

## Efecto antibacteriano del tocosh de papa (*Solanum tuberosum* Var. Hualash) sobre *Salmonella entérica* subespecie entérica serovar Typhimurium ATCC 13311<sup>1</sup>

Haydee Jaqueline Huayhua Mamani<sup>2</sup>, Raúl Alberto García Castro<sup>3</sup>, Martín Pedro Llapa Medina<sup>4</sup>

### Resumen

**Introducción:** el tocosh de papa es un derivado de la papa andina utilizado para el consumo humano, debido a sus propiedades nutritivas. Sin embargo, gracias al proceso de elaboración se desarrolla una flora microbiana natural con actividad antibacteriana. **Objetivo:** evaluar el efecto antibacteriano del tocosh de papa (*Solanum tuberosum* Var. Hualash), sobre *Salmonella entérica* subespecie entérica serovar Typhimurium. **Materiales y Métodos:** para la investigación la cepa bacteriana se aisló de un medio natural y la solución estándar se preparó 0,78 g/ml de extracto de tocosh. Se extrajo 14 alícuotas con diferentes volúmenes que van desde 2,50 µl a 49,50 µl. La evaluación antibacteriana fue realizada con la técnica de Kirby Bauer, inoculando alícuotas en discos

de sensibilidad y colocándolas en placas Petri con agar Muller Hinton, sembradas con *Salmonella entérica*. **Resultados:** según la escala de Duraffourd (nivel de sensibilidad), con 11,97 mg de tocosh no se registró efecto antibacteriano. Entre 13,96 mg y 23,94 mg de tocosh, sí hubo efecto antibacteriano a un nivel de sensibilidad límite, con 29,92 mg de tocosh el efecto es muy sensible, y con 39,49 mg se registró un nivel sumamente sensible. **Conclusiones:** el tocosh de papa desarrolló biocomponentes naturales que tuvieron efecto antibacteriano sobre *Salmonella entérica* serovar Typhimurium ATCC 13311 a partir de 13,96 mg. Esta propiedad del tocosh podría utilizarse como biopreservante en alimentos.

**Palabras clave:** Tocosh, antibacteriano; halo de inhibición; *Salmonella entérica*.

1 Artículo original derivado del proyecto de investigación Efecto antibacteriano de *Solanum tuberosum* sobre *Salmonella* spp, adquirida vía oral, de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, ejecutado entre 2019 y 2021; Financiado por la Universidad Latinoamericana CIMA

2 Magíster en Ciencias Especialista en laboratorio, Bióloga. Correo: haydee.huayhua@unjbg.edu.pe / ORCID: 0000-0001-5669-3465.

3 Doctor en Ciencias, Maestría en Física, Licenciado en Educación, docente titular del Departamento de Ciencias Formales y Naturales, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Correo: rgarcia@unjbg.edu.pe / ORCID: 0000-0003-1875-6917.

4 Doctor en Ciencias, Magíster en Ciencias, Licenciado en Química, docente titular del Departamento de Ciencias Formales y Naturales, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Correo: mllapam@unjbg.edu.pe / ORCID: 0000-0002-2918-8233.

**Autor para Correspondencia:** rgarcia@unjbg.edu.pe

Recibido: 14/02/2022 Aceptado: 07/11/2022

\*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

## Antibacterial effect of tocosh of potato (*Solanum tuberosum* Var. Hualash) on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 13311

### Abstract

**Introduction:** potato tocosh is a derivative of the Andean potato used for human consumption, due to its nutritional properties. However, thanks to the manufacturing process, a natural microbial flora with antibacterial activity develops. **Objective:** to evaluate the antibacterial effect of potato tocosh (*Solanum tuberosum* Var. Hualash), on *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium. **Materials and Methods:** for the investigation, the bacterial strain was isolated from a natural medium and the standard solution was prepared 0.78 g/ml of tocosh extract. 14 aliquots with different

volumes ranging from 2.50  $\mu$ l to 49.50  $\mu$ l were extracted. The antibacterial evaluation was performed with the Kirby Bauer technique, inoculating aliquots in sensitivity discs, placing them in Petri dishes with Muller Hinton agar, seeded with *Salmonella enterica*. **Results:** according to the Duraffourd scale (sensitivity level), with 11.97 mg of tocosh no antibacterial effect was recorded. Between 13.96 mg and 23.94 mg of tocosh, there was an antibacterial effect at a limit sensitivity level, with 29.92 mg of tocosh the effect is very sensitive, and with 39.49 mg a highly sensitive level was recorded. **Conclusions:** potato tocosh developed natural biocomponents that had an antibacterial effect on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 13311 from 13.96 mg. This property of tocosh could be used as a biopreservative in food.

