

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIMICÓTICO  
DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE MUCÍLAGO DE NOPAL  
(*Opuntia ficus-indica*).**

**Q.F.B. Zaira Selene Briones-Ramírez<sup>a</sup>,**

**M. en C. Rubén Octavio Méndez-Márquez<sup>a</sup>,**

**Dra. en C. Claudia Araceli Reyes-Estrada<sup>b</sup>,**

**Dra. en C. Blanca Patricia Lazalde-Ramos<sup>b</sup>.**

Unidad Académica de Ciencias Químicas –

Programa Académico de Químico Farmacéutico Biólogo<sup>a</sup>.

Unidad Académica de Medicina Humana –

Doctorado en Ciencias en la Especialidad

de Farmacología Médica y Molecular<sup>b</sup>.

Universidad Autónoma de Zacatecas “Francisco García Salinas”,

Zacatecas, Zac. México.

Laboratorio de Microbiología, Campus UAZ siglo XXI, Edificio L1, 2° Piso

Carretera Zacatecas-Guadalajara Km 6 Ejido la Escondida

Zacatecas, Zacatecas, CP. 98160, México

[he-mis@hotmail.com](mailto:he-mis@hotmail.com)

## **Resumen**

El mucilago de *Opuntia ficus-indica* es un compuesto muy complejo que tiene la capacidad de formar redes moleculares y retener fuertemente grandes cantidades de agua, es un biopolímero compuesto por polisacáridos semejantes a las pectinas dentro de los cuales se destacan arabinosa, galactosa, ramnosa, xilosa y ácido galacturónico (Gutiérrez-Cortez, 2011). Existe evidencia de que el extracto metanólico de *Opuntia ficus-indica* tiene efectos bactericidas en el crecimiento de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Vibrio cholerae* (El-Mostafa *et al.*, 2014). También existe evidencia de la actividad inhibitoria de los polifenoles contenidos en la planta, contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella* spp (Dhaouadi *et al.*, 2013). El objetivo fue determinar la capacidad antimicrobiana del extracto etanólico del mucilago de nopal. Metodología. Se obtuvo mucilago mediante una extracción etanólica de la cual el mucilago fue recolectado y puesto a secar al sol para después ser pulverizado. Para la caracterización de los microorganismos se le realizaron pruebas bioquímicas y tinción de Gram para asegurar que se trataba del microorganismo en cuestión. Se pusieron a prueba *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida krusei* y *Aspergillus niger*; mediante un vaciado en placa con cultivos estandarizados a una escala de 0,5 McFarland; se colocaron discos impregnados con diferentes concentraciones del extracto, los cuales se incubaron 24 horas a 37 °C, para las bacterias y la especie levaduriforme, 5 días para *A. niger*, para posteriormente determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), después se realizaron pruebas con un *kit* que mide la viabilidad

celular para evaluar la supervivencia de las células ante la exposición al extracto. Resultados. Para *S. aureus*, *S. epidermidis* y *K. pneumoniae* la CIM fue de 10 mg/ml, para *E. faecalis* 15 mg/ml, para *B. subtilis* de 50 mg/ml, para *E. coli* 25 mg/ml para *Salmonella* 5 mg/ml, *P. aeruginosa*, *Candida krusei* y *Aspergillus niger* presentan resistencia al extracto; la evaluación de viabilidad la CIM se encontró entre 1 y 5 mg/ml para todos los microorganismos. Conclusión. Con los resultados obtenidos en las pruebas realizadas, se puede inferir que los compuestos presentes en el extracto etanólico del mucílago de nopal tienen un efecto antimicrobiano sobre el desarrollo de las bacterias y hongos mencionados, las diferencias de los resultados de CIM entre una metodología y otra pueden deberse a la difusión del extracto en el agar para la primera metodología y a la solubilidad del extracto para la segunda.

**Palabras clave:** nopal \* antimicrobiano \* *Opuntia ficus-indica* \* mucílago

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Determinar la capacidad antibacteriana y antimicótica del extracto etanólico del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*).

