



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS  
DE *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” SOBRE *Staphylococcus aureus* Y  
*Escherichia coli*

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

AUTORES:

BACH. RIVERA TINEO, ANA KAREN  
BACH. VIDES SANCHEZ, NATIVIDAD

ASESOR

Mg. Q.F. FLORES LOPEZ, OSCAR BERNUY

LIMA – PERÚ

2021

## Dedicatoria

*A mi madre Alida Elizabeth, por ser el pilar más importante en mi vida, por demostrarme cada día su cariño y apoyo incondicional, con su ejemplo y demostración me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada.*

*Ana Karen Rivera Tineo*

*A Dios, mis padres, hermanos, esposa e hijos.*

*Porque han sido la base de mi formación, cada uno de ustedes es mi principal motivación y me han ayudado a enfrentar la gran tarea de encarar la sociedad, les dedico este logro tan anhelado, en especial por ser los principales benefactores del desarrollo de mi tesis.*

*Natividad Vides Sanchez*

## Agradecimiento

*A Dios, por darnos la fortaleza y dedicación durante esta etapa de cinco años y permitirnos culminar esta maravillosa carrera*

*Gracias a nuestros familiares y asesores, por este nuevo triunfo, a todas las personas que nos apoyaron y creyeron en la realización de esta tesis.*

*No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus conocimientos y aportes, lo difícil y complicado se ha notado menos.*

## ÍNDICE GENERAL

	Páginas
<b>Resumen</b>	viii
<b>Abstract</b>	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	6
2.1. Enfoque y diseño de investigación	
2.2. Población, muestra y muestreo	
2.3. Variables de investigación	
2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos	
2.5. Proceso de recolección de datos	
2.6. Métodos de análisis estadísticos	
2.7 Aspectos éticos	
<b>III. RESULTADOS</b>	10
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	17
4.1. Discusión de resultados	
4.2 Conclusiones	
4.3. Recomendaciones	
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	23
<b>ANEXOS</b>	26

## Índice de Tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva para cada grupo de tratamientos del Extracto etanólico de las hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch. "Fresa" frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Tabla 2. Estadística descriptiva para cada grupo de tratamientos del extracto etanólico de las hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch. "Fresa" frente a <i>Escherichia coli</i>	11
Tabla 3. Estadística descriptiva para los grupos control frente a <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	12
Tabla 4. Análisis de la varianza para las variables de estudio	14
Tabla 5. Prueba Tukey para comparaciones múltiples por sub grupos	15
Tabla 6. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	16

## Índice de Figuras

Figura 1. Gráfico de Medias de los grupos de datos analizados	13
Figura 2. Recolección de la muestra de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch. "Fresa"	38
Figura 3. Preparación de la muestra:	38
Figura 4. Secado de muestra vegetal en estufa	39
Figura 5. Triturado de la muestra vegetal	39
Figura 6. Pulverizado de la muestra	39
Figura 7. Tamizaje de la muestra	40
Figura 8. Preparación del macerado	40
Figura. 9. Evaporación del solvente en Baño maría	40
Figura 10. Filtrado del macerado	41
Figura 11. Activación de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y preparación del inóculo	41
<i>Figura 12. Activación de la cepa de Escherichia coli ATCC 25922 y preparación del inóculo</i>	42
Figura 13. Preparación de pozos en agar	42
Figura 14. Aplicación de los extractos y controles	42
Figura 15. Incubación de placas y crecimiento de halo de inhibición	43
Figura 16. Lectura de halos de inhibición	43

## Índice de Anexos

Anexo A. Operacionalización de las variables	27
Anexo B. Instrumento y recolección de datos	28
Anexo C. Fragaria x ananassa Duch. "Fresa"	29
Anexo D. Identificación Taxonómica de Fragaria x ananassa Duch. "Fresa"	30
Anexo E. Certificado de análisis de Staphylococcus aureus ATCC 25923	31
Anexo F. Certificado de análisis de Escherichia coli ATCC 25922	33
Anexo G. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov corregida por Lilliefors para cada grupo de datos	35
Anexo H. Prueba de homogeneidad de varianzas para los grupos de datos	36
Anexo I. Escala de Duraffourd	37
Anexo J. Evidencia de trabajo de campo	38