**Keywords:** Tocosh, antibacterial, endurance, halo of inhibition, *Salmonella enterica*.

## Efeito antibacteriano da batata tocosh (*Solanum tuberosum* Var. Hualash) sobre *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Typhimurium ATCC 13311

### Resumo

**Introdução:** a batata tocosh é um derivado da batata andina utilizada para consumo humano, devido às suas propriedades nutricionais. No entanto, graças ao processo de fabricação, desenvolve-se uma flora microbiana natural com atividade antibacteriana. **Objetivo:** avaliar o efeito antibacteriano da batata tocosh (*Solanum tuberosum* Var. Hualash), sobre *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Typhimurium. **Materiais e Métodos:** para a pesquisa, a cepa bacteriana foi isolada de um meio natural e a solução padrão foi preparada 0,78 g/ml de extrato de tocosh. Foram extraídas 14 alíquotas com

diferentes volumes variando de 2,50  $\mu$ l a 49,50  $\mu$ l. A avaliação antibacteriana foi realizada pela técnica de Kirby Bauer, inoculando alíquotas em discos de sensibilidade, colocando-as em placas de Petri com ágar Muller Hinton, semeadas com *Salmonella enterica*. **Resultados:** de acordo com a escala Duraffourd (nível de sensibilidade), com 11,97 mg de tocosh nenhum efeito antibacteriano foi registrado. Entre 13,96 mg e 23,94 mg de tocosh, houve um efeito antibacteriano em um nível de sensibilidade limite, com 29,92 mg de tocosh o efeito é muito sensível, e com 39,49 mg foi registrado um nível altamente sensível. **Conclusões:** a batata tocosh desenvolveu biocomponentes naturais que tiveram efeito antibacteriano sobre *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium ATCC 13311 a partir de 13,96 mg. Esta propriedade do tocosh pode ser utilizada como bioconservante em alimentos.

**Palavras-chave:** Tocosh, antibacteriano; halo de inibição; *Salmonella enterica*.

## Introducción

Uno de los agentes etiológicos que causan mayor prevalencia de infecciones en el organismo humano, es la *Salmonella entérica* y se considera un grave problema para la salud (Barreto *et al.*, 2016; Weiler *et al.*, 2018). Para su tratamiento se han desarrollado múltiples fármacos, pero las investigaciones vienen demostrando que las cepas se adaptan y crean resistencia, por ejemplo: cloramfenicol, sulfamidas, tetraciclina entre otros (Junod *et al.*, 2013), incluidas las cefalosporinas de tercera generación utilizadas para tratar la salmonelosis invasiva (Ibarra *et al.*, 2005), disminuyeron su poder antimicrobiano.

Sin duda, hay importantes limitaciones en la terapia antimicrobiana de la medicina humana y veterinaria; sobre todo cuando se desarrollan cepas resistentes a los tratamientos antimicrobianos, asociados a la utilización indiscriminada de fármacos (Oromí, 2000; Quino *et al.*, 2020). Este dilema permitió investigar otras alternativas naturales de antibióticos, que se evaluaron en el tocosh de papa, el cual, es elaborado en regiones naturales de la suni, la puna y la janca, en forma amigable (Haller y Branca, 2020). Recursos biológicos que ofrecen las regiones de alta montaña para el crecimiento sostenible de estas poblaciones (Escobar-Mamani *et al.*, 2020).

La papa (*Solanum tuberosum*), es uno de los seis cultivos alimentarios más importantes, tienen su origen en las regiones montañosas (FAO, 2018) provienen desde tiempos ancestrales, posiblemente 500 a.C. (Morales, 2007). En el Perú hay culturas tradicionales que están ligadas a la conservación de la mayor parte de la biodiversidad de la papa (Fonseca *et al.*, 2014).

Se consume directamente en diversas preparaciones, pero también es procesada con métodos tradicionales de deshidratación generando diversos subproductos como: el chuño negro, chuño blanco o tunta y el tocosh. Estos subproductos se elaboran con el fin de preservar las propiedades nutricionales de la papa, por más de 6 meses. Son alimentos de alto consumo y se comercializan tanto en regiones andinas como en la llanura de la costa (Velasco-Chong *et al.*, 2020; Fonseca *et al.*, 2014; Sandoval *et al.*, 2015).

El tocosh es un subproducto de la papa andina que se elabora a partir de la variedad Huayro, Iskupuru, Blanca y Hualash. Para su preparación generalmente se utiliza la variedad Hualash, especialmente en regiones de la cordillera central peruana, por ejemplo: en la montaña de Huánuco ubicado a 3500 metros de altitud y en la montaña de Junín a 3050 metros de altitud (Lechuga-Gilt y Salas-Ramírez, 2013). Para su elaboración se emplea una técnica ancestral de conservación andina (Velásquez-Milla *et al.*, 2011). Que consiste en fermentar la papa en un ambiente natural, sumergiéndose en pozas de 1,5 -2,0 m de profundidad. Luego se cubre con *Stipa ichu* (paja seca) cada 30 cm en forma alternada y se recubre con piedras. El agua de la montaña discurre al lado de la poza, se filtra y cubre todo el producto, por un periodo de cuatro a veinticuatro meses. Cuando brota espuma y olor penetrante, el tocosh estará listo para su consumo (Lechuga-Gilt y Salas-Ramírez, 2013).

**Tabla 1.** Composición nutricional de productos papa andina procesada y sin procesar

Productos de papa andina		Carbohidratos g%	Proteínas g%	Energía Kcal-g%
Papa seca (Procesada)	Tocosh de papa	80,01	3,91	343,42
	Papa chuño negro	79,40	4,00	333,00
	Papa moraya chuño pelado (tunta)	77,70	1,90	323,00
Papa fresca (Sin procesar)	Papa blanca	22,30	2,10	87,00
	Papa variedad nativa Hualash	17,60	2,00	54,00

Fuente: INS, Tablas de composición de alimentos (2017) Lima-Perú, Facultad de Farmacia- UNMSM (2007).

