceales
- ✓ Familia: Cactáceas
- ✓ Género: *Opuntia*
- ✓ Especie: *Opuntia soherensii* (Britton & Rose)

### 1.4 Composición física de la *Opuntia soherensii*

- 1.4.1 PULPA: Porción carnosa y representa el 72,8% del peso (pepa más pulpa) de la muestra. (18)
- 1.4.2 PEPA: El contenido de pepa en los frutos secos del ayrampo representa el 27.2% (pepa más pulpa), esta pepas se encuentran recubiertas por un tejido parenquimatoso que contiene el colorante en la pepa y esta representa el 3.5% de la muestra (pepa más pulpa) (18).
- 1.4.3 COLORANTE BRUTO: La cantidad de colorante representa el 23,6% del peso total de la muestra seca.(18)

### 1.5 Composición química de la *Opuntia soherensii*

El fruto de las cactáceas posee un valor nutricional superior al de otras frutas en varios de sus componentes: 100 g de la parte comestible posee 58 a 66 unidades calóricas, 3 g de proteína, 0.20 µg de grasas, 15.5 g carbohidratos, 30 µg de calcio, 28 µg de fósforo y vitaminas (caroteno, niacina, tiamina, riboflavina y ácido ascórbico) (18).

**Cuadro N°1. Composición química del fruto de Ayrampo por cada 100 g. de muestra húmeda (28).**

<b>COMPOSICIÓN</b>	<b>CANTIDAD (g)</b>
Agua	70.5 g
Grasas	1.2 g
Cenizas	1.5 g
Proteínas	8.9 g
Azúcares	5.6 g
Fibra	12 g
Vit. B1	0.1 mg
Vit. B2	0.32 mg
Vit. C	10.34 mg

### 1.6 Composición fitoquímica de la *Opuntia soherensii*

Su composición fitoquímico presenta betalainas, fenoles, taninos, flavonoides excepto antocianinas. Uno de los factores del color característico de frutos del género *Opuntia* se debe a las betalainas, pigmentos naturales hidrosolubles con nitrógeno en su estructura

que se sintetizan a partir del aminoácido tirosina. Además de dar coloración a los frutos que las contienen y poseer actividad antioxidante, las betalaínas son reconocidas por otras importantes actividades biológicas, tales como la inducción de la quinona reductasa, potente enzima de detoxificación en la quimio prevención del cáncer, y su actividad antiproliferativa de células de melanoma maligno. (32)

Los frutos que contienen betalaínas también poseen fenoles de diferentes tipos, excepto antocianinas, pues estas dos clases de pigmentos son mutuamente excluyentes. En algunas especies el contenido de fenoles es mayor que el de betalaínas, y en otras es lo contrario. En varias especies del género *Opuntia* los valores de fenoles totales fueron mayores que los de betalaínas (7).

**Cuadro N°2. Screening fitoquímico del extracto etanólico de las muestras biológicas (32).**

REACCIONES	<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo)
<b>Compuestos Fenólicos</b>	
Reactivo de cloruro férrico	+
<b>Taninos</b>	
Solución de gelatina 10%	+
<b>Flavonoides</b>	
Reactivo de Shinoda	+
<b>Alcaloides</b>	
Reactivo de Dragendorff	++
Reactivo de Mayer	++
Reactivo de Popoff	-
Reactivo de Bertrand	-
<b>Aminoácidos libres</b>	
Reactivo de ninhidrina	-
<b>Triterpenoides y esteroides</b>	
Reactivo de Liebermann-Burchard	-
<b>Saponinas</b>	-
<b>Azúcares reductores</b>	
Reactivo de Fehling	++

**Leyenda:** (+) ligera reacción positiva, (++) mediana reacción positiva, (-) reacción negativa

### 1.6.1 Fenoles

Los fenoles naturales presentan las mismas características de los fenoles sintético, lo que diferencia es que los naturales no son tóxicos y tiene una variedad de aplicaciones en diferentes áreas. Los fenoles  $C_6H_5OH$ , son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales. (17)

El fenol en forma pura es un sólido cristalino de color blanco-incoloro a temperatura ambiente. El fenol es un alcohol que puede sintetizarse mediante la oxidación parcial del benceno. Fenol, antiguamente llamado ácido fénico o ácido carbólico, es un compuesto orgánico aromático débilmente ácido y se asemeja a los alcoholes en su estructura. Los cristales incoloros, y en forma de aguja, del fenol purificado tienen un punto de fusión de  $43\text{ }^{\circ}\text{C}$  y un punto de ebullición de  $182\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Cuando están almacenados, los cristales se vuelven rosados y finalmente rojizos. (17)

Los tres grupos más importantes en los que se dividen los compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles. Químicamente los fenoles pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo a sus derivados funcionales. (21)

Su estructura se ha utilizado para diseñar derivados con mayor actividad antibacteriana y menor toxicidad, sustituyendo

hidrógenos del anillo bencénico por radicales alquílicos o halógenos. (27)

La solubilidad del fenol es poca en agua ya que aunque presentan el puente de hidrógeno, la proporción de carbonos con respecto a la cantidad de -OH es muy baja. (25)

#### 1.6.1.1 Mecanismo de acción

Depende de las concentraciones. A bajas concentraciones tiene acción bacteriostática; a elevadas concentraciones es bactericida; inactiva de forma irreversible sistemas enzimáticos esenciales (oxidasas y deshidrogenasas de membrana), desmorona la pared celular y precipita proteínas celulares. Tiempo de acción oscila entre 15 -20 minutos. (27)

#### 1.6.1.2 Espectro de actividad

Eficacia frente Gram positivas, Gram negativas y hongos. Pseudomonas y algunas especies de hongos son resistentes. Acción frente a virus lipídicos. Activo frente a virus lipídicos. Tiene cierta actividad frente a virus no lipídicos. La actividad esporicida es muy limitada y exige temperaturas elevadas. La actividad frente a micobacterias es moderada y varía según la formulación. Su actividad esta modulada por cambios moleculares que afectan el coeficiente de reparto agua/octanol, tensión superficial. (27)

### 1.6.1.3 Compuestos fenólicos

Los tres grupos más importantes en los que se dividen los compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles. (21)

#### 1.6.1.3.1 Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales, conocidos algunas veces como antoxantinas; comprende un grupo amplio de compuestos fenólicos que aparecen de forma espontánea en casi todas las plantas superiores. (32)

La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. Como características generales debemos señalar su solubilidad en el agua y el etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos y conjugados. (25)

##### 1.6.1.3.1.1 Estructura química

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través

de un anillo C de pirano (heterocíclico. En función de sus características estructurales se pueden clasificar en: 1. Flavanos, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C. 2. Flavonoides, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C. 3. Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3. 4. Antocianidinas, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C. (15)

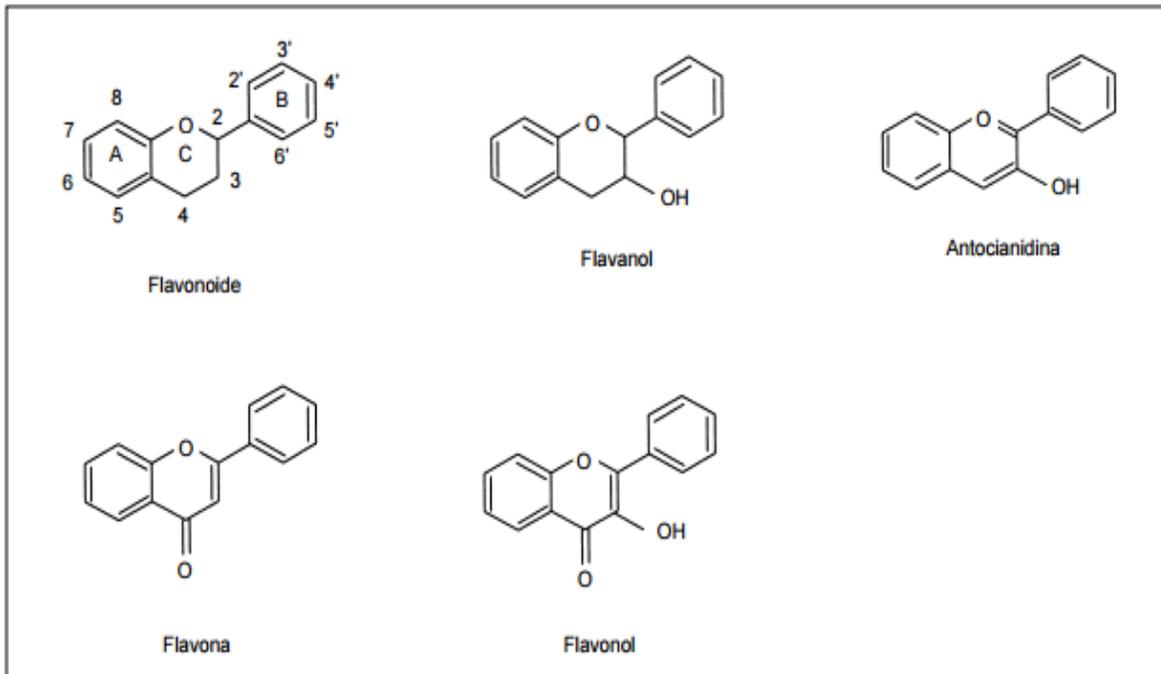


Fig. 1. Flavonoides. Estructura básica y tipos. (15)

#### 1.6.1.3.1.2 Beneficios de los flavonoides

Numerosos estudios describen los distintos efectos biológicos atribuidos a los flavonoides incluyendo la actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatoria, antipirético, espasmolítica, vasodilatadora, antihipertensivo, antiagregante plaquetaria, citotóxica, antialérgica, anticancerígena, vasoprotectora, antioxidante, inhibición del crecimiento de tumores, protectores de la mucosa gástrica, entre otras. Estos efectos se han atribuido a su influencia sobre el metabolismo del ácido araquidónico y se relacionan principalmente con dos de las actividades biológicas que los caracterizan y que han sido ampliamente descritas en numerosos trabajos de investigación (17,32):

- a) Propiedades antioxidantes y/o captadores de radicales libres.
- b) Capacidad de interferir con la actividad de distintos sistemas enzimáticos.

➤ **Antiinflamatorios y analgésicos:** Por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, se ha utilizado para el tratamiento de ciertas enfermedades como la artritis. Los taninos tienen propiedades astringentes, vasoconstrictoras y

antiinflamatorias, pudiéndose utilizar en el tratamiento de las hemorroides. (17)

- **Antimicrobianos:** isoflavonoides, furanocumarinas y estilbenos han demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas. (17)
- **Antioxidantes:** En las plantas los flavonoides actúan como antioxidantes. Durante años se estudió su efecto en el hombre, y recientemente se ha concluido que tienen un efecto mínimo o nulo en el organismo humano como antioxidantes. (17)

### 1.7. Usos medicinales de *Opuntia soherensii*

El extracto acuoso de *Opuntia soherensii*, un producto natural proveniente de la herbolaria medicamentosa tradicional con antecedentes de uso en procesos febriles eruptivos (14).

Algunas de las versiones existentes del ayrampo, corresponde a la categoría de remedio fresco, se emplea para calmar la fiebre, al alivio de la conjuntivitis e incluso para la cura del sarampión y la escarlatina. Son preparadas como agua de tiempo, en algunos casos se emplean solo las semillas, de igual manera preparado bien frío es utilizada para el lavado de ojos en caso de conjuntivitis, a la que la suelen llamar mal de ojo, además es utilizada para curar úlceras en la boca (aftas). A la infusión con que se la prepara, se le agrega media cucharadita de carbón de leña bien molido. Por otro lado el tratamiento de hernia, hígado irritado, úlceras estomacales y erisipela, utilizaban la raíz. El ayrampo contiene altos porcentajes de betalaínas cuya actividad antioxidante es vinculada con la actividad anticancerígena; hay

evidencia creciente de una poderosa actividad del fruto de ayrampo. La actividad antioxidante también fue comprobada sobre tumores de ovario, cervicales y vejiga in vitro e in vivo en ratones con cáncer de ovario con un extracto de fruto de cactus (*Opuntia*) a la cual contribuirían las betalaínas como principios activos más importantes. (32)

Estudios evaluaron su poder antibacteriano, dando como resultado que el extracción alcohólica de los extractos del *Opuntia soherensii* (ayrampo), presentaron actividad antibacteriana significativa (>18mm) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25933, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomona aureginosa* ATCC 27853.

**Tabla N°1.** Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con los extractos secos (obtenidos por extracción alcohólica) de *Opuntia Soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%. (32)

Promedio de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)				
Muestra	Microorganismos			
Extractos secos de los frutos en gel base	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	13	13	13	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	14.3	16	15.3	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	16	18	17	NP
Controles	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Gel base	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	37.6	33.6	41.6	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	31.3	33	37.6	NP
Fluconazol 25 µg/disco.	NP	NP	NP	28

**Leyenda:** NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

## 2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE PRODUCTOS NATURALES

En los últimos años se han descubierto unos componentes orgánicos responsables del poder curativo de los alimentos de origen vegetal: los fitoquímicos. Estos elementos constituyen realmente una farmacia vegetal, siendo mucho de ellos sintetizados en la industria farmacéutica. (12).

El género *Opuntia* aporta lípidos, proteínas, minerales, fibras, aminoácidos, agentes antioxidantes (Vitamina C, compuestos fenólicos y pigmentos Betalainicos). Existen estudios que el contenido de los metabolitos del género *Opuntia* mencionan los efectos beneficiosos de los fenoles debido a que se relacionan con una diversidad de acciones, como la prevención del daño oxidativo de ADN, lípidos y proteínas, inhibición de procesos inflamatorios e inducción de enzimas detoxificantes (22).

Uno de los mecanismos para la inducción de la resistencia es la presión selectiva a la que se someten las bacterias, pero como el uso de extractos vegetales es limitado, las bacterias no han desarrollado mecanismos de resistencia en su contra. Entonces es posible que los extractos vegetales y aceites esenciales puedan inhibir el crecimiento de cepas resistentes y multirresistentes. (10,32)

Las especias son reconocidas por estabilizar los alimentos frente al deterioro microbiano. Esto puede ser observado cuando las especias muestran inicialmente una alta carga microbiana y con el transcurrir del tiempo el crecimiento microbiano se vuelve progresivamente más lento o totalmente suprimido dicha actividad depende de varios factores, que incluyen(32):

- El tipo de especias.
- Composición y concentración de las especias.
- Especie microbiana y su nivel de incidencia.
- Composición del sustrato.
- Condiciones de transformación y almacenamiento.