## Resumen

**Objetivo:** Demostrar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*,

**Métodos:** La muestra de estudio estuvo conformada por *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” recolectada en el distrito de Incahuasi de la provincia de Ferreñafe del departamento de Lambayeque, se determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de la planta mediante la técnica de difusión en pozo de agar sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, se empleó como control positivo el ciprofloxacino.

**Resultados:** Los extractos etanólicos de fresa obtuvieron halos de inhibición para las concentraciones de 50%, 75% y 100% de 19.71mm  $\pm$  0.06, 20.43mm  $\pm$  0.06 y 22.44mm  $\pm$  0.06 para *Staphylococcus aureus* y de 12.26mm  $\pm$  0.06, 14.15mm  $\pm$  0.06 y 16.68mm  $\pm$  0.06 para *Escherichia coli* respectivamente, ciprofloxacino produjo halos de inhibición de 33.55mm  $\pm$  0.07mm para *Staphylococcus aureus* y 12.26mm  $\pm$  0.06 para *Escherichia coli*.

**Conclusiones:** El extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” presenta actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

**Palabras clave:** *Fragaria x ananassa Duch.*, Fresa, Extracto etanólico, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## Abstract

**Objective:** To demonstrate the antibacterial activity of the ethanolic extract of leaves of *Fragaria x ananassa Duch.* "Strawberry" on *Sthaphylococcus aureus* and *Escherichia coli*,

**Methods:** The study sample consisted of *Fragaria x ananassa Duch.* "Strawberry" collected in the Incahuasi district of the Ferreñafe province of the Lambayeque department, the antibacterial effect of the ethanolic extract of the plant leaves was determined by means of the agar well diffusion technique on strains of *Sthaphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, ciprofloxacin was used as a positive control.

**Results:** Strawberry ethanolic extracts obtained inhibition halos for concentrations of 50%, 75% and 100% of 19.71mm + 0.06, 20.43mm + 0.06 and 22.44mm + 0.06 for *Sthaphylococcus aureus* and 12.26mm + 0.06, 14.15mm + 0.06 and 16.68mm + 0.06 for *Escherichia coli* respectively, ciprofloxacin produced inhibition halos of 33.55mm + 0.07mm for *Sthaphylococcus aureus* and 12.26mm + 0.06 for *Escherichia coli*.

**Conclusions:** The ethanolic extract of leaves of *Fragaria x ananassa Duch.* "Strawberry" has an antibacterial activity on *Sthaphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**Key words:** *Fragaria x ananassa Duch.*, Strawberry, Ethanolic extract, *Escherichia coli*, *Sthaphylococcus aureus*.

## I. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una problemática que ha surgido con la resistencia bacteriana producida por microorganismos que se hace insensibles al ataque de los antibióticos, aumentando los casos de morbi-mortalidad, hasta cifras tales que se ha considerado la resistencia bacteriana en estado de alerta a nivel mundial, implementándose programas para combatirla esta problemática en casi todos los países del mundo<sup>1</sup>.

Los antibióticos son fármacos que se utilizan para el tratamiento de infecciones bacterianas. Algunas bacterias tienen la capacidad de mutar frente al uso de estos medicamentos, produciéndose lo que se le conoce como fármaco-resistencia, haciendo que las infecciones sean más difíciles de controlar, provocando un aumento de los costos de medicamentos y prolongando la estancia hospitalaria e incrementando el riesgo de muerte<sup>2</sup>.

Los datos publicados por la OMS (Organización Mundial de la Salud) revelan que las bacterias fármaco-resistentes más frecuentes son: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* seguido de *Salmonella* spp<sup>3</sup>.