El tocosh de papa, es consumido y comercializado por las poblaciones de Huánuco, Pasco, Apurímac, Ancash, Junín, y Lima, como insumo alimenticio básico y terapéutico tradicional, debido a los efectos benéficos en los problemas infecciosos, gástricos y soroche (Sandoval Vegas *et al.*, 2015). Se considera una medicina tradicional peruana con alta seguridad alimentaria de hasta 1000 mg / kg de peso corporal en modelos animales (Velasco-Chong *et al.*, 2020).

También se afirma que *Solanum tuberosum* contiene compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, vitamina C, triterpeno, saponinas, alcaloides, y  $\alpha$ -solanina. Que constituyen una fuente de alimento con capacidad antioxidante y/o fotoquímicos (Brown, 2005; Velasco-Chong *et al.*, 2020).

En Argentina se investigó las propiedades antimicrobianas de *Solanum tuberosum*, concluyendo que las antocianinas de la papa ejercen actividad antibacteriana y una ligera actividad anti fúngica; siendo la bacteria *Staphylococcus aureus* y el hongo *Rhizoctonia solani*, los microorganismos más sensibles que fueron reportados (Bontempo *et al.*, 2013). Algunos estudios informan el efecto antibacteriano del tocosh, en las cepas de *E. coli* y *S. aureus* (Kumar *et al.*, 2009; Amanpour *et al.*, 2015).

Las variedades de papa pueden ayudar a descubrir nuevas clases químicas de sustancias antibióticas que podrían servir como agentes selectivos para el control y la quimioterapia de enfermedades infecciosas (Bontempo *et al.*, 2013; Pannu *et al.*, 2014). La investigación tiene por objeto demostrar que el extracto de tocosh contiene biocomponentes naturales con propiedades para actuar como agentes antibacterianos sobre la *Salmonella entérica*.

## Materiales y métodos

### Preparación de la solución estándar con tocosh.

Se recolectó una muestra biológica de 1000 g de tocosh fresco, en septiembre del 2019 en el departamento de Huánuco, Perú. A una altura de 3210 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m), latitud sur 9°49'59", longitud oeste 76°40'08".

Con la muestra se preparó la solución estándar en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Se pesó 78 g de tocosh fresco en 100 ml de agua destilada estéril formando una solución homogénea de extracto tocosh,

con una concentración de 0,78 g/ml. De la solución se tomaron 14 alícuotas de 2,50 a 49,50 µl (microlitros) de la solución estándar (Cuadro 3), que contiene de 1,99 a 39,49 mg (miligramos) de tocosh, para evaluar el efecto antibacteriano sobre la *S. entérica*.

#### **Aislamiento e identificación molecular de *Salmonella entérica*.**

El microorganismo se aisló a partir de 100 g de cáscara de huevos de gallina, usando la técnica de cultivo microbiológico, luego a través medios de cultivo diferenciales como agar *Salmonella* -Shiguella (Agar SS) y pruebas bioquímicas, se identificó a *Salmonella* (Marcelo *et al.*, 2017). El análisis molecular del ADN de la salmonella se realizó mediante el método de Hernández *et al.* (2009), utilizando la amplificación de 16 rDNA por PCR con el método Reysenbach *et al.* (2000), una secuencia Sanger (Fw, Rv) con el método MacroGen USA; y un análisis bioinformático con el método Codoncode Aligner NCBI nucleotide BLASTN. Identificándose la bacteria como *Salmonella entérica* subespecie *entérica* serovar Typhimurium ATCC 13311 con una identidad de 99.2 % en el laboratorio de Biotecnología de Alimentos BIOAL S.A.C.

#### **Evaluación del efecto antibacteriano del tocosh.**

Se aplicó el método de Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966; Bernal y Guzmán, 1984), usando la cepa de *S. entérica*. Se siguió el procedimiento establecido por el Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS) (Cavaliere *et al.*, 2005), que consistió en cultivar a la bacteria en agar nutritivo (AN) a 37 °C por 24 horas. Luego se tomaron por arrastre 3 a 5 colonias del cultivo fresco, transfiriéndose a un tubo con medio BD Brain Heart Infusion (10 ml) (Roseburg, 1951). Tras 4-6 horas a 37°C, la turbidez se ajustó a 0,5 unidades McFarland (equivalente a  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml). El caldo de cultivo bacteriano se usó entre los 15-

30 minutos siguientes. Con una micro-pipeta se inocularon 100 µl (microlitros) del cultivo bacteriano sembrando por extensión, en la superficie del Agar Mueller-Hinton (20 ml en placas Petri de 100 mm) (Bauer, *et al.*, 1966), para luego emplear los discos de sensibilidad. El experimento se complementa con ensayos de control – placebo.

#### **Empleo de los discos de sensibilidad.**

Para las pruebas de difusión se usaron discos OXOID BF de 6 mm de diámetro (MEDLAB) en placas Petri estándar. A los 15-30 minutos después de diseminar la bacteria por extensión en la superficie del Agar Muller Hinton, se colocaron los discos asegurando el contacto. Luego se distribuyeron 14 alícuotas de la solución estándar de tocosh con volúmenes diferentes y se realizaron ocho repeticiones por prueba.

