

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA**



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO**

**“Efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*”**

**AUTORA**

**Yadira Yajaira López Campos**

**ASESOR**

**Dr. Marco Antonio Zarate Arce**

**TRUJILLO - PERÚ**

**2017**

## **DEDICATORIA**

A Dios quien me dio la vida, la maravillosa familia de la cual formo parte y la oportunidad de estudiar esta hermosa carrera

A mis padres Yeni y Gustavo, quienes han sido mi guía y ejemplo de perseverancia, ellos me demostraron que todo esfuerzo tiene su recompensa, éste es nuestro triunfo. Estoy muy orgullosa de ustedes.

A mis abuelos Esperanza, Susana, Dagoberto e Isidro, Ustedes me enseñaron a ser luchadora y no amilanarme por nada, este logro también es de ustedes.

A mi alma mater, Facultad de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego, prometo poner en práctica todo lo aprendido durante estos años.

## AGRADECIMIENTOS

**A mi Dios**, por estar conmigo en cada paso que doy, fortalecer mi corazón e iluminar mi mente para poder estudiar esta hermosa carrera, haber puesto en mi camino aquellas personas que han sido soporte y compañía durante todo el periodo de estudio, además de darme los padres maravillosos de los cuales estoy sumamente orgullosa.

**A mis padres**, quienes me han heredado el tesoro más valioso que pueda dársele a un hijo; amor. Ellos que no escatimaron esfuerzo alguno, y sacrificaron gran parte de su vida para formarme y educarme. Quiénes su ilusión más grande ha sido convertirme en una persona de provecho. A quiénes nunca podré pagar desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo, por esto y más, gracias...

**A la familia Cárdenas Concha, en especial a mi tío Víctor, mi tío Edwin, y a mi segunda madre Hilda Vega** gracias por darme fortaleza e impulsarme siempre hacia adelante para poder alcanzar las metas que me he trazado, sin ustedes no sería la persona que soy, les prometo que seguiré adelante y les daré motivos para sentirse orgullosos.

A mis docentes de pregrado, gracias por todas las enseñanzas impartidas en especial al **Dr. Marco Antonio Zárate Arce**, por colaborar desinteresadamente en este proyecto, impartirme sus sabios consejos durante la realización de mi proyecto, usted ha sido mi mano derecha y quien me ha guiado en el complicado proceso. Es cierto, no ha sido nada fácil, ni mucho menos, sin embargo gracias a su ayuda se pudo concluir exitosamente con esta investigación. A la técnica del laboratorio Deisy Jimenez gracias por tu apoyo y paciencia.

## RESUMEN

**Introducción:** Las enfermedades infecciosas frecuentes son causadas por bacterias piógenas, una de ellas es el *Staphylococcus aureus*, representa un peligro mortal para la humanidad. Esta bacteria coloniza normalmente al ser humano y tiene una gran capacidad adaptativa. Los fármacos antimicrobianos, utilizados para combatir estas infecciones suelen ocasionar efectos secundarios además de causar resistencia bacteriana, por lo que se debe buscar otras formas de tratamiento. **Objetivo:** Evaluar si existe efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con vancomicina y oxacilina. **Materiales y métodos:** Se empleó el extracto acuoso del tocosh de *Solanum tuberosum* y una cepa de *Staphylococcus aureus* obtenida del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, la cual se enfrentó a 5 grupos, 3 de ellos con extractos al 25, 50 y 100% y 2 controles con oxacilina y vancomicina, para determinar la susceptibilidad antibacteriana por halos de inhibición y la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el recuento de unidades formadoras de colonias. **Resultados:** *Staphylococcus aureus* fue muy sensible frente al extracto al 25% ( $17,75 \pm 1,05$  mm) y sumamente sensible frente a concentraciones del 50 % y 100% ( $22,17 \pm 0,94$  y  $25,42 \pm 1,62$  mm respectivamente). La CMI fue de 500 mg /dL (extracto al 50%).

**Conclusión:** *Solanum tuberosum* (papa fermentada) posee efecto inhibitorio *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con vancomicina y oxacilina.

**Palabras clave:** *Solanum tuberosum*, efecto antibacteriano, *in vitro*, *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

**Introduction:** Infectious diseases are caused by pyogenic bacterias. One of them is *Staphylococcus aureus* which represents a mortal danger to humanity. This bacteria colonizes humans and has a great adaptive capacity. Antimicrobial drugs, possess side effects and can cause bacterial resistance, this is the reason why other forms of treatment must be searched. **Objective:** To evaluate whether there is an in vitro inhibitory effect of *Solanum tuberosum* (fermented potato) on strains of *Staphylococcus aureus* compared to vancomycin and oxacillin. **Materials and methods:** The aqueous extracts of the starch of *Solanum tuberosum* and a strain of *Staphylococcus aureus* obtained from the Microbiology Laboratory of the National University of Trujillo were used, which was confronted with 5 groups, 3 of them with extracts at 25, 50 and 100% and 2 controls with oxacillin and vancomycin to determine antibacterial susceptibility by inhibition halos and minimum inhibitory concentration (MIC) by counting colony forming units. **Results:** *Staphylococcus aureus* was very sensitive to the extract at 25% ( $17.75 \pm 1.05$  mm) and highly sensitive against concentrations of 50% and 100% ( $22.17 \pm 0.94$  and  $25.42 \pm 1.62$  mm respectively). The MIC was 500 mg / dL (50% extract).

**Conclusion:** *Solanum tuberosum* (fermented potato) has an inhibitory effect in vitro on strains of *Staphylococcus aureus* compared to vancomycin and oxacillin.

**Keywords:** *Solanum tuberosum*, Antibacterial effect, in vitro, *Staphylococcus aureus*.

## *ÍNDICE*

	<b>PAGINA</b>
<b>PORTADA</b>	
<b>PÁGINAS PRELIMINARES</b>	
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>3</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>6</b>
<b>I. INTRODUCCION.....</b>	<b>7</b>
<b>II. MATERIAL Y METODO.....</b>	<b>13</b>
<b>III.RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
<b>IV.DISCUSIÓN.....</b>	<b>26</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>VI.RECOMENDACIONES.....</b>	<b>32</b>
<b>VII. REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>40</b>

## INTRODUCCION

### I. ANTECEDENTES

*Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) tiene una gran capacidad para adaptarse a entornos diferentes y representa una causa primaria de infección en seres humanos, siendo el mayor patógeno humano causante de infecciones a la piel y tejidos blandos, neumonía, septicemia e infecciones por dispositivos asociados<sup>1</sup>.

*S. aureus* tiene gran variedad de factores de virulencia; el conjunto de estos factores, el sitio de la infección y la variabilidad de la respuesta inmune del huésped explica la amplia gama de manifestaciones clínicas relacionadas con estas infecciones. En efecto, estas bacterias pueden tener un impacto insignificante sobre la salud, actuando como comensales (en la piel o mucosa nasal anterior), pueden causar infecciones moderadas locales, o infecciones graves e invasivas<sup>2</sup>.

La mayoría de las infecciones son leves, como la forunculosis, el impétigo y la foliculitis; pero se pueden producir cuadros graves que ponen en riesgo la vida de los pacientes, como la neumonía, la osteomielitis, la artritis, las bacteriemias y la endocarditis<sup>2,3</sup>.

En las últimas décadas *S. aureus* ha adquirido una elevada relevancia en la medicina humana por diversas razones, una de ellas es la prevalencia creciente de cepas resistentes a antibióticos, sobre todo por la aparición de los *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR)<sup>4</sup>.

La tasa de portadores nasales alcanza los 28,6% en Latinoamérica<sup>5</sup>, cifra que aumenta en el personal de salud. En Perú los estudios informan acerca de una prevalencia de portadores del 17% en médicos<sup>6</sup>, y en otros reportes la tasa de *S. aureus* resistente a meticilina llega hasta el 36.4% de todos los casos<sup>7</sup>.

Quedando el tratamiento de las infecciones por *Staphylococcus aureus* metilcilino sensible (SAMS) en manos de una penicilina isoxazólica como oxacilina y dejando a la vancomicina para el tratamiento de las infecciones por SAMR, pero aun así el uso indiscriminado de antibióticos hace que aparezcan microorganismos resistentes a múltiples antibióticos e incluso a la vancomicina, por lo que se buscan constantemente nuevas alternativas terapéuticas<sup>8,9</sup>.

Las preocupaciones y problemas asociados con la resistencia a los antibióticos ciertamente no se limitan a *S. aureus*. El desarrollo de la resistencia bacteriana a los antibióticos en otros microorganismos tales como *Enterobacteriaceae spp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Neisseria gonorrhoeae* representan importantes amenazas de salud mundial emergentes<sup>7</sup> El desarrollo de resistencia a antibióticos implica mutación genética y/o adquisición de genes de resistencia<sup>10,11</sup>.

Mientras que los agentes farmacológicos contra *S. aureus* y otras bacterias han sido y continuarán siendo desarrollados, a menudo tienen éxito y una vida útil corta<sup>10</sup>. Sin embargo, el uso de antibióticos, los viajes hacia diferentes lugares del mundo y la falta de objetivos terapéuticos específicos favorecen la capacidad de las bacterias para generar resistencia antibiótica y difusión mundial del problema<sup>11</sup>.

En vista de la creciente aparición de resistencia, toxicidad e interacciones farmacológicas de los antimicrobianos tradicionales actualmente está fomentando la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas entre los productos naturales; las más estudiadas son las plantas con sus respectivos frutos, cortezas, raíces y semillas<sup>12</sup>.

Los ensayos con especies botánicas han mostrado actividad antimicrobiana en muchas de estas especies. Chalar L, et al (2014), realizó un estudio experimental para evaluar la capacidad antimicrobiana del ajo en cepas bacterianas como: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, encontrando que *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* se inhibían totalmente a una concentración de 3 mililitros de salvia de Ajo<sup>13</sup>. Similar a lo encontrado por



Lozano (2013), quien utilizó el propóleo y orégano para evaluar los efectos inhibitorios de sus extractos etanólicos contra cepas SAMR, por separado y en forma combinada, probando que al 30% los resultados fueron significativos en comparación del 20% más aún si son utilizados juntos, debido a que demostraron poder actuar sinérgicamente<sup>14</sup>.

También Myoda T, et al (2010) investigaron la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*; utilizando los extractos metanólicos de la semilla y cáscara de camu-camu, mostrando ambos extractos actividad antimicrobiana contra *S.aureus* en las concentraciones de 75% para el extracto de semilla y de 100% para la cáscara<sup>15</sup>. Por su parte, Guevara J (2014), realizó un estudio en Lima-Perú en el cual utilizó *Caesalpinia spinosa* (tara) la cual demostró actividad bactericida frente a *Staphylococcus aureus*<sup>16</sup>.

Aguilar (2013), encontró que el extracto etanólico de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), tuvo efecto antibacteriano frente a *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>17</sup>.

Esta lista podría ser interminable, pues cada día se está utilizando más el uso de los recursos botánicos para tratar diversas enfermedades. Otra especie que ha sido poco estudiada en relación a efecto antimicrobiano de la papa fermentada “*Solanum tuberosum*”, perteneciente a la familia de las solanáceas, cultivada desde hace cientos de años en el Perú y Bolivia<sup>18, 19</sup>. Representa la base de la alimentación de muchas regiones del país y Latinoamérica<sup>20</sup>.