Muchas infecciones como la neumonía, la tuberculosis, la septicemia, la gonorrea o enfermedades de transmisión alimentaria, son cada vez más difíciles de tratar, debido a que los medicamentos van perdiendo su eficacia, teniendo que recurrir a medicamentos más caros, aumentando de esta manera los costos de atención sanitaria y perjudicando la economía en las familias y la sociedad<sup>2</sup>.

La OPS (Organización Panamericana de la Salud) revela que las infecciones gastrointestinales producidas por *Escherichia coli*, afectan a más de 582 millones de personas a nivel mundial, de las cuales 350 mil mueren cada año<sup>4</sup>.

En Uruguay, en el año 2004 se notificó la presencia de una cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente, que infectó a 417 personas, al menos un 80% fue por infecciones a nivel de piel, estas se trataron ambulatoriamente y se reportó 4 fallecimientos<sup>5</sup>.

En la ciudad de Lima en el periodo 2014 – 2016 un estudio en una clínica particular geriátrica, comprobó que el mecanismo de resistencia que adoptan las bacterias uro

patógenas, como *Escherichia coli*, es la producción de BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido)<sup>6</sup>.

En el Hospital Regional Docente las Mercedes, Chiclayo, en el 2018, pacientes procedentes del área de UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) a través de los exámenes microbiológicos se encontró que la mayoría de bacterias como *Escherichia coli*, presentes en esta población, son productoras de BLEE, y con un alto grado de resistencia al ciprofloxacino, representando un problema de salud muy grande a nivel de la región<sup>7</sup>.

En el hospital provincial docente Belén de Lambayeque, se tomaron muestras nasofaríngeas a 70 trabajadores de salud; siendo los resultados preocupantes, ya que se encontraron cepas de *S. aureus* y *S. pneumoniae* resistente a las penicilinas<sup>8</sup>.

La farmacorresistencia se ha convertido en un problema de suma importancia a nivel de salud pública, provocando el fracaso de los tratamientos farmacológicos; por tal motivo el presente estudio, a través de un extracto, de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.*, demostraremos su actividad antibacteriana contra las bacterias *S. aureus* y *Escherichia coli*, aportando de esta manera un nuevo conocimiento que podrá ser utilizado para el tratamiento de enfermedades causadas por estas bacterias.

*Fragaria x ananassa Duch.*, es una planta herbácea fija, su follaje muestran hojas de color verde oscuro y con varias estomas, de forma pinnadas, trifoliadas y compuestas<sup>9,10</sup>. Estudios demuestran que los preparados tipo infusión o decocción de raíces, tallos, hojas y fruto de la planta de las fresas silvestres muestran propiedades nutritivas y antioxidantes<sup>11</sup>.

Esta planta contiene aceites esenciales, como el acetato de caprilo; ácido elágico, que disminuye el riesgo de cáncer en el organismo; flavonoides, principalmente el quercetin y kaemferol, que disminuyen los niveles de colesterol malo; antocianinas, responsables de la capacidad antioxidante de la planta; fenoles totales<sup>12,13</sup>.

*Staphylococcus aureus* es uno de los seis microorganismos más comunes en la práctica médica diaria, causa un sin número de enfermedades, desde simples hasta muy graves, ya sea por acción directa o por medio de sus toxinas. Es un

microorganismo con alto grado de patogenicidad, coloniza piel, fosas nasales, la región inguinal, axilas, región del periné y faringe<sup>14</sup>.

*Escherichia coli*, es una bacteria Gram negativa en forma de bacilo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, de manera normal habita el tracto intestinal de los animales y del ser humano, también se encuentra en el ambiente. *Escherichia coli*, presenta movimiento a través de sus flagelos peritricos, tiene un tamaño de 0.5 micras de ancho y 3 micras de largo, son catalasa positivos y oxidasa negativos, producen vitamina B y K, es anaerobio facultativo<sup>15</sup>. El grupo más frecuente y severo causando enfermedades en el ser humano es *E. coli* verotoxigenica o *E. coli* productora de toxina Shiga<sup>16</sup>.