Para el caso del control placebo se utilizaron discos (OXOID Ltd.) previamente desactivados a una presión de 20 bar a 121°C por 15 minutos. A continuación, se invirtieron las placas y se incubaron a 37°C, en condiciones aerobias, por 24 horas. Para examinar las placas y medir el diámetro de los halos de inhibición, se utilizó un calibrador digital (vernier) desde la parte posterior de la placa, con luz transmitida y fondo oscuro.

#### **Procesamiento estadístico.**

Los resultados se procesaron con el programa estadístico SPSS 25.0 (2017). Se realizaron análisis de tendencia central y dispersión. El análisis comparativo entre los halos de inhibición con ANOVA (prueba factorial inter grupos e intragrupo), previa comprobación de normalidad de los datos con Shapiro-Wilk. Adicionalmente se realizó la prueba HSD Tukey que, permitió determinar la conformación de grupos homogéneos de la muestra. El efecto inhibitorio se midió con la escala de Duraffourd (Duraffourd *et al.*, 1987).

## Resultados

La tabla 2 muestra los resultados de ocho repeticiones por grupo, de catorce alícuotas del extracto de tocosh de papa (2,50 a 49,50 mg de tocosh). Observamos que las medias de los diámetros de los halos de inhibición (DHI) van en aumento hasta llegar a una media de 22,30 mm. Se observa en la tabla 3 siete subconjuntos homogéneos de los catorce grupos de tratamientos con efectos inhibitorios diferentes y ascendentes (Figura 1). En la tabla 1 apreciamos que con valores menores a 11,97 mg de tocosh de papa (Subconjuntos I y II) no se consigue efecto inhibitorio sobre *S. entérica*, por otro lado, *S. entérica* es de sensibilidad

límite, si se expone entre 13,96 a 23,94 mg de tocosh de papa (Subconjuntos III, IV, V); mientras que es muy sensible frente a 29,92 mg (Subconjunto VI) y sumamente sensible frente a 39,49 mg de tocosh de papa (Subconjunto VII).

En tanto que *S. entérica* es resistente a valores menores de 29,92 mg de tocosh de papa (Subconjuntos I al VI) y es sensible a 39,49 mg de tocosh de papa (Subconjunto VII) según el patrón estándar de DHI para bacterias del orden Enterobacterales (Cavalieri *et al.*, 2005). Los resultados del placebo en el grupo quince (Tabla 2), no evidencian zonas de inhibición, lo que demuestra ausencia de efecto antibacteriano sobre la *S. entérica*

**Tabla 2.** Efecto antibacteriano del tocosh de papa (*Solanum tuberosum*) sobre *Salmonella entérica*

Grupo	Alícuota	Tratamiento Tocosh (mg)	N	Media DHI (mm)	Desv. Estand	Error Estand	95 % del intervalo de confianza		DHI (mm)	Susceptibilidad	
							Límite inferior	Límite superior		Duraffourd	*NCCLS
1	2,50	1,99	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	< 8	Sin efecto	**R
2	5,00	3,99	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
3	7,50	5,98	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
4	10,00	7,98	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
5	12,50	9,97	8	6,09	0,13	0,04	6,05	6,14	8-14	Sensibilidad límite	**R
6	15,00	11,97	8	6,11	0,11	0,03	6,01	6,20			
7	17,50	13,96	8	8,27	0,48	0,17	7,86	8,68			
8	20,00	15,96	8	9,08	0,39	0,13	8,75	9,41			
9	22,50	17,95	8	9,45	0,45	0,16	7,95	11,04			
10	25,00	19,95	8	10,00	0,34	0,12	9,71	10,28			
11	27,50	21,94	8	10,12	3,08	1,09	7,54	12,70			
12	30,00	23,94	8	12,05	0,85	0,30	11,33	12,76			
13	37,50	29,92	8	16,39	0,63	0,22	15,86	16,92	15-20	Muy sensible	**R
14	49,50	39,49	8	22,30	0,34	0,12	22,01	22,58	> 20	Sumamente sensible	**S

Grupo	Alícuota	Tratamiento Tocosh (mg)	N	Media DHI (mm)	Desv. Estand	Error Estand	95 % del intervalo de confianza		DHI (mm)	Susceptibilidad	
							Límite inferior	Límite superior		Duraffourd	*NCCLS
15	0.00	0.00	8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	Sin efecto	**R	

\*NCCLS: Comité nacional de normas de laboratorios clínicos

\*\* (R) Resistente  $\leq 16$  mm; (I) Intermedia 17 – 20 mm, (S) Susceptible  $\geq 21$  mm.

Fuente: Elaborada por los autores

La tabla 3 expone los resultados del estadístico ANOVA. Los grupos de tratamiento del 5 al 14 muestran distribución normal ( $p = > 0,05$ ); se omitió la prueba para los grupos del 1 al 4, debido a que sus resultados no evidencian inhibición (0,00). Bajo estas condiciones se

procedió al análisis de la prueba factorial inter grupos, proporcionándoles un valor  $p = 0,00 < 0,05$ . Estableciéndose diferencias significativas entre los efectos inhibitorios del tocosh de papa sobre la *S. entérica*.