### Objetivos Específicos

1. Estandarizar los cultivos bacterianos y micóticos.
2. Observar el efecto antibacteriano y antimicótico del extracto etanólico del mucílago de *Opuntia ficus-indica* mediante la metodología de difusión en placa.
3. Observar el efecto antibacteriano y antimicótico del extracto etanólico del mucílago de *Opuntia ficus-indica* mediante la metodología de evaluación de la proliferación celular.
4. Determinar la concentración inhibitoria mínima, por ambas metodologías: difusión en placa y evaluación de proliferación celular.

## Materiales y métodos

### Obtención del extracto etanólico de *Opuntia ficus-indica*

El mucílago se obtuvo de las pencas de nopal, a través de una extracción etanólica (Aguilar y Maldonado, 2015: 14), de las pencas de nopal, a las cuales se les eliminó la corteza epidérmica recolectando los corazones. Los corazones se cortaron en trozos de alrededor de 2 cm de diámetro, posteriormente se licuaron y se llevaron a cocimiento a 90 °C durante una hora.

Después se precipitó con alcohol etílico al 96% en relación 1:1 en frascos ámbar durante 48 horas a una temperatura de refrigeración de 4 °C. El mucílago se recolectó y se dejó secar al sol para ser pulverizado y así obtener el mucílago en polvo.

### Caracterización de cepario

Se realizó observación macroscópica y microscópica, tinción de Gram y pruebas bioquímicas para asegurar que se trataba de los microorganismos en cuestión para que los resultados sean cotejados con la bibliografía (Struthers, 2013:33-35), los cuales fueron

- Gram positivos: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis*.
- Gram negativos: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* sp. y *Pseudomonas aeruginosa*.

Para el caso de los hongos probados, se trabajó con el hongo levaduriforme *Candida krusei* y el hongo filamentoso *Aspergillus niger*. Se cotejaron las características microscópicas y macroscópicas de estas especies para corroborar que se trataba de estos microorganismos.

### Determinación del efecto antibacteriano y antimicótico

Se determinó la actividad antimicrobiana de dicho extracto sobre:

- Bacterias gram positivas que fueron: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis*;
- Bacterias gram negativas que fueron: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* sp. y *Pseudomonas aeruginosa*.
- Microorganismos fúngicos levaduriformes: *Candida krusei* y filamentosos: *Aspergillus niger* a los cuales, una vez identificados, se les aplicó el antibiograma correspondiente que serviría como control positivo.
- Posteriormente se evaluó la presencia o ausencia de actividad antimicrobiana del extracto así como también se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) que se define como la concentración mínima de un antimicrobiano necesaria para impedir o inhibir el crecimiento y desarrollo microbiano.
- Posteriormente se determinó la viabilidad celular por medio de una determinación hecha con un kit (*MTT Cell Proliferation Assay Kit*) para medir la proliferación. Los procedimientos mencionados se realizaron por duplicado.

Las concentraciones usadas fueron 5, 10, 15, 25, 50 y 75 mg/ml y se utilizaron cultivos en caldo nutritivo estandarizados a una escala 0.5 McFarland que es equivalente a  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colonias/ml.

Una vez obtenidos los resultados por el método común de determinación de la CIM, se procedió a realizar una prueba con mayor sensibilidad, la cual se basa en medir la viabilidad de la cantidad de células a través una reducción metabólica de Bromuro de 3-(4,5- dimetiliazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) realizada por la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa, en un compuesto coloreado de color azul (formazan).

La cantidad de formazan es directamente proporcional a la cantidad de células vivas, la determinación de formazan se realizó midiendo la densidad óptica de los cultivos a los que se les aplicó la prueba (*MTT Cell Proliferation Assay Kit*).

## Resultados

Los resultados de la caracterización de cepario coinciden con las descripciones macroscópicas y microscópicas reportadas en la bibliografía, además de obtener altos porcentajes de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos, con un 81% para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*; 72% para *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* sp; por último 68% para *Escherichia coli*.

Los resultados de los antibiogramas aplicados a las bacterias se presentan en las tablas I y II, donde se puede observar un comportamiento similar tanto en bacterias gram positivas como gram negativas, excepto en el caso de *Enterococcus faecalis*, la cual presentó resistencia a todos los antimicrobianos a los que fue expuesta excepto a gentamicina cuyo halo de inhibición fue menor con respecto a los demás.