Rodriguez J. (2019), evaluó el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Fragaria x ananassa Duch.* sobre *Microsporium gypseum*, a través del método Kirby Bauer, encontrando que el extracto etanólico al 75% presentó un mayor poder antifúngico superando este el halo de inhibición con respecto al fluconazol con una diferencia de 13.4 mm<sup>17</sup>.

El estudio de Moya T. y Osorio R. (2017) evaluó la actividad fotoprotectora de una formulación tópica a base de extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca L.* (Fresa), obtuvo 15.50 mg GAE/g (Folin – Ciocalteu) y 81.22% (DPPH ) de captación de radicales libres y la actividad fotoprotectora, demostrando actividad antioxidante menor al ácido ascórbico y presencia de factor de protección solar de formulación tópica elaborada<sup>18</sup>.

Barreto M. (2017), en su estudio determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Fragaria vesca L* “fresa” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, a diferentes concentraciones encontrando una concentración mínima bactericida para el extracto al 75% con un halo de 10.5mm y la concentración mínima inhibitoria fue la del 25%<sup>19</sup>.

Por otro lado a nivel internacional Caicedo M. (2019), también trabajo sobre efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Fragaria vesca* “fresa” sobre la bacteria *Streptococcus mutans*, encontrando una diferencia marcada en el efecto inhibitorio dependiente de la concentración del extracto de *Fragaria vesca*, existiendo poder antibacteriano de la planta sobre *Streptococcus mutans*<sup>20</sup>.

Piangka N., Ahmed T. y Acharjee M. (2017), estudió microorganismos patógenos resistente a los medicamentos y los expuso a extractos de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa”, determinó la presencia de halos de inhibición al exponer estas bacterias sobre los extractos de *Fragaria x ananassa Duch*, comprobando así actividad antibacteriana<sup>21</sup>.

Cardenas J. (2016) evaluó el efecto antibacteriano de antocianinas de *Fragaria ananassa Duch* sobre bacterias patógenas de humanos. Determinó la presencia de antocianinas pelargonidina 3,5-glucosido y compuestos fenólicos como el kaempferol, catequinas y ácido elágico, todos con bandas antimicrobianas, concluyendo que los extractos de antocianinas de los frutos de la especie *Fragaria ananassa Duch* presenta poder antimicrobiano sobre *Salmonella choleraesuis*, *Shigella flexneri* y *E. coli*<sup>22</sup>.

Pocos son los microorganismos que causan daño al hombre, pero ocasionan enfermedades que son cada vez son más difíciles de controlar con tratamientos farmacológicos comunes, por tal motivo es necesario explorar nuevas fuentes que permitan encontrar alternativas farmacológicas.

Las plantas han sido siempre la fuente de conocimiento de nuevos principios activos y a partir de estos se han elaborado nuevos productos farmacéuticos que han permitido mejorar los tratamientos farmacológicos de las personas.

*Fragaria x ananassa Duch.* “fresa”, es una planta que nos permitirá demostrar la actividad antibacteriana que puede presentar contra dos tipos de bacterias con alta prevalencia en las enfermedades del hombre, esto permitirá obtener una nueva fuente de tratamiento para combatir este tipo de enfermedades.

La presente investigación permitirá obtener nueva información de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” y su relación antibacteriana frente a dos cepas con potencial efecto patógeno, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, de esta manera contribuirá en el campo de prevención de la salud y desarrollo de nuevos métodos y procedimientos para prevenir las enfermedades relacionadas con estas bacterias que presentan un alto índice de incidencia en nuestra sociedad. El objetivo de la investigación es demostrar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las

hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, en tal sentido, nos planteamos los siguientes objetivos específicos:

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* al “fresa” 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus*.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli*.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” con ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

La hipótesis general: El extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” presenta actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de investigación

El enfoque de la investigación es del tipo cuantitativo correspondiendo a un diseño experimental de corte transversal <sup>23,24</sup>. La investigación es experimental debido a que el investigador trabaja con variables controladas en laboratorio, así mismo, es transversal porque la recopilación de los resultados será obtenida en un tiempo definido.