El tocosh es una técnica tradicional andina de conservación *in situ*<sup>21</sup>. La palabra tocosh deriva del vocablo togosh, palabra quechua que significa arrugado y fermentado<sup>22</sup>, y es el resultado de la fermentación bacteriana de productos andinos como la papa, el maíz o el olluco, almacenada en pozos construidos en la tierra, envueltos en paja o ‘ichu’ y presionados mecánicamente con piedras bajo una corriente de agua proveniente de un manantial<sup>22</sup>.

Esta es una planta herbácea, perenne y arbustiva cuya altura alcanza menos de un metro. Tallo subterráneo de esta planta, que es un tubérculo, contiene grandes cantidades de almidón. Además, la investigación ha indicado que la cáscara de *Solanum tuberosum* contiene principalmente ferritina, vitamina C, riboflavina, alfa-tocoferol, flavona agliconas, quercetina, glutatión, entre otros<sup>24, 25</sup>. Por lo que se consume por sus diversas propiedades, entre ellas, las antimicrobianas<sup>26</sup>.

Además de esa propiedad, las investigaciones han demostrado sus propiedades analgésicas, antioxidantes, antibacterianas, antihipertensivo, fortalecedora de los músculos y propiedades apetitosas por *Solanum tuberosum*<sup>27, 28</sup>. También se ha demostrado que las patatas pueden servir como fuente de antioxidantes<sup>29, 30</sup>.

En nuestro país el “tocosh” representa un alimento muy apreciado, elaborado en su mayoría por comunidades campesinas<sup>31</sup>. Acerca de las propiedades antimicrobianas del tocosh de *Solanum tuberosum*, Amanpour R, et al (2015), prepararon el extracto de etanol de la cascara de *S. tuberosum* por maceración, mostrando alto efecto bactericida frente a *Staphylococcus aureus* a 0.62 mg/mL y frente a *Pseudomonas aeruginosa* con 8.33 mg/mL, concluyendo que el efecto del extracto etanólico fue superior en bacterias Gram positivas que Gram negativas<sup>32</sup>.

Por su lado, Bontempo P, et al (2013) utilizó *Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte que es una variedad de papa ampliamente utilizada para el consumo humano, ellos demostraron que las antocianinas presentes en esa variedad ejercen actividad antibacteriana contra la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* y antifúngico frente al hongo *Rhizoctonia solani*<sup>33</sup>. Zadra M, et al (2013), observó buena actividad antimicrobiana para la fracción de acetato de etilo de *Solanum guaraniticum* frente a *Staphylococcus intermedius* y *Listeria monocytogenes* (MIC = 64 µg/mL), que puede ser debido a su actividad antioxidante y a la presencia de altos contenidos de polifenoles, taninos y alcaloides, metabolitos que se sabe que poseen actividad antimicrobiana<sup>34</sup>.

Jin Z, et al (2008), utilizó la proteína de *Solanum tuberosum*, demostrando actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* ATCC 29213 a una concentración

mínima inhibitoria de 500 ug/mL<sup>35</sup>. Por otro lado Saranitha R, et al (2012), utilizó el extracto de semilla de una variedad de papa, *Solanum stramonifolium* mostrando actividad antimicrobiana leve frente a *S. aureus*, estos hechos muestran que la actividad antimicrobiana es dependiente del tipo de papa, posiblemente también del país de origen y de la parte que se utiliza<sup>36</sup>.

Estas acciones que tiene la papa en forma fermentada se relaciona con un contenido de penicilina, por lo que se usa como terapia natural antimicrobiana<sup>37</sup>; Ombra M, et al(2013) halló in vitro el contenido de esteroides, alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y aminoácidos, por lo que resulta muy útil si se administra mediante la vía oral<sup>38</sup>.

## 1.1 JUSTIFICACIÓN

Las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* son frecuentes y conllevan riesgos potencialmente peligrosos para la vida humana. Su alta prevalencia como colonizadora en personas comunes y quienes están en contacto con hospitales, es cada vez mayor, esto puede significar un aumento en la formulación de nuevos fármacos y por ende de los costos, pues su resistencia también está en aumento. Por lo que es necesario continuar con la búsqueda de diferentes formas de prevención y tratamiento de los cuadros clínicos, para lo cual proponemos este estudio experimental que analizará el efecto antimicrobiano de una planta muy comercializada en nuestro país, *Solanum tuberosum* o “papa”, mediante la técnica del tocosh se piensa evaluar su efecto frente a cepas de *Staphylococcus aureus* con el fin de brindar información a posteriores trabajos y así tener una alternativa en cuanto al tratamiento de las enfermedades que pueda causar este agente bacteriano, por lo tanto nos hacemos la siguiente pregunta ¿ Existe efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*?

## 1.2 PROBLEMA

¿Existe efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con vancomicina y oxacilina?

### **1.3 HIPÓTESIS**

H0: *Solanum tuberosum* (papa fermentada) no posee efecto inhibitorio *in vitro* comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Ha. *Solanum tuberosum* (papa fermentada) posee efecto inhibitorio *in vitro* comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

### **1.4 OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar si existe efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con vancomicina y oxacilina

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Establecer la susceptibilidad *in vitro* por halos de inhibición de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre *Staphylococcus aureus*.
- Determinar los componentes fitoquímicos del extracto acuoso de *Solanum tuberosum*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria de *Solanum tuberosum* sobre *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto inhibitorio y susceptibilidad *in vitro* obtenida con *Solanum tuberosum* con vancomicina y oxacilina sobre *Staphylococcus aureus*.

## II. MATERIAL Y MÉTODO

### 1.1 POBLACIÓN

- **POBLACIÓN OBJETIVO:** Conjunto de placas con las cepas de *Staphylococcus aureus*.
- **POBLACIÓN ACCESIBLE:** Cepas de *Staphylococcus aureus* identificadas y certificadas por del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

### 1.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

- **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Papa fermentada y seca que presenten óptimas condiciones.

Frascos, discos de papel filtro y tubos de ensayo que estén esterilizados.

- **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Placas Petri fracturadas al momento del desempaque.

Frascos, discos y tubos de ensayo que se fracturen al momento del desempaque.

- **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

Placas Petri fracturadas o estropeadas durante el experimento.

Frascos, discos y tubos de ensayo que se fracturen durante el experimento.

### 1.3 MUESTRA

- **UNIDAD DE ANÁLISIS**

Cada placa de inhibición con cultivo de *Staphylococcus aureus* y *Solanum tuberosum*.

- **UNIDAD DE MUESTREO**

Unidades formadoras de colonias de *Staphylococcus aureus* producto del efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Solanum tuberosum*.

- **TAMAÑO MUESTRAL**

El número de muestra se calcula con la siguiente fórmula estadística:

$$n = \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 S^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Siendo n= el número de repeticiones a efectuar en cada investigación

$Z_\alpha = 1.96$  para  $\alpha = 0.05$

$Z_\beta = 0.84$  para  $\beta = 0.20$

$S = 0.8 (X_1 - X_2)$ , valor asumido por no haber estudios previos

n= 36, siendo “n” el número de observaciones totales, por lo tanto se utilizarán 10 repeticiones para cada concentración de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) al igual que para vancomicina y oxacilina.

10 Repeticiones a una concentración de 25%.

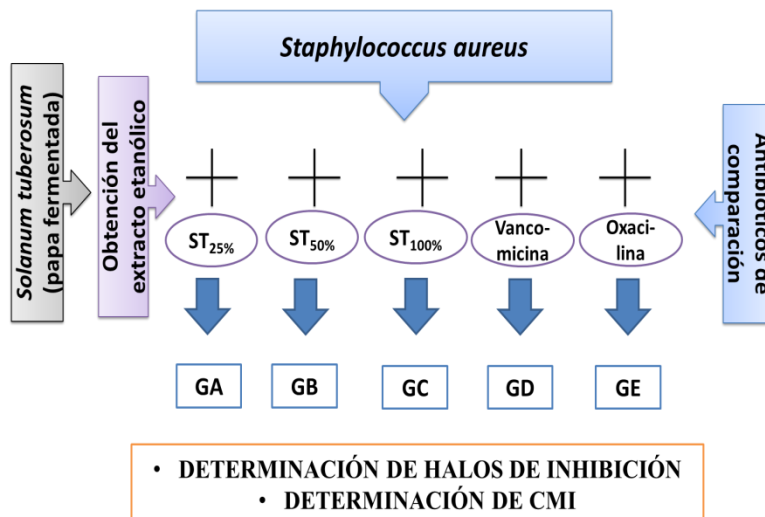
10 Repeticiones a una concentración de 50%.

10 Repeticiones a una concentración de 100%.

10 Repeticiones para grupo control de vancomicina y oxacilina.

#### 1.4 DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio fue de tipo experimental transversal - comparativo.



ST: *Solanum Tuberosum*.

Grupo A: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 25%.

Grupo B: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 50%

Grupo C: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 100%

Grupo D: *S. aureus* + Vancomicina.

Grupo E: *S. aureus* + Oxacilina.

### 1.5 VARIABLES

Variable	Definición operacional	Tipo y Escala	Indicador
<b>INDEPENDIENTE</b>			
<b>Concentración de <i>Solanum tuberosum</i></b>	Extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> fermentado, al 25, 50 y 100% obtenido en el laboratorio.	Cualitativa Nominal Politómica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 25%</li> <li>• 50%</li> <li>• 100%</li> </ul>
<b>DEPENDIENTE</b>			
<b>Efecto inhibitorio sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i></b>	Efecto evidenciado mediante halos de inhibición y CMI, obtenidos en el laboratorio.	Cuantitativa de razón	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Halos inhibitorios: mm</li> <li>• CMI: mg/dL</li> </ul>
<b>COVARIABLES</b>			
<b>Control con Antibióticos vancomicina y oxacilina.</b>	Efecto evidenciado mediante halos de inhibición y CMI, obtenidos en el laboratorio.	Cuantitativa de razón.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Halos inhibitorios: mm</li> <li>• CMI: mg/dL</li> </ul>

## DEFINICIÓN OPERACIONAL:

- **Independiente:**

**Concentración de *Solanum tuberosum*:**

La concentración de *Solanum tuberosum*, expresado en mg/mL y colocado en placas petri mediante la formación de discos de inhibición a concentraciones de 25, 50 y 100%.

- **Dependiente:**

**Efecto inhibitorio sobre cepas de *Staphylococcus aureus*:**

Capacidad para evitar la reproducción o producir la muerte del organismo en condiciones experimentales, determinado mediante la medición del crecimiento del microorganismo en placas Petri y comparado por halos de inhibición.

- **Covariable:**

**Uso de antibiótico: vancomicina y oxacilina**

Capacidad para evitar la reproducción o producir la muerte del organismo *Staphylococcus aureus*, utilizados para compararlo con el efecto logrado por *Solanum tuberosum*.

- **Escala de Duraffourd:** escala cualitativa que determina el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición<sup>39</sup>:

- **Nula:** Diámetro < 8 mm.
- **Sensibilidad límite:** diámetro entre 8 y 14 mm.
- **Muy sensible:** diámetro entre 15 y 20 mm.
- **Sumamente sensible:** diámetro > 20 mm.

## 1.6. PROCEDIMIENTO

1. Se solicitó la autorización de la Facultad de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego para ejecutar el proyecto y utilizar el Laboratorio de Microbiología y Parasitología (ANEXO 01). Así mismo se solicitó autorización a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad



Nacional de Trujillo para la realización del extracto acuoso de Tocosh y marcha fitoquímica en el laboratorio de Farmacognosia (ANEXO 02). Además de solicitar a dicha entidad la certificación de la pureza y viabilidad de las Cepas de *Staphylococcus aureus* al laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo (ANEXO 04).