Tabla I. Resultados de los antibiogramas aplicados a las bacterias gram positivas.

Microrganismo	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. epidermidis</i>
Fármaco (µg)	Inhibición (mm)	Inhibición (mm)	Inhibición (mm)	Inhibición (mm)
Ampicilina 100	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Cefalotina 30	Resistente	Resistente	Resistente	<b>23</b>
Cefotaxima 30	<b>15</b>	Resistente	Resistente	Resistente
Ceftazidima 30	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Cefuroxima 30	Resistente	Resistente	Resistente	<b>17</b>
Dicloxacilina	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Eritromicina 15	Resistente	Resistente	<b>18</b>	<b>10</b>
Gentamicina 10	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>24</b>
Pefloxacina 5	<b>18</b>	Resistente	<b>19</b>	Resistente
Penicilina 10U	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Tetraciclina 30	Resistente	Resistente	<b>16</b>	<b>22</b>
Trimetroprima-sulfametoxazol 25	<b>22</b>	Resistente	Resistente	<b>32</b>

Los resultados para la prueba de difusión en placa correspondiente para bacterias gram positivas se presentan en la tabla III. Se determinó una CIM para *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* de 10 mg/ml, *Enterococcus faecalis* de 15 mg/ml y 75 mg/ml para *Bacillus subtilis*. Las fotografías de la difusión en placa se presentan en la figura 1 donde se puede

observar que, conforme aumenta la concentración del extracto, el halo de inhibición es más amplio.

Tabla II. Resultados de los antibiogramas aplicados a las bacterias gram negativas

Microrganismo	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Fármaco (µg)	Inhibición (mm)	Inhibición (mm)	Inhibición (mm)	Inhibición (mm)
Amikacina 30	20	26	21	23
Ampicilina 10	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Carbenicilina 100	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Cefalotina 30	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Cefotaxima 30	18	19	Resistente	Resistente
Ceftriaxona 30	26	27	11	20
Cloranfenicol 30	22	22	21	11
Gentamicina 10	Resistente	17	16	15
Netilmicina 30	20	27	17	20
Nitrofurantoína 300	21	21	12	Resistente
Pefloxacina 5	21	26	23	23
Trimetoprima-sulfametoxazol 25	Resistente	22	19	19

Tabla III. Resultados de las pruebas de difusión en placa de las bacterias gram positivas ante diferentes concentraciones del extracto.

Microorganismo	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. epidermidis</i>	
Concentración de mucilago (mg/ml)	Inhibición (mm)							
	A	B	A	B	A	B	A	B
5	-	-	-	-	-	-	-	-
10	8	7	-	-	-	-	7	7
15	10	9	8	8	-	-	9	8
25	12	12	10	9	-	-	12	11
50	15	14	11	10	-	-	14	13
75	17	17	12	12	13	12	16	15
Control etanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Control H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	-	-	-