**Tabla 3.** Resultados de la prueba de diferencias significativas entre los tratamientos

Grupos	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sigma
Entre grupos	4 528,73	13	348,36	422,72	0,00
Dentro de grupos	80,76	98	0,82		
Total	4 609,49	111			

Fuente: Elaborada por los autores

La prueba HSD Tukey de la tabla 4, permite apreciar la conformación de siete subconjuntos homogéneos, entre los catorce grupos de tratamientos con tocosh de papa (*S. tuberosum*). El primer subconjunto homogéneo está conformado por los tratamientos: 1, 2, 3, y 4 con un valor  $p = 1 > 0,05$ ; mostrando ausencia de halos de inhibición (sin efecto antibacteriano); el segundo subconjunto lo conforman los tratamientos: 5 y 6, el efecto antibacteriano es similar en ambos tratamientos ( $p = 1 > 0,05$ ) aparece halos inhibitorios; el tercer subconjunto está formado por los tratamientos: 7, 8 y 9, con efectos antibacterianos similares a un nivel de  $p = 0,373 > 0,05$  con presencia de halos inhibitorios; el cuarto subconjunto

está conformado por los tratamientos: 10 y 11, con efectos antibacterianos similares a un nivel de  $p = 0,567 > 0,05$  con halos inhibitorios visibles; el quinto subconjunto está conformado sólo por el tratamiento 12 ( $p = 1 > 0,05$ ), el sexto subconjunto está conformado por el tratamiento 13 ( $p = 1 > 0,05$ ) y el séptimo subconjunto está conformado por el tratamiento 14 ( $p = 1 > 0,05$ ).

La aparición de los subconjuntos (con un sólo elemento) en el tratamiento 12, 13, y 14, manifiestan diferencias significativas entre estos subgrupos, a su vez, con subconjuntos anteriores, evidenciando efecto antibacteriano ascendente sobre *S. entérica* (Figura 1).

**Tabla 4.** Resultados de la prueba HSD Tukey (conjuntos homogéneos)

HSD Tukey <sup>a</sup>		Efecto Antibacteriano (DHI en mm)						
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0,05						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
1	8	0,00						
2	8	0,00						
3	8	0,00						
4	8	0,00						
5	8		6,09					
6	8		6,11					
7	8			8,27				
8	8			9,08				
9	8			9,45				
10	8				10,00			
11	8				10,12			
12	8					12,05		
13	8						16,39	
14	8							22,30
Sig.		1,00	1,00	0,37	0,56	1,00	1,00	1,00

Fuente: Elaborada por los autores

La prueba estadística con  $r$  de Pearson entre la alícuotas de *S. tuberosum* y los halos de inhibición, reportan  $r = 0,979$  (fuerte correlación directa). Significa que a medida que aumentamos el volumen de las alícuotas del extracto de tocosh de papa (*S. tuberosum*), aumenta el halo de inhibición, es decir, se consigue mayor efecto antibacteriano. Esto también se corrobora mediante la

gráfica (Figura 1), donde observamos, una curva en constante crecimiento del efecto antibacteriano, a partir del V tramo de tratamiento con tocosh de papa (*S. tuberosum*). En los dos últimos tramos se observa que, al aumentar el volumen de las alícuotas (30 mg y 40 mg), aumenta significativamente el nivel de susceptibilidad de la bacteria (aumenta el diámetro de halo de inhibición).



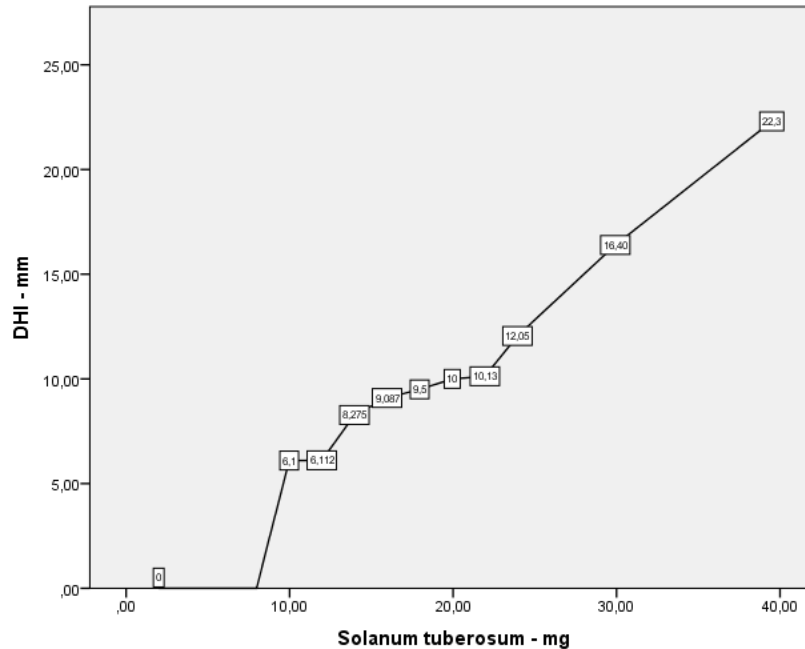


Figura 1. Curva ascendente de las medias del efecto antibacteriano de los catorce tratamientos con tocosh de papa (*S. tuberosum*) sobre *S. entérica*.