### 2.2 Población, muestra y muestreo

La población del estudio estuvo conformada por la especie vegetal *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” recolectada en el distrito de Incahuasi de la provincia de Ferreñafe ubicado a 6°13'16.6"S 79°17'55.0"W, de donde se obtuvo una muestra de 800 g de hojas frescas de la especie vegetal en mención mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia. La población microbiológica estuvo conformada por las especies de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, de las que se obtuvieron las cepas ATCC® 25923<sup>TM</sup> y ATCC® 25922 respectivamente.

### 2.3 Variables de investigación

Las variables del estudio se conforman por la variable independiente correspondiente a extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” y las variables dependientes correspondieron a la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

**Definición conceptual:** La actividad antibacteriana es la disminución o inhibición del crecimiento bacteriano por parte de la exposición a una sustancia <sup>25</sup>.

**Definición operacional:** Diámetro de inhibición del crecimiento a partir de un punto de referencia por causa de una sustancia que altera el crecimiento bacteriano.

**Variable independiente:** Extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa”

Definición conceptual: Concentraciones al 50%, 75% y 100% de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa”

Definición operacional: Extracto elaborado de hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” mediante maceración con etanol.

**Variable dependiente:** Actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Definición conceptual: Disminución o inhibición del crecimiento bacteriano por parte de la exposición a una sustancia <sup>25</sup>

Definición operacional: Actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en pozo y se relacionaron con la medición de los halo de inhibición formados por los extractos sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

## **2.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos**

Técnica: La técnica empleada para la recolección de los datos fue el método de difusión en Pozo de agar, el cual es un método estandarizado que permite determinar la actividad antimicrobiana mediante la lectura de halos de inhibición<sup>26</sup>.

Instrumento: Se empleará un instrumento métrico digital para observar medidas de los halos de inhibición llamado Vernier.

## **2.5 Proceso de recolección de datos**

### 2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Para la recolección de las especies vegetales se solicitó los permisos necesarios para acceder al área de cultivo, se extrajo muestras vegetales representativas y luego se realizó la identificación a través de un especialista en botánica, del mismo modo, se obtuvo las cepas microbiológicas ATCC y sus certificaciones.

### 2.5.2. Recolección de la muestra vegetal

La muestra vegetal fue recolectada directamente de la planta, solo se recolectaron hojas frescas y en buen estado, con un tamaño aproximado a 3.5cm a 6cm en una cantidad aproximada de 800 gramos de hojas.

Se recolectaron dos muestras vegetales completas y representativas que sirvieron para la identificación taxonómica, las cuales fueron lavadas, secadas y prensadas por 10 días.

Las muestras vegetales fueron lavadas y puestas a corriente de aire directo por 24 horas, luego se llevaron a estufa a 40°C por 4 horas.

### 2.5.3. Identificación taxonómica de la muestra vegetal

Las muestras vegetales fueron llevadas a un profesional biólogo especialista en botánica para su identificación y emisión de la constancia respectiva.

### 2.5.4. Preparación del extracto etanolico

Las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” previamente secadas en estufa fueron trituradas con un molino de cuchillas para obtener un polvo fino el cual se pasó por un tamiz, de este se pesó 400 gramos de la muestra y agregará 800 mL de etanol de 96° el cual se dejó en maceración por 10 días en la oscuridad, cada 12 horas se agitará por 10 minutos hasta completar su tiempo de maceración, luego de esto se filtró luego con papel de filtro Whatman #01 y el filtrado obtenido fue llevado a Baño maría a 40°C por 24 horas, el extracto obtenido fue pesado en una balanza analítica.