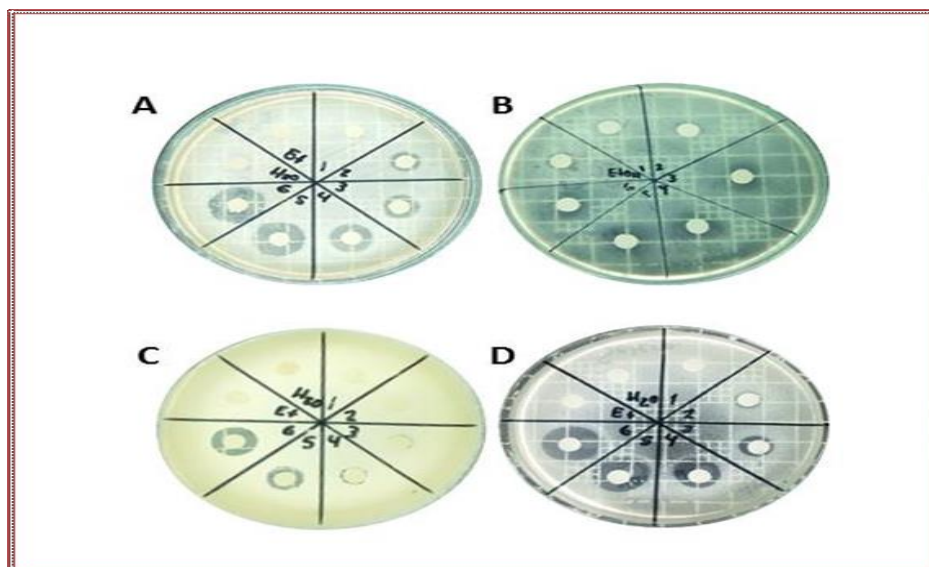


Figura 1. Fotografías de las pruebas de difusión en placa para las bacterias gram positivas: A. *Staphylococcus aureus*, B. *Enterococcus faecalis*, C. *Bacillus subtilis*, D. *Staphylococcus epidermidis*.

Los resultados de la prueba de difusión en placa correspondiente para bacterias gram negativas se presentan en la tabla IV. Se determinó una CIM para *Escherichia coli* de 25 mg/ml, 10 mg/ml para *Klebsiella pneumoniae* 5 mg/ml, *Pseudomonas aeruginosa* presentó resistencia a todas las concentraciones a las que fue expuesta, las fotografías de la prueba se muestran en la figura 2.

Tabla IV. Resultados de las pruebas de difusión en placa de las bacterias gram negativas ante diferentes concentraciones del extracto.

Microorganismo	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>Salmonella</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Concentración de mucilago (mg/ml)	Inhibición (mm)							
5	-	-	-	-	12	12	-	-
10	-	-	10	9	16	14	-	-
15	-	-	10	10	16	14	-	-
25	12	12	11	10	17	15	-	-
50	14	12	12	12	18	17	-	-
75	16	15	14	13	20	19	-	-
Control etanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Control H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	-	-	-

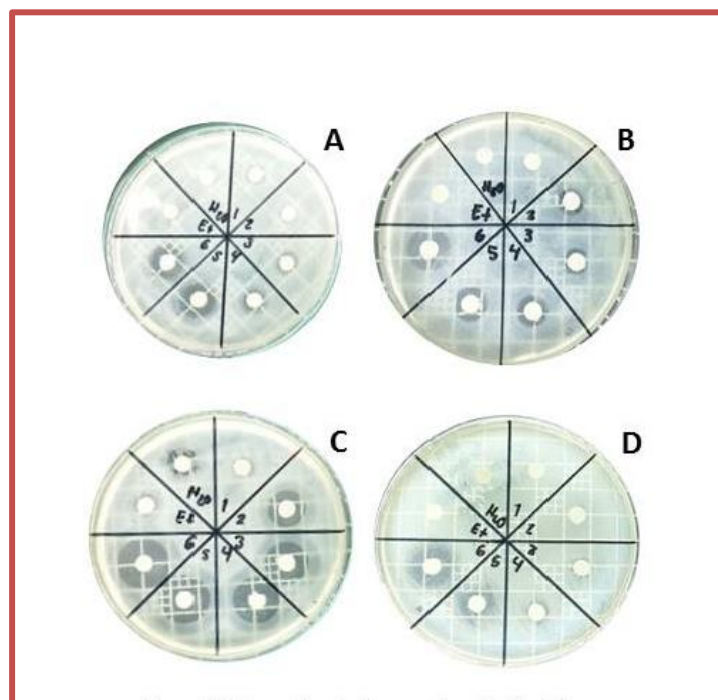


Figura 2. Fotografías de las pruebas de difusión en placa para las bacterias gram negativas. A. *Escherichia coli*, B. *Klebsiella pneumoniae*, C. *Salmonella* sp. D. *Pseudomonas aeruginosa*.

Las pruebas ante *Candida krusei* y *Aspergillus niger* no exhibieron actividad antimicótica por la metodología de difusión en placa.

Nuestros resultados son comparables a los obtenidos en un estudio realizado por Necchi y colaboradores (2012), quienes determinaron por la misma metodología una CIM por parte de un extracto etanólico de *Nopalea cochinellifera* de 10 mg/ml para *Staphylococcus aureus* y de 5 mg/ml para *Klebsiella pneumoniae*,

Tabla V. Resultados de las pruebas de viabilidad celular para bacterias gram positivas después de la exposición a diferentes concentraciones del extracto.