Fuente: Elaborada por los autores

## Discusión

La resistencia de *Salmonella* a los antibacterianos de origen farmacológico ha generado mucha preocupación en el campo clínico (Ibarra *et al.*, 2005; Quesada *et al.*, 2016; Quino *et al.*, 2020). En Perú y en Chile también se informó la multidrogorresistencia de *Salmonella* (Gebreyes y Altiera, 2002; Junod *et al.*, 2013; Quino *et al.*, 2020). Este problema genera la necesidad de indagar e identificar otras alternativas en productos naturales nativos, con actividad antibacteriana (Raana *et al.*, 2015; Velasco-Chong *et al.*, 2020).

En muestras de tocosh se registró la presencia de bacterias ácido lácticas (BAL) potencialmente probióticas, entre ellas los *Lactobacillus sakei* y *Leuconoctoc mesenteroide* (Santos-Mendoza *et al.*, 2018). Los BAL predominan en las papas frescas, mientras

que *Clostridium*, *Zymophilus* y *Prevotella*, fueron los géneros más abundantes en las muestras de tocosh de 1 y 8 meses (Jiménez *et al.*, 2018). Los microorganismos reportados en el tocosh de papa producen biocomponentes con actividad antimicrobiana (Sandoval Vegas *et al.*, 2015), los estudios de Cué y Morejón (1988), confirman que “los antibióticos son sustancias químicas producidas por varios microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos), que suprimen el crecimiento de otros microorganismos, y originan su destrucción” (Cué y Morejón, 1998; Bérdy, 2005).

Por otro lado, Cavalieri *et al.* (2005), indica que la resistencia adquirida de la bacteria *Salmonella* a antibióticos, se debe a mutaciones, que resultan en la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), las que hidrolizan a todas las penicilinas, aztreonam y todas las

cefalosporinas, excepto a las cefalamicinas: cefoxitina y cefotetan, (Cavaliere *et al.*, 2005). Las cuales inhiben la formación de la pared celular bacteriana, afectando la estructura del polímero peptidoglicano de la pared celular (Cué y Morejón, 1998) de las *Salmonella spp* que también es inhibida por inhibidores de las betalactamasas, como es el caso del ácido clavulánico (Cavaliere *et al.*, 2005).

Los antibióticos cefalamicinas se obtienen del *Streptomyces spp.* (Cué y Morejón, 1998), por ejemplo, el ácido clavulánico se obtiene del *Streptomyces clavuligerus* (López-Agudelo *et al.*, 2021), corresponde al Filum Actinobacteria, Orden Streptomycetales (Atta, 2015). Lo que explica la actividad antibacteriana del tocosh de papa sobre la *Salmonella entérica*.

El tocosh de papa presentó actividad antibacteriana sobre *S. entérica* a una concentración 0,78 g/ml. Utilizando alícuotas de 49,50 µl que contiene 39,49 mg de extracto de tocosh en cada disco OXOID, se apreció un crecimiento inhibitorio que permite determinar a la bacteria como sumamente sensible frente al tocosh de papa (escala de Duraffourd). Sin embargo, se categoriza como sensible según el patrón estándar del halo de inhibición para bacterias del Orden Enterobacterales (NCCLS).

El control placebo del experimento corrobora la conclusión, debido al crecimiento normal de la *Salmonella entérica* en la superficie del Agar Muller Hinton.

Otros investigadores le atribuyen actividad antimicrobiana a los alcaloides de la papa (*S. tuberosum*) para inhibir el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* (Amanpour *et al.*, 2015). Mientras que la sensibilidad de *S. entérica* a 39,49 mg de tocosh de papa (*S. tuberosum*) ha demostrado que el grado de susceptibilidad al compuesto depende de la dosis de tocosh de papa que se aplica sobre la bacteria. La actividad antimicrobiana del tocosh de papa puede ser favorecida por la presencia de

metabolitos secundarios formados por otros microorganismos como *Streptomyces spp.* (Sandoval *et al.*, 2015) y *Lactobacillus spp.* (Santos-Mendoza *et al.*, 2018) en el proceso de fermentación de la papa andina.

El mecanismo de acción de *Lactobacillus*, para inhibir el crecimiento de enterobacterias tiene que ver con la producción de peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y pH ácido, bloqueando la adhesión y fijación bacterianas, directamente o a través de un mecanismo competitivo que dificulte su crecimiento (Pigrau-Serrallach, 2005).

Por último, las investigaciones realizadas demuestran que existe cepas de *S. entérica* resistentes a múltiples fármacos, entre ellos: Oxitetraciclina, Trimetoprim, Amoxicilina, ampicilina, sulfametoxazol, cefalosporinas (Junod *et al.*, 2013; Gebreyes y Altiera, 2002). Algunos de estos compuestos se vienen utilizando desde mucho tiempo atrás en tratamiento de infecciones humanas a pesar de su débil efecto antimicrobiano, ampliamente difundido (Breuil *et al.*, 2000). En cambio, el tocosh de papa (*S. tuberosum*) evidencia un efecto antibacteriano sobre la *S. entérica*. Es un aporte valioso como alternativa antimicrobiana, también puede tener utilidad en la elaboración de bioconservantes, en la promoción de alimentación saludable, entre otros.