2. Se compró la Papa Fermentada de *Solanum tuberosum* en forma de “Tocosh” de la Ciudad de Huaraz, luego se pulverizó en un molino manual del cual se obtuvo un polvo fino de color grisáceo, olor característico y sabor amargo.
3. Se procedió a obtener el complejo activo mediante extracción acuosa. Se pesaron con exactitud 50 g de polvo de tocosh. Luego se vertieron en un cartucho de papel de filtro y se colocaron en el extractor del equipo de soxhlet y se extrajeron con 300 mL de agua destilada a una temperatura de 100 °C durante 4 horas. El producto se filtró 3 veces, primero con papel filtro Whatman N° 41, un segundo filtrado fue realizado con papel filtro Whatman N°4 y por último un tercer filtrado fue con papel Whatman N°2. Obteniéndose un extracto purificado libre de gérmenes. La solución resultante fue llevada a sequedad en una cámara de secado al vacío a una presión reducida y a una temperatura de 50 °C; luego se pesó el residuo seco y se guardó en refrigeración a 2 °C en frasco de vidrio de color ámbar estéril. De este residuo seco, se prepararon las concentraciones de 25%, 50 % y 100% disueltas en agua respectivamente. Finalmente, los extractos acuoso se guardaron en frascos de vidrio de color ámbar estériles.<sup>40</sup>
4. Para el **análisis fitoquímico**, se realizó mediante “prueba a la gota” que es un ensayo que permite determinar de manera cualitativa el tipo de metabolitos presentes en un extracto vegetal. El método consiste en someter al extracto vegetal a reactivos específicos los cuales general compuestos coloreados. Se pesó cuatro muestras de 5 gramos cada uno de material vegetal seco y molido, se empaquetaron con papel filtro y se agregó 30 mL de solvente (cloroformo, etanol, agua y HCl 1%) y se tapó

con luna de reloj. Se sometieron a calentamiento con baño maría por espacio de 10 minutos, evitando que se evapore el solvente, luego se dejó reposar. Finalmente se realizaron los ensayos siguientes: espuma (saponinas), cloruro férrico o gelatina (taninos), Shinoda (flavonoides), Liebermann-Burchard (esteroides), Borntrager (quinonas), Dragendorff (alcaloides), Meyer (alcaloides), Wagner (alcaloides), Kedde (cardiotónicos) y de pH (antocianinas) para identificar sus respectivos metabolitos secundarios.

Obtención de esteroides: a 5 gotas del extracto se añadió 5 gotas de anhídrido acético y luego 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Una coloración verde, azul, azul verdoso, violeta o roja, indicó presencia de un núcleo de esteroide.

**Obtención de Quinonas:** a 5 gotas del extracto se secó y se agregó 5 gotas de tolueno y luego 5 gotas de NaOH al 5%. Al aparecer coloración naranja en la fase acuosa indicó la presencia de antraquinonas y naftoquinonas.

Obtención de Flavonoides: A 5 gotas de muestra se le colocó unos trocitos de magnesio metálico y luego se agregó 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La coloración rojiza indicó la presencia de flavonoides.

Obtención de cardiotónicos: a 5 gotas se le agregó 3 gotas de reactivo de Kedde, la coloración violeta es prueba positiva.

**Obtención de taninos:** a 5 gotas de extracto se añadió 2 gotas de solución de  $\text{FeCl}_3$  al 10%, la coloración azul indicó la presencia de taninos hidrolizables y la coloración verde de taninos condensados.

**Obtención de saponinas:** se colocaron 3mL del extracto en un tubo de ensayo y se agitó por 30 segundos, se esperaron 15 minutos, la persistencia de la espuma indicó la presencia de saponinas.

**Obtención de Alcaloides:** se colocó en 3 tubos de ensayo 1mL del extracto ácido. Se añadió a cada uno 2 gotas de los reactivos Dragendorff, Wagner y Meyer. La

turbidez o precipitados (rojo a naranja, blanco a crema y marrón) se consideró positivo a alcaloides.

5. Para la preparación de los discos de sensibilidad de *Solanum tuberosum*, se tomaron 2ml. de cada extracto acuoso y se distribuyeron en 3 viales estériles proporcionalmente para luego incorporar los discos de papel Whatman N°1 de 6mm de diámetro. Luego de 10 a 20 minutos, los viales fueron llevados a 37°C por 5 horas para su secado.
6. La cepa de *Staphylococcus aureus* se obtuvo del cepario de la Sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (ANEXO 03). Una vez obtenida la cepa, se procedió a reactivarla utilizando caldo nutritivo y luego conservarla en agar manitol, hasta la realización del trabajo experimental.
7. El sembrado se realizó con un hisopo estéril, el cual se embebió en un tubo del cultivo y a una distancia de 10cm de la llama de un mechero, se sembró en placas Petri con Agar Mueller Hinton hisopando uniformemente sobre toda la superficie del agar y girando cada placa 30°C por aproximadamente 10 veces.
8. Para determinar el efecto inhibitorio se usaron las 3 diluciones del *Solanum tuberosum* a las concentraciones de 25, 50 y 100%. A su vez, se usaron dos grupos controles con vancomicina y oxacilina para los resultados tanto en el grupo experimental como en este último grupo. La sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de la difusión del disco (Kirby Bauer). Se utilizó el medio Mueller Hinton que se distribuyó en placas con una altura de 4 mm.
9. Se preparó el inóculo en caldo de Mueller Hinton de las colonias aisladas seleccionadas de una placa de agar después de 24 horas de incubación (en un medio enriquecido, el agar soya tripticasa). Se ajustó la turbidez de la

suspensión al equivalente  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml al tubo estándar 0,5 de la escala de McFarland. Luego se utilizó una pinza estéril para colocar los discos de Vancomicina 30ug, oxacilina 1ug y *Solannum tuberosum*, para colocarlos a una distancia de 25mm entre discos, sobre la superficie de las placas sembradas con *S. aureus*.

10. Estas placas se incubaron a 37°C por 24 horas, para luego realizar la lectura de los halos de inhibición y la medición del diámetro (mm) colocando una regla sobre el reverso de la placa y comparando con las tablas estandarizadas (ANEXO 09).

11. Para a determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), se preparó cuatro tubos de ensayo para el microorganismo. Tres tubos con las concentraciones de 25, 50 y 100%, a las que se añadió 0.8 mL de cada concentración, luego se realizó la inoculación de 0.2 mL de la bacteria (en concentraciones semejantes al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland). En el cuarto tubo se realizó un control papa fermentada, al cual se le añadió 1mL de inóculo de la bacteria. Luego se incubaron los tubos a 37°C por 24 a 48 horas. Finalmente se realizaron 10 repeticiones para cada concentración de *Solanum tuberosum* y se determinaron las cuentas viables sembrando 0.1mL de la solución de cada tubo en 10 placas con agar Mueller Hinton por cada concentración (es decir, 40 placas) utilizando el asa de Driglasky para dispersar la muestra, dichas placas se colocaron en la estufa por 24 horas a 37°C y luego se observó el crecimiento del microorganismo mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), considerando como CMI a la menor concentración en la que no se logró observar UFC.

## 1.6 ANÁLISIS DE LOS DATOS

Luego de la recolección de datos (ANEXO 05), estos fueron ordenados en Excel 2013 para luego ser analizados con el programa SPSS versión 23. Para determinar el efecto antimicrobiano se utilizó el método de la comparación con los antibióticos, los halos de inhibición expresados en números se agruparon en variables cualitativas y fueron analizadas mediante promedios y medidas de dispersión, luego se determinó su comparación mediante la prueba ANOVA para un factor con post-hoc Tukey aceptándose que las diferencias obtenidas por los halos de inhibición son diferentes si  $p < 0,05$ . La CMI se analizó mediante tabla de frecuencia con promedio y desviación estándar.

## 1.7 ASPECTOS ÉTICOS

Se solicitó aprobación previa para la ejecución del proyecto de investigación por parte del Comité de Bioética de la Universidad Privada Antenor Orrego (ANEXO 04), así mismo se solicitó el permiso para el uso del laboratorio de Microbiología y Parasitología (ANEXO 01). También se solicitó el permiso de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo para realización del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* y marcha fitoquímica (ANEXO 02). Se solicitó la certificación de la pureza y viabilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* Para la realización de la investigación se tuvo en cuenta las medidas de bioseguridad de los investigadores, así como los principios 11 y 13 de la declaración de Helsinki<sup>41</sup>, los artículos 49 y 50 de la ley general de salud que establecen normas para los recursos terapéuticos naturales<sup>42</sup> y se tomaron en cuenta los artículos 42-48 del código de ética y deontología del Colegio Médico del Perú, al respecto de los trabajos de investigación<sup>43</sup>.

### III.RESULTADOS

La susceptibilidad antibiótica fue analizada mediante halos de inhibición y comparada con la escala de Duraffourd, *Staphylococcus aureus* es sensible límite” con vancomicina ( $13,54 \pm 0,68$  mm) y “muy sensible” con oxacilina ( $15,86 \pm 0,19$ ). Así mismo, *Staphylococcus aureus* mostró ser “muy sensible” frente al extracto acuoso de *Solanum tuberosum* al 25% ( $17,75 \pm 1,05$  mm) y “sumamente sensible” frente a concentraciones del 50 y 100% ( $22,17 \pm 0,94$  y  $25,42 \pm 1,62$  mm respectivamente). Además los resultados fueron comparados con ANOVA para un factor con post prueba Tukey, determinando que existe diferencia significativa entre los promedios obtenidos por todos los grupos de tratamiento, siendo el extracto de *Solanum tuberosum* al 100% el mejor tratamiento por haber logrado el mayor promedio de halos de inhibición (Tabla 1 y Gráfico 2).

En análisis cualitativo de la marcha fitoquímica realizada al extracto acuoso de *Solanum tuberosum*, mostró que de los resultados positivos la intensidad fue alta para los compuestos fenólicos y aminoácidos libres (Tabla 2 y Anexo 6 ).

La concentración mínima inhibitoria fue de 500 mg/dL a concentración del 50% de tocosh de *S. tuberosum* (TABLA 3).

**TABLA 1. Susceptibilidad antibacteriana *in vitro* mediante halos de inhibición de los diferentes grupos de tratamiento frente a *Staphylococcus aureus*.**

	<b>Grupo A</b> $\bar{X} \pm DE$	<b>Grupo B</b> $\bar{X} \pm DE$	<b>Grupo C</b> $\bar{X} \pm DE$	<b>Grupo D</b> $\bar{X} \pm DE$	<b>Grupo E</b> $\bar{X} \pm DE$	<b>p*</b>
<b>DHI</b> <b>(mm)</b>	17,75 ± 1,05	22,17 ± 0,94	25,42 ± 1,62	13,54 ± 0,68	15,86 ± 0,19	0.000

\*Prueba de Tukey.

$\bar{X}$ : promedio.

DE: Desviación Estándar.

DHI: Diámetros de halos de inhibición.

Grupo A: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 25%.

Grupo B: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 50%

Grupo C: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 100%

Grupo D: *S. aureus* + Vancomicina.

Grupo E: *S. aureus* + Oxacilina.