Microorganismo	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. epidermidis</i>
Concentración de mucilago (mg/ml)	Viabilidad (células/ml)			
0 (Control negativo)	$1,34 \times 10^9$	$1,41 \times 10^9$	$1,03 \times 10^9$	$1,08 \times 10^9$
1	$1,36 \times 10^8$	$4,83 \times 10^8$	$5,19 \times 10^8$	$8,33 \times 10^8$
2	$4,88 \times 10^8$	$3,19 \times 10^8$	$3,48 \times 10^8$	$6,40 \times 10^8$
5	$3,08 \times 10^8$	$9,64 \times 10^8$	$4,18 \times 10^8$	$5,84 \times 10^8$
10	$1,57 \times 10^8$	$3,98 \times 10^8$	$3,94 \times 10^7$	$6,10 \times 10^8$
15	$4,76 \times 10^8$	$6,98 \times 10^8$	$4,22 \times 10^7$	$1,52 \times 10^8$
25	$1,5 \times 10^7$	$1,19 \times 10^8$	$1,41 \times 10^7$	$9 \times 10^7$
50	$2,53 \times 10^7$	$3,84 \times 10^7$	$1,03 \times 10^7$	$7,5 \times 10^6$

Tabla VI. Resultados de las pruebas de viabilidad celular para bacterias gram negativas después de la exposición a diferentes concentraciones del extracto.

Microorganismo	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Concentración de mucílago (mg/ml)	Viabilidad (células/ml)			
0 (Control negativo)	5,09x10 <sup>8</sup>	4,44x10 <sup>8</sup>	8,05x10 <sup>8</sup>	5,35x10 <sup>8</sup>
1	3,98x10 <sup>8</sup>	3,01x10 <sup>8</sup>	2,04x10 <sup>8</sup>	2,7x10 <sup>8</sup>
2	1,39x10 <sup>8</sup>	1,84x10 <sup>8</sup>	1,58x10 <sup>8</sup>	3,41x10 <sup>8</sup>
5	1,27x10 <sup>8</sup>	3,16x10 <sup>8</sup>	9,56x10 <sup>7</sup>	8,81x10 <sup>7</sup>
10	1,64x10 <sup>8</sup>	1,44x10 <sup>8</sup>	4,31x10 <sup>7</sup>	1,88x10 <sup>7</sup>
15	1,42x10 <sup>8</sup>	1,2x10 <sup>8</sup>	1,31x10 <sup>7</sup>	2,45x10 <sup>8</sup>
25	6,94 x10 <sup>7</sup>	1,66x10 <sup>8</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>	1,66x10 <sup>8</sup>
50	3,38x10 <sup>7</sup>	3,4 x10 <sup>7</sup>	2,16x10 <sup>7</sup>	3,56x10 <sup>7</sup>

Tabla VII: Resultados de las pruebas de viabilidad celular para *Candida krusei* después de la exposición a diferentes concentraciones del extracto.

<i>Candida krusei</i>			
Concentración de mucílago (mg/ml)	Absorbancia		Viabilidad (células/ml)
	A	B	
0 (control positivo)	0,587	0,625	1,14x10 <sup>9</sup>
1	0,377	0,393	7,22x10 <sup>8</sup>
2	0,518	0,542	9,94x10 <sup>8</sup>
5	0,428	0,44	8,14x10 <sup>8</sup>
10	0,415	0,431	7,93x10 <sup>8</sup>
15	0,152	0,151	2,84x10 <sup>8</sup>
25	0,025	0,021	4,31x10 <sup>7</sup>
50	0,008	0,012	1,88x10 <sup>7</sup>

Los resultados obtenidos al evaluar la proliferación celular bacteriana y micóticas después de la exposición al extracto están presentados en las tablas V, VI, VII y VIII; asimismo en las gráficas 1, 2 y 3 se puede observar una disminución considerable de la cantidad de células a partir de la concentración



de 1 mg/ml para todos los casos tanto de bacterias como de hongos. Para el caso de *Salmonella sp.* se observó la mayor disminución.