Definitivamente los métodos tradicionales de conservación de la papa andina (*Solanum tuberosum* Var. Hualash) convertidas en tocosh de papa por fermentación, prosperan en regiones montañosas de los andes centrales del Perú. No obstante, solo se ha investigado la actividad biológica de algunas papas fermentadas y deshidratadas, los estudios abren paso a continuar investigando la flora microbiana nativa responsable de la actividad antimicrobiana de los subproductos de las papas cultivadas en ambientes andinos.

## Conclusiones

Se comprobó que el tocosh de papa (*S. tuberosum*) evidencia actividad antibacteriana sobre *Salmonella entérica* subespecie *entérica* serovar Typhimurium ATCC 13311

El efecto antibacteriano del tocosh de papa es un aporte valioso para el conocimiento y su posible uso a posteriori como bioconservante en alimentos y en la terapia de enfermedades infecciosas en humanos. Esto propicia un espacio para seguir investigando sobre sus propiedades bactericidas.

## Referencias

- Amanpour, R., Abbasi-Maleki, S., Neyriz-Naghadehi, M., & Asadi-Samani, M. (2015). Antibacterial effects of *Solanum tuberosum* peel ethanol extract in vitro. *J HerbMed Pharmacol*, 4(2), 45-48.
- Atta, H. M. (2015). Biochemical studies on antibiotic productio from *Streptomyces* sp.: Taxonomy, fermentation, isolation, and biological properties. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(1), 12-22.
- Barreto, M., Castillo-Ruiz, M. & Retamal, P. (2016). *Salmonella entérica*: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 33(5), 547-557. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000500010>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493-496. [https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4\\_ts.493](https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493)
- Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1-26. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.1>
- Bernal, M. & Guzmán, M. (1984). El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby Bauer. *Biomédica*, 4(3-4), 112-121. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v4i3-4.1891>
- Bontempo, P., Carafa, V., Grassi, R., Basile, A., Tenore, G. C., Formisano, C., Rigano, D. & Altucci, L. (2013). Actividades antioxidantes, antimicrobianas y antiproliferativas de *Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*, 55, 304-312. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.048>
- Breuil, J., Brisabois, A., Casin, I., Armand-Lefevre, L., Frémy, S., & Collatz, E. (2000). Antibiotic resistance in Salmonellae isolates from humans and animals in France: comparative data from 1994 and 1997. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(6), 965-971. <https://doi.org/10.1093/jac/46.6.965>
- Brown, C. R. (2005). Antioxidants in potato. *American Journal of Potato Research*, 82(2), 163-172. <https://doi.org/10.1007/BF02853654>
- Cavaliere, S. J., Harbeck, R. J., McCarter, Y. S., Ortez, J. H., Rankin, I. D., Sauter, R. L., Shrap, S. E. & Spiegel, C. A. (2005). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiano*. Editora coordinadora,

- Marie B. Coyle. p. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
- Cué, B. M. & Morejón, G. M. (1998). Antibacterianos de acción sistémica: Parte I. Antibióticos betalactámicos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 14(4), 347-361. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21251998000400008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251998000400008)
- Duraffourd, C., D´hervicourt, L. & Lapraz, J. (1987). *Cuaderno de fitoterapia clínica*. Editorial Masson S.A. ISBN: 978-968-6099-38-6 [https://www.popularlibros.com/libro/cuadernos-de-fitoterapia-clinica-1\\_37553](https://www.popularlibros.com/libro/cuadernos-de-fitoterapia-clinica-1_37553)
- Escobar-Mamani, F., Branca, D., & Haller, A. (2020). Investigación de montaña sobre y para la región andina. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(4), 311-312. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.191>
- Fonseca, C., Burgos, G., Rodríguez, F., Muñoa, L. & Ordinola, M. (2014). *Catálogo de variedades de papa nativa con potencial para la seguridad alimentaria y nutricional de Apurímac y Huancavelica*. Centro Internacional de la Papa (CIP). <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/12/006206.pdf>
- Gebreyes, W. A., & Altier, C. (2002). Molecular characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolates from swine. *Journal of clinical microbiology*, 40(8), 2813-2822. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.8.2813-2822.2002>
- Haller, A., & Branca, D. (2020). Montología: una perspectiva de montaña hacia la investigación transdisciplinaria y el desarrollo sustentable. *Revista De Investigaciones Altoandinas*, 22(4), 313-322. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.193>
- Hernández, Y., Lobo, E., Martínez, S. & Zamora, L. (2009). Evaluación de diferentes métodos de extracción de ADN de Micoplasmas para su empleo en el diagnóstico por PCR. *Revista de Salud Animal*, 31(2), 108-114. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2009000200006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2009000200006)
- Ibarra, G. F., Bascopé, M. S. C., Bazan A.Y., Bejarano, F.H.A, Bustamante, B.R.C., Cadima, T. M. A. & Peláez, M. C. (2005). Sensibilidad y resistencia de las salmonellas a los antimicrobianos en la ciudad de Cochabamba. *Gaceta Médica Boliviana*, 28(1), 3-7. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1012-29662005000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1012-29662005000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Jiménez, E., Yépez, A., Pérez-Cataluña, A., Vásquez, E. R., Dávila, D. Z., Vignolo, G., & Aznar, R. (2018). Exploring diversity and biotechnological potential of lactic acid bacteria from tocosh—Traditional Peruvian fermented potatoes—By high throughput sequencing (HTS) and culturing. *LWT*, 87, 567-574. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.033>
- Junod, T., López-Martin, J. & Gädicke, P. (2013). Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario. *Revista médica de Chile*, 141(3), 298-304. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872013000300003>