**Fuente:** Datos obtenidos en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Privada Antenor Orrego.

**Tabla 2. Marcha Fitoquímica del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada).**

<b>Metabolitos</b>	<b>Ensayos</b>	<b>Resultado</b>
<b>Catequinas</b>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + Luz UV	-
<b>Lactonas</b>	Baljet	-
<b>Triterpenos y esteroides</b>	Liebermann - Burchard	+
<b>Quinonas</b>	Bornträger	-
<b>Glicósidos cardiotónicos</b>	Kedde	-
<b>Compuestos fenólicos</b>	Cloruro Férrico	+++
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	++
<b>Antocianidina</b>	Antocianidinas	-
<b>Saponinas</b>	Espuma	-
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	++
<b>Alcaloides</b>	Mayer	++
<b>Alcaloides</b>	Wagner	++
<b>Taninos</b>	Gelatina	-
<b>Azúcares reductores</b>	Fehling	++
<b>Aminoácidos libres</b>	Ninhidrina	+++

**Leyenda:**

Resultado positivo: +

Resultado negativo: -

**Intensidad:**

+ Baja

++ Moderada

+++ Alta

**Fuente:** Datos obtenidos en el laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Nacional de Trujillo.



**Tabla 3 Concentración mínima inhibitoria mediante el recuento de unidades formadoras de colonias luego de la aplicación de los grupos de tratamientos comparado con grupo control.**

<b>Repetición</b>	<b>Grupo A (UFC/mL)</b>	<b>Grupo B (UFC/mL)</b>	<b>Grupo C (UFC/mL)</b>	<b>Grupo Control (UFC/mL)</b>
<b>1</b>	450	0	0	1000000000
<b>2</b>	250	0	0	1000000000
<b>3</b>	500	0	0	1000000000
<b>4</b>	750	0	0	1000000000
<b>5</b>	580	0	0	1000000000
<b>6</b>	600	0	0	1000000000
<b>7</b>	480	0	0	1000000000
<b>8</b>	560	0	0	1000000000
<b>9</b>	620	0	0	1000000000
<b>10</b>	700	0	0	1000000000
<b><math>\bar{X} \pm DE</math></b>	<b>549 <math>\pm</math> 140.75</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1000000000 <math>\pm</math> 0</b>

$\bar{X}$ : promedio.

DE: Desviación Estándar.

Grupo A: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 25%.

Grupo B: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 50%

Grupo C: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 100%

**Fuente:** Datos obtenidos en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Privada Antenor Orrego.

#### IV. DISCUSIÓN

Hoy en día, las enfermedades infecciosas son las razones más importantes de la mortalidad (especialmente en los países del tercer mundo)<sup>3</sup>. Los antibióticos sintéticos (artificiales), además de ser caros y tener efectos secundarios, pueden causar resistencia a fármacos. Por lo tanto, el desarrollo de antibióticos naturales es necesario<sup>4</sup>. Debido a que se ha reportado información favorable acerca de las propiedades antibacterianas de *Solanum tuberosum*<sup>24</sup>.

El objetivo de este estudio fue evaluar si existe efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con vancomicina y oxacilina.

La determinación de la composición de los componentes bioquímicos del extracto acuoso de ST se realizó mediante ensayo cualitativo, obteniendo resultados positivos para triterpenos, esteroides, alcaloides, aminoácidos libres y compuestos fenólicos, siendo estos dos últimos los compuestos con las intensidades más altas (Tabla 2). Concordante con Sandoval M, et al (2015), quienes realizaron una investigación utilizando el tocosh de *Solanum tuberosum* procedente de Huancayo, reportando que se compone principalmente de compuestos fenólicos, alcaloides y aminoácidos libres y no hubo presencia de flavonoides en la reacción de Shinoda<sup>23</sup>.

Los estudios demuestran que, a excepción de la cáscara y la corteza que contienen grandes cantidades de compuestos fenólicos en comparación con otras partes, hay poca diferencia en el contenido de compuestos fenólicos en las otras partes del tubérculo de *Solanum tuberosum*<sup>44</sup>. Ah-Hen K, et al (2013), concluye que los compuestos fenólicos se distribuyen principalmente entre la cáscara y la corteza de *Solanum tuberosum*, de modo que aproximadamente el 50% de los compuestos fenólicos totales se encuentran en la cáscara y los tejidos circundantes y la cantidad restante se reduce desde el exterior hacia el centro<sup>45</sup>.

Además, en la cáscara de *Solanum tuberosum*, también se encuentran otros metabolitos secundarios como ácido clorogénico y glutatión, dos flavonoides que, según Singh A, et al (2011) poseen propiedades antioxidantes mediante la inhibición de radicales libres, gracias a sus grupos sulfhidrilo<sup>25</sup>. Cabe resaltar que para la realización de esta investigación se utilizó el tocosh de *S. tuberosum*, el cual consiste en polvo de cáscara, corteza y pulpa de la papa, por lo que las concentraciones de los metabolitos secundarios tendrían que ser superiores mediante esta forma de preparación.

De forma similar, Eichhorn S, et al, extrajo los metabolitos activos de *Solanum tuberosum L.*, mediante cromatografía en contracorriente, encontrando petunidina, pelargonidina, peonidina y malvidina<sup>46</sup>.

En otros trabajos más recientes, se demostró que las antocianinas existentes en *Solanum tuberosum* ejercen fuertes efectos antibacterianos, Bontempo P, et al (2013), extrajeron principalmente las antocianinas petunidina, malvidina y cianidina de *Solanum tuberosum L.* las cuales mostraron actividad antibacteriana frente cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas, siendo la CMI frente a *S. aureus* de 15.6 ug/ml, mostrando una sensibilidad muy alta al extracto<sup>33</sup>, por supuesto, se debe mencionar que la cáscara de *S. tuberosum* contiene otros compuestos fenólicos, tales como derivados de ácido clorogénico.

En la estructura de *S. tuberosum*, también se han encontrado otros compuestos fenólicos como las flavonas que han mostrado que tienen propiedades antibacterianas. De hecho, según Venkatesan P, los flavonoides ejercen propiedades antivirales, antibacterianas y antifúngicas<sup>47</sup>. De forma consistente, Cushine y Lamb demostraron que las flavonas a concentraciones de 3,9-15,6 g/ml inhiben el crecimiento de cinco cepas susceptibles de *S. aureus* y nueve cepas de *S. aureus* resistente a metilicina<sup>48</sup>.

En Perú, Rojas C, et al (2016), identificaron y cuantificaron compuestos fenólicos en papas cultivadas en El Zuro y Huayatan Alto en Santiago de Chuco - La Libertad, encontrando que el contenido más alto de metabolitos secundarios fue de ácido clorogénico ( $476,82 \pm 63,58$ ), ácido neoclorógeno ( $87,90 \pm 19,42$ ), ácido

cafeico y vainillina, y además la mayor concentración de metabolitos se encontró en la cáscara<sup>49</sup>.

Los resultados muestran que *S. aureus* fue muy sensible frente al 25% y muy sensible frente al 50 y 100% de extracto acuoso de *Solanum tuberosum*, según la escala cualitativa de Duraffourd; así mismo los halos inhibitorios fueron significativamente superiores que los grupos controles con oxacilina y vancomicina ( $p= 0,000$ ), siendo el extracto al 100% la mejor concentración al haber logrado el mayor resultado en los halos de inhibición ( $25,42 \pm 1,62$  mm), tal y como se muestra en la tabla 1. Se obtuvo que los halos de inhibición oxacilina con fueron en promedio significativamente mayores a los obtenidos con vancomicina, probablemente porque la cepa fue obtenida y certificada del cepario de la Universidad Nacional de Trujillo. Así mismo, en la determinación de la CMI, el extracto de ST al 50% (500 mg/mL) representó la menor concentración que inhibió completamente el crecimiento bacteriano (tabla 3).

Al respecto de los resultados con *Solanum tuberosum*, otros autores utilizaron diferentes especies de *Solanum*, los cuales también mostraron actividad antibacteriana. Alamri S, et al (2012), utilizó extracto etanólico de *Solanum incanum* L frente a cepas de *S. aureus*, determinando que al 25% los halos de inhibición logrados fueron de 18 mm en promedio<sup>50</sup>. Zadra M, et al (2013), utilizó extractos metanólicos de *Solanum guaraniticum*, los extractos mostraron actividad moderada frente a bacterias Gram positivas, como *S. aureus* (MIC = 256 ug/mL) y fueron inactivos frente a bacterias Gram negativas<sup>34</sup>. Estos resultados son contrarios a lo reportado por Pavithra P, quien no encontró actividad antibacteriana de *Solanum incanum* frente a *S. aureus*<sup>51</sup>.

Los hallazgos del presente trabajo concuerdan con lo reportado en otras investigaciones. En el estudio de Pekka J, et al, quienes realizaron ensayos con 29 especies botánicas y 9 subespecies bacterianas, concluye que el extracto fenólico de la cáscara de *Solanum tuberosum* posee moderada actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, cuando se utiliza una concentración de 1 mg/mL<sup>52</sup>.

Amer W, et al (2014), utilizó *Solanum tuberosum* procedente del Cairo y lo enfrentó a cepas de *S. aureus* con una concentración de 100mg/mL, obteniendo una alta susceptibilidad de la bacteria frente al extracto (20 a 29 mm de halos de inhibición)<sup>53</sup>.

De manera similar, en el estudio de Amanpour R, et al (2015), el extracto etanólico de *Solanum tuberosum* tuvo propiedades antibacterianas y su efecto fue más pronunciado en bacterias Gram positivas, especialmente *S. aureus*, para lo cual utilizaron discos con 30 µL de extracto al 100% (100 mg/ml), obteniendo halos de inhibición de  $14.66 \pm 0.47$  mm, así como una CMI de 0.62 mg/dL<sup>32</sup>. Los resultados aquí presentados son mayores que en las otras investigaciones, lo que puede ser debido a que se utilizó una mayor concentración (250 mg/mL para el 25%), así mismo cada disco de inhibición contó con 17 mg de tocosh de ST, cantidades determinadas por conveniencia del investigador, al conocer que el efecto antibacteriano de los extractos acuosos son en su mayoría menores que los obtenidos con extractos hidroalcohólicos.

Al respecto, se conoce que los productos ricos en antocianinas y flavonoides pueden tener un efecto protector sobre la salud humana, los mecanismos son probablemente múltiples y sinergias con otros compuestos, incluyendo, ácidos orgánicos, ácidos fenólicos y sus mezclas<sup>54,55,56</sup>.

Lacombe A, et al (2010) y los estudios de Wu, demostraron que la peonidina, una antocianina presente en la cáscara de *S. tuberosum*, causó daños morfológicos en las células bacterianas, como pérdida de la integridad estructural de la pared, membrana y matriz intracelular<sup>57,58</sup>. Esto es concordante con las conclusiones de Viskelis P, quien reportó que las antocianinas juegan un papel importante en la disgregación localizada e irregularidad en la membrana celular y fuga de citoplasma sobre *S. aureus* expuesta a antocianinas peonidina y cinadina<sup>59</sup>.

De manera similar, Naz S, et al, evaluó el efecto antimicrobiano de pelargonidina, cianidina y quercetina frente a diferentes especies bacterianas, siendo *S. aureus*, una de las más susceptibles, logrando halos inhibitorios de 18.7, 18.8 y 18.4 mm, respectivamente para cada antocianina, además los mecanismos que se cree son

responsables de la toxicidad de estos compuestos fenólicos incluyen la inhibición enzimática mediada por los compuestos oxidados (reacción con sus grupos sulfhidrilo) o mediante interacciones con proteínas que conducen a su inactivación y pérdida de función bacteriana, así mismo los fenoles también pueden hacer que los sustratos no estén disponibles para los microorganismos<sup>60</sup>.

Los estudios de Puupponen R, et al (2005), quienes realizaron ensayos antimicrobianos con flavonoides en donde plantea la posible acción de los flavonoides y otros compuestos fenólicos como las antocianinas de desestabilizar la membrana citoplasmática, permeabilizar la membrana plasmática, inhibir las enzimas microbianas extracelulares y privarlas de los sustratos necesarios para crecer<sup>61,62</sup>.