El mecanismo exacto de acción antibacteriana de las especias, y sus derivados aún no está claro. Aunque algunas hipótesis han sido dadas, las cuales implican (32):

- Interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno de los compuestos fenólicos a las proteínas de membrana, seguido de la partición en la bicapa lipídica.
- Alteración de la permeabilidad de la membrana consecuente a su expansión y mayor fluidez causando la inhibición de las enzimas incrustadas de la membrana.
- Interrupción de la membrana.
- La destrucción del sistema de transporte de electrones.
- La perturbación de la pared celular.

Generalmente, las bacterias Gram-negativas han sido reportadas de ser más resistentes que las bacterias Gram-positivas a los aceites esenciales de efecto antimicrobiano, debido a los lipopolisacáridos de su pared celular que pueden evitar que los compuestos activos lleguen a la membrana citoplasmática de bacterias Gram-negativa (32).

### 3. PORPHYROMONAS GINGIVALIS

Las bacterias anaerobias son aquellos gérmenes que sólo pueden desarrollarse en ausencia de cantidades significativas de oxígeno (O<sub>2</sub>) y bajo condiciones de potenciales redox muy reducidos, por tanto son

estrictos en cuanto a sus exigencias de medio ambiente. Las formas vegetativas mueren cuando son expuestas al oxígeno molecular libre en la atmósfera, aunque el grado de resistencia bajo estas condiciones es variable (aerotolerancia). Los esporos bacterianos no son afectados por tratarse de formas biológicas metabólicamente inertes y con muy escasa proporción de agua en su composición. (1)

La *Porphyromona gingivalis* es el segundo patógeno periodontal probablemente más estudiado y la única especie de *Porphyromona* que produce ácido fenilacético como producto terminal de su metabolismo. (11)

La bacteria *Porphyromona gingivalis*, un constituyente prominente del biofilm subgingival maduro y un colonizador exitoso de la mucosa oral (surco gingival), es reconocida como una de las bacterias periodonto patógenas más prevalentes. (20)

En un estudio se recolectaron 134 muestras de pacientes que asistieron a consulta tomado del surco gingival de las cuales 90 correspondían a periodontitis, 36 a gingivitis y 8 a sanos, las muestras se tomaron con conos de papel, se conservaron en un Eppendorf que contenía tioglicolato y fueron incubadas en condiciones de anaerobiosis respectivamente a 37°C durante 3 horas. Con este método, se realizó la extracción de las 134 muestras y se llevó a cabo la cuantificación. En los sanos se encontró *P. gingivalis* en un 87,5% (7/8) de los pacientes y ninguno amplificó para *P. intermedia* y *A. actinomycetecomitans*. En los diagnosticados con periodontitis se encontró *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetecomitans* en un 86,7% (78/90), 57,7% (52/90) y 20% (18/90), respectivamente. En pacientes con gingivitis, se encontró *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetecomitans* en un 69,4% (25/36),

11,1% (4/36) y 19,4% (7/36), respectivamente. Se puede concluir que la bacteria *Porphyromona gingivalis* es la más prevalente en la mucosa oral tanto de pacientes sanos como enfermos. (16)

### 3.1 Descripción

*Porphyromonas gingivalis* es una especie de bacilos Gram negativo pequeño (cocobacilos), no esporulado, no móvil, anaerobio estricto, asacarolítico, que forma colonias uniformes de coloración verdosas, pardas o negras que requiere de vitamina K y hemina para su crecimiento en cultivo. Células de *Porphyromona gingivalis* tienen un diámetro de 0.5-0.8µm por 1.0-3.5µm de largo. Es considerado un comensal en la cavidad oral. (5,16)

### 3.1 Taxonomía

El género *Porphyromonas*, específicamente la especie *Porphyromonas gingivalis*, fue definido a partir del grupo *Bacteroides melanigogenicus* dada la heterogeneidad genética de este grupo, demostrada por Shah y Hardie, y Coykendall et al. (20) Por medio de la técnica de hibridación DNA-DNA, se propuso una nueva especie, *Bacteroides gingivalis* para estas bacterias de origen bucal. Luego, por la secuencia de rRNA de 16S, *Porphyromonas* se alejó genealógicamente de *Bacteroides* y *Prevotella*. Especies del género *Porphyromonas* se han encontrado asociadas con hospederos humanos y/o animales (5).

### 3.2 Nutrición

*Porphyromonas gingivalis* es una especie proteolítica, asacarolítica, anaerobia estricta, por lo que coloniza sitios en donde la tensión de

oxígeno es baja, pero en los cuales hay substratos abundantes en nitrógeno. El ecosistema subgingival proporciona un medioambiente ideal para esta especie, ya que, el potencial redox es bajo (y más bajo aun en sacos periodontales), y posee nutrientes endógenos ricos en péptidos y aminoácidos. (5,9).

### 3.3 Factores de virulencia

La *Porphyromona gingivalis* no posee plásmidos o agentes capaces de formar poros en las membranas celulares de las células objetivo; pero tiene elementos con potencial de inserción. Como factores de virulencia importantes para este microorganismo se encuentran las fimbrias, Proteinasas y lipopolisacáridos que permiten la adhesión a la superficie y llevar a cabo un proceso de quimiotaxis, alterando los mecanismos de defensa. (5,16). Cápsula de polisacárido. Son barreras físico-químicas de la bacteria, dan protección contra la desecación y resistencia a la fagocitosis por los PMN neutrófilos. (6)

La *Porphyromona gingivalis* tiene una cápsula densa y amorfa de aproximadamente 15 nm de espesor, alrededor de la membrana exterior. Existe una fuerte relación entre la encapsulación de *Porphyromona gingivalis* y la habilidad para funcionar como un patógeno oral. Esta encapsulación incrementa su resistencia a la fagocitosis, resistencia al suero e inducción decrecida a los leucocitos polimorfonucleares. Schiffer et al, postulan que esta barrera física gruesa funciona como una máscara física para los lipopolisacáridos, impidiendo la activación de la cascada del complemento. La bacteria invasora se protege de esta manera de la opsonización y fagocitosis (11).

#### 4 PORPHYROMONA GINGIVALIS Y SU RELACIÓN CON LA PERIODONTITIS

Una de las patologías más comunes en la cavidad oral es la periodontitis crónica, la cual presenta una etiología bacteriana predominante, siendo entre ellas, las que más destacan *P. gingivalis*, *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, que son considerados como el grupo agresivo en la lesión. Pero es la *P. gingivalis* la predominante en esta patología. En el Perú, según MINSA, la enfermedad periodontal, presenta una prevalencia de 85-87 %, no habiendo reportes de la periodontitis crónica, la cual se presenta en personas por encima de los 40 años. La bacteria una vez que llega a su habitat, se condiciona al medio para vivir en condiciones de oxidoreducción negativa, así como por su diversidad de factores de virulencia, rompe la homeostasis en el surco, generando una destrucción continua y agresiva de los tejidos de sostén del diente, llegando a degradar hueso y tejidos blandos. Esta destrucción va a generar signos clásicos como enrojecimiento perisulcular, incremento de la profundidad del surco gingival, sangrado al estímulo, movilidad de diversos grados, que con la cronicidad de la lesión puede perderse la pieza dentaria. (24)

#### 5 USO DE ANTIBIÓTICOS CONVENCIONALES EN PERIODONCIA

El objetivo principal de toda terapia periodontal es preservar tantos dientes como sea posible, retardando, deteniendo o revirtiendo la destrucción periodontal y previniendo la recurrencia de la enfermedad. (5). El tratamiento para la reducción y eliminación de *P. gingivalis* en la periodontitis crónica y otras formas de periodontitis, se basa en la remoción del Biofilm subgingival, por medio de la fase I del tratamiento

periodontal, desbridamiento mecánico raspado y alisado radicular. (24) En general, el destartaje y el pulido radicular resuelven el proceso de inflamación, y detienen el curso de la periodontitis. Sin embargo, áreas problemáticas como permanencia de sacos profundos, defectos óseos y furcaciones, no responden en forma óptima al desbridamiento mecánico como única terapia (5).

### 5.1 Terapia antibiótica sistémica

El concepto de terapia antibiótica periodontal considera tres aspectos fundamentales: tipo de fármacos, especies de microorganismos patógenos, y características del hospedero. Los antibióticos de tipo sistémicos, penetran y afectan todos los nichos ecológicos de los microorganismos de la cavidad oral en forma total, de sitios enfermos y sanos. Esto podría ser una ventaja en situaciones donde los periodontopatógenos están distribuidos a través de la totalidad de la boca, como ha sido visto en algunos pacientes, incluyendo sitios como el dorso de la lengua y las amígdalas (5). Se indica la mejora de la fisioterapia del paciente, a un nivel de control del índice de higiene oral a 20 %. Otro elemento que puede ayudar a mejorar el tratamiento es el uso de antimicrobianos, ya sea locales como la clorhexidina al 0.12 % aplicado dos veces por día por un periodo de 10 a 14 días, y sistémicos como la amoxicilina de 500 mg y Ácido clavulánico de 125 mg x 7 días, amoxicilina de 500 mg y metronidazol de 500 mg por 5-7 días, fluoroquinolonas como la moxifloxacin en dosis de 400 mg x día y la azitromicina de 500 mg por día, en 3 días consecutivos vía oral. Es fundamental que todo tratamiento periodontal tenga una fase de mantenimiento periódico de cada 3 meses, para ver la evolución de la lesión y hacer monitoreo del

marcador microbiológico de *P. gingivalis*, ya que su presencia podría indicar riesgo de una posible recidiva de la patología. (19,24) Varios regímenes de antibióticos sistémicos, incluyendo el uso de tetraciclina; amoxicilina; metronidazol o combinación de amoxicilina y metronidazol, han sido probados como terapia adjunta al tratamiento mecánico de N pacientes con "dificultad" para tratarlos y en sujetos con formas agresivas de periodontitis, obteniéndose positivos resultados en el manejo de dichas patologías. (5)

#### 5.1.1 Amoxicilina + Ac. Clavulánico

Es un antibiótico que elimina las bacterias que causan las infecciones. Contiene dos fármacos diferentes llamados amoxicilina y ácido clavulánico. La amoxicilina pertenece al grupo de medicamentos conocido como "penicilinas" que a veces puede perder su eficacia (se inactiva). El otro componente (ácido clavulánico) evita que esto ocurra. Funciona al detener el crecimiento de las bacterias. El ácido clavulánico pertenece a una clase de medicamentos llamados inhibidores de beta-lactamasa. Funciona al evitar que las bacterias destruyan la amoxicilina.(13)

Los antibióticos beta-lactámicos como la amoxicilina son bactericidas. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose a unas proteínas específicas llamadas PBPs (Penicillin-Binding Proteins) localizadas en la pared celular. Al impedir que la pared celular se construya correctamente, la amoxicilina ocasiona, en último término, la lisis de la bacteria y su muerte. (13)

### 5.1.2 Metronidazol

Es un antibiótico y antiparasitario del grupo de los nitroimidazoles. Inhibe la síntesis del ácido nucleico y es utilizado para el tratamiento de las infecciones provocadas por protozoarios y bacterias anaeróbicas. (13)

Tiene acción bactericida, inhibiendo los microorganismos sensibles en fase de crecimiento. El metronidazol penetra en las células bacterianas por difusión pasiva, siendo activado por un proceso de reducción, en aquellas células que poseen un sistema enzimático adecuado, como son las bacterias anaerobias. De la reducción del metronidazol resultan metabolitos activos que dañan el ADN de la bacteria, causando su muerte. Las bacterias aeróbicas tienen escaso poder reductor lo que explica la inactividad del fármaco frente a las mismas. (13)

## 6 MÉTODO DE EXTRACCIÓN

### 6.1 Maceración

Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la droga con el menstruo, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular. Es el procedimiento de extracción más simple, al conjunto de droga más solvente se lo protege de la luz, para evitar posibles reacciones y debe agitarse continuamente (tres veces por día, aproximadamente); el tiempo de maceración que oscilan entre cuatro

y diez días. A partir de este método no se consigue el agotamiento de las sustancias extraídas. “Cuanto mayor sea la relación entre el líquido extractivo y la droga, tanto más favorable será el rendimiento”.

(4)

#### 6.1.1 Etanol

Los solventes (menstruos) para preparar los extractos deben cumplir con los requisitos para los excipientes de uso farmacéutico señalados en las farmacopeas. Líquido incoloro, claro volátil y móvil. Aun a bajas temperaturas se volatiliza rápidamente. Olor suave característico y sabor ardiente. Es inflamable. Hierve a cerca de 78° C. (4)

El grupo hidroxilo confiere polaridad a la molécula y posibilidad de formar enlaces de hidrógeno. La parte carbonada es apolar y resulta hidrófoba. Cuanto mayor es la longitud del alcohol su solubilidad en agua disminuye y aumenta en solventes poco polares. Los alcoholes son moléculas polares, pero no todos son solubles en agua. El OH le confiere polaridad y la posibilidad de formar puentes de hidrógeno entre ellos mismos dando “moléculas asociadas” por lo que poseen puntos de ebullición y fusión superior a los alcanos respectivos y mayor solubilidad en agua. Los alcoholes de uno a cuatro átomos de carbono y los polialcoholes son solubles en agua, de cinco en adelante son insolubles en agua pero solubles en solventes apolares. De uno a diez átomos de carbono son líquidos, incoloros, de olor característico. De once carbonos en adelante son sólidos, blancos y cristalinos. (25)

**Tabla N°2. Características del Etanol. (25)**

Producto: Etanol absoluto Proveedor: Merck No lote: 1.00983.2500	
Características	Valor
Pureza (GC)	= 99.9 %
Color	= 10 Hazen
Densidad (20 °C)	0,790 – 0,793 g/cm <sup>3</sup>
Viscosidad (20 °C)	1,2 mPas
Valor de pH (10 g/l H <sub>2</sub> O, 20 °C)	7,0
Punto/intervalo de fusión	-114,5 °C
Punto/intervalo de ebullición	78,3 °C
Presión de vapor (20 °C)	59 hPa
Punto de ignición	425 °C
Punto de destello	12 °C
Solubilidad en agua (20 °C)	Miscible
Acidez o alcalinidad	< 30 ppm

## 6.2 Concentración mediante rotavapor

Este procedimiento consiste en evaporar mediante una combinación de temperatura provista por un baño calefactor y la generación de presión de vacío. Se produce una rotación que aminora el peligro de ebullición y se acelera la evaporación mediante el aumento de la superficie de la solución.