### 2.5.5. Reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*:

La reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se realizó manteniendo las medidas de bioseguridad y precauciones que precisa el proveedor según ficha técnica, se utilizaron medios de cultivos selectivos y no selectivos.

### 2.5.6. Sembrado en placa de cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*:

Obtenida la activación de la cepa, se procedió con un asa o hisopo estéril para tomar una colonia de bacterias en un tubo que contenga 10 mL de agua destilada estéril y de ser necesario hacer diluciones seriadas, hasta llegar a la concentración 0.5 de la escala de Mac Farland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/mL), el cual será el inóculo de trabajo.

### 2.5.7. Evaluación del efecto antibacteriano sobre cepas *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923TM y *Escherichia coli* ATCC® 25922

Se tomará un hisopo estéril y se humedeció con muestra del tubo que contiene el inóculo, se presionó en los bordes del tubo para eliminar el exceso de líquido y se sembró homogéneamente cubriendo la totalidad de la placa con medio Agar Miuller Hinton

Se empleó el método de agar modificado en pozo para la determinación del efecto antibacteriano, con un sacabocado se hizo los pozos respectivos en donde se aplicó a cada pozo 20 uL de los extractos a concentraciones de 100%, 75% y 50%, y los controles negativos (Etanol) y positivo (Ciprofloxacino) en cada placa.

Las placas fueron incubadas por 24 horas a  $37^{\circ} \text{C} \pm 1$  y luego procedió a medir los halos de inhibición formados con un vernier digital y registró las medidas en la ficha de recolección de datos.

## **2.6. Métodos de análisis estadísticos**

Se realizaron las estadísticas descriptivas de los grupos de tratamiento, luego se realizó las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para posteriormente realizar las pruebas de ANOVA y Tukey para determinar diferencia significativa entre los grupos de tratamiento mediante el software estadístico SPSS 26 considerando un alfa de 0.05

## **2.7 Aspectos éticos**

Debido al diseño experimental in vitro se consideró el principio de no maleficencia, mediante el cual nos obligamos a no producir daño al personal participante de la investigación ni al medio ambiente, cuidando en todo momento seguir los protocolos de bioseguridad en el laboratorio.

### III. RESULTADOS

Tabla 1. Estadística descriptiva para cada grupo de tratamientos del Extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” frente a *Staphylococcus aureus*

Diámetro del halo de inhibición	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Extracto Etanólico de Fresa (50%) - St. aureus	30	19,71	0,31	0,06	19,59	19,83	18,80	20,30
Extracto Etanólico de Fresa (75%) - St. aureus	30	20,43	0,33	0,06	20,31	20,55	19,90	21,20
Extracto Etanólico de Fresa (100%) - St. aureus	30	22,44	0,28	0,05	22,33	22,55	21,80	23,00
Total	240	18,98	9,39	0,61	17,78	20,17	6,00	40,80

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 26

La tabla 1 nos muestra las medias, desviación estándar, error estándar, los intervalos para la media con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo de los halos de inhibición obtenidos del efecto inhibitorio del tratamiento con el extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” a las concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus*. Se observa halos de inhibición con medias crecientes a mayores concentraciones del extracto correspondiendo 19.71mm, 20.43mm y 22.44mm para las concentraciones de 50%, 75% y 100% respectivamente.

Tabla 2. Estadística descriptiva para cada grupo de tratamientos del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” frente a *Escherichia coli*

Diámetro del halo de inhibición	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Extracto Etanólico de Fresa (50%) - E. coli	30	12,26	0,34	0,06	12,13	12,39	11,60	12,90
Extracto Etanólico de Fresa (75%) - E. coli	30	14,15	0,30	0,06	14,04	14,27	13,40	15,00
Extracto Etanólico de Fresa (100%) - E. coli	30	16,68	0,31	0,06	16,56	16,80	16,10	17,20
Total	240	18,98	9,39	0,61	17,78	20,17	6,00	40,80