Al respecto del ácido clorogénico, Lou Z, et al (2011), analizó este metabolito frente a distintas bacterias, obteniendo una MIC a 40 ug/mL, además analizó los mecanismos de acción, mostrando que este compuesto podría aumentar la permeabilización de la membrana externa de bacterias Gram positivas mediante la inducción de la salida rápida de potasio citoplasmático<sup>63</sup>.

Por lo anterior, los diámetros obtenidos con *Solanum tuberosum* frente a *S. aureus*, muestra que esta especie botánica posee actividad antimicrobiana, inhibiendo su crecimiento y que este efecto aumenta al aumentar la concentración, lo cual es muy probable debido a los componentes que conforman el extracto del tocosh de *Solanum tuberosum* como flavonoides y antocianinas petunidina, malvidina y cianidina y ácido clorogénico, que actúan por diferentes mecanismos y en distintas partes de la bacteria.

Se debe tener en cuenta que no se pudo realizar la cuantificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de *Solanum tuberosum*, y que no se realizó con una cepa ATCC estandarizada internacionalmente, sino que procedía fue certificada por el laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo, debido al hecho no contar los medios necesarios; así mismo otra de las limitaciones fue el no realizar mayor número de concentraciones de prueba por contar con poca cantidad del extracto de la planta en condiciones óptimas.

## V. CONCLUSIONES

1. La susceptibilidad antibiótica *in vitro* por halos de inhibición de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre *Staphylococcus aureus* fue de  $17,75 \pm 1,05$  mm,  $22,17 \pm 0,94$  y  $25,42 \pm 1,62$  mm, para concentraciones del 25, 50 y 100% respectivamente.
2. Los componentes fitoquímicos del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* fueron principalmente compuestos fenólicos y aminoácidos libres.
3. La concentración mínima inhibitoria de *Solanum tuberosum* sobre *Staphylococcus aureus* fue de 500 mg/mL
4. Los extractos acuosos de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) fueron superiores a los controles con vancomicina y oxacilina a cualquier concentración.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda comparar los resultados con cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.
2. Se recomienda realizar cuantificación de los metabolitos secundarios de *Solanum tuberosum* (papa fermentada).
3. Se recomienda ampliar los estudios del efecto antimicrobiano con otras concentraciones y dosis.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grundmann H, Aires M, Óbice J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*. 2006; 368: 874-85.
2. Carmona E, Sandoval Seyzo, García C. Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* proveniente de Hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima-Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2012; 29(2):206-11.
3. Zeconi A, Scali F. *Staphylococcus aureus* virulence factors in evasion from innate immune defenses in human and animal diseases. *Immunol Lett*. 2013; 13(2):65-78.
4. Mamani E, Lujan D, Pajuelo G. Perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*. Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. *An Fac Med Lima*. 2012; 67(2): 120-24
5. Mediavilla J, Chen L, Mathema B, Kreiswirth BN. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Cur Op Microbiol*. 2012; 15(5): 588-95.
6. Montalvo R, Huaroto L, Álvarezcano J, Ticona E, García Y. Prevalencia de portadores nasales por *Staphylococcus aureus* metilino resistente en personal de salud del servicio de cuidados intensivos, Hospital Nacional Dos de Mayo. *Rev Peruana Epi*. 2009; 13(2): 1-5.
7. Arteaga L, Espinoza Y, Chavez M. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* que coloniza el personal de salud de un hospital de la ciudad de Cali *Rev Cienc Salud*. 2016; 14(1): 9-19.
8. López S, Goñi M, Barrado L, González M, Otero J, Chavez F. Colonización nasal por *Staphylococcus aureus* en estudiantes de medicina: importancia en la transmisión hospitalaria. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31(8): 500-5.

9. Livermore D. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother* 2009; 64(1): i29-36.
10. Lowy F. Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003; 111: 1265-73.
11. Stefani S. Evolution in the antibiotic susceptibility and resistance. *Infez Med* 2011; 17(3): 5-12.
12. Weidenmaier C, Goerke C, Wolz C. *Staphylococcus aureus* determinants for nasal colonization. *Trends Microbiol.* 2012; 20: 243-50.
13. Chalar L, Moya J, Vargas E, Sejas M, Romero B. Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. *Rev Cient Cienc Méd.* 2014; 17(1): 26-8.
14. Lozano E, Lóez O, Bocanegra M, Davis L, Cruz L, Cervantes M. Interacción sinérgica de propóleo (*Propolis*) y orégano (*Lippia graveolens Kunth s.l.*) contra *Staphylococcus aureus*. *Rev. mex. cienc. Farm.* 2013; 44(4):
15. Langley PC, Pergolizzi JV, Taylor R, Ridgway C. Antioxidant and Associated Capacities of Camu Camu (*Myrciaria dubia*): A Systematic Review. *Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 2015;21(1):8-14.
16. Guevara JM, Guevara JC, Guevara JM, Béjar V, Huamán A, Valencia E, et al. Evaluación del cocimiento de diferentes biovariedades de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a oxacilina. *An Fac med.* 2014; 75(2): 177-80.
17. Aguilar A, López A. Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzigium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos.* 2013; 7(2): 35-41.
18. Geetha R, Sathian C, Prasad V, Gleeja V. Efficacy of purified antimicrobial peptides from lactic acid bacteria against bovine mastitis pathogens. *Asian Journal of Dairy and Food Research.* 2015; 34(4): 259-64.
19. Martinez R, Perez B. Utilizacion de Cultivos Andinos, Universidad Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela de Nutrición. Marzo 2010.

20. Mariano L. El hambre en los espacios de la cultura: Visiones indígenas Maya Ch'orti Revista de Antropología Iberoamericana. 2013; 8(2): 209-31.
21. Velásquez D, Casas A, Torres J, Cruz A. Ecological and socio-cultural factors influencing in situ conservation of crop diversity by traditional Andean households in Peru. J Ethnobiol Ethnomed. 2011; 6(7): 40-5.
22. Brown C. Antioxidants in potato. Am J Potato Res. 2005; 82: 163-72.
23. Sandoval M, Tenorio J, Tinco A, Loli R, Calderón S. Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* 'papa' en la mucosa gástrica de animales de experimentación. An. Fac. med. 2015; 76(11): 15-20.
24. Mäder J, Rawel H, Kroh LW. Composition of phenolic compounds and glycoalkaloids  $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine during commercial *Solanum tuberosum* processing. J Agric Food Chem. 2009; 57(14): 6292-7.
25. Singh A, Sabally K, Kubow S, Donnelly DJ, Garipey Y, Orsat V, et al. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Solanum tuberosum* peels. Molecules. 2011; 16(3): 2218-32
26. Rodriguez, G. Proceso de Fermentación y Biotransformación del *Solanum tuberosum* (papa fermentada).Revista de Bioquímica: Ciencia y Salud Universidad Complutense de Madrid. 2009; 116(1): 115-43.
27. Kim J, Gopal R, Kim S, Seo C, Lee H, Cheong H, et al. PG-2, a Potent AMP against Pathogenic Microbial Strains, from Potato (*Solanum tuberosum* L cv. Gogu Valley) Tubers Not Cytotoxic against Human Cells. Int J Mol Sci. 2013; 14(2): 4349-60.
28. Vlachojannis J, Cameron M, Chrubasik S. Medicinal use of potato-derived products: a systematic review. Phytother Res. 2010; 24(2): 159-62.
29. Leo L, Leone A, Longo C, Lombardi DA, Raimo F, Zacheo G. Antioxidant compounds and antioxidant activity in 'early potatoes. J Agric Food Chem. 2008; 56: 4154-63.
30. Suh B, Lee S. Analysis of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry in potato plant

- flowers, leaves, stems, and tubers and in homeprocessed potatoes. *J Agric Food Chem.* 2008; 56: 3341-9.
31. Ghiorzo H, Ávila G, Vásquez A. La Cultura Andina: Usos, Costumbres y Demás, *Revista de Nutrición y Bromatología*, Universidad de Aquino Bolivia. 2011; 103(1): 145-71.
  32. Amanpour R, Abbasi S, Neyriz M, Asadi M. Antibacterial effects of *Solanum tuberosum* peel ethanol extract in vitro. *J HerbMed Pharmacol.* 2015; 4(2): 45-8.
  33. Bontempo P, Carafa v, Grassi R, Basile A, Carlo G, Formisano C, et al. Antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of *Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte. *Food and Chemical Toxicology.* 2013; 55: 304-12.
  34. Zadra M, Piana M, Augusti A, Faccim T, Rossato L, Hartz S, et al. In Vitro Evaluation of the Antimicrobial and Antimycobacterial Activities of *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil. Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2013; 3(9): 19-23.
  35. Mahgoub H, Eisa G, Youssef F. Molecular, biochemical and anatomical analysis of some potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars growing in Egypt. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology.* 2015; 13(1): 39-49.
  36. Ombra M, Fratianni F, Granese T, Cardinale F, Cozzolino A, Nazzaro F. In vitro antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of purple potato extracts (*Solanum tuberosum* cv *Vitelotte noire*) following simulated gastro-intestinal digestion. *Nat Prod Res.* 2015; 29(11): 1087-91.
  37. Jin Z, Yang T, Choi J, Chinde P, Yoon S, Hahn Y, et al. Potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Gogu valley) protein as a novel antimicrobial agent in weanling pigs. *J Anim Sci* 2008.86:1562-72.
  38. Sarnthima R, Khammuang S. Antibacterial Activities of *Solanum stramonifolium* Seed Extract. *Int. J. Agric. Biol.* 2012; 14(1): 111-5.
  39. Duraffourd C, Hervicourt D, Lapraz C. Cuadernos de Fitoterapia clínica. Editorial Masson. Barcelona; 1986.

40. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana: Universidad de la Habana; 2000
41. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Seúl, Corea 2008.
42. Ley que establece los Derechos de las personas usuarias de los servicios de la salud Ley N° 29414. Perú 2009.
43. Colegio Médico del Perú. Código de ética y deontología. Lima, 2007.
44. Alamri S, Moustafa M. Antimicrobial properties of 3 medicinal plants from Saudi Arabia against some clinical isolates of bacteria. Saudi Med J. 2012; 33(3): 272-7.
45. Pavithra P, Janani V, Charumathi K, Indumathy R, Potala S, Verma R. Antibacterial activity of plants used in Indian herbal medicine. Int J Green Pharmacol. 2010; 4(1): 22-8.
46. Pekka J, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonen M, Kujala T, et al. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. Int J Food Microbiol. 2000; 56(1): 3-12.
47. Amer W, Abdelmohsen G. Lipid of some edible Solanaceae species; and its activity against some antibiotic resistant pathogenic bacteria. WJPR. 2014; 3(3): 3511-27.
48. Mattila P, Hellström J. Phenolic acids in *Solanum tuberosum* es, vegetables, and some of their products. J Food Compos Anal. 2007; 20(3-4): 152-60.
49. Ah-Hen K, Fuenzalida C, Hess S, Contreras A, VegaGálvez A, Lemus-Mondaca R. Antioxidant capacity and total phenolic compounds of twelve selected *Solanum tuberosum* landrace clones grown in Southern Chile. Chil J Agric Res. 2012; 72(1): 3-9.
50. Eichhorn S, Winterhalter P. Anthocyanins from pigmented potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. Food Research International. 2005; 38: 943-8.
51. Venkatesan P, Maruthavanan T. Synthesis of substituted flavones derivatives as potent antimicrobial agents. Bull Chem Soc Ethiop. 2011; 25(3): 419-25.
52. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents. 2005; 26(5): 343- 56.