(4)

## 7 CULTIVO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

Las bacterias anaerobias se pueden cultivar eliminando el oxígeno del medio ambiente o estableciendo un potencial redox bajo, mediante la adición de los suficientes materiales reductores al medio de cultivo. (31)

## 7.1 Medios de cultivos para bacterias anaerobias

El metabolismo anaeróbico es menos eficiente que el aeróbico para la obtención de energía, por lo tanto los medios de cultivo deben ser más ricos que los de uso común para aerobios o anaerobios facultativos, además requieren una incubación más prolongada. Los medios empleados para la recuperación de anaerobios deben incluir tipos no selectivos y enriquecidos. Por lo general los anaerobios son bacterias muy exigentes. Se emplean medios complejos que llevan: hidrolizados de carne, peptonas, extracto de levadura, hemina, vitaminas, etc. El medio requiere sustancias reductoras como tioglicolato, glucosa, ácido ascórbico, cisteína, hierro, etc. (31)

## 7.2 Sistemas anaerobios para el cultivo de bacterias anaerobias

Estudios comparativos han demostrado que los siguientes sistemas son satisfactorios para el cultivo e incubación de bacterias anaerobias (31):

- Jarra anaerobia
- Tubos con película de agar con siembra por estrías en medios PRAS.
- Cámara anaerobia de CO<sub>2</sub>:  
Una incubadora es un dispositivo que sirve para mantener y hacer crecer cultivos microbiológicos o cultivos celulares. La incubadora mantiene la temperatura, la humedad y otras condiciones en grado óptimo, tales como el contenido de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y de oxígeno en su atmósfera interior. Las incubadoras son esenciales para una gran cantidad de trabajos experimentales en biología celular, la microbiología y en biología molecular y se utilizan para cultivos celulares, tanto bacterianos como de células eucariotas. (13)

## B. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

### ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Ramírez, J. FENOLOGÍA Y VALOR NUTRACÉUTICAS DE DIVERSAS VARIEDADES PIGMENTAS DE TUNA (OPUNTIA SP). (22). México 2013 la Universidad Autónoma de Chapingo realizó un estudio sobre once variedades pigmentadas de Tuna (*Opuntia* sp.); el análisis fitoquímico se aporta lípidos, proteínas, minerales, fibra, aminoácidos, agentes antioxidantes (vitamina C, compuestos fenólicos y pigmentos betalaínicos). En estudios recientes han demostrado los beneficios del consumo de frutos por la presencia de compuestos con propiedades nutraceuticas, debido a que previenen algunas enfermedades degenerativas y mantiene la buena salud del consumidor.

Requena, L. VAMOS A ESTUDIAR QUÍMICA ORGÁNICA. (25). Su estructura se ha utilizado para diseñar derivados con mayor actividad antibacteriana y menor toxicidad, sustituyendo hidrógenos del anillo bencénico por radicales alquílicos o halógenos. Mecanismo de acción Depende de la concentración: A bajas concentraciones ( $\leq 1\%$ ) tiene acción bacteriostática. A elevadas concentraciones es bactericida; inactiva de forma irreversible sistemas enzimáticos esenciales (oxidasas y deshidrogenasas de membrana), desmorona la pared celular y precipita proteínas celulares. El tiempo de actuación oscila entre 15-20 minutos.

Rodrigo, G. ACTIVIDAD GENOTÓXICA DE OPUNTIA SOHERENSII, EVALUADA POR EL TEST DE MUTACIÓN Y RECOMBINACIÓN SOMÁTICA EN EL D. MELANOGASTER. (26). Bolivia 2007, la revista BIOFARBO realiza el estudio del extracto acuoso de *Opuntia soherensii*, fue evaluado en su capacidad genotóxica por el test SMART en alas de D.

Melanogaster. Se evaluó por dos cruces diferentes; cruce estándar y cruce de alta Bioactivación. Los resultados muestran que el Opuntia Soherensii no es genotóxica en concentraciones de 3.57 mg/ml y 7.4 mg/ml para ningún de los dos cruces, pero es promutagenica a 1.78 mg/ml.

Zambrana, S. Silvia; Terceros, A. Patricia; Terraza, A. Katty; Carvajal, S. Roger. ESTUDIOS SOBRE LA ACCIÓN ANTIVIRAL DEL OPUNTIA SOHERENSII. ¿ACTIVIDAD PROTECTORA DE LA INFECCIÓN POR HSV? (33). Bolivia 2006, la revista BIOFARBO presenta el estudio sobre la Opuntia soherensii, que ha mostrado tener actividad protectora de las infección causada por el virus Herpes Simple. Opuntia soherensii mostró actividad de protección antiviral optima a 48 horas de exposición, con una efectividad media (EC50) de 0,029 mg/ml por reducción del erecto citopatico y 0,012 m/ml por ensayo de reducción del MTT. La característica de esta actividad se exploró evaluando el sobrenadente del lisado celular y el medio de cultivo expuesto a Osp, encontrando el 95% de actividad detectada por reducción del efecto citopatico. Estos hallazgos sugieren que el Osp induce la producción de componentes celulares responsables de la actividad antiviral protectora.

## **ANTECEDENTES NACIONALES**

Morales P. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTABILIDAD DE LA BETANINA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y FENÓLICOS TOTALES DE LOS EXTRACTOS DE AYRAMPO (*OPUNTIA SOEHRENSII* BRITTON & ROSE) Y BETERRAGA (*BETA VULGARIS L.*). (18). LIMA 2007, Se evaluó la capacidad antioxidante y fenólicos totales del Ayrampo y la Beterraga; se encontró que no existen diferencias significativas entre la capacidad antioxidante Extractos de Ayrampo y Beterraga una misma concentración de betanina (concentración de 200mg/L), pero el contenido de fenólicos

totales fue mayor en el extracto de ayrampo ( $101.43 \pm 0.58$ , mg ácido clorogénico equivalente/ 100ml extracto); que la beterraga ( $87.07 \pm 0.15$ , mg ácido clorogénico equivalente/ 100ml extracto ).

Soto, H. "EFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFÚNGICA 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". (32). Lima 2014; Se investigó la actividad antimicrobiana de los extractos de los frutos de *Zea Mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo); y el diseñar un gel de limpieza cutánea a base de los extractos que contenga mejores resultados de inhibición de crecimiento bacteriano y fúngico. Los compuestos químicos identificados cualitativamente en el screening fitoquímico de los extractos del *Zea Mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) fueron: compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y azúcares reductores. Los extractos secos del *Opuntia soherensii* (ayrampo) y del *Rubus glaucus* (mora) obtenido por extracción alcohólica a una concentración de 100 mg/mL. y 200 mg/mL. presentaron actividad antibacteriana significativa al generar halos de inhibición en cultivos con *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 (un máx. de 20.3 mm. de  $\emptyset$ ), *Escherichia coli* ATCC 8739 (un máx. de 27.3 mm. De  $\emptyset$ ) y *Pseudomona aureginosa* ATCC 27853 (un máx. de 26.6 mm. de  $\emptyset$ ).

## **ANTECEDENTES LOCALES**

Huamani, A. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE SSP. AL 12.5%, 25%, 50%, 75% Y 100% Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% Y 2% EN PORPHYROMONA GINGIVALIS. (9). Arequipa 2008. Existen múltiples estudios sobre la actividad antibacteriana de los extractos de diferentes

tipos de orégano. Entre sus compuestos fitoquímico presenta fenoles carvacrol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram positivos. Dicha acción antibacteriana se debe al efecto sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos.

Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *origanum vulgare* ssp. Al 50% es similar al gluconato de clorhexidina al 0.12% en *porphyromona gingivalis*.

### **C. HIPÓTESIS**

Dado que el contenido fitoquímico del *Opuntia soherensii* (ayrampo) presenta betalaínas (un alcaloide) y fenoles de diferentes tipos, en los cuales, dependiendo a su concentración, tienen acción bacteriostática y/o bactericida; inactivando de forma irreversible sistemas enzimáticos esenciales (oxidasas y deshidrogenasas de membrana), disgrega la pared celular y precipitan proteínas celulares en las bacterias.

Es probable que los compuestos de *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) presenten actividad antibacteriana sobre la *Porphyromona gingivalis*.

# **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

## 1. ÁMBITO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en dos Laboratorios, el primero de Farmacognosia y Bromatología y el segundo de Microbiología de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa.

El Laboratorio de Farmacognosia y Bromatología disponía del equipo necesario para realizar la fase experimental química: Rotavapor.

El Laboratorio de Microbiología disponía del equipo necesario para realizar la fase experimental microbiológica: Cámara de CO<sub>2</sub>, autoclave, balanza analítica Mettler, refrigerador.

## 2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

### 2.1 TIPO DE ESTUDIO:

La presente investigación es de tipo **Experimental** ya que se aplicó LA *Opuntia Soherensii* en diferentes concentraciones (5%, 10% y al 20%) para conocer su actividad antibacteriana sobre la *Porphyromona gingivalis*, dentro de un ambiente controlado.

### 2.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

#### 2.2.1 De acuerdo a la temporalidad

La presente investigación es **Longitudinal** ya que se evaluó el efecto antibacteriano del *Opuntia Soherensii* a diferentes concentraciones (5%, 10% y al 20%) sobre la *Porphyromona gingivalis* (grupo de estudio) en dos momentos, a las 24 y 48 horas.

2.2.2 De acuerdo al lugar donde se obtendrán los datos:

La presente investigación es **Laboratorial** ya que la recolección de datos se dio únicamente en el laboratorio.

2.2.3 De acuerdo al momento de la recolección de datos

La presente investigación es **prospectiva** debido a que nuestros datos se obtuvieron después del proceso experimental.

2.2.4 De acuerdo a la finalidad investigativa:

La presente investigación es **Comparativa** ya que se evaluó la actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) sobre la *Porphyromona gingivalis* en diferentes concentraciones.

### 3. UNIDADES DE ESTUDIO

*Porphyromona gingivalis* ATCC33277

### 4. POBLACION Y MUESTRA:

La población de estudio estuvo constituida por microorganismos anaerobios; *Porphyromonas gingivalis* que es una especie de bacilos Gram negativos pequeños (cocobacilos), no móviles, anaerobios estrictos, asacarolíticos. Para la presente investigación se utilizó una muestra cuyo tamaño está determinado por la siguiente fórmula:

$$n = \frac{z \cdot \alpha^2 \cdot p \cdot q}{E^2}$$

Dónde:

n= Número de unidades de estudio por grupo.

$z. \alpha^2 = 1.96$ ; que es un coeficiente de confianza del 95%.

p = Probabilidad de que el fenómeno ocurra en 99%.

q = 1

E = Error muestra. 9%.

En base a los antecedentes, se tomaron los siguientes valores:

$z. \alpha^2 = 1.96$ ; p = 99%; q = 1; E = 9%.

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96)^2 \cdot (99) \cdot (1)}{(9)^2}$$

$$n = 4.6 \cong 5$$

Para la siguiente investigación se trabajó con 5 muestras por grupo, las muestras reunieron los criterios de inclusión.

#### 4.1 Criterios De Inclusión

- Cepas con certificado de análisis(Anexo N° 2)
- Cepas con Reporte Laboratorial (Anexo N° 3)

## 5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS:

### 5.1 Definición Operacional de Variables:

#### 5.1.1 Variable principal:

V. ESTÍMULO : *Opuntia soherensii* (ayrampo)

V. RESPUESTA : Efecto antibacteriano

#### 5.1.2 Tabla de Variables Principales:

VARIABLE	INDICADOR	SUB INDICADORES	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICION	TIPO
<i>Opuntia soherensii</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Conc. 5%</li><li>➤ Conc. 10%</li><li>➤ Conc. 20%</li></ul>		Cualitativa	Ordinal	Estímulo
Efecto antibacteriano	Halos de inhibición	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Sensible</li><li>➤ Intermedio</li><li>➤ Resistente</li></ul>	Cuantitativo	Razón	Respuesta

### 5.2 Técnicas e instrumentos de recolección

#### 5.2.1 Técnica:

La presente investigación utilizó la técnica de **observación experimental**.

## 5.2.2 Instrumentos:

Como instrumento la ficha de recolección de datos experimentales (Anexo N° 1)

## 5.2.3 Procedimientos para la recolección de datos

### 5.2.3.1 PRUEBA PILOTO

Cepa bacteriana de estudio:

Se trabajó con cepas estándar ATCC, (American Type Culture Collection) de especie bacteriana implicadas en la Enfermedad Periodontal:

*Porphyromona gingivalis ATCC33277*

Para la activación, estandarización, identificación, inoculación, aplicación de discos, incubación y toma de datos de la cepa bacteriana *Porphyromona gingivalis ATCC33277*, se siguieron los siguientes pasos:

1. Para la activación de la cepa estándar *Porphyromona gingivalis ATCC33277*(Anexo n°4)
2. Para viabilizar esta cepa bacteriana se utilizó 40mg de Agar base sangre añadió 1 mg de hemina pura, 1 mg de vitamina K y 5 ml de sangre de carnero, se mezcló todo con movimientos circulares suaves. Luego se incubó a 37°C por 5 días. Al cabo de 5 días se observó el crecimiento de las colonias.
3. Estandarización del inóculo de *Porphyromona gingivalis ATCC33277*: La estandarización del inóculo fue según escala

de Mc Farland 0.5, para lo cual se tomó con un asa estéril tres a cuatro colonias de *Porphyromona gingivalis* y se transfirió a un tubo con 4 a 5ml de caldo de tioglicolato, controlando la turbidez del inóculo, hasta obtener la misma turbidez que el patrón de Mc Farland 0.5., que equivale aproximadamente a  $1-2 \times 10^8$  UCF/mL.

4. Inoculación de las placas : Después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, se tomó 1 ml del inóculo y se procedió a sembrar la *Porphyromona gingivalis* en toda la superficie de las placas Petri que contiene 200mg de Agar base sangre añadió 2 mg de hemina pura, 2 mg de vitamina K y 20 ml de sangre de carnero) siguiendo cuatro direcciones diferentes para conseguir una buena inoculación bacteriana y posteriormente se dejó reposar durante 15 minutos
5. Aplicación de los discos a las placas inoculadas: Se esterilizó discos para antibiograma y con pinzas estériles se procedió a colocar en cada una de las placas: 1disco con 0.1 ml de Opuntia Soherensii al 1.25%, 1disco con 0.1 ml de Opuntia Soherensii al 2.5%, 1 disco con 0.1 ml de Opuntia Soherensii al 5%, 1 disco con 0.1 ml de Metronidazol y 1disco con 0.1 ml de Amoxicilina más Ácido clavulánico.
6. Incubación: Después de la colocación de los discos, las placas se dejaron reposar por 15 minutos para que las sustancias se disiparan en el medio y luego se llevó a las condiciones adecuadas a una temperatura de incubación de 37°C a 7% de CO<sub>2</sub> por 24 horas obteniendo los primeros resultados.
7. Toma de datos: Después de las 24 horas de incubación, cada placa fue examinada y se procedió a la lectura de los diámetros de los halos de inhibición, los cuales fueron

medidos con la ayuda de un calibrador manual (Vernier), el cual nos dio la medida individual de los halos en mm, formados en cada uno de los discos embebidos con cada una de las sustancias presentes en las placas sembradas.

#### 8. Resultados

A la lectura de los halos de inhibición presentaron: (ANEXO N°6)

- Reacción negativa al *Opuntia Soherensii* al 1.25% (0 mm)
- Reacción negativa al *Opuntia Soherensii* al 2.5% (0 mm)
- Reacción positiva al *Opuntia Soherensii* al 5% (8-20 mm)

Según los resultados de la prueba piloto el *Opuntia Soherensii* al 5% presentó actividad antibacteriana, lo cual nos permitió ejecutar nuestra hipótesis.

#### 5.2.3.2 PROCEDIMIENTO

Para la elaboración de nuestra solución se utilizaron el fruto del *Opuntia Soherensii*

- Colección e identificación del material botánico

Los frutos y la especie botánica del *Opuntia Soherensii* (ayrampo) fueron recolectados el 31 de agosto del 2016, Distrito de Madrigal, Provincia de Paucar Caylloma, Departamento de Arequipa, a una altitud de 3 262 msnm.

La cantidad de fruto colectado de esta especie botánica fue de 2 Kg.

- Obtención de la muestra:

Se seleccionaron y lavaron los frutos con características homogéneas y libres de daño físico. A cada fruto se le realizó un acondicionamiento previo para luego ser llevado al proceso de desecación.

Se procedió a separar la cáscara de la pulpa en un recipiente adecuado; luego se tamizó la pulpa para separarla de las pepas.

La pulpa libre de pepas se desecó en una estufa a 37°C por 48 horas; se realizó el proceso de extracción (maceración en alcohol etílico) y se obtuvo el extracto utilizando el rotavapor, con la finalidad de identificar los metabolitos activos de cada especie y demostrar las diferencias de su actividad antibacteriana.

- Extracción Alcohólica

El tipo de extracción es el método de maceración alcohólica. En tres envases de vidrio se colocaron individualmente las soluciones; en el primer frasco se colocó 5 gramos del extracto seco en 100ml de alcohol etílico de 70°; en el segundo frasco 10 gramos del extracto seco en 100ml de alcohol etílico de 70° y por último en el tercer frasco 20 gramos del extracto seco en 100ml de alcohol etílico de 70°.

Se agitó cuatro veces por día; el tiempo de maceración fue por 15 días. Después de los 15 días de maceración se filtró a través de una membrana estéril.

Posteriormente se procedió a pasar la solución por el rotavapor, obteniendo 13ml del concentrado puro al 5%, 10% y 20%.

#### 5.2.3.3 Determinación de la actividad Antibacteriana:

Se evaluó la actividad antibacteriana en diferentes concentraciones (5%, 10%, 20%) de *Opuntia Soherensii*

#### 5.2.3.4 Método de difusión en agar.

➤ Preparación de un medio sólido en placa. (Agar sangre).

1. Se pesó 1.6g de Agar base sangre y se rehidrato con 40ml de agua destilada en un matraz, se calentó hasta que el medio de cultivo se volvió translucido.
2. Se esterilizó el medio en autoclave a 121°C, 1.5 atm de presión por 15 minutos.
3. Se retiró de la autoclave, se aseguró el tapón e introdujo el matraz en un baño a 40°C al menos durante 30 minutos, luego se añadió 1 mg de hemina pura, 1mg de vitamina K y 5 ml de sangre de carnero, se mezcló todo con movimientos circulares suaves.
4. Se distribuyó el medio en 3 placas Petri que están estériles en las proximidades de mecheros, se flameó bien

el pico del matraz para evitar cualquier forma de contaminación.

5. Se dejó que el medio solidifique.

Preparación de medio líquido en tubo (tioglicolato).

1. Se pesó 1.16g de tioglicolato y se rehidrató con 40ml de agua destilada en un matraz.
2. Se distribuyó con una pipeta en dos tubos (sin llenarlos más de 2/3 de su volumen).
3. Autoclavar, a 121°C, 1.5 atm de presión por 15 minutos
4. Sacar de la autoclave y dejar enfriar.
5. Todos los medios se guardan en refrigeración a 4°C.

#### 5.2.3.5 Microorganismos:

*Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 proporcionado por laboratorios GenLab

#### 5.2.3.6 Activación de la cepa (ANEXO N° 4)

1. Se dejó la bolsa sin abrir de KWIK-STIK TM para que se equilibre a temperatura ambiente. Al abrir la bolsa por la muesca se retiró la unidad de KWIK-STIK TM.
2. Se tiró por la lengüeta de la etiqueta y se colocó en la placa de cultivo principal. No se desarmó el dispositivo durante la hidratación.
3. Se apretó (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK TM (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.

4. En posición vertical se golpeó sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. El líquido hidratante fluyó a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
5. Apretando en la parte inferior de la unidad, se trituro el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
6. De inmediato, se saturó bien el hisopo en el material hidratado y transfirió al medio de cultivo con agar.
7. Se Inoculó la placa del cultivo principal haciendo rodar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
8. Con un asa estéril, por técnica de agotamiento que facilito el aislamiento de colonias.
9. Se desechó de riesgo biológico adecuado para KWIK-STIK TM.
10. De inmediato, se incubó la placa del cultivo principal a temperatura (36.6°C) y condiciones adecuadas para el microorganismo (Cámara de CO<sub>2</sub>) *Porphyromona gingivalis*.

#### 5.2.3.7 Preparación de la suspensión del inóculo

Las colonias aisladas fueron seleccionadas después de 5 días de incubación a 37°C de temperatura, de los medios de cultivo sembrados anteriormente.

El inóculo se preparó mediante una suspensión directa en caldo tioglicolato de las colonias aisladas y ajustar la turbidez del inóculo utilizado al tubo N° 0.5 (1.5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL) de la escala Mac Farland.

#### 5.2.3.8 Preparación de las placas.

El medio de cultivo que se empleó es Agar base sangre (8g), agua destilada (200ml), previamente esterilizado en autoclave a 121°C x 15 min; se agregó sangre de carnero(20ml), complementado con vitamina K(2mg) y hemina(2mg).

Se enfría y mantiene a 45°C, se repartió 20mL uniformemente en cada placa Petri(10), luego se dejó solidificar y se rotulo cada placa; se agregó 1 mL de suspensión del inóculo por cada placa petri, se distribuyó por todo el medio de cultivo con ayuda del asa de digraski asépticamente. Posteriormente se ubicó los discos impregnados con los controles y los extractos en el mismo medio de cultivo, distribuidos equitativamente en el interior de cada placa.

Se cultivó la bacteria anaerobia *Porphyromona gingivalis* para ser expuesta a las concentraciones de *Opuntia Soherensii* a concentración al 5%, 10% y 20%; de la cuales evaluaremos 5 grupos de estudio independiente de cada concentración.

#### 5.2.3.9 Preparación de las diluciones de los extractos.

Se preparó la solución de opuntia, se diluyo con etanol 70° hasta obtener una concentración de 5.0%, 10% y 20%.

5.2.3.9.1 Control negativo: Se embebió 0.1 ml de Agua Destilada en los discos de papel esterilizados para antibiograma

#### 5.2.3.9.2 Controles Positivos:

Metronidazol: Se diluyo una tableta de 500mg en 5ml de agua destilada, para ser embebido en los discos de papel esterilizados para antibiograma

Amoxicilina + Ac. Clavulanico: Se diluyo una tableta de 500mg/125mg en 5ml de agua destilada, para ser embebido por 0.1ml en los discos de papel esterilizados para antibiograma

#### 5.2.3.10 Inoculación e Incubación:

Se colocó 0.1 mL de las soluciones concentradas en las muestras a evaluar en cada disco (5 discos por concentración). Se dejó reposar a temperatura ambiente y luego se llevó a las condiciones adecuadas a una temperatura de incubación de 37°C a 7% de CO<sub>2</sub> por 24 horas obteniendo los primeros resultados, dejar incubar por 24 horas más.

#### 5.2.3.11 Medio anaerobio

Cámara de CO<sub>2</sub>: La incubadora mantiene la temperatura, la humedad y otras condiciones en grado óptimo, tales como el contenido de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y de oxígeno en su atmósfera interior.

Las placas sembradas se incubaron en la cámara de CO<sub>2</sub> generando el medio de anaerobiosis, por 5 días a 37°C a 7% de CO<sub>2</sub>

#### 5.2.3.12 Lectura e Interpretación:

Después de transcurrido el tiempo de incubación a las 24 horas, se realizó la observación y lecturas de las zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano, y se procedió a realizar la medición de los diámetros (en mm) de estas zonas, al cumplir las 48 horas se volvió a observar, se tomó lecturas de las zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano y se midieron los diámetros (en mm) de las zonas.

### **6. PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS:**

La tabulación de los datos se llevó a cabo con la confección de una matriz en una hoja de cálculo Excel 2010. A partir de esta se realizó el procesamiento de datos, cuya presentación se hizo con la elaboración de tablas, de simple y doble entrada y gráficos de barras.

### **7. TÉCNICAS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

El análisis de datos se desarrolló, en primer lugar, con el cálculo de frecuencias absolutas (N°) y relativas (%) además de medidas de tendencia central (Media Aritmética) y de dispersión (Desviación estándar, valores mínimos y máximos).

En segundo lugar, y para demostrar si hay diferencias entre las concentraciones respecto a su actividad antibacteriana, se utilizó la prueba estadística T de Student, a un nivel de confianza del 95% (0.05). Así mismo para el análisis estadístico se utilizará el paquete computacional EPI-INFO versión 6.0

## 8. RECURSOS

### A. HUMANOS

- a. **Investigadora** : Bach. Edith Sonia Rosario Tello
- b. **Asesores**
  - Asesor director** : Mg. José Humberto Quispe Huanca
  - Asesor Metodológico** : Dr. Xavier Sacca Urday
  - Asesor redacción** : Dra. María Luz Nieto Muriel
- c. **Colaboradores** : Dra. Yvletha Masciotti Mendoza  
: Mg. Yvonne Chávez Salas

### B. FINANCIEROS

El presente trabajo de investigación fue financiado en su totalidad por la investigadora

### C. MATERIALES

#### a. Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitados: 50, 100 Y 250 ml.
- Matraz Erlenmeyer 250 ml.
- Tubos de ensayo 13x100ml.
- Probeta de 25 y 100 mL.
- Cuba cromatográfica.
- Placas Petri (18 unidades) descartables.
- Asa bacteriológica (Asa de Kolle)
- Varilla de vidrio

- Cápsula de porcelana.
- Asa de digraski
- Mortero.
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL.
- Pipetas Pasteur.
- Micropipetas de 200, 1000 y 5000 $\mu$ L.
- Tips de micropipetas.
- Mechero Bunsen
- Malla y trípode
- Discos (papel filtro)
- Calibrador manual (Vernier)

#### **b. Equipos**

- Estufa acoplada a un termómetro Labor Müszeripari Müvek
- Balanza analítica Mettler .
- El autoclave
- Refrigerador
- Rotavapor
- Incubadora, cámara de CO<sub>2</sub>

#### **c. Reactivos**

- Alcohol etílico 70°
- Suero fisiológico
- Agua destilada
- Hemina
- Vitamina K
- Sangre de carnero

**d. Medios**

- Caldo Tioglicolato
- Agar Base Sangre

**D. INSTITUCIONALES**

- a. Universidad Alas Peruanas
- b. Universidad Católica de Santa María
  - i. Laboratorio de Microbiología.
  - ii. Laboratorio De farmacognosia y Bromatología.
- c. Laboratorio Gen Lab Microbiology (Lima)
- d. Laboratorio Merk Perú (Lima)

# **CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

**TABLA N° 1**  
**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LAS**  
**DIFERENTES CONCENTRACIONES DE OPUNTIA SOHERENSII**  
**(AYRAMPO) SOBRE LA PORHYROMONA GINGIVALIS**

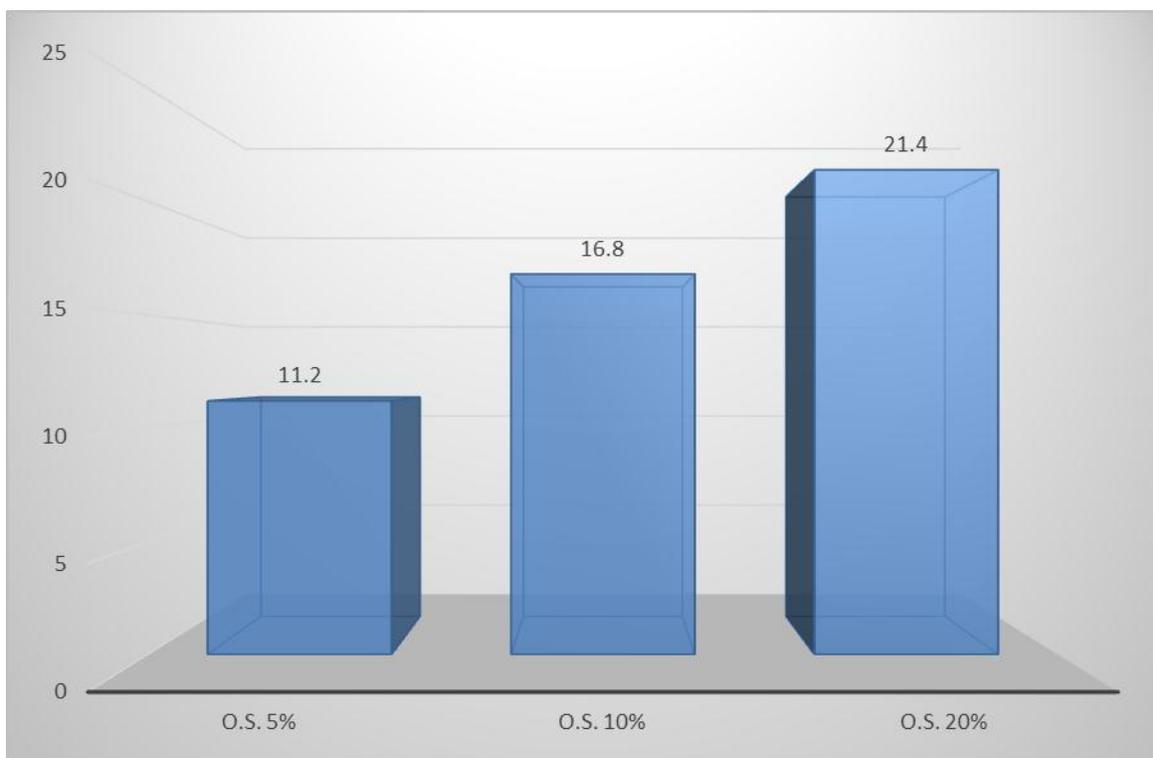
Halo Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio		
	O.S. 5%	O.S. 10%	O.S. 20%
Media Aritmética	11.20	16.80	21.40
Desviación Estándar	5.21	4.81	5.17
Halo Mínimo	8	10	16
Halo Máximo	20	22	30
Total	5	5	5

Fuente: Matriz de datos P = 0.025 (P < 0.05) S.S.

### INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicado el estímulo, el halo de inhibición observado en la concentración del 5% de la Opuntia Soherensii (Ayrampo) es en promedio de 11,20, en tanto a la concentración de 10% alcanzó un valor de 16.80 y al 20% este valor llegó hasta 21.40. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% fue la que mostró mejor ventaja competitiva que las demás, sobre la Porphyromona Gingivalis, en este momento de tiempo

**GRAFICO N° 1**  
**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LAS**  
**DIFERENTES CONCENTRACIONES DE OPUNTIA SOHERENSII**  
**(AYRAMPO) SOBRE LA PORHYROMONA GINGIVALIS**



**TABLA N° 2**

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA  
OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) AL 5% SOBRE LA PORHYROMONA  
GINGIVALIS**

O.S. 5%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	11.20	12.40
Desviación Estándar	5.21	4.50
Halo Mínimo	8	9
Halo Máximo	20	20
Total	5	5

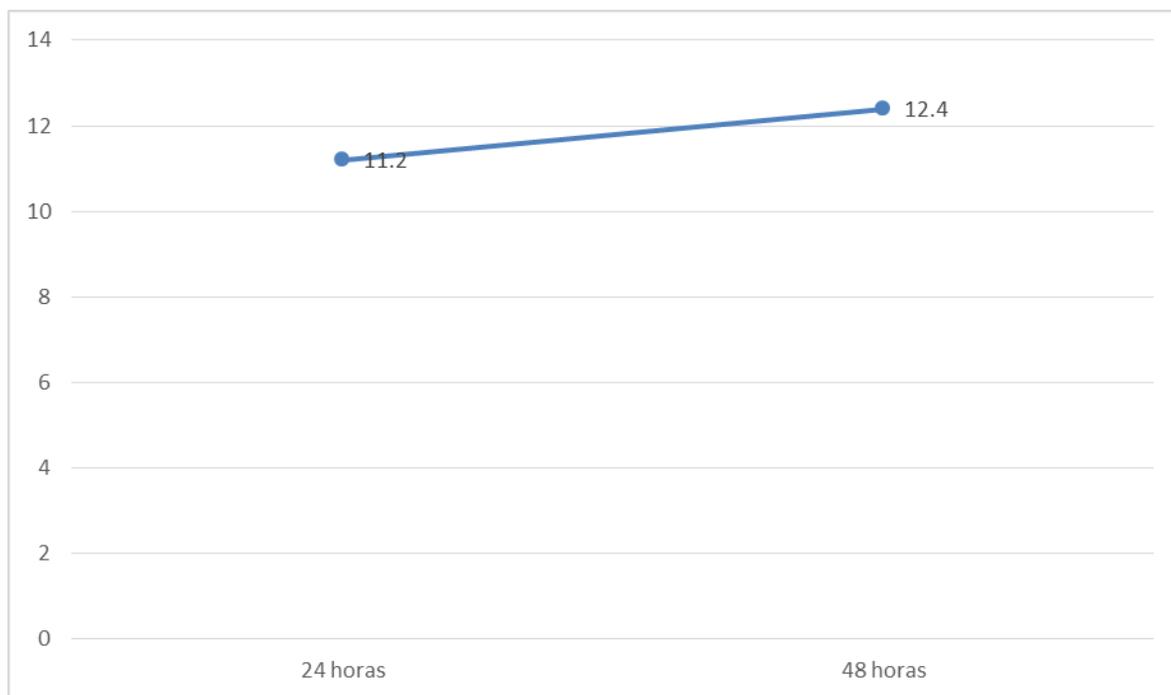
Fuente: Matriz de datos  $P = 0.707$  ( $P \geq 0.05$ ) N.S.

**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 5% sobre la Porphyromona Gingivalis fue en promedio de 11.20, a las 48 horas de su aplicación este valor se incrementó hasta 12.40. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento de la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 5%, sobre la Porphyromona Gingivalis, es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

## GRAFICO N° 2

### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) AL 5% SOBRE LA PORHYROMONA GINGIVALIS



**TABLA N° 3****COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA  
OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) AL 10% SOBRE LA PORPHYROMONA  
GINGIVALIS**

O.S. 10%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	16.80	17.00
Desviación Estándar	4.81	4.89
Halo Mínimo	10	10
Halo Máximo	22	22
Total	5	5

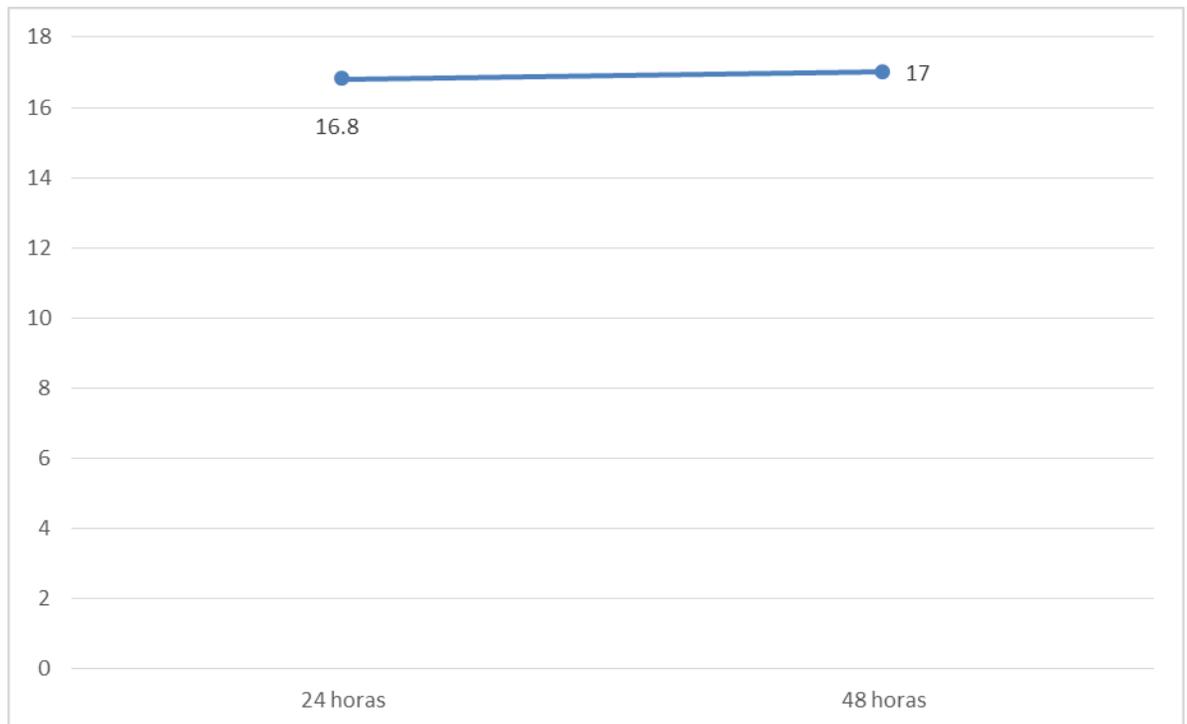
Fuente: Matriz de datos  $P = 0.950 (P \geq 0.05) N.S.$

**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 10% sobre la Porphyromona Gingivalis fue en promedio de 16.80, a las 48 horas de su aplicación este valor se incrementó hasta 17.00. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento de la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 10%, sobre la Porphyromona Gingivalis, es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

### GRAFICO N° 3

#### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) AL 10% SOBRE LA PORHYROMONA GINGIVALIS



**TABLA N° 4****COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA  
OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) AL 20% SOBRE LA PORPHYROMONA  
GINGIVALIS**

O.S. 20%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	21.40	21.60
Desviación Estándar	5.17	4.92
Halo Mínimo	16	17
Halo Máximo	30	30
Total	5	5

Fuente: Matriz de datos  $P = 0.952 (P \geq 0.05) N.S.$

**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% sobre la Porphyromona Gingivalis fue en promedio de 21.40, a las 48 horas de su aplicación este valor se incrementó hasta 21.60. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento de la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 5%, sobre la Porphyromona Gingivalis, es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

#### GRAFICO N° 4

### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) AL 20% SOBRE LA PORHYROMONA GINGIVALIS



**TABLA N° 5**

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL  
METRONIDAZOL SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**

Metronidazol	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	44.00	44.80
Desviación Estándar	0.70	0.44
Halo Mínimo	43	44
Halo Máximo	45	45
Total	5	5

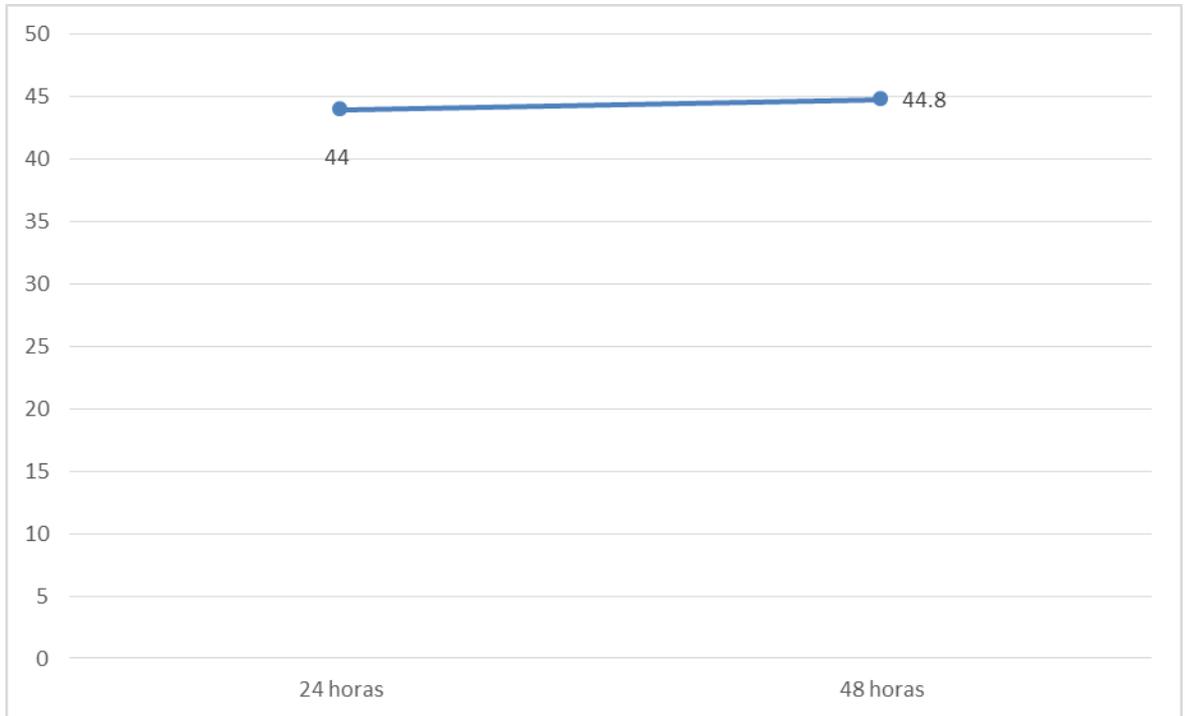
Fuente: Matriz de datos  $P = 0.065$  ( $P \geq 0.05$ ) N.S.

**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por el Metronidazol sobre la Porphyromona Gingivalis fue en promedio de 44.00, a las 48 horas de su aplicación este valor se incrementó hasta 44.80. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento del Metronidazol sobre la Porphyromona Gingivalis, es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

### GRAFICO N° 5

#### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL METRONIDAZOL SOBRE LA PORHYROMONA GINGIVALIS



**TABLA N° 6**

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA  
AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE LA PORHYROMONA  
GINGIVALIS**

Amoxicilina + Ácido Clavulánico	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	62.00	62.00
Desviación Estándar	-----	-----
Halo Mínimo	62	62
Halo Máximo	62	62
Total	5	5

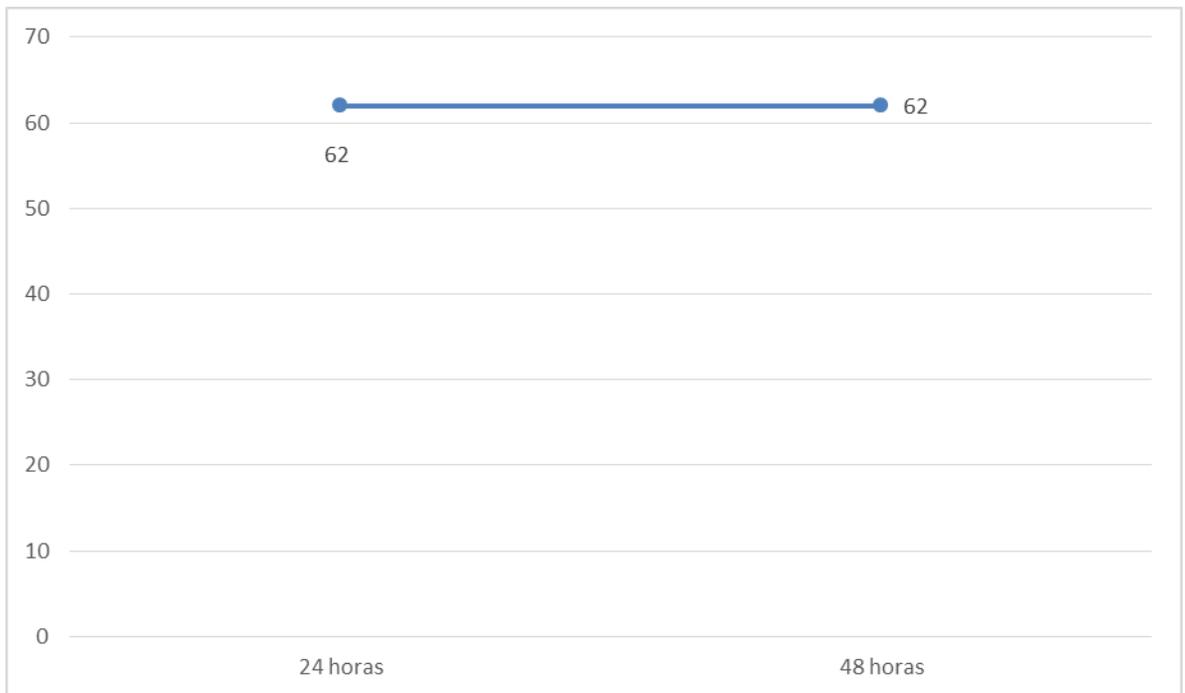
Fuente: Matriz de datos

**INTERPRETACIÓN:**

La presenta tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la Amoxicilina más Ácido Clavulánico sobre la Porphyromona Gingivalis fue en promedio de 62.00, a las 48 horas de su aplicación este valor se mantiene sin ningún cambio.

### GRAFICO N° 6

#### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE LA PORHYROMONA GINGIVALIS



**TABLA N° 7**

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**

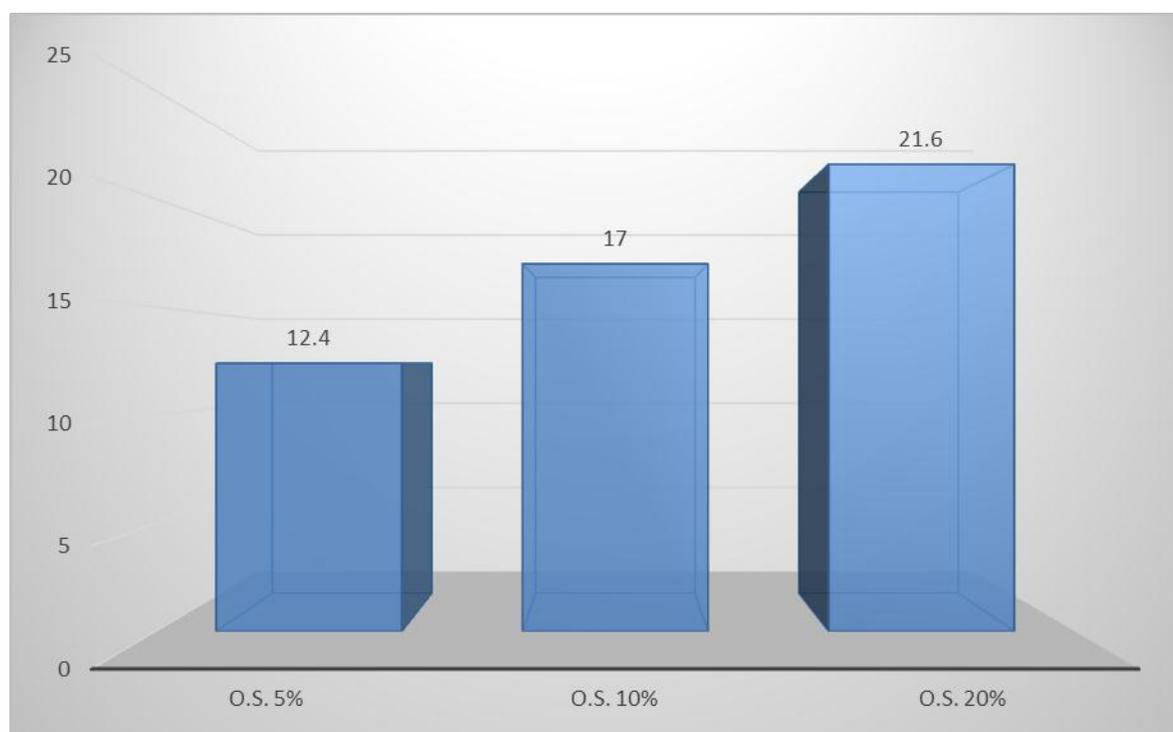
Halo Inhibición 48 horas	Grupo de Estudio		
	O.S. 5%	O.S. 10%	O.S. 20%
Media Aritmética	12.40	17.00	21.60
Desviación Estándar	4.50	4.89	4.92
Halo Mínimo	9	10	17
Halo Máximo	20	22	30
Total	5	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.032 (P < 0.05) S.S.		

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicado el estímulo, el halo de inhibición observado en la concentración del 5% de la Opuntia Soherensii (Ayrampo) es en promedio de 12,40, en tanto a la concentración de 10% alcanzó un valor de 17.00 y al 20% este valor llegó hasta 21.60. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% fue la que mostró mejor ventaja competitiva, frente a la Porphyromona Gingivalis, que las demás en este momento de tiempo.

## GRAFICO N° 7

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE OPUNTIA SOHERENSII (AYRAMPO) SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**



**TABLA N° 8****COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y EL METRONIDAZOL SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**

Halo de Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio	
	O.S. 20%	Metronidazol
Media Aritmética	21.40	44.00
Desviación Estándar	5.17	0.70
Halo Mínimo	16	43
Halo Máximo	30	45
Total	5	5

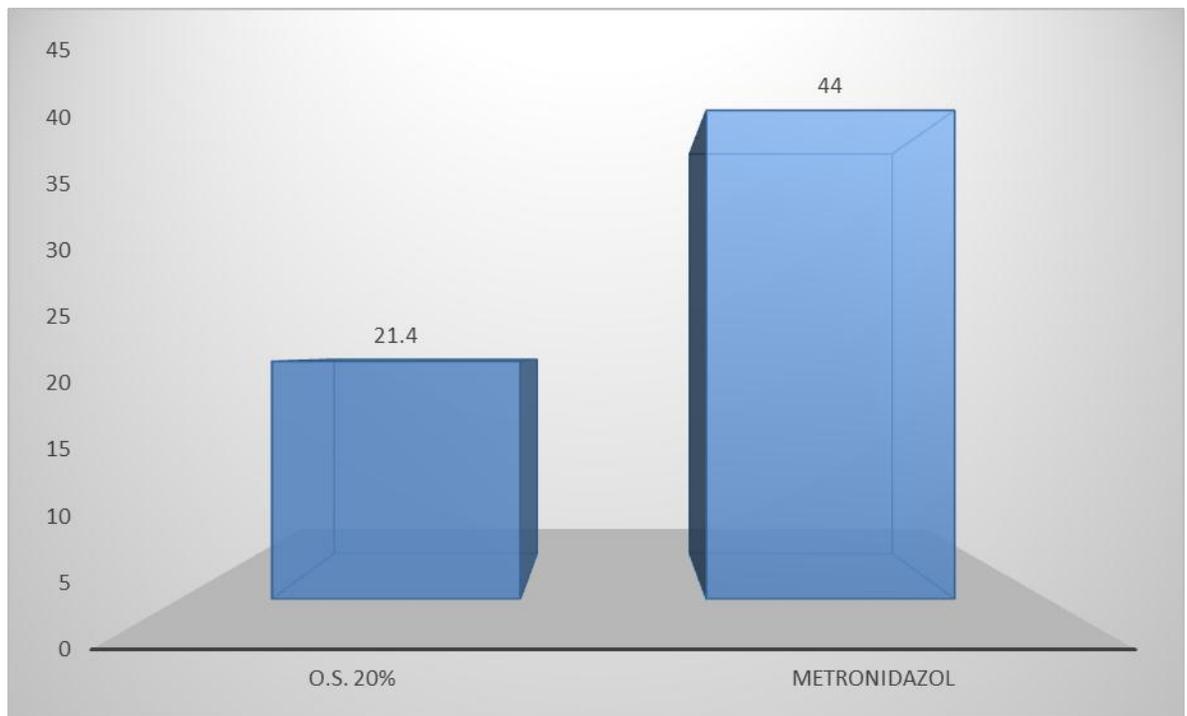
Fuente: Matriz de datos P = 0.000 (P < 0.05) S.S.

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicados los estímulos, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% logró un halo de inhibición promedio de 21.40, en tanto, el Metronidazol llegó a un valor promedio de 44.00. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% no es igual de competitiva que el Metronidazol sobre la Porphyromona Gingivalis.

### GRAFICO N° 8

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA  
OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y EL METRODINAZOL SOBRE LA  
PORPHYROMONA GINGIVALIS**



**TABLA N° 9**

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**

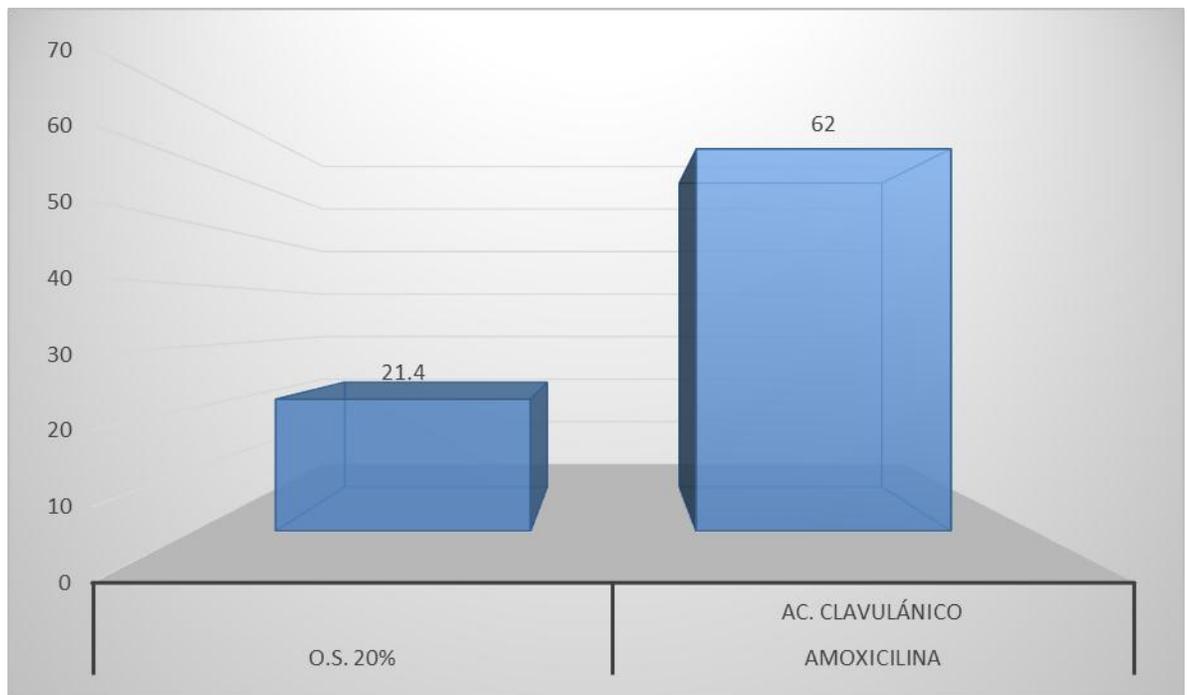
Halo de Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio	
	O.S. 20%	Amoxicilina Ac. Clavulánico
Media Aritmética	21.40	62.00
Desviación Estándar	5.17	-----
Halo Mínimo	16	62
Halo Máximo	30	62
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.000 (P < 0.05) S.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicados los estímulos, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% logró un halo de inhibición promedio de 21.40, en tanto, la Amoxicilina más Ácido Clavulánico llegó a un valor promedio de 62.00. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% no es igual de competitiva que la Amoxicilina más Ácido Clavulánico sobre la Porphyromona Gingivalis.

### GRAFICO N° 9

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**



**TABLA N° 10**

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA  
OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y EL METRONIDAZOL SOBRE LA  
PORPHYROMONA GINGIVALIS**

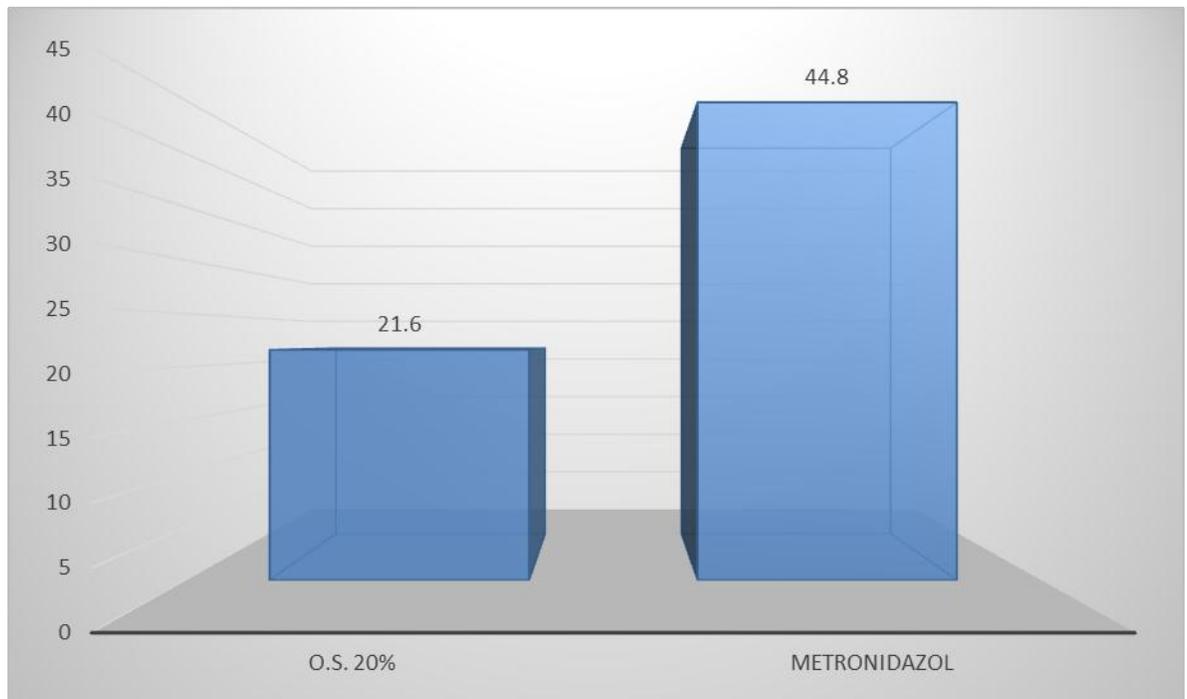
Halo de Inhibición  48 horas	Grupo de Estudio	
	O.S. 20%	Metronidazol
Media Aritmética	21.60	44.80
Desviación Estándar	4.92	0.44
Halo Mínimo	17	44
Halo Máximo	30	45
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.000 (P < 0.05) S.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% logró un halo de inhibición promedio de 21.60, en tanto, el Metronidazol llegó a un valor promedio de 44.80. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% no es igual de competitiva que el Metronidazol sobre la Porphyromona Gingivalis.