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 26

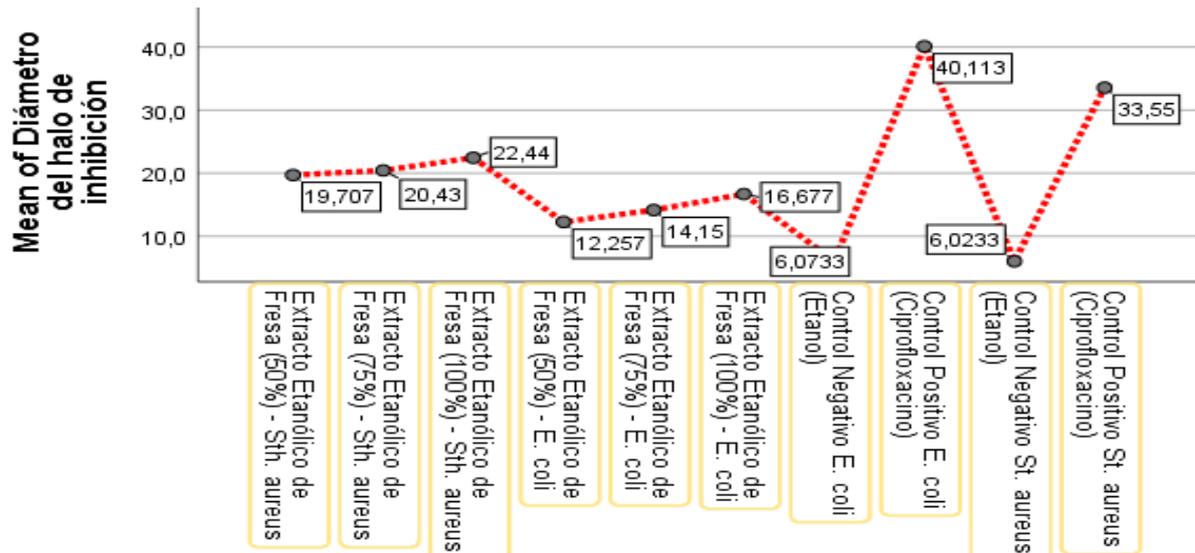
La tabla 2 nos muestra las medias, desviación estándar, error estándar, los intervalos para la media con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo de los halos de inhibición obtenidos del efecto inhibitorio del tratamiento con el extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” a las concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli*. Se observa halos de inhibición con medias crecientes a mayores concentraciones del extracto, pero con diámetros de menor tamaño comparados con el efecto producido sobre *Staphylococcus aureus* observándose medias de 12.26mm, 14.15mm y 16.68mm para las concentraciones de 50%, 75% y 100% respectivamente.

Tabla 3. Estadística descriptiva para los grupos control frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Diámetro del halo de inhibición	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control Negativo - E. coli (Etanol)	30	6,07	0,09	0,02	6,04	6,11	6,00	6,30
Control Positivo - E. coli (Ciprofloxacino)	30	40,11	0,30	0,05	40,00	40,23	39,60	40,80
Control Negativo - St. aureus (etanol)	30	6,02	0,05	0,01	6,01	6,04	6,00	6,20
Control Positivo - St. aureus (Ciprofloxacino)	30	33,55	0,39	0,07	33,41	33,70	32,90	34,40
Total	300	19,14	10,42	0,60	17,96	20,33	6,00	40,80

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 26

La tabla 3 presenta las medias, desviación estándar, error estándar, los intervalos para la media con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo de los halos de inhibición obtenidos por el control negativo (etanol) y control positivo (ciprofloxacino) sobre cultivos en placa de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. El control negativo no muestra diferencia significativa en el promedio de los halos de inhibición obtenidos en ambos cultivos, sin embargo, si se observa una diferencia notoria en el valor promedio de los halos producido por el control positivo (ciprofloxacino) sobre los cultivos en placa de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* con 33.55mm y 40.11mm respectivamente.