53. Rojas C, Vásquez V. Phenolic compounds with antioxidant capacity of the native Andean potato (*Solanum tuberosum L.*) Huagalina variety in La Libertad – Peru. *Scientia Agropecuaria*. 2016; 7(3): 333-40.
54. Cisowska A, Wojnicz D, Hendrich A. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Nat Prod Commun*. 2011; 6(1): 149-56.
55. Kumar S, Pandey K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 2013; 2013: 1-16
56. Kuponiyi E, Ibibia T. A Review on Antimicrobial and Other Beneficial Effects of Flavonoids. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*. 2013; 21(1): 20-33.
57. Lacombe A, Wu VC-H, Tyler S, Edwards K. (2010) Antimicrobial action of the American cranberry constituents: phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*, 139, 102-107.
58. Wu VC-H, Qiu X, Bushway A, Harper L. (2008) Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. *LWT- Food Science and Technology*, 41, 1834-1841
59. Viskelis P, Rubinskienė M, Jasutienė I, Šarkinas A, Daubaras R, Česonienė L. Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon Ait.*) and their press cakes. *J Food Sci*. 2009; 74(2): C157-61.
60. Naz S, Siddiqi R, Ahmad S, Rasool S, Sayeed S. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *J Food Sci*. 2007; 72(9): M341-5.
61. Puupponen R, Nohynek L, Alakomi HL, Oksman K. (2005) The action of berry phenolics against human intestinal pathogens. *Biofactors*. 2005; 23(4): 243-51.
62. Puupponen R, Nohynek L, Hartmann S, Kähkönen M, Heinonen M, Määttä K, et al. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J Appl Microbiol*. 2005; 98(4): 991-1000.

- 63.** Lou Z1, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *J Food Sci.* 2011; 76(6): M398-403.

# **ANEXOS**



# ANEXO 01

## SOLICITUD DE PERMISO DE USO DE LABORATORIO

### ANEXO 01

#### SOLICITUD DE PERMISO DE USO DE LABORATORIO

Trujillo 27 de Enero del 2017


Universidad Privada Antenor Orrego  
Dr Ramel Ulloa Deza, Decano de la Facultad de Medicina Humana  
ASUNTO:

Solicito permiso para utilizar laboratorio de microbiología y parasitología

De mi mayor consideración, me dirijo a usted para saludarle cordialmente y solicitarle la autorización para la ejecución del Proyecto de Investigación: "**Efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) en cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con vancomicina y oxacilina**" de mi autoría, dentro del laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana que usted dignamente dirige.

Agradeciendo su gentil atención, quedo a espera de su respuesta

Atentamente:

  
Yadira Yajaira López Campos  
ID: 0000 75626  
DNI: 71197447

Se adjunta: Proyecto de Investigación



## ANEXO 02

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Trujillo, 06 de febrero del 2017


### CONSTANCIA DE ASESORÍA

Yo, **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**, docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727 y acreditada como Docente Investigadora por CONCYTEC con número de registro REGINA: N°1582.

Dejo constancia de haber asesorado a la alumna **YADIRA YAJAIRA LÓPEZ CAMPOS** en las actividades de preparación del extracto acuoso, preparación de las concentraciones 25%, 50% y 100% y la marcha fitoquímica, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de La Universidad Nacional de Trujillo. Asimismo, las concentraciones de ensayo preparadas, serán utilizadas para el desarrollo de la tesis titulada: "Efecto inhibitorio in vitro de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*"

Atentamente,



  
Dra. **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**  
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Laboratorio de Farmacognosia  
Universidad Nacional de Trujillo

## ANEXO 03



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
*FACULTAD DE MEDICINA*  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BASICAS  
SECCIÓN MICROBIOLOGIA MÉDICA



Telef. 232391 – 474842 - anexo 108

### **CERTIFICACION DE IDENTIFICACIÓN DE CEPA DE *Staphylococcus aureus***

Conste por el presente que la Sección de Microbiología Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, ha proporcionado la cepa de *Staphylococcus aureus* con código 25-FN-Mic.Med/FacMed/2016, aislada de fosas nasales de estudiantes de la facultad de Medicina de la UNT, para la ejecución de un trabajo de investigación al Dr. Marco Antonio Zárate Arce . Esta cepa ha cumplido con las características de cultivo, bioquímicas y de patogenicidad de la especie mencionada. Así mismo es conservada en el Cepario del Laboratorio “Loius Pasteur” de Microbiología Médica entre 0 a 5°C. Se garantiza la pureza y viabilidad de la cepa proporcionada.

Se otorga la presente certificación para los fines que crea conveniente.

Trujillo, 08 de marzo del 2017

Dra. MARÍA SOLEDAD AYALA RAVELO  
CBP. 1206  
Docente Encargada del Cepario

## ANEXO 04

### INFORME DEL COMITÉ DE BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO

**INVESTIGACIÓN:**

*“Efecto Inhibitorio in vitro de Solanum tuberosum (papa fermentada) comparado con Vancomicina y Oxacilina sobre cepas de Staphylococcus aureus”*

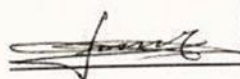
**INVESTIGADOR RESPONSABLE:**

*Srta. López Campos, Yadira Yajaira*

El comité de Bioética de la Universidad Privada Antenor Orrego, reviso el trabajo en referencia.

Considerando que no existen reparos éticos en la realización de experiencias citadas en el documento adjunto; el Comité aprueba la ejecución en los aspectos metodológicos que se desarrollan en la citada investigación, teniendo en cuenta que se tomaron las medidas relacionadas con los aspectos bioéticos.

Trujillo, 09 de Marzo del 2017



**Dr. José González Cabeza**

**Secretario Comité de Bioética-UPAO**



## ANEXO 05

Diámetros de halos de inhibición obtenidos en cada grupo de tratamiento frente a  
*Staphylococcus aureus*.

Repetición	Grupo A (mm)	Grupo B (mm)	Grupo C (mm)	Grupo D (mm)	Grupo E (mm)
1	20	22	25	14	15.8
2	18	23	26	13	16
3	18	22	24	13.5	16
4	19	23	30	13.8	16
5	16	22	24	13.9	15.5
6	17	21	25	12.8	16
7	18	22	25	13.4	16
8	17	21	24	13.5	15.9
9	18	24	25	13.6	15.7
10	17	23	26	13.5	15.5
11	17	22	25	13.5	15.9
12	18	21	26	14	16

Grupo A: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 25%.

Grupo B: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 50%

Grupo C: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 100%

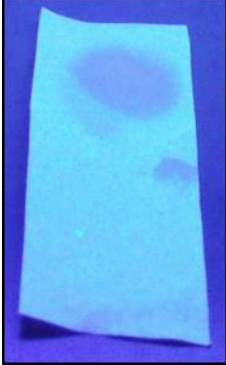







Grupo D: *S. aureus* + Vancomicina.








Grupo E: *S. aureus* + Oxacilina.

**Fuente:** Datos obtenidos en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Privada Antenor Orrego.

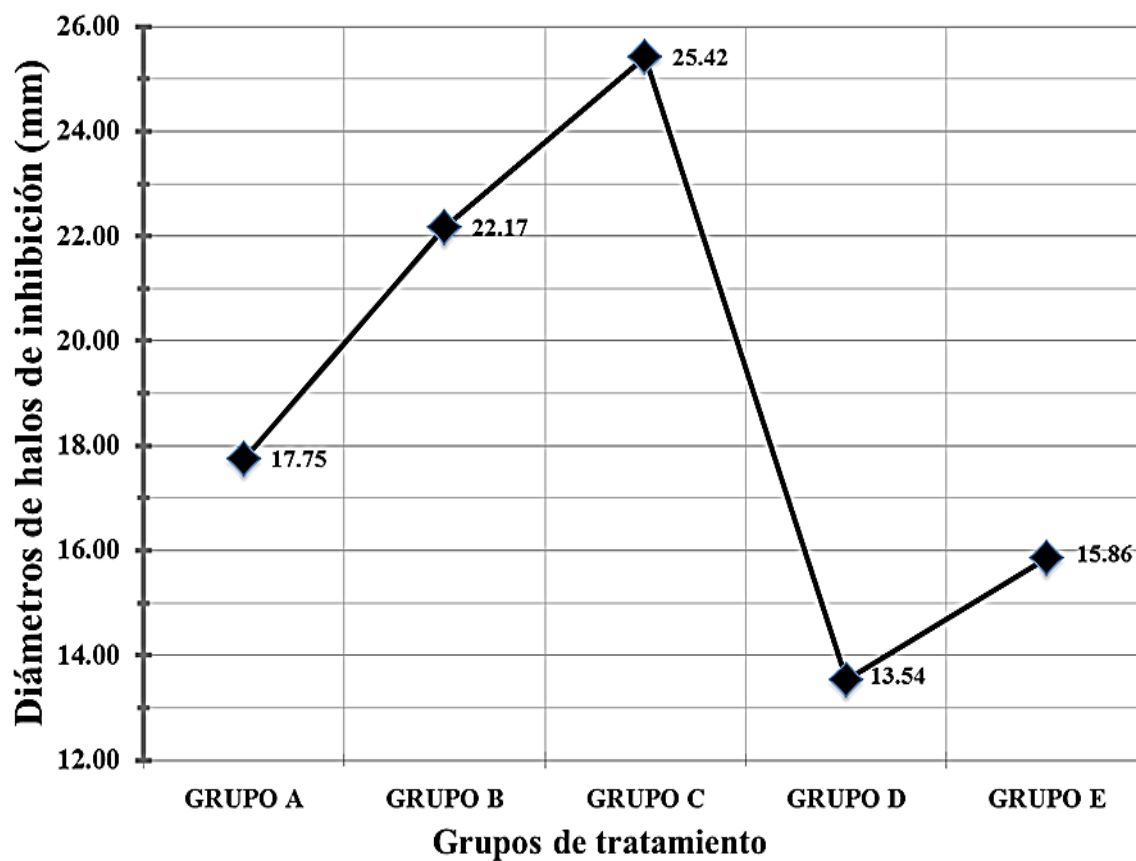
ANEXO 06

Fotografías del Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada)

 <p><b>Fotografía 1.</b> <b>Catequinas.</b> Reacción (-) No hay mancha verde carmelita a la luz UV.</p>	 <p><b>Fotografía 2.</b> <b>Lactonas.</b> Reacción (-) No hay cambio de coloración</p>	 <p><b>Fotografía 3.</b> <b>Triterpenos y esteroides.</b> Reacción (+). Coloración azul verdoso</p>	 <p><b>Fotografía 4.</b> <b>Quononas.</b> Reacción (-) No hay cambio de coloración</p>
 <p><b>Fotografía 5.</b> <b>Glicósidos cardiotónicos.</b> Reacción (-) No hay cambio de coloración</p>	 <p><b>Fotografía 6.</b> <b>Compuestos fenólicos.</b> Reacción (+++) Coloración verde oscuro.</p>	 <p><b>Fotografía 7.</b> <b>Flavonoides</b> Reacción (++) Coloración roja.</p>	 <p><b>Fotografía 8</b> <b>Antocianina</b> Reacción (-) No hay cambio de coloración</p>

 <p><b>Fotografía 9.</b> <b>Saponinas</b> Reacción (-) No hay cambio de coloración</p>	 <p><b>Fotografía 10.</b> <b>Alcaloides.</b> Ensayo de Dragendorff Reacción (+++). Precipitado anaranjado.</p>	 <p><b>Fotografía 11.</b> <b>Alcaloides.</b> Ensayo de Wagner. Reacción (+++). Precipitado anaranjado</p>	 <p><b>Fotografía 12.</b> <b>Alcaloides.</b> Ensayo de Mayer. Reacción (+++) Precipitado blanco.</p>
 <p><b>Fotografía 13.</b> <b>Taninos.</b> Reacción (-) No hay cambio de coloración</p>	 <p><b>Fotografía 14.</b> <b>Fehling.</b> Reacción (++) Precipitado de color rojo ladrillo.</p>	 <p><b>Fotografía 15.</b> <b>Ninhidrina.</b> Reacción (+++) Coloración violeta.</p>	

## ANEXO 07



**Gráfica 1. Promedios de halos de inhibición obtenidos con los diferentes grupos de tratamiento frente a *Staphylococcus aureus***

**Fuente:** Datos obtenidos en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Privada Antenor Orrego.



## ANEXO 8

**Evaluación de las medias de halos de inhibición logrados por los diferentes grupos de tratamiento frente a *Staphylococcus aureus* mediante prueba de Tukey.**

Grupo	n	Subconjuntos para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
<b>GRUPO D</b>	10	13.54				
<b>GRUPO E</b>	10		15.86			
<b>GRUPO A</b>	10			17.75		
<b>GRUPO B</b>	10				22.17	
<b>GRUPO C</b>	10					25.42

Grupo A: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 25%.