### GRAFICO N° 10

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y EL METRODINAZOL SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**



**TABLA N° 11**

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**

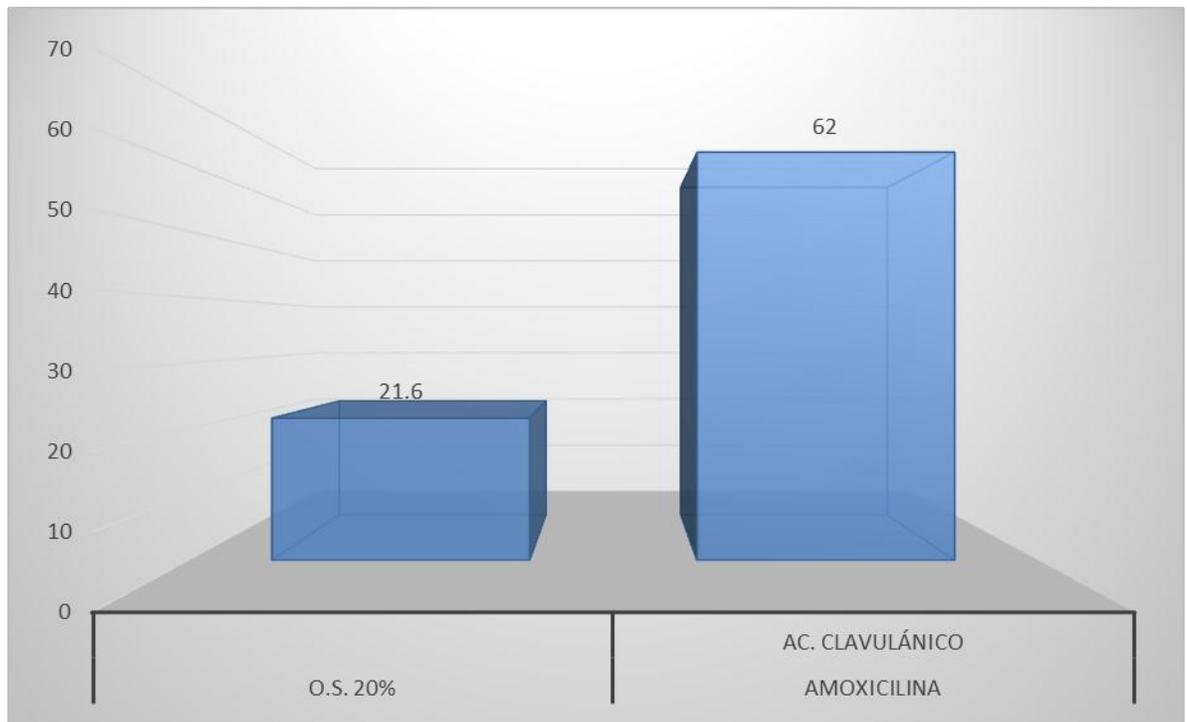
Halo de Inhibición 48 horas	Grupo de Estudio	
	O.S. 20%	Amoxicilina Ac. Clavulánico
Media Aritmética	21.60	62.00
Desviación Estándar	4.92	-----
Halo Mínimo	17	62
Halo Máximo	30	62
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.000 (P < 0.05) S.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% logró un halo de inhibición promedio de 21.60, en tanto, la Amoxicilina más Ácido Clavulánico llegó a un valor promedio de 62.00. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Opuntia Soherensii (Ayrampo) al 20% no es igual de competitiva que la Amoxicilina más Ácido Clavulánico sobre la Porphyromona Gingivalis.

### GRAFICO N° 11

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA OPUNTIA SOHERENSII AL 20% Y LA AMOXICILINA + ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE LA PORPHYROMONA GINGIVALIS**



## DISCUSIÓN

Según Ramírez para obtención de la solución de *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) el método de maceración alcohólica permite la extracción de los compuestos fenólicos en los frutos secos pulverizados, Esto es explicado por química orgánica gracias a la polaridad del solvente etanol que atrae a la moléculas apolares y polares que presentan los fenoles así también a los compuestos fitoquímicos para el análisis antibacteriano. Según Soto en sus estudios evaluó la maceración con dos tipos de solventes agua destilada y etanol, siendo la solución por maceración la que tuvo mayor reacción por ende la preparación de la solución de la presente investigación optó por este método y resultados positivos

Según Martínez demostró que la *Porphyromona Gingivalis* no solo se encuentra en pacientes con enfermedad periodontal sino que también puede presentarse en personas sanas, pudiendo ser considerado un patógeno oportunista, es por tal motivo la importancia de esta investigación y su empleo como alternativa preventiva.

La extracción y concentración de los compuestos fitoquímicos de la solución se sometieron a rotavapor dejando una solución pura de 13 ml concentrada al 5%, al 10% y al 20% las cuales fueron sometidas a las pruebas antibacterianas contra la *Porphyromona Gingivalis ATCC33277*, Los resultados de la actividad antibacteriana se aprecia que a las 24 horas de aplicado el estímulo, el halo de inhibición observado en la concentración del 5% de la *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) es en promedio de 11,20, en tanto a la concentración de 10% alcanzó un valor de 16.80 y al 20% este valor llegó hasta 21.40. Es decir, la *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) al 20% fue la que mostró mejor ventaja competitiva que las demás, sobre la *Porphyromona Gingivalis*. A las 48 horas de aplicado el estímulo, los cambios en cada grupo evaluado no mostraron cambios significativos, es decir, la *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) al 20% siguió mostrando mejor ventaja competitiva, frente a la *Porphyromona Gingivalis*.

Los resultados confirman la acción antibacteriana del *Opuntia soherensii* (Ayrampo) al 1%; que Soto estudio en su investigación contra el con *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 bacteria aerobia; en lo que difiere con nuestra investigación que para presentar actividad antibacteriana frente a la *Porphyromona Gingivalis* bacteria anaerobia se elevó la concentración al 20% para tener resultados positivos

Al hacer la comparación de los grupos controles positivos a las 24 horas de aplicados los estímulos, la *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) al 20% logró un halo de inhibición promedio de 21.40, en tanto, la Amoxicilina más Ácido Clavulánico llegó a un valor promedio de 62.00. Según la prueba, la *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) al 20% no es igual de competitiva que la Amoxicilina más Ácido Clavulánico sobre la *Porphyromona Gingivalis*; a su segunda medición a las 48 horas no hubo cambios significativos. De la misma forma de evaluó con metronidazol a las 24 horas de aplicados los estímulos, la *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) al 20% logró un halo de inhibición promedio de 21.40, en tanto, el Metronidazol llegó a un valor promedio de 44.00. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) al 20% no es igual de competitiva que el Metronidazol sobre la *Porphyromona Gingivalis*; a su segunda medición a las 48 horas no hubieron cambios significativos

Lo cual nos indica que el *Opuntia Soherensii* (Ayrampo) a una concentración del 20% es un antibacteriano de nivel intermedio frente a la *Porphyromona Gingivalis* una bacteria anaerobia estricta el cual será una alternativa natural para combatir esta bacteria.

## CONCLUSIONES

### PRIMERA:

Las pruebas de actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* al 5%, 10% y 20% sobre la *Porphyromona gingivalis* resultó ser positivas de acción muy leve, leve y moderada respectivamente

### SEGUNDA:

Las pruebas de actividad antibacteriana de amoxicilina más ácido clavulánico y metronidazol sobre la *Porphyromona gingivalis* resultó ser positivas con mayor efectividad antibacteriana.

### TERCERA:

La comparación de la actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* al 5%, 10% y al 20% sobre la *Porphyromona gingivalis*, dio como resultado que el 20% presentó mayor efecto antibacteriano

### CUARTA

La comparación de la actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* al 20% con la amoxicilina más ácido clavulánico y metronidazol sobre la *Porphyromona gingivalis*, dio como resultado que el *Opuntia Soherensii* al 20% no es igual de competitiva que la amoxicilina más ácido clavulánico y metronidazol.

## RECOMENDACIONES

### PRIMERA:

Se comprobó la actividad antibacteriana de *Opuntia Soherensii* al 20% sobre la *Porphyromona gingivalis*, a lo cual se recomienda su uso como un sustancia de irrigación subgingival por su acción antibacteriana intermedia, combinada con el destartaje y alisado radicular en la terapia periodontal.

### SEGUNDA:

Se sugiere seguir con los estudios experimentales de *Opuntia Soherensii* (*Ayrampo*) en concentraciones elevadas para la elaboración de una sustancia natural completa; no solo por su poder antibacteriano sino de todas las propiedades que sus componentes fitoquímico presentan,

### TERCERA:

Se recomienda su uso por ser una opción natural, no tóxica para el paciente, así mismo por ser un producto económico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alcalá, Luis; Betruí, Carmen; García, José; Reig, Milagros. Procedimientos en Microbiología Clínica. Bacterias Anaerobias. Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 2004.
2. Aucallasi, Felix. Problemas de química y como resolverlos. Editorial RACSO. E Primera edición. 2012.
3. Bruteno, Jean. Farmacognosia, Fitoquímico, Plantas Medicinales. Editorial Acribia. Segunda Edición. 2001.
4. Carrión, Ana; García, Cándida. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de Metódica. Tesis para Optar título de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de bioquímica y farmacia. Universidad de Cuenca. 2010.
5. Del Rio, Pablo. Actividad Biocida De Un Propolis Chileno Frente A Porphyromonas Gingivalis: Estudio In Vitro. Para Optar Titulo De Cirujano Dentista. Escuela De Odontología Facultad De Medicina Humana Y Ciencias De La Salud. Universidad De Chile. 2006.
6. Díaz J.; Yañez J.; Melgar S.; Álvarez C.; Rojas C.; Vernal R. Virulencia y variabilidad de porphyromonas gingivalis y aggregatibacter actinomycetemcomitans y su asociación a la periodontitis. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral. Núm. 1, Vol. 5, Págs. 40-45, Marzo. 2012.
7. Garcia, Leticia; Salinas, Yolanda; Valle, Salvador. Betalainas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en Pitaya de Mayo (*Stenocereus griseus H.*). Revista Fitotécnica Mexicana, Núm. 5, Vol. 35, Págs. 1-5, Agosto. 2012.
8. Gracia, Manuel. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos Naturales. Universidad Autónoma de Queretaro.
9. Huamani, Anabel. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *origanum vulgare ssp.* Al 12.5%, 25%, 50%, 75% y 100% y gluconato de

- clorhexidina al 0.12% y 2% en *prophyromona gingivalis*. Tesis para Optar el Título de Cirujano dentista. Facultad de Odontología. Universidad Católica de Santa María. 2008.
10. James, Robbers; Varro, Tyler. Las hierbas medicinales de TYLER. Editorial ACRIBIA. Segunda Edición. 1999.
  11. López, Martha. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y porphyromas gingivalis en relación a las periodontitis agresivas. Rev. Estomatol Herediana, Núm. 2, Vol. 15, Págs. 178- 183. 2005
  12. López, Miriam. Manual de plantas medicinales para Guinea Ecuatorial. Editorial Fundación de religiosos para la salud. Primera edición. 2012.
  13. Macín, Susana. Tratamiento periodontal no Quirúrgico en pacientes con gingivitis y periodontitis moderna. Tesis para Optar Grado de Doctor. Facultad de Odontología. Departamento Estomatología III. Universidad Complutense de Madrid. 2010.
  14. Mamani, Gaby; Zambrana, Silvia; Terraza, Katty; Carvajal, Roger. Actividad Antiviral anti – Herpes simplex de *Opuntia* spp., un producto natural andino. Biofarbo. Volumen 12, Págs. 21-26, Diciembre. 2004.
  15. Martínez F, González G, Culebras, Tuñón J. Los Flavonoides: Propiedades Y Acciones Antioxidantes. Nutr. Hosp. Vol. XVII, Núm. 6, Págs. 271-278. 2002.
  16. Martínez, Mayra. Cuantificación de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por PCR en tiempo real en pacientes sanos, con gingivitis y periodontitis crónica. Tesis para Optar el Título de bacterióloga. Escuela de Bacteriología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2014.
  17. Meislich, Herbert; Nechamkin, Howard; Sharefkin, Jacob; Hademenos, George. Química Orgánica. Editorial McGrawHill. Tercera edición. 2001.
  18. Morales P. Estudio Comparativo de la Estabilidad de la Betanina, capacidad antioxidante y fenólicos totales de los Extractos de Ayrampo (*Opuntia soherensii* Britton & Rose) y Beterraga (*Beta vulgaris* L.). [Tesis