Fuente: Programa estadístico SPSS versión 26

Figura 1. Gráfico de Medias de los grupos de datos analizados

La figura 1, muestra el comportamiento del diámetro promedio para cada grupo de datos de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* "fresa" frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones, así como los diámetros promedios de los grupos control positivo y negativo. Se observa diámetros mayores en ambos grupos de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* "fresa" con respecto a los controles negativos, así como un efecto menor de estos comparados con los controles positivos.

Tabla 4. Análisis de la varianza para las variables de estudio

<b>ANOVA</b>					
Diámetro del halo de inhibición	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-valor
Between Groups	19587,767	7	2798,252	26341,124	0,000
Within Groups	24,646	232	0,106		
Total	19612,413	239			

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 26

H<sub>1</sub>: Existe diferencia significativa en al menos una media de los grupos de datos analizados.

Para un p-valor < 0.05

H<sub>0</sub>: No existe diferencia significativa en las medias de los grupos de datos analizados. Para un p-valor > 0.05

La tabla 4 presenta el análisis de la varianza para los grupos de datos analizados presentando un valor p inferior al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ , por lo tanto, se rechaza la H<sub>0</sub> y acepta H<sub>1</sub>: Existe diferencia significativa en al menos una media de los grupos de datos analizados.

Tabla 5. Prueba Tukey para comparaciones múltiples por sub grupos

**Diámetro del halo de inhibición**

Tukey HSD<sup>a</sup>

Tratamientos	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Extracto Etanólico de Fresa (50%) - E. coli	30	12,257							
Extracto Etanólico de Fresa (75%) - E. coli	30		14,150						
Extracto Etanólico de Fresa (100%) - E. coli	30			16,677					
Extracto Etanólico de Fresa (50%) - Sth. aureus	30				19,707				
Extracto Etanólico de Fresa (75%) - Sth. aureus	30					20,430			
Extracto Etanólico de Fresa (100%) - Sth. aureus	30						22,440		
Control Positivo St. aureus (Ciprofloxacino)	30							33,550	
Control Positivo E. coli (Ciprofloxacino)	30								40,113
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.

La tabla 5 presenta el análisis de las comparaciones múltiples por pareja de tratamientos mediante la prueba de Tukey por sub grupos, no existe evidencia significativa de comportamientos similares en los tratamientos a diferentes concentraciones a base de los extractos etanólicos de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones. Se muestra mayor efecto en los tratamientos del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” frente a *Staphylococcus aureus*, pero no se observa la misma efectividad del tratamiento frente a los controles positivos.

Tabla 6. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Sensibilidad antibacteriana	Diámetro del halo de inhibición (mm)			
	Nula	Sensible	Muy sensible	Sumamente sensible
	(-)	(+)	(++)	(+++)
Extracto Etanólico de Fresa (50%) - St. aureus				19.7
Extracto Etanólico de Fresa (75%) - St. aureus				20.43
Extracto Etanólico de Fresa (100%) - St. aureus				22.44
Extracto Etanólico de Fresa (50%) - E. coli		12.26		
Extracto Etanólico de Fresa (75%) - E. coli		14.15		
Extracto Etanólico de Fresa (100%) - E. coli		16.68		
Control Negativo - E. coli (Etanol)	6.07			
Control Positivo - E. coli (Ciprofloxacino)				40.11
Control Negativo - St. aureus (etanol)	6.02			
Control Positivo - St. aureus (Ciprofloxacino)				33.55

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 6 se muestra los diámetros promedios obtenidos de los tratamientos a diferentes concentraciones de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* según la escala de Duraffourd. Se observa que *Staphylococcus aureus* es **sumamente sensible** a los tratamientos de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* “fresa” a las concentraciones del 50%, 75% y 100%, sin embargo, *Escherichia coli* es solo presentó ser **sensible** a los extractos en sus diferentes concentraciones.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión

La fresa es una planta que presenta compuestos fenólicos como antocianinas, ácidos fenólicos y vