

Efecto antimicrobiano de la tunta (*Solanum juzepczukii*) sobre la *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium

Antimicrobial effect of tunta (*Solanum juzepczukii*) on *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium

Haydeé Jaqueline Huayhua Mamani^{1,a} y Raúl Alberto García Castro^{2,b}

Resumen

El objetivo del estudio fue investigar la actividad antimicrobiana de la tunta sobre *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium. Se utilizó un aislado natural de esta bacteria que resultó resistente a cloramfenicol. Para el experimento requirió la preparación de una solución estándar de 0,8 g/ml de extracto de tunta. Se utilizó la técnica de Kirby Bauer para la evaluación antimicrobiana de los ensayos y la escala de Duraffourd para medir el nivel de sensibilidad. Resultando, para las diez repeticiones técnicas del grupo experimental, un halo promedio de 10,40 mm y una desviación estándar de 0,63 de DHI (nivel de sensibilidad límite, según dicha escala). En conclusión, nuestro trabajo muestra evidencias que la tunta tiene efecto antimicrobiano a un nivel de sensibilidad límite sobre la *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium. Tras investigaciones de mayor profundidad, este derivado de la *Solanum juzepczukii* se podría convertir en una alternativa para el desarrollo de antibióticos de origen natural y permitir un desarrollo sostenible de las culturas andinas.

Palabras clave: tunta, antimicrobiano, sensibilidad, halo de inhibición, *Salmonella enterica*.

Abstract

The objective of the study was to investigate the antimicrobial activity of tunta on *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium. A natural isolate of this bacterium was used that was resistant to chloramphenicol. The experiment required the preparation of a standard solution of 0,8 g / ml of tunta extract. The Kirby Bauer technique was used for the antimicrobial evaluation of the tests and the Duraffourd scale to measure the level of sensitivity. Resulting, for the ten technical repetitions of the experimental group, an average halo of 10,40 mm and a standard deviation of 0,63 of DHI (level of limit sensitivity, according to said scale). In conclusion, our work shows evidence that tunta has an antimicrobial effect at a borderline sensitivity level on *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium. After more in-depth research, this derivative of *Solanum juzepczukii* could become an alternative for the development of antibiotics of natural origin and allow a sustainable development of Andean cultures.

Keywords: tunta, antimicrobial; sensitivity; inhibition halo; *Salmonella enterica*.

Recibido: 12/10/2020

Aceptado: 26/12/2020

Publicado: 15/01/2021

Sección: Artículo Original

Autor para correspondencia: raulcastro@hotmail.com

Introducción

Los brotes de las infecciones por *Salmonella enterica* representan un problema para la vigilancia epidemiológica y la microbiología clínica. Afecta a gran cantidad de poblaciones humanas y de animales siendo responsable de más del 99% de la salmonelosis humana (Lamas *et al.*, 2018). Es una bacteria que destaca entre otras salmonelas debido a su mayor morbilidad y mortalidad (Hernández *et al.*, 2016). Además, muchos de los casos que se reportan dan cuenta de su resistencia al tratamiento con agentes antimicrobianos, tanto en veterinaria como en salud humana (de Toro *et al.*, 2014).

Según pruebas de laboratorio con antibióticos como: la ampicilina, cloramfenicol, estreptomycin, sulfamidas y tetraciclina (Junod *et al.*, 2013), reportan insuficiente

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Jorge Basadre Grohman, Tacna – Perú.

² Departamento de Ciencias Formales y Naturales, Facultad de Educación, Comunicación y Humanidades, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna, Perú.

^a [0000-0001-5669-3465](https://doi.org/10.18271/ria.2021.202.224)

^b [0000-0003-1875-6917](https://doi.org/10.18271/ria.2021.202.224)

Como citar: Huayhua Mamani, H. J., García Castro., R. A., (2021). Efecto antimicrobiano de la tunta (*Solanum juzepczukii*) sobre la *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(1), 37-46. DOI: [10.18271/ria.2021.202.224](https://doi.org/10.18271/ria.2021.202.224)

capacidad inhibitoria, por tanto, estos fármacos resultan ineficaces para combatir la bacteria. Además, se ha comprobado que el uso frecuente de estos antibióticos, producen efectos colaterales como modificaciones persistentes en la microbiota intestinal (Zimmermann & Curtis, 2019).

La multiresistencia a antibióticos de *Salmonella enterica* (Min *et al.*, 2020) es un problema clínico, que permanentemente reta la capacidad de los investigadores para generar nuevos agentes antimicrobianos. Este escenario genera espacios de oportunidad para buscar otras alternativas con suficiente capacidad inhibitoria y menor efecto colateral para su uso masivo.