- para Optar el Título de: Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2007.
19. Moreno, María. *Porphyromona Gingivalis*, Periodontitis Crónica Y Factor De Riesgo Cardiovascular. Revista Nacional De Odontología, Número 12, Volumen 7, Pag.68 – 73, Marzo. 2011.
  20. Özlem, Yilmaz. The chronicles of *Porphyromonas gingivalis*: the microbium, the human oral epithelium and their interplay. Microbiology. Vol. 154, Págs. 2897-2903, Octubre. 2008.
  21. Porras, A. López, A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas selectos de Ingeniera de Alimentos, Num.3, Vol.1, Págs. 121-134. Enero. 2009.
  22. Ramírez, José. Fenología y valor Nutracéutico de diversas Variedades pigmentadas de tuna (*Opuntia* sp). Magister. Ciencias en Biotecnología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. México. 2013.
  23. Ramírez, Martha; Neira, Adriana; Correa, Lady. Actividad Antimicrobiana, Conservante Y Obtención De Un Colorante Natural A Partir De Plantas De La Región De Boyacá. Scientia Et Technica, Núm. 33, Vol. XIII, Págs. 415-417, Abril. 2007.
  24. Ramos, Donald. *Porphyromonas gingivalis*: Patógeno predominante en la periodontitis crónica. Odontología San Marquina. Núm. 1, Vol. 14, Págs. 34-38, Junio. 2011.
  25. Requena, L. Vamos a Estudiar Química Orgánica. Editorial ENEVA. Edición 4. (2001)
  26. Rodrigo, Gloria. Actividad Genotóxica de *Opuntia Soherensii*, evaluada por el test de mutación y recombinación Somática en *D. melanogaster*. Biofarbo, Volumen 15, Págs. 61-66, Diciembre. 2006.
  27. Rojas, Joel; Abad, Javier. Química orgánica e inorgánica. Fondo Editorial RODO. 2da. Edición. 2011.
  28. Sarmiento, VH.; Estabilidad Fisicoquímica y Actividad antioxidante de las Betalainas en el Extracto hidrosoluble del Ayrampo (*Opuntia soherensii*)

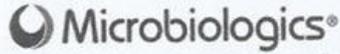
- durante el proceso de Atomizado. [Tesis para Optar el Grado de: Magister Scientiae]. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2003.
29. Silva, José; Martins, Antonio. Acción Antibacteriana De Extractos Hidroalcohólicos De Rubus Urticaefolius. Rev Cubana Plant Med. Núm. 1, Vol. 5, Págs. 26-29. 2000.
  30. Silva, A.; Araujo, M.; Bastos, M.; Bernardo, T.; Oliveira, J.; Silva-Junior, E.; Santos-Junior, P.; Araujo, M.; Alexandre-Moreira, M.; Araújo-Júnior, J.; Verissimo, R. Avaliação da atividade antibacteriana, citotóxica e antioxidante da espécie vegetal Opuntia cochenillifera (L.) Mill. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Num.1, Vol.18, Págs. 307-315. Enero. 2016.
  31. Solano, Cristina. Microbiología General (Guion de prácticas). Instituto de Agrobiotecnología y Recursos Naturales. UPNA/CSIS.2005-2006.
  32. Soto, Hersh. 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. E.A.P. De Farmacia Y Bioquímica. Facultad De Farmacia Y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor De San Marcos.2014.
  33. Zambrana, Silvia; Terceros, Patricia; Terraza, Katty; Carvajal, Roger. Estudios Sobre La Acción Antiviral Del Opuntia Soherensii ¿Actividad protectora de la infección por HSV? . Biofarbo. Volumen 14, Págs. 51-56, Diciembre. 2006.
  34. Zarate, Sefarín. Vino, polifenoles y protección a la salud. Revista Cubana Aliment. Nutr, Num.16, Vol.2, Págs. 134-141. 2002.
  35. Zeiger, Lincoln y Eduardo. "Secondary Metabolites and Plant Defense". *Plant Physiology, Fourth Edition*. Capítulo 13. 2006.

# **ANEXOS**

## N° 1. FICHA DE RECOLECCION DE DATOS LABORATORIALES

<b>Diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm) Solución de Opuntia Soherensii (O.S.)</b>						
<b>N°</b>	<b>Medición</b>	<b>O.S. 5%</b>	<b>O.S. 10%</b>	<b>O.S. 20%</b>	<b>METRONIDAZOL</b>	<b>AMOXICILINA + AC. CLAVULANICO</b>
<b>1</b>	24	20	18	30	44	62
<b>2</b>	24	8	10	21	44	62
<b>3</b>	24	8	14	20	45	62
<b>4</b>	24	12	22	16	44	62
<b>5</b>	24	8	20	20	43	62
<b>6</b>	10	20	19	30	44	62
<b>7</b>	48	10	10	21	45	62
<b>8</b>	48	10	14	20	45	62
<b>9</b>	48	13	22	17	45	62
<b>10</b>	48	9	20	20	45	62

## N° 2. CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC33277



**Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release**

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Porphyromonas gingivalis  <b>Catalog Number:</b> 0912  <b>Lot Number:</b> 912-57  <b>Reference Number:</b> ATCC® 33277™**  <b>Purity:</b> &lt; 0.1% Total Pellet CFU  <b>Recovery:</b> &gt; 1000 CFUs per Pellet  <b>Passage from Reference:</b> 4</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2017/4/30  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Tracy A Blenker  <b>Release Date:</b> 2015/5/21</p>
---	---

Performance	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                      Small, circular, transparent colonies that become brown with age.  <b>Microscopic Features:</b>                      Gram negative rod, pleomorphic bacillary to coccoid forms.</p>	<p><b>Medium:</b>                      A/R SBAP  <b>Method:</b>                      Gram Stain (1)</p>

**ID System:** Vitek ANC (1)  
 See attached ID System results document.

Brad Goskowitz, President  
 AUTHORIZED SIGNATURE

Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.  
 Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) 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.



(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

TESTING CERT #2655.01

# N° 3 REPORTE LABORATORIAL DE *PORPHYROMONA GINGIVALIS* ATCC33277

MicroBioLogics

bioMerieux Customer: 05871  
System #: C21105

## Laboratory Report

Printed May 21, 2015 10:00 CDT  
Printed by: tab  
Report Version: 1 of 1

Isolate Group: 912 57-1

Bench: TB

Card Type: ANC Testing Instrument: 00000A6D6328 (1116)

Bionumber: 4440001001110  
Organism Quantity:

Comments:	
-----------	--

<b>Identification Information</b>	Card: ANC	Lot Number: 244345010	Expires: May 25, 2016 13:00 CDT
	Completed: May 20, 2015 17:10 CDT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
<b>Selected Organism</b>	99% Probability <b>Porphyromonas gingivalis</b>		
	Bionumber: 4440001001110	Confidence: Excellent identification	
<b>SRF Organism</b>			
<b>Analysis Organisms and Tests to Separate:</b>			
<b>Analysis Messages:</b>			
<b>Contraindicating Typical Biopattern(s)</b>			

Biochemical Details																	
4	dGAL	-	5	LeuA	-	6	ELLM	+	7	PheA	-	8	ProA	-	10	PyrA	+
11	dCEL	-	13	TyrA	-	15	APPA	+	18	dGLU	-	20	dMNE	-	22	dMAL	-
28	SAC	-	30	ARB	-	33	NAG	-	34	BGLUj	-	36	URE	-	37	BGURi	-
39	BGALj	+	41	AARA	-	42	AGALj	-	43	BMAN	-	44	ARG	-	45	PVATE	-
51	MTE	-	53	ESC	-	54	BdFUC	-	55	BNAGi	+	56	AMAni	-	57	AIFUC	-
59	PHOS	+	60	IARA	-	61	dRIB2	-	62	OPS	+	63	AARAF	-	64	dXYL	-
	GRAM	-		MORPH	-		AERO	-									

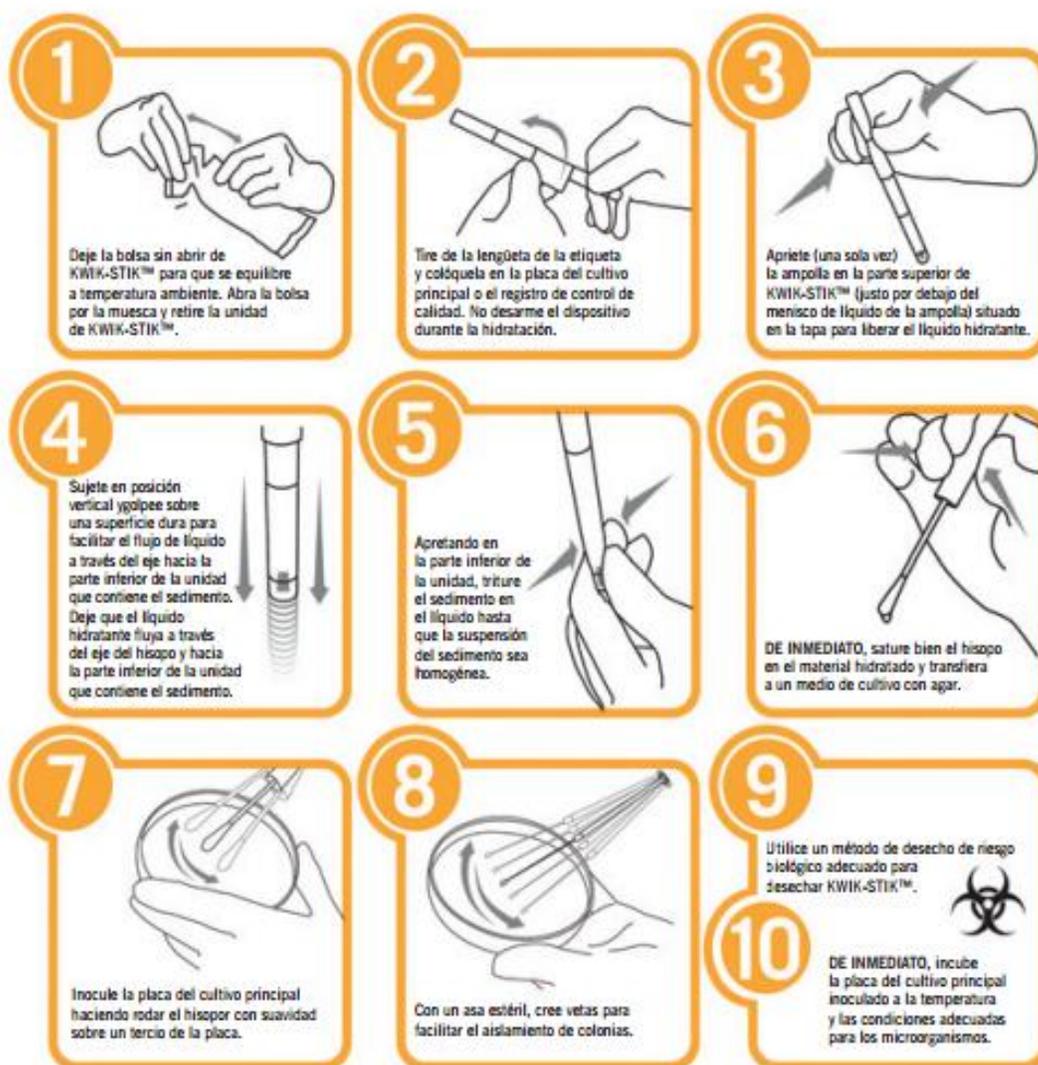
Installed VITEK 2 Systems Version: 07.01  
MIC Interpretation Guideline:  
AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:  
AES Parameter Last Modified:

## N° 4 INSTRUCCIONES ILUSTRADAS PARA LA ACTIVACION DE LA CEPA (*PORPHYROMONA GINGIVALIS*).

### INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un sedimento liofilizado de una única cepa de microorganismos.



 **Microbiologics®**

A safer, healthier world.

## Nº5 CONSTANCIA ESPECIAL DE USO DE LABORATORIOS



*Universidad Católica de Santa María*

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ ucsm@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe Apartado: 1350

AREQUIPA - PERU

### CONSTANCIA ESPECIAL Nº0020-Coord.Lab-2016

LA QUE SUSCRIBE COORDINADORA DE LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, DEJA CONSTANCIA QUE LA SEÑORITA:

**ROSARIO TELLO, EDITH SONIA**

INSTITUCION EDUCATIVA : UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS. AREQUIPA.

HA DESARROLLADO EL PROYECTO DE TESIS, INTITULADO:

**“EFECTO ANTIBACTERIANO DE *Opuntia soherensii* (AYRAMPO) SOBRE LA *Porphyromona gingivalis*. UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS. AREQUIPA 2016”**

PERIODO : del 05 de setiembre al 05 de octubre del año 2016

SE EXPIDE LA PRESENTE CONSTANCIA A SOLICITUD EXPRESA, Y PARA LOS FINES QUE CONVenga.

Arequipa, 2016,10.19.

  
Dr. JESÚS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE  
COORDINADORA DE LABORATORIOS  
Y GABINETES  
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

## N°5 TABLA DE RESULTADOS ESTADISTICOS DE PRUEBA PILOTO

Halo Inhibición	Grupo de Estudio		
	O.S. 5%	O.S. 2.5%	O.S. 1.25%
24 horas			
Media Aritmética	11.20	0	0
Desviación Estándar	5.21	0	0
Halo Mínimo	8	0	0
Halo Máximo	20	0	0
Total	5	5	5

## FOTOS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

**Figura N°1. Penca y fruta del *Opuntia soherensii***



**Figura N°2. Extracto seco de *Opuntia soherensii***



**Figura N°3. Solución concentrada de *Opuntia soherensii***



Figura N°4. Cepa de Porphyromona Gingivalis (Kwik Stik.)

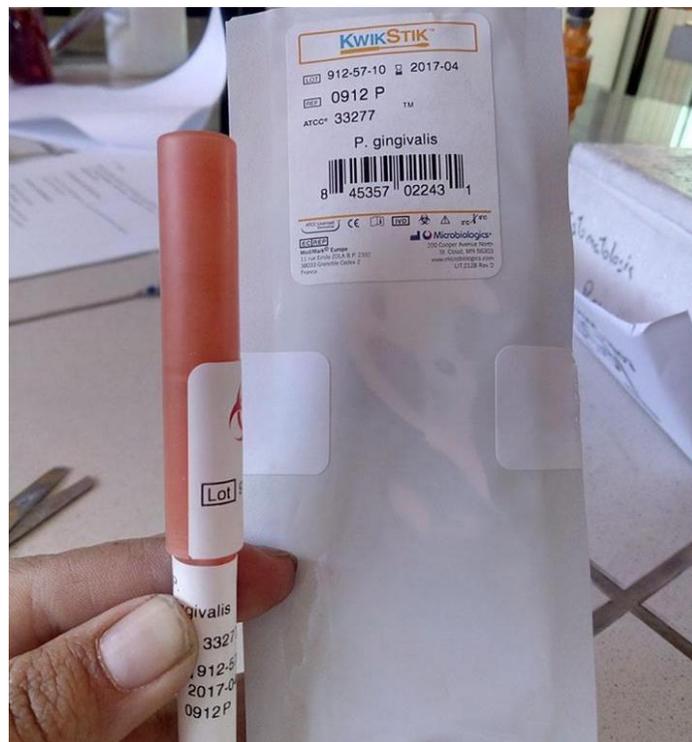


Figura N°5. Porphyromona Gingivalis Incubada