Grupo B: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 50%

Grupo C: *S. aureus* + extracto acuoso de *Solanum tuberosum* a 100%

Grupo D: *S. aureus* + Vancomicina.

Grupo E: *S. aureus* + Oxacilina.

**Fuente:** Datos obtenidos en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Privada Antenor Orrego.

ANEXO 09

**Patrones estándar del halo de inhibición para *Staphylococcus* spp,  
puntos de corte equivalentes a la CMI y diámetros del halo de  
inhibición para la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

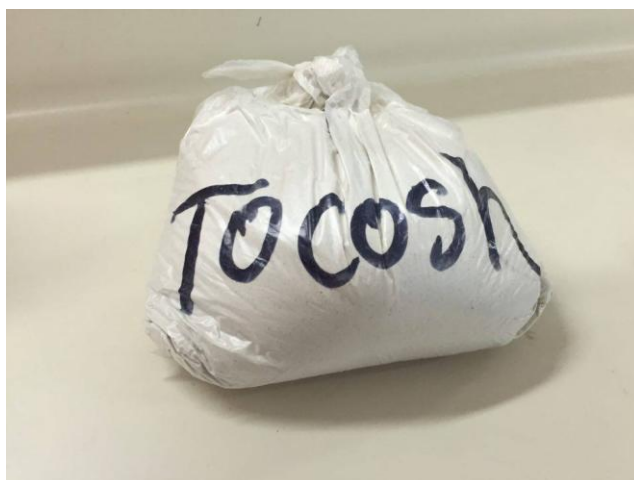
GRUPO	Antimicrobiano	Carga del disco (µg)	Diámetro del halo de inhibición (mm)			Punto de corte Equivalente a la CMI (µg/ml)		<i>S. aureus</i> ATCC 25923 intervalo <sup>a</sup>
			Resistente	Intermedia	Sensible	Resistente	Sensible	
A	Penicilina G <sup>b,c</sup>	10 U	≤28	--	≥29	β-lactamasa <sup>b</sup>	≤0.1	26-37
	Oxacilina <sup>b</sup> ( <i>S. aureus</i> )	1	≤10	11-12	≥13	≥4	≤2	18-24
	( <i>Estafilococos coagulasa</i> -)	1	≤17	--	≥18	>0.5	<0.25	--
B	Vancomicina <sup>d</sup>	30	--	--	≥15	≥32	≤4	17-21
	Teicoplanina	30	≤11	11-13	≥14	≥32	≤8	15-21
	Eritromicina <sup>e</sup>	15	≤13	14-22	≥23	≥8	≤0.5	22-30
	Claritromicina <sup>e</sup>	15	≤13	14-17	≥18	≥8	≤2	26-32
	Azitromicina <sup>e</sup>	15	≤13	14-17	≥18	≥8	≤2	21-26
	Clindamicina <sup>e</sup>	2	≤14	15-20	≥21	≥4	≤0.5	24-30
	Trimetoprim / sulfametoxazol	1,25/23,75	≤10	11-15	≥16	>8/152	<2/38	24-32
C	Gentamicina	10	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4	19-27
	Ciprofloxacino	5	≤15	16-20	≥21	≥4	≤1	22-30
	Ofloxacino	5	≤12	13-15	≥16	≥8	≤2	24-28
	Levofloxacino	5	≤13	14-16	≥17	≥8	≤2	25-30
	Cloranfenicol <sup>f</sup>	30	≤12	13-17	≥18	≥32	≤8	19-26
	Rifampicina <sup>g,1</sup>	5	≤16	17-19	≥20	≥4	≤1	26-34
	Tetraciclina <sup>g</sup>	30	≤14	15-18	≥19	≥16	≤4	24-30
D	Norfloxacino	10	≤12	13-16	≥17	≥16	≤4	17-28
	Lomefloxacino	10	≤18	19-21	≥22	≥8	≤2	23-29
	Nitrofurantoina	300	≤14	15-16	≥17	≥128	≤32	18-22
	Sulfisoxazol	250 o 300	≤12	13-16	≥17	≥350	≤100	24-34
	Trimetoprim	5	≤10	11-15	≥16	≥16	≤4	19-26

## ANEXO 10 FOTOS

### 1. Obtención de *Solanum tuberosum*:



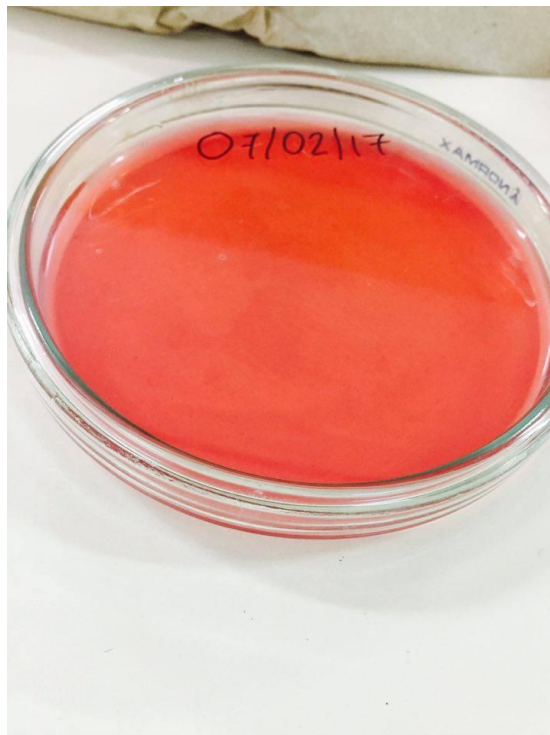
### 2. *Solanum tuberosum* pulverizado para obtención del extracto:



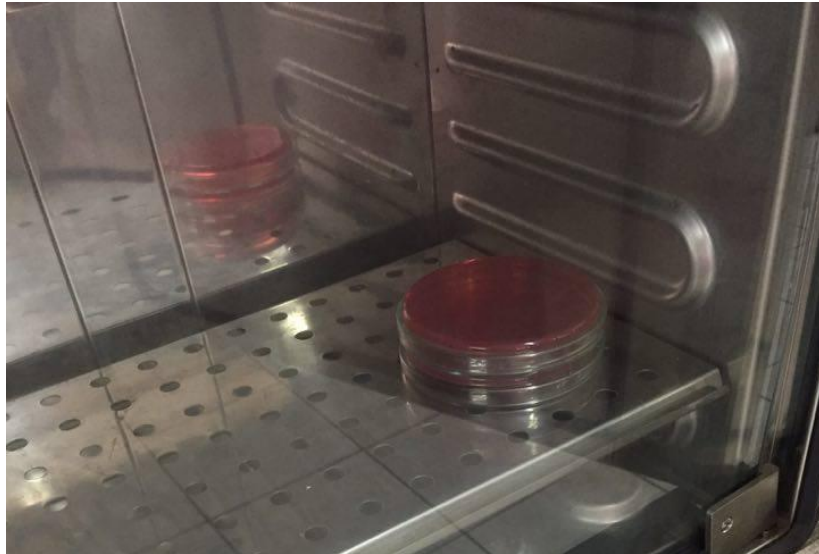
**3. Esterilización del material(placas Petri y tubos de ensayo):**



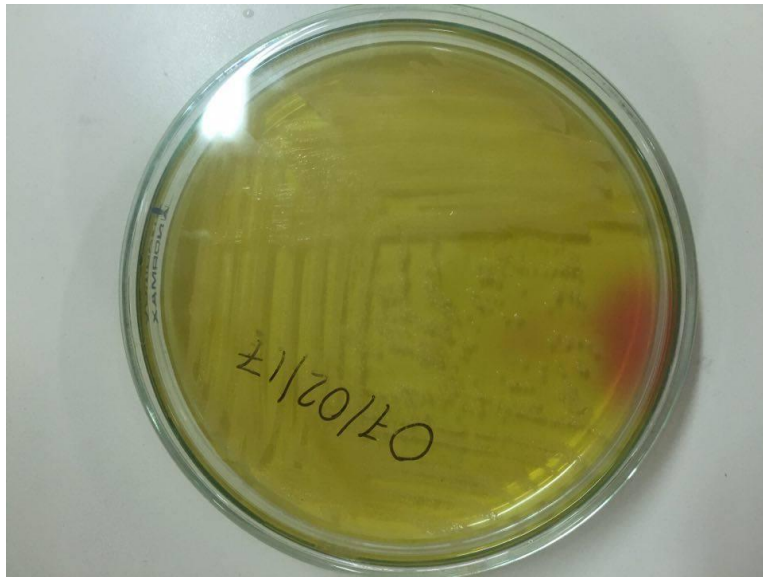
**4. Siembra de *Staphylococcus aureus* en Agar manitol:**



**5. Conservación de la siembra de *Staphylococcus aureus* a 37°C**



**6. Formación de colonias aisladas de *Staphylococcus aureus*.**



**7. Discos embebidos en extracto de *Solanum tuberosum*:**



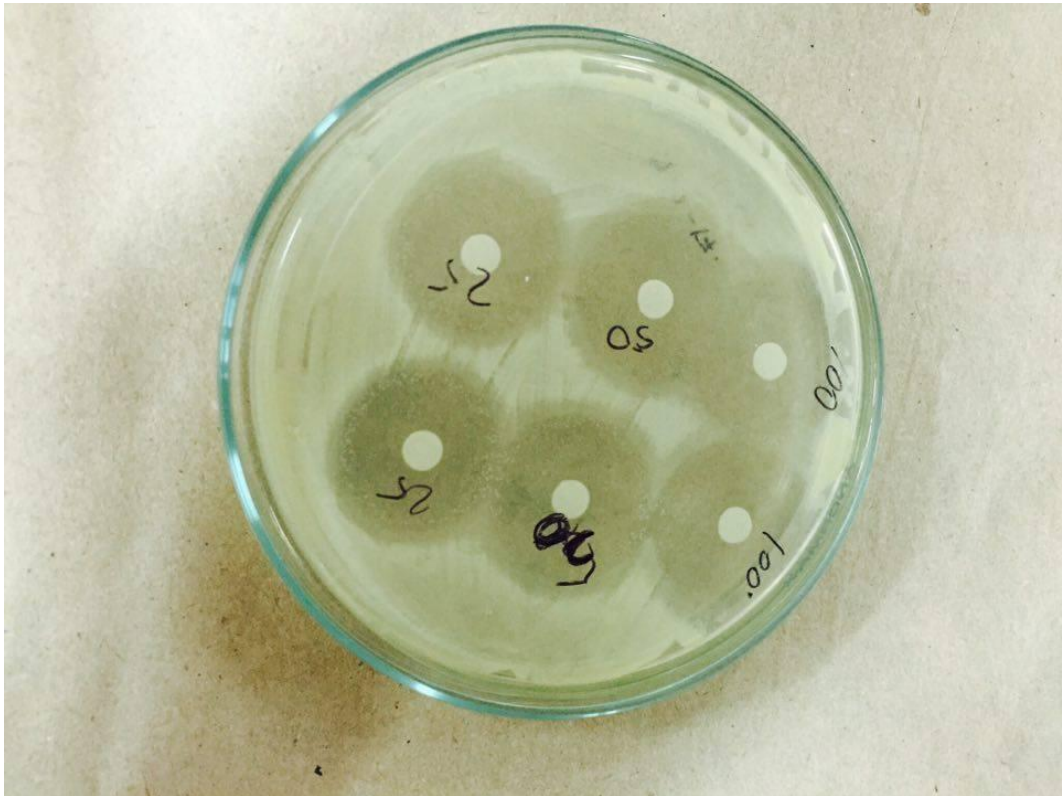
**8. Siembra en camada sobre Agar Mueller Hinton**