Solanum sp. es uno de los cultivos más diversos e importantes del mundo y ofrece seguridad alimentaria y nutricional en la región andina (Fonseca *et al.*, 2014). Es originaria del Perú, se encuentra en los Andes del sur y el altiplano (Contreras-Liza *et al.*, 2019). Cuenta con más de 4000 variedades y una gran variedad de productos derivados, en su mayoría deshidratados (Fonseca *et al.*, 2014). Entre las variedades más importantes están: la papa seca (Garavito & Ernestina, 2019), chuño negro (Arratea & Mamani, 2017), tocosh (Velasco-Chong *et al.*, 2020) y tunta (Fonseca *et al.*, 2014).

La tunta es un subproducto de la papa nativa amarga deshidratada obtenida mediante un proceso artesanal utilizando el medio natural (Fonseca *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2018; Cahuana, 2002). Se produce en la sierra sur peruana (provincias del Callao, Carabaya, Lampa, Chucuito y Azángaro; entre 3800- 4500 metros sobre el nivel del mar), las técnicas de producción han pasado de generación en generación, desde la época incaica. Se le considera un producto ancestral y un alimento nativo del Perú (Santos-Mendoza *et al.*, 2018; Rodríguez M & Chambi R, 2019). Se produce mediante técnicas de deshidratación natural, sometida a congelación e insolación indirecta, con periodos breves de fermentación en agua natural, *Stipa ichu* y tierra húmeda. Su tratamiento requiere de ciertas condiciones ambientales, como una humedad entre 30% - 40%, días soleados y noches frías (Ramos *et al.*, 2018).

En 100 gramos de tunta existe: 323 Kcal; 18,10 ml de agua; 1,90 g de proteínas; 77,70 g de carbohidratos; 2,10 g de fibra; 92 mg de calcio; 54 mg de fósforo y 3,30 mg de hierro (MINSA-INS-Centro Nacional de Alimentación y Nutrición, 1996, p. 22). Razón por la cual, en zonas alto andinas del Perú, sur de Bolivia, norte de Argentina, norte de Chile y en el sur de Ecuador, se utiliza como alimento (de Haan *et al.*, 2010). También es utilizado como insumo medicinal (Guidi *et al.*, 2002) debido a sus propiedades antibacterianas, ya que, contiene bacterias ácido láctico (LAB) (Ramos *et al.*, 2018). Por ejemplo: *Enterococcus*

mundtii DSM 4838 T [MG031213] produce bacteriocinas antimicrobianas (Gómez *et al.*, 2016). Además, se sabe que algunas bacterias del ácido láctico tienen propiedades probióticas y se usan como alternativas para el control de la formación de biopelículas por bacterias patógenas, en la industria alimentaria (FAO/OMS, 2006).

La capacidad antibacteriana de la tunta aporta nuevas rutas del conocimiento para resolver problemas de salud en poblaciones de alta montaña vulnerables a infecciones por *Salmonella*. El uso de la tunta también tiene impacto en la sociedad, pues al impulsarse su consumo, se propicia el uso de suelos sur-andinos de la puna y ceja de selva. Además, puede poner en valor la calidad nutricional y capacidad antimicrobiana de sus derivados deshidratados. Se puede generar una mayor rentabilidad, lo que contribuiría al desarrollo sostenible de la economía de la zona, a la conservación de la cultura local y la biodiversidad de papas nativas.

En relación al medio ambiente, son pocas las variedades de papa que crecen en las montañas que bordean el lago Titicaca, como las papas nativas amargas, las cuales, son ideales para elaborar la tunta. Por ejemplo, la especie *Solanum juzepczukii* (variedades piñasa, loka, keta, ruckii, parina, parko, kuchijiphylla), *Solanum cutilobum* (variedades ocururi morado, ocururi blanco); y *Solanum ajanhuiri* (variedad ajanhuiri). Se caracterizan por su alta resistencia a temperaturas bajas de -5 °C, crecen en ambientes de alta montaña a más de 3800 metros sobre el nivel del mar (Cahuana, 2002). Para la elaboración de tunta se aprovecha el clima invernal seco de junio a agosto en el sur del país, por tanto, no tiene implicancias ambientales negativas, puesto que, su elaboración es netamente artesanal y respetuosa con el medio ambiente.

Teniendo en cuenta que la tunta, cuenta con algunas propiedades antibacterianas enteropatógenas (Rodríguez & Evelyn, 2019). El objetivo de la presente investigación fue comprobar el efecto antimicrobiano de la tunta sobre *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium.

Materiales y métodos

Elaboración de la tunta

Se realizó a partir del mes de junio del 2019, en la provincia de Yunguyo, perteneciente al departamento de Puno, Perú. Ubicada a 3847 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) y cuyas coordenadas son 16°14'39"S 69°05'34"O. El procedimiento natural de elaboración siguió las siguientes etapas:

Primero, se seleccionaron papas nativas amargas intactas de *Solanum juzepczukii* variedad piñasa (Cahuana, 2002). Segundo: la papa se sometió a un proceso de deshidratación natural por congelación a -5 °C (noche) e insolación indirecta, cubierto con manta a 18 °C (día) durante 3-8 días. Tercero: para el proceso de fermentación, las papas se sometieron a inmersión, en una poza de agua tapizada con *Stipa ichu* y sujeta con piedras, en un arroyo a -5 °C durante 15-30 días. Cuarto: el pelado de la papa se realizó mecánicamente por apisonamiento a la intemperie a 18 °C, luego se deshidrata a la intemperie aprovechando la luz solar. Quinto: se procedió a fermentar las papas, en poza húmeda tapizada con *Stipa ichu* a -5 °C durante 21 días. Sexto: las papas se deshidrataron por calentamiento con luz solar, cubierta con manta (día) durante 5-8 días. Séptimo: se seleccionaron las papas deshidratadas de color blanco y olor característico y se descartaron las papas con coloraciones amarillas. Octavo: el producto final es embolsado y almacenado (Guidi *et al.*, 2002).

La recolección de la muestra de tunta se realizó la primera semana de noviembre del 2019. Se tomó al azar un 1 kg de tunta, obtenida a partir de 6 kg de papa amarga (Guidi *et al.*, 2002).

Preparación de la solución estándar con tunta

La segunda semana de noviembre del 2019, en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann se preparó la solución estándar. Que consistió en hidratar 100 g de tunta seca en 500 ml de agua destilada durante 12 horas a -5 °C. Luego con 4 g de tunta hidratada y 5 ml de agua destilada estéril se trituró la tunta hasta obtener una solución homogénea con una concentración de 0,8 g/ml (extracto de tunta). De esta solución se tomó una alícuota de 30 µl (microlitros), que contiene 24 mg de tunta, para así verificar la actividad antimicrobiana sobre la *Salmonella enterica*.

Aislamiento e identificación molecular de *Salmonella enterica*

La bacteria pudo aislarse a partir de huevos de ave, usando el método de cultivo microbiológico, luego se identificó la *Salmonella* mediante pruebas bioquímicas (Marcelo *et al.*, 2017) en el laboratorio de Microbiología de la UNJBG. En el laboratorio Biotecnología de Alimentos S.A.C., a través de análisis molecular se realizó la extracción de ADN del cultivo bacteriano, mediante el método Hernandez *et al.* (2009); luego se realizó una amplificación de 16S rDNA por PCR con

el método Reysenbach *et al.* (2000), posteriormente, se realizó una secuenciación Sanger (Fw, Rv) con el método Macrogen USA; y un análisis bioinformático con el método CodonCode Aligner NCBI nucleotide BLAST. Como resultado se identificó a *Salmonella enterica* con una similitud de 99,7%; también se realizó la consulta a la base de datos de nucleótidos BLASTN, resultando la bacteria como *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium ATCC 13311 con una identidad de 99.2%.

Evaluación del efecto antimicrobiano de la tunta

Se aplicó la prueba de difusión en disco a través de la técnica de Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966; Bernal & Guzman, 1984). Usando el aislado de *Salmonella enterica*, el protocolo se realizó según el Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS) (Cavaliere & American Society for Microbiology, 2009). La prueba consistió en:

Desde un cultivo de *Salmonella enterica* en agar nutritivo, que crecieron a 37 °C durante 24 horas, se tomaron de 3 a 5 colonias y se pusieron a crecer en 10 mililitros de medio BHI (Roseburg, 1951). Tras 4-6 horas de crecimiento a 37°C, la turbidez se estandarizó a 0,5 unidades McFarland (correspondiente a unos 1,5 x 10⁸ ufc/ml). Este cultivo se usó dentro de los 15 minutos siguientes. Se plaquearon 100 µl por extensión en agar Mueller-Hinton (Bauer, *et al.*, 1966).

Aplicación de los discos antimicrobianos

Para las pruebas antimicrobianas experimentales, se usaron discos oxid de 6 mm de diámetro (MEDLAB). Se colocaron hasta 3 discos por cada placa Petri de 10 cm de diámetro. Unos 15 minutos después de sembrar la bacteria se aplican los discos, presionando firmemente para asegurar el contacto. En el caso de la solución estándar de tunta, se aplicaron 30 µl de extracto por disco. En el caso de los controles se utilizaron discos con 30 µg de cloramfenicol (Oxoid Ltd.), discos con 300 µg de nitrofurantoína y discos con antibiótico (nitrofurantoína Oxoid Ltd.) desnaturalizado a una presión de 20 bar a 121°C durante 15 minutos. Por último, las placas se invirtieron y se incubaron a 37°C, en condiciones aerobias, unas 24 horas.

Para medir el diámetro de las zonas de inhibición, se hizo desde la parte posterior de la placa usando luz reflejada y fondo oscuro. Se midió redondeando al milímetro más cercano con el calibrador.

Procesamiento estadístico

El procesamiento de los datos de la actividad antimicrobiana de la tunta, se realizó mediante el paquete estadístico SPSS 26.0. Se aplicaron pruebas de tendencia central y dispersión. También pruebas de comparación entre los halos de sensibilidad de las soluciones experimentales, mediante el análisis ANOVA. Adicionalmente se realizó una prueba post hoc para obtener el cuadro de comparaciones múltiples (HSD Tukey). Para categorizar el efecto inhibitorio se recurrió a la escala de Duraffourd (Duraffourd *et al.*, 1987).

Resultados

La tabla 1 presenta los resultados obtenidos en diez repeticiones con 30 µl del extracto de tunta (24 mg

de tunta). Observamos que el diámetro de los halos de inhibición (DHI) fluctúa entre 11,38 mm y 9,85 mm, con una media de 10,40 mm y una desviación estándar de 0,634 mm (Tabla 2, Foto 1). En la tabla 1 también se aprecia que con 30 µg de cloramfenicol, los DHI son nulos en las diez repeticiones, lo que pone de manifiesto la resistencia de la bacteria frente a este fármaco. Otro de los resultados que muestra la tabla 1 son los DHI con 300 µg de nitrofurantoina, con el cual, se consigue un DHI de 22,00 mm en las diez repeticiones, con una media de 22,00 mm y una desviación estándar de 0,00 mm (Tabla 2). Estos resultados ponen de manifiesto que, el microorganismo es sumamente sensible al fármaco. Finalmente, la Tabla 1 presenta los resultados del placebo cuyos DHI son nulos en los diez experimentos, lo que demuestra un nivel de sensibilidad “nulo”.

Tabla 1. Efecto antimicrobiano de la tunta sobre *Salmonella enterica* – Método estándar de difusión por disco

| N° ensayo | Tunta (24 mg) DHI. (mm) | Cloramfenicol (30 µg) (control) DHI. (mm) | Nitrofurantoina (300 µg) (control) DHI. (mm) | Control negativo DHI. (mm) |
|-----------|-------------------------|---|--|----------------------------|
| 1 | 9,85 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 2 | 10,75 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 3 | 10,75 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 4 | 9,86 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 5 | 9,86 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 6 | 9,86 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 7 | 9,87 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 8 | 11,38 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 9 | 11,38 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |
| 10 | 10,39 | 0,00 | 22,00 | 0,00 |

Tabla 2. Niveles de sensibilidad bacteriana, según tratamientos

| Tratamientos | N | Media | Desv. Estandar | Error estandar | 95% del intervalo de confianza para la media | | DHI (mm) | Nivel de sensibilidad |
|-----------------|----|-------|----------------|----------------|--|-----------------|----------|-----------------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| Tunta | 10 | 10,40 | 0,63 | 0,20 | 9,94 | 10,84 | 8-14 | Sensibilidad limite |
| Cloramfenicol | 10 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | < 8 | Nula |
| Nitrofurantoina | 10 | 22,00 | 0,00 | 0,00 | 22,00 | 22,00 | >20 | Sumamente sensible |
| Placebo | 10 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | < 8 | Nula |



Figura 1. Halo de inhibición producido por la tunta sobre *Salmonella entérica subespecie enterica serovar Typhimurium*

La tabla 3 presenta los resultados del análisis ANOVA, que permite establecer las diferencias entre los tratamientos experimentales. El análisis de la varianza entre distintos tratamientos reporta un valor $p = 0,000$, confirmando que existen diferencias significativas entre los efectos inhibitorios de los tratamientos antibacterianos de la tunta, cloramfenicol y la nitrofurantoina sobre la *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium.

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

| Grupos | Suma de cuadrados | Gl* | Media cuadrática | F** | Sig.*** |
|------------------|-------------------|-----|------------------|----------|---------|
| Entre grupos | 2422,440 | 2 | 1211,220 | 9024,364 | 0,000 |
| Dentro de grupos | 3,624 | 27 | 0,134 | | |
| Total | 2426,064 | 29 | | | |

*Grados de libertad

**Cociente de las varianzas

***Nivel de significancia

La prueba post hoc (comparaciones múltiples) de la tabla 4, posibilita establecer que existen diferencias significativas entre los efectos antibacterianos de la tunta frente al cloramfenicol (p valor = 0,00) y la nitrofurantoina (p valor = 0,00). Así mismo, existen diferencias significativas entre los efectos antibacterianos

del cloramfenicol y la nitrofurantoina (p valor = 0,00). Sin embargo, no existen diferencias significativas entre cloramfenicol y el control negativo (placebo), debido a que ambos no reportaron actividad antibacteriana en las 10 pruebas.

Tabla 4. Comparaciones múltiples entre tratamientos antimicrobianos.

| (I) Tratamiento | (J) Tratamiento | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig.* | Intervalo de confianza al 95% | |
|--------------------|--------------------|----------------------------|-------------|-------|-------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| Tunta | Cloramfenicol | 10,39 | 0,14102' | 0,0 | 10,01 | 10,77 |
| | Nitrofurantoina | -11,60 | 0,14 | 0,0 | 11,98 | -11,22 |
| | Placebo | 10,39 | 0,14 | 0,0 | 10,01 | 10,77 |
| Cloramfenicol | Tunta | -10,39 | 0,14189 | 0,0 | -10,77 | -10,01 |
| | Nitrofurantoina | -22,00 | 0,14 | 0,00 | -22,38 | -21,61 |
| | Placebo | 0,00 | 0,14 | 1,00 | -0,38 | 0,38 |
| Nitrofurantoina | Tunta | 11,60 | 0,14 | 0,00 | 11,22 | 11,98 |
| | Cloramfenicol | 22,00 | 0,14 | 0,00 | 21,61 | 22,38 |
| | Placebo | 22,00 | 0,14 | 0,00 | 21,61 | 22,38 |
| Placebo | Tunta | -10,39 | 0,14 | 0,00 | -10,77 | -10,01 |
| | Cloramfenicol | 0,00 | 0,14 | 1,00 | -0,38 | 0,38 |
| | Nitrofurantoina | -22,00 | 0,14 | 0,00 | -22,38 | -21,61 |

Discusión

La multiresistencia de la bacteria *Salmonella enterica* a los antibióticos es un problema de importancia en la microbiología clínica (de Toro *et al.*, 2014). El

incremento de la resistencia bacteriana a los antibióticos, motiva a desarrollar nuevos y efectivos tratamientos antibacterianos, la búsqueda de productos naturales representa una fuente rica en compuestos con actividad biológica (Muñoz *et al.*, 2009; Marquéz *et al.*, 2009).

Las papas fermentadas y deshidratadas, son tubérculos procesados tradicionalmente en el Perú, pueden ser utilizada con fines nutricionales y curativos (Velasco-Chong *et al.*, 2020), utilizadas para el tratamiento natural de infecciones bacterianas (Enciso *et al.*, 2020). En una investigación realizada por Mosso *et al.* (2018) confirman que la papa fermentada, tocosh, contienen bacterias ácido lácticas (BAL) como *Lactobacillus sakei* y *Leuconostoc mesenteroides*. El estudio de Heredia *et al.* (2015) demuestran que los *Lactobacillus spp* producen sustancias inhibitorias similares a las bacteriocinas (BLS), y el de Gonzales *et al.* (2003), que estas sustancias son péptidos activos: sakacina, y mesentericina de la clase II no lantibiótico, subclase IIa de bacteriocinas. Otros estudios, como el de Trinetta *et al.* (2012) informan que la sakacina actúa sobre los enlaces dentro de los peptoglicanos de la pared celular bacteriana, disipa el potencial trans membrana y el gradiente de pH, originando la ruptura de la pared celular de una manera muy intensa, y rápida. Muchos de los productos metabólicos de las BAL de papa fermentada contribuyen con la actividad antibacteriana, así como producción de aminos biogénicas y folatos (Jimenez *et al.*, 2018; Mosso *et al.*, 2018; FAO / OMS, 2006).

La solución acuosa elaborada con la tunta rehidratada de *Solanum juzepczukii* presentó cierta actividad frente a *Salmonella enterica* a una concentración 0,8 g/ml. Usando alícuotas de 30 µl, que contienen 24 mg de extracto de tunta en cada disco, se observó una inhibición del crecimiento que permite categorizar a la bacteria como de sensibilidad límite frente al extracto, según la escala de Duraffourd (Duraffourd *et al.*, 1987), pero hay que categorizarla como resistente según el patrón estándar del halo de inhibición para bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, elaborado con datos del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (Kiehlbauch, 2000). El método de difusión en placa de Kirby-Bauer (Bauer, *et al.*, 1966) es uno de los métodos que el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos (Cavalieri *et al.*, 2009).

Los controles que se pusieron en el experimento corroboran la conclusión, así, en placas sin antibiótico *Salmonella enterica* mostró un crecimiento normal, al igual que en presencia de 30 µg de cloramfenicol. Con 300 µg de nitrofurantoina, se obtuvo una zona de inhibición promedio de 22 mm pudiéndose categorizar a la bacteria como sumamente sensible según la escala de Duraffourd (Duraffourd *et al.*, 1987) y sensible de acuerdo a los criterios de NCCLS. Todos los resultados se analizaron mediante ANOVA, pudiéndose establecer

diferencias significativas entre los grupos.

Debido a que se ha trabajado con un extracto vegetal cuyos componentes activos se encuentran diluidos en comparación con antibióticos puros, es lógico no ver una potente actividad antimicrobiana, sin embargo, este trabajo establece una fuerte evidencia que la tunta, posee actividad antibacteriana, concretamente contra *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium. Guidi *et al.* (2002), así como Rodríguez y Evelyn (2019), también describen este efecto y Ramos *et al.* (2018), no solo identificaron poblaciones nativas de bacterias acidolácticas (BAL) en la tunta, sino que, observaron actividad antibacteriana frente a *Listeria*. Estableciendo que ésta se debería a los compuestos antimicrobianos producidas por algunas especies de LAB.