Tabla VIII. Resultados de las pruebas de viabilidad celular para *Aspergillus niger* después de la exposición a diferentes concentraciones del extracto.

<i>Aspergillus niger</i>			
Concentración de mucilago (mg/ml)	Absorbancia		Viabilidad (células/ml)
	A	B	
0 (control positivo)	0,584	0,600	$1,11 \times 10^9$
1	0,403	0,415	$7,67 \times 10^8$
2	0,354	0,319	$6,31 \times 10^8$
5	0,234	0,251	$4,55 \times 10^8$
10	0,059	0,069	$1,2 \times 10^8$
15	0,044	0,039	$7,78 \times 10^7$
25	0,078	0,076	$1,44 \times 10^8$
50	0,012	0,008	$1,88 \times 10^7$

En un estudio realizado por Dhaouadi y colaboradores (2013) en el que el extracto de la tuna de *Opuntia ficus-indica*, utilizando el mismo método de evaluación de la proliferación celular determinaron una CIM de 0,6 mg/ml para varias especies de *Staphylococcus* y *Escherichia coli*, y 0,3 mg/ml *Salmonella sp.* Este último fue el microorganismo más sensible al extracto lo que concuerda con nuestro resultado con el extracto etanólico de mucilago de nopal (*Opuntia ficus-indica*).

## Conclusiones

Se tuvo una certeza de más del 60% al corroborar por pruebas bioquímicas, observación macro y microscópica los microorganismos con los que se trabajaron.

Para la metodología de difusión en placa, todos los microorganismos tuvieron cierto grado de sensibilidad excepto *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida krusei* y *Aspergillus niger*.

El grado de inhibición del extracto etanólico de mucilago de nopal *Opuntia ficus-indica* fue menor que los fármacos que se aplicaron en el antibiograma, ya que su efecto antibacteriano se logró a concentraciones 100 veces mayores que las indicadas en el antibiograma.

La CIM con la metodología de difusión en placa fue distinta para cada microorganismo, sin embargo con el *kit* de evaluación de la proliferación celular, se determinó una inhibición del crecimiento bacteriano desde la concentración de 1 mg/ml.

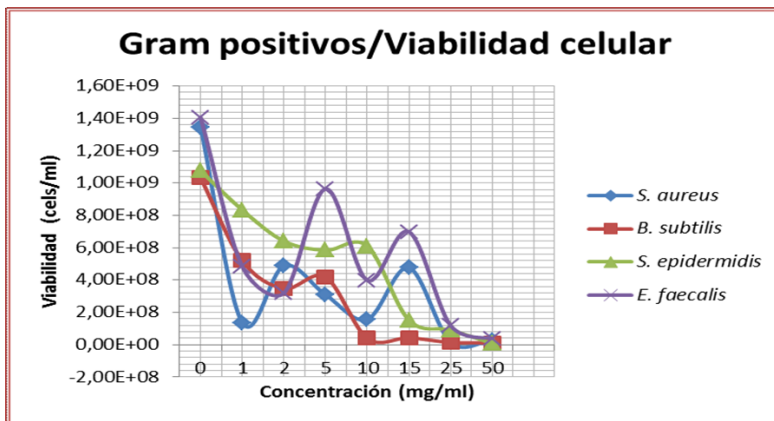


Figura 3. Comparación de la cantidad de células gram positivas viables después de la exposición a diferentes concentraciones del extracto.

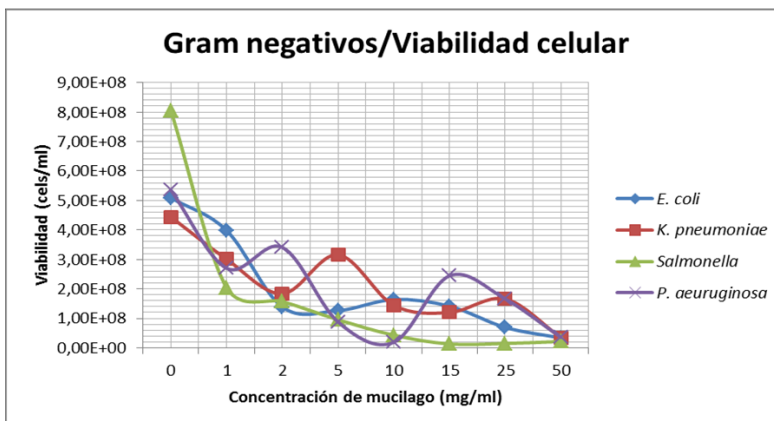


Figura 4. Comparación de la cantidad de células gram negativas viables después de la exposición a diferentes concentraciones del extracto.