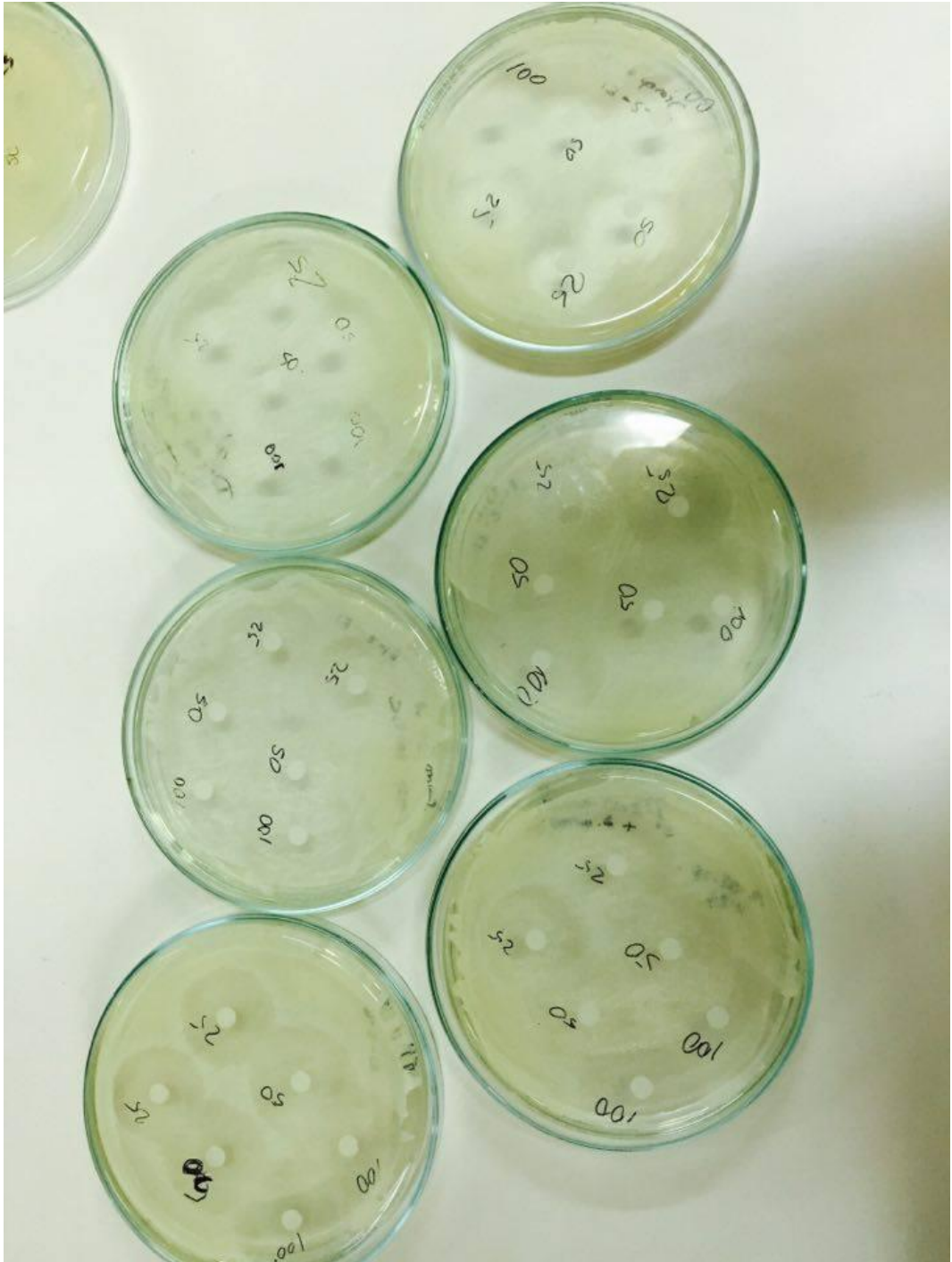
**9. Colocación de placas Petri con discos de vancimicina, oxacilina y extracto al 25%, 50% y 100% de *Solanum tuberosum***

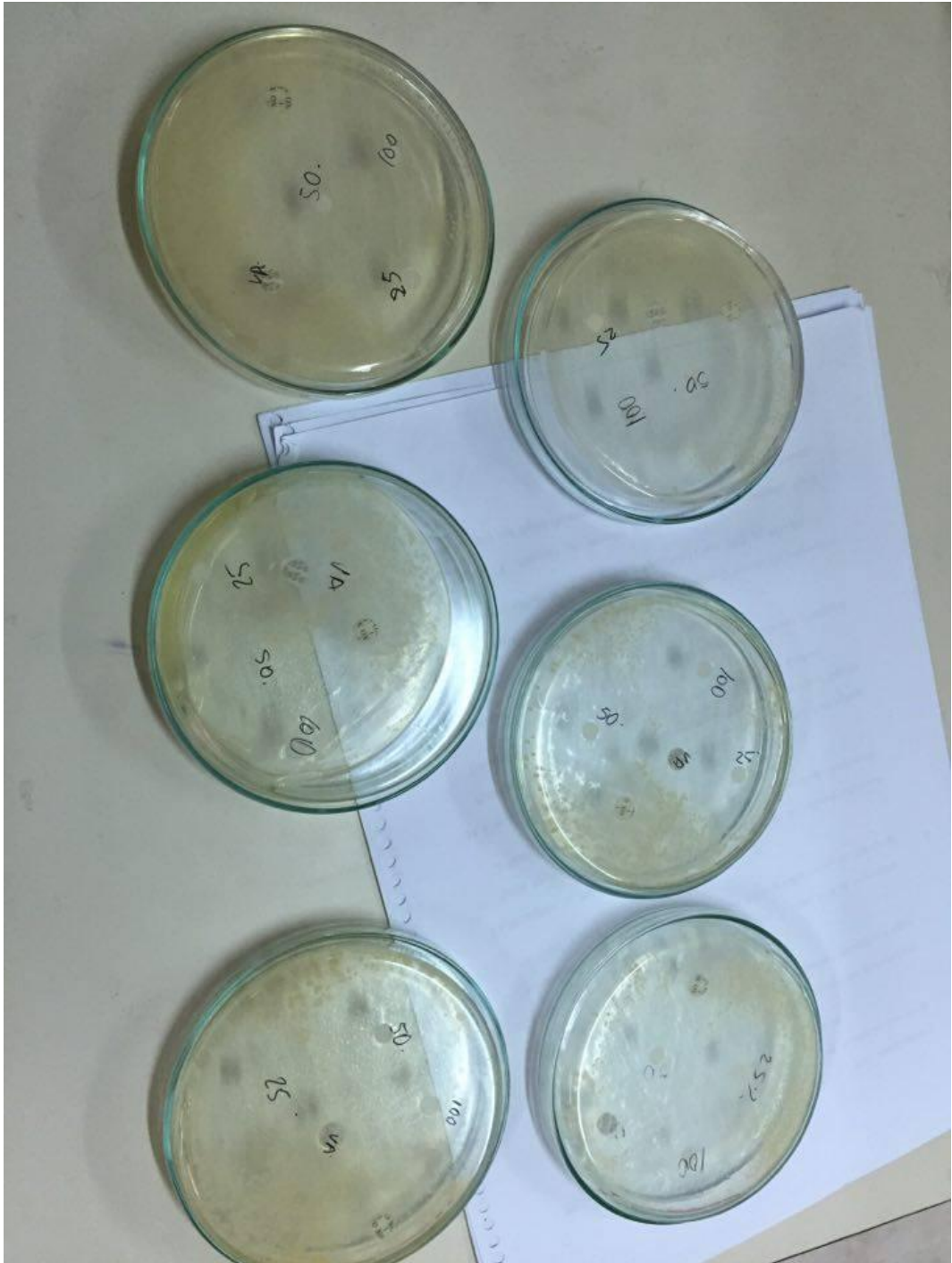


**10. Resultado satisfactorio halos de *Solanum tuberosum*.**





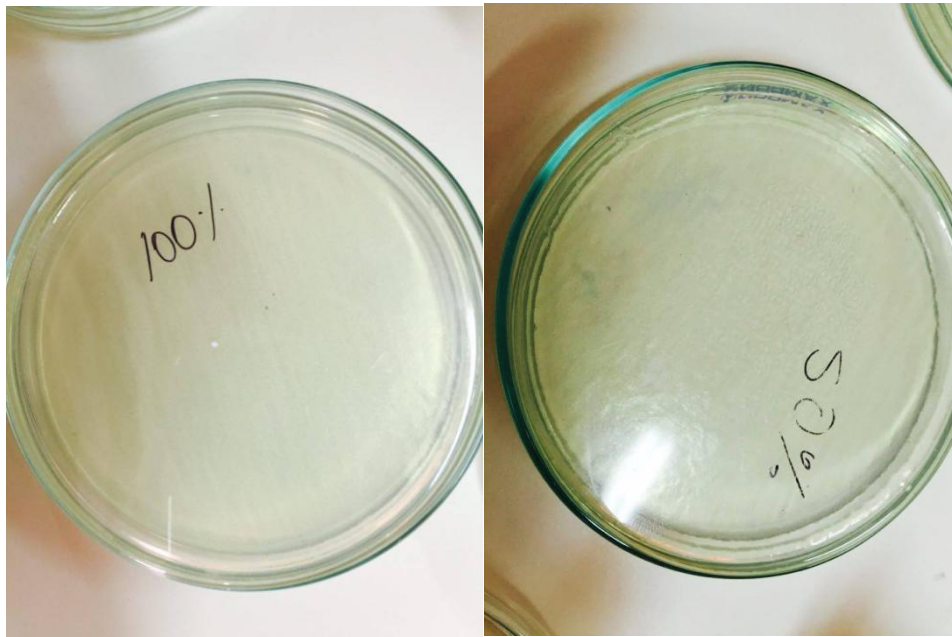




**11. Tubos de ensayo para concentración mínima inhibitoria:**



**12. No se observa crecimiento del microorganismo mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) al 50 y 100% :**



**13. Crecimiento de unidades formadoras de colonias al 25%**