Es posible que la propiedad antibacteriana de la tunta, se deba a la presencia de metabolitos antimicrobianos como: ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, diacetil, reuterina, péptidos antimicóticos y bacteriocinas de las BAL como resultado del proceso de fermentación de la papa (Heredia *et al.*, 2015). Estudios de Gómez *et al.* (2016), así como, de Otdak y Zielińska (2017) informaron que las bacteriocinas son capaces de romper la membrana celular, ocasionando trastornos en la replicación y transcripción del ADN bacteriano. Interrumpiendo la biosíntesis de peptidoglicanos y proteínas de la célula bacteriana, de este modo inhibe el crecimiento de *Salmonella enterica*.

En otras investigaciones (Gálvez *et al.*, 2007) comprobaron que los metabolitos secundarios producidos por las LAB tienen efecto antibacteriano en: *Staphylococcus aureus*, *Clostridium tyrobutyricum*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori* NCIPD 230 y *Campylobacter jejuni*.

En relación al efecto producido por el cloramfenicol registrado en la presente investigación, guarda relación con otros hallazgos donde se pudo comprobar que el 83% de aislamientos de *Salmonella enterica* fueron resistentes a los antibacterianos (Mateva *et al.*, 2018). Debido a que presentan genes que confieren resistencia frente a las moléculas de polipéptido catiónico antimicrobiano (CAMP), esto se da mediante la modificación del lipopolisacárido de la membrana celular bacteriana (Debroy *et al.*, 2020).

Prácticamente toda la diversidad de tubérculos del género *Solanum* se desarrollan en toda la región andina del Perú, así como sus diferentes métodos de conservación tradicional y sólo se han estudiado las actividades biológicas de unos pocos alimentos fermentados y deshidratados (Flores, 2013; Fonseca *et al.*, 2014; Jiménez *et al.*, 2018). Por esto, las evidencias

mostradas en este artículo son importantes, ya que puede poner en valor un producto artesanal local, así como llegar a constituir una alternativa de tratamiento de infecciones, en particular de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium.

Cabe mencionar que el experimento se limita a la capacidad del disco de sensibilidad que, soporta como máximo un volumen de 30 µl de extracto de tunta, con el cual, se consiguió *in vitro* un nivel de sensibilidad límite en la *Salmonella enterica*, usando la escala de Duraffourd. El fraccionamiento del extracto, así como, estudios de la microbiota asociada, especialmente BAL, pueden hacer que el agente con actividad antimicrobiana se pueda concentrar y ver su actividad potenciada.

Conclusiones

Se comprobó que la tunta (*Solanum juzepczukii*) tiene efecto antibacteriano sobre *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium, con un nivel de sensibilidad límite (escala de Duraffourd) pero no según el patrón estándar del halo de inhibición para bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, elaborado con datos del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (Kiehlbauch, 2000). El halo promedio de inhibición es de 10,40 mm de DHI para una cantidad de 24 mg de tunta, en diez repeticiones técnicas del experimento.

Se ha aislado una cepa natural de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium con resistencia a cloramfenicol.

La tunta (*Solanum juzepczukii*) es un producto comestible con evidencia de efecto antimicrobiano, que puede significar una alternativa importante en la generación de economías en convivencia con la diversidad biológica de los andes.

Agradecimiento

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann por facilitarnos el laboratorio de microbiología para la realización de la presente investigación.

Referencias bibliográficas

- Arratea, B. Y. y Mamani, Y. (2017). *Actividad antibacteriana del extracto acuoso Solanum tuberosum (papa fermentada) y aceite esencial Thymus vulgaris (tomillo), frente a cepa Staphylococcus aureus, estudio in vitro* [tesis para optar título profesional, Universidad Inca Garcilaso de la Vega]. Repositorio Institucional UIGV. <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/1690>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. y 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
- Bernal, M. y 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.v4i3-4.18914>
- Cahuana, R. y Arcos, J. (2002). *Varietades nativas y mejoradas de papa en Puno*. Instituto Nacional de Innovación Agraria del Perú (Serie 0.1-2002). http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/898/1/Cahuana-Varietades_nativas_Papa.pdf
- Cavaliere, S. J. y American Society for Microbiology. (2009). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana*. American Society for Microbiology. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
- Contreras-Liza, S. E., Noriega, H., Valenzuela, A., Arias, L., Zúñiga, D. y García-Bendezú, S. (2019). Uso de inoculantes como estrategia de manejo agronómico sustentable en fincas de papa (*Solanum tuberosum*) de la región Lima. *IDESIA*, 37(3), 29-37. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292019000300029>
- De Haan, S., Burgos, G., Arcos, J., Ccanto, R., Scurrah, M., Salas, E. y Bonierbale, M. (2010). Traditional processing of black and white chuño in the peruvian andes: Regional variants and effect on the mineral content of native potato cultivars. *Economic Botany*, 64(3), 217-234. <https://doi.org/10.1007/s12231-010-9128-x>
- Debroy, R., Miryala, S.K., Naha, A., Anbarasu, A. y Ramaiah, S. (2020). Gene interaction network studies to decipher the multi-drug resistance mechanism in *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18 reveal potential drug targets. *Microb Pathog*, 142(1), 1. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104096>
- De Toro, M., Seral, C., Rojo-Bezarez, B., Torres, C., Castillo, F.J. y Sáenz, Y. (2014). Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *Salmonella enterica*. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*, 32(1): 4-10. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.03.006>

- Duraffourd, C., D'hervicourt, L. y Lapraz, J. (1987). *Cuaderno de fitoterapia clínica*. Masson.
- Enciso, S., Medina, J., Mauricio, F., Mauricio-Vilchez, C., Alvitez-Temoche, D., Vilchez, L., y Mayta-Tovalino, F. (2020). Antibacterial effectiveness of four concentrations of the hydroalcoholic extract of *Solanum tuberosum* (Tocosh) against *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM: A Comparative *In Vitro* Study. *International Journal of Dentistry*, 2020, 8856382. <https://doi.org/10.1155/2020/8856382>
- FAO / OMS. (2006). *Pro biótico en los alimentos. Propiedades y directrices nutricionales y de salud para la evaluación*. Roma: FAO Alimentación y Nutrición. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2016042233>
- Flores, D. J. (2013). Procesamiento de productos agropecuarios andinos. *Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac*.
- Fonseca C, Burgos G, Rodriguez, F., Muñoa, L, y Ordinola, M. (2014). *Catálogo de variedades de papa nativa con potencial para la seguridad alimentaria y nutricional de Apurímac y Huancavelica*. International Potato Center. <https://books.google.es/books?id=tvvOBQAAQBAJ>
- Fonseca, C., Huarachi, E., Chura, W. y Cotrado, G. (2008). *Guía de las buenas prácticas de procesamiento para la producción artesanal de la tunta*. DECODI. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=QP2007000182>
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R.L. y Ben, O. N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol*, 120(1-2), 51-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.001>
- Garavito, R. y Ernestina, V. (2019). *Deshidratación de la papa (Solanum tuberosum) de descarte del Mercado Mayorista de Piura para la obtención de papa seca para uso alimenticio*. [tesis para optar título profesional, Universidad Nacional de Piura]. Repositorio institucional UNP. <http://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/1878>
- Gómez, N.C., Ramiro, J.M.P., Quecan, B.X.V. y de Melo, B.D.G. (2016). Use of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria (LAB) Biofilms for the Control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Escherichia coli* O157:H7. *Frontiers in Microbiology*, 7(1), 863. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00863>
- González-Martínez, B., Gómez-Treviño, M. y Jiménez-Salas, Z. (2003). Bacteriocinas de probióticos. *respyn Revista Salud Pública y Nutrición*, 4(2), 143-149. <http://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/108>
- Guidi, A., Esprella, R., Aguilera, J. y Devaux, A. (2002). Características de la cadena agroalimentaria de chuño y tunta para el altiplano central de Bolivia. Fundación PROINPA. <http://www.proinpa.org/tic/pdf/>
- Heredia-Castro, P.Y., Méndez-Romero, J.I., Hernández-Mendoza, A., Acedo-Félix, E., González-Córdova, A.F. y Vallejo-Cordoba, B. (2015). Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus spp.* isolated from artisanal Mexican cheese. *J Dairy Sci*, 98(12), 8285-93. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10104>
- Hernández, Yenney, Lobo, Evelyn, Martínez, Siomara, & Zamora, Loidy. (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&lng=es&tlng=es.
- Hernández, E., Santamaria, R., Ramos, G., Herrera-León, S., Kárkamo, J.A. y Muniozguren, N. (2016). Brote de infecciones por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium asociado al consumo de chorizo en Bizkaia. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*, 34(9), 577-578. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.06.006>
- Jiménez, E., Yépez, A., Pérez-Cataluña, A., Ramos Vásquez, E., Zúñiga Dávila, D., Vignolo, G. y 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(1), 567-574. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.033>
- Junod, T., López-Martin, J. y Gädicke, P. (2013). Estudio