- Kumar, P., Sharma, B., & Bakshi, N. (2009). Biological activity of alkaloids from *Solanum dulcamara* L. *Natural Product Research*, 23(8), 719-723. <http://doi.org/10.1080/14786410802267692>
- Lechuga-Gilt, H., & Salas-Ramírez, H. I. (2013). Estudio para la instalación de una planta productora de mazamorra de tocosh con maca, quinua y leche. *Ingeniería Industrial*, (031), 115-140. <https://doi.org/10.26439/ing.ind2013.n031.15>
- López-Agudelo, V. A., Gómez- Ríos, D., & Ramírez-Malule, H. (2021). Clavulanic Acid production by *Streptomyces clavuligerus*: Insights from Systems Biology, Strain Engineering, and Downstream Processing. *Journal Antibiotics*, 10(1), 84. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010084>
- Marcelo, G., Rosadio, R., Chero, A., Díaz, G., Ciprian, A. & Maturrano, L. (2017). Identificación de *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* en cuyes mediante la técnica de PCR múltiple. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(2), 411- 417. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i2.13074>
- Morales, F. J. (2007). Sociedades precolombinas asociadas a la domesticación y cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) en Sudamérica. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 14(1), 1-9. <https://doi.org/10.37066/ralap.v14i1.139>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2018). Día Internacional de las Montañas. FAO. <http://web.archive.org/web/20191221022952/http://www.fao.org/3/CA2244ES/ca2244es.pdf>.
- Oromí, J. (2000). Editorial: Importancia y limitaciones de la utilización de los antimicrobianos. *Revista Argentina de Microbiología*, 36(9), 321-322. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-pdf-10022160>
- Pannu, J. S., Kapoor, R. K., & Yadav, R. (2014). Comparative antibiotic potential of different varieties of potato tubers. *International Journal Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(12), 5389-5393. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(12\).5389-93](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(12).5389-93)
- Pigrau-Serrallach, C. (2005). Infecciones urinarias recurrentes. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 23(s4), 28-39. <https://doi.org/10.1157/13091446>
- Quesada, A., Reginatto, G., Ruiz, E. A., Colantonio, L. & Burrone, M.S. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp* aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 33(1), 32-44. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmpesp.2016.331.1899>
- Quino, W., Hurtado, C. V., Meza, A. M., Zamudio, M. L., & Gavilán, R. G. (2020). Patrones de resistencia a los antimicrobianos en serovares de *Salmonella entérica* en Perú, 2012-2015. *Revista chilena de infectología: órgano oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 37(4), 395-401. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182020000400395>
- Raana, A., Saeid, A. M., Moslem, N. N., & Majid, A.S. (2015). Antibacterial effects of *Solanum tuberosum* peel ethanol extract in vitro. *Journals Of Herbmed Pharmacology*, 4(2), 45-8. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=567134>

- Reysenbach, A., Longnecker, K., & Kirshtein, J. (2000). Novel Bacterial and Archaeal lineages from an In Situ Growth Chamber Deployed at a MidAtlantic Ridge Hydrothermal Vent. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 3798–3806. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.9.3798-3806.2000>
- Sandoval, V. M. H., Tenorio, M. J., Tinco, J. A., Loli, R. A. & Calderón, P. S. (2015). Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* 'papa' en la mucosa gástrica de animales de experimentación. *An Fac Med.*, 76(1), 15-20. <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v76i1.11070>
- Santos-Mendoza, R., Ramos-Vásquez, E., Zavaleta, A. I., Zúñiga-Dávila, D. & Velezmoro-Sánchez, C. (2018). Bacterias ácido-lácticas productoras de riboflavina aisladas del proceso de elaboración de la "tunta". *Ecología Aplicada*, 17(2), 185-189. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i2.1238>
- Velasco-Chong, J. R.; Herrera-Calderón, O.; Rojas-Armas, J. P.; Hañari-Quispe, R. D.; Figueroa-Salvador, L.; Peña-Rojas, G.; Andía-Ayme, V.; Yuli-Posadas, R. Á.; Yepes-Pérez, A. F. & Aguilar, C. (2020). "HARINA DE TOCOSH (*Solanum tuberosum* L.): Una Evaluación Toxicológica de las Papas Fermentadas Tradicionales del Perú" *Alimentos* 9, no. 6: 719. <https://doi.org/10.3390/foods9060719>
- Velásquez-Milla, D., Casas, A., Torres-Guevara, J., & Cruz-Soriano, A. (2011). Ecological and socio-cultural factors influencing in situ conservation of crop diversity by traditional Andean households in Peru. *J Ethnobiology Ethnomedicine*, 7(40), 2-20. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-7-40>
- Weiler, N., Ortiz, F., Orrego, M., Huber, C. & Álvarez, M. (2018). Perfiles genéticos bacterianos y análisis de brotes de las enfermedades transmitidas por alimentos empleando electroforesis de campo pulsado como herramienta para la vigilancia epidemiológica molecular. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*, 16(2), 65-78. [https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2018.016\(02\)65-078](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2018.016(02)65-078)