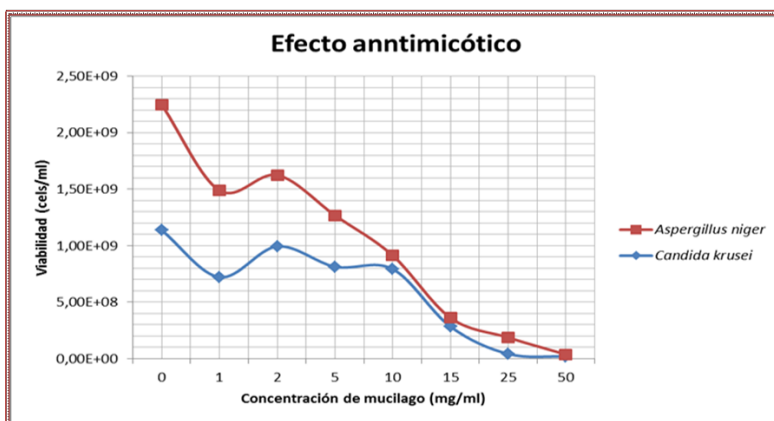


Figura 5. Comparación de la cantidad de células de naturaleza fúngica viables después de la exposición a diferentes concentraciones del extracto.

El extracto etanólico de mucilago de nopal *Opuntia ficus-indica* tiene efecto antibacteriano sobre el crecimiento de bacterias tanto gram positivas como

gram negativas. Los microorganismos gram positivos fueron más sensibles al efecto por lo cual se puede inferir que la estructura de la pared celular es un factor para el efecto antibacteriano. Se observó además, un efecto antimicótico en el desarrollo de *Candida krusei* y *Aspergillus niger*. *Candida krusei* fue el hongo más sensible.

Por lo antes expuesto se concluye que el extracto etanólico de nopal *Opuntia ficus-indica* tiene un potencial antimicrobiano que puede usarse en la industria de alimentos y farmacéutica. El presente trabajo aporta información importante en la búsqueda de alternativas para nuevos tratamientos contra infecciones bacterianas y micóticas.

### Referencias bibliográficas

Aguilar D, Maldonado M. Determinación de la genotoxicidad y citotoxicidad del mucilago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) en modelo murino Tesis Experimental. Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Zacatecas, 2015.

Dhaouadi K, Raboud F, Funez-Gomes L, Pamies D, Estevan C, Hamdaoui M et al. Polyphenolic extract of barberry fig (*Opuntia ficus-indica*) syrup RP-HPLCE-ES-AS analysis and determination of antioxidant, antimicrobial, in cancer-cells cytotoxic Potentials. Food Anal Methods 2013; 6: 45-53.

El-Mostafa K, El-Karrassi Y, Badreddine A, Andredetti P, Vameca J, El-Kebbaj MS et al. (*Opuntia ficus-indica*) As a source of bioactive compounds for nutrition Health and disease. Molecules 2014; 19: 14879-901.

Gutierrez-Cortez E, Rojas-Molina I, del Real A, Paredes-Martínez E, Rodríguez-García ME. Condiciones de proceso de extracción de mucilago de nopal deshidratado. RESPYN; 285

Necchi R, Alve IA., Alves SH. y Mantron MP. *In vitro* antimicrobial activity, total poliphenols and flavonoids contents of *Nopalea cochinellifera* (L.) Salm-Dyck (cactaceae). Research in Pharmacy 2012: 1-7.

Struthers JK, Westran RP. Bacteriología Clínica. Capítulo 1 Estructura y función de las bacterias, Capítulo 13 Infecciones de la piel, tejidos blandos, articulaciones y hueso. E.E.U.U. Ed. Masson. 2003; 9-8, P 154-161.