- de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario. *Rev Médica Chile*, 141(3), 298-304. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872013000300003>
- Kiehlauch, J.A., Hannett, G.E., Salfinger, M., Archinal, W., Monserrat, C. y Carlyn, C. (2000). Uso de las Pautas del Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos para las Pruebas de Susceptibilidad por Difusión en Disco en los Laboratorios del Estado de Nueva York. *Revista de microbiología clínica*, 38 (9), 3341–3348. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.9.3341-3348.2000>
- Lamas, A., Miranda, J.M., Regal, P., Vázquez, B., Franco, C.M. y Cepeda, A. (2018). Comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. *Microbiol Res*, 206(1), 60-73. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.010>
- Marcelo, M., Geraldine, Rosadio, A., Chero, A., Díaz, A., Ciprian, G., y Maturrano, H. (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. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i2.13074>
- Márquez, F., Galeano, J. y Martínez, M. (2009). Productos naturales con actividad antimicrobiana. Parte II. *Vitae*, 11(1), 35-41. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/vitae/article/view/450>
- Mateva, G., Pedersen, K., Sørensen, G., Asseva, G., Daskalov, H., Petrov, P., Kantardjiev, T., Alexandar, I. y Lofstrom Ch. (2018). Use of multiple-locus variable-number of tandem repeats analysis (MLVA) to investigate genetic diversity of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolates from human, food, and veterinary sources. *MicrobiologyOpen*, 7(1), 1-7. <https://doi.org/10.1002/mbo3.528>
- Min, B., Kim, K., Li, V., Cho, S., y Kim, H. (2020). Changes in cell membrane fatty acid composition of *Streptococcus thermophilus* in response to gradually increasing heat temperature. *J Microbiol Biotechnol*, 30(5), 739-748. <https://doi.org/10.4014/jmb.1912.12053>
- Mosso, A. L., Jimenez, M. E., Vignolo, G., LeBlanc, J. G., y Samman, N. C. (2018). Increasing the folate content of tuber based foods using potentially probiotic lactic acid bacteria. *Food Research International*, 109(8), 168-174. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.073>
- Muñoz, D., Arango, A. y Jaramillo, F. (2009). Los antibióticos y su situación actual. *Vitae*, 11(1), 21-23. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/vitae/article/view/449>
- Ołdak, A. y Zielińska, D. (2017). Bacteriocins from lactic acid bacteria as an alternative to antibiotics. *Postepy Hig Med Dosw*, 71(0), 328-38. <https://europepmc.org/article/med/28513457>
- Ramos, E.R., Santos, R.A., Velázquez, E., Velezmoro, C.E. y Zúñiga, D.E. (2018). Genetic diversity and antimicrobial activity of lactic acid bacteria in the preparation of traditional fermented potato product 'tunta'. *World J Microbiol Biotechnol*, 34(10), 144. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-018-2525-5>
- Reysenbach, A., Longnecker, K., y Kirshtein, J. (2000). Novel *Bacterial and Archaeal lineages* from an In Situ Growth Chamber Deployed at a Mid-Atlantic Ridge Hydrothermal Vent. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 3798–3806. <https://aem.asm.org/content/aem/66/9/3798.full.pdf>
- Rodríguez, G. y Evelyn, I. (2019). Efecto Antagónico *in vitro* de *Lactobacillus spp.* Aislados de 'tocosh'-*solanum sp.*, proveniente de Huánuco, frente a bacterias enteropatógenas [tesis para optar título profesional, Universidad Privada Norbert Wiener]. Repositorio institucional UWIENER. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/3656>
- Rodríguez, M. y Chambi, A. (2019). Determinación de la curva de crecimiento microbiano *Saccharomyces boulardii* en tunta variedades chaska y negra. *Revista de difusión cultural y científica de la Salle*, 18(18), 201-14. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2071-081X2019000200011&script=sci_arttext
- Rosebury, T., Epps, L., y Clark, A. (1944). A study of the isolation, cultivation and pathogenicity of *Actinomyces israeli* recovered from the human mouth and from actinomycosis in man. *The Journal of Infectious Diseases*, 74(2), 131-149. Retrieved January 7, 2021, from <http://www.jstor.org/stable/30089455>

- Santos-Mendoza, R., Ramos-Vásquez, E., Zavaleta, A., Zúñiga-Dávila, D. y Velezmoro-Sánchez, C. (2018). Bacterias ácido lácticas productoras de riboflavina aisladas del proceso de elaboración de la “Tunta”. *Ecología Aplicada*, 17(2), 185-89. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i2.1238>
- Trinetta, V., Morleo, A., Sessa, F., Iametti, S., Bonomi, F., y Ferranti, P. (2012). Purified sakacin A shows a dual mechanism of action against *Listeria spp*: Proton motive force dissipation and cell wall breakdown. *FEMS Microbiology Letters*, 334(2), 143-149. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02630.x>
- 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-Perez, A. F. y Aguilar, C. (2020). Tocosha flour (*Solanum tuberosum* L.): A toxicological assessment of traditional Peruvian fermented potatoes. *Foods*, 9(6), 719. <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/6/719/htm>
- Zimmermann, P. y Curtis, N. (2019). El efecto de los antibióticos en la composición de la microbiota intestinal: una revisión sistemática. *Journal of Infection*, 79(6):471–489. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31629863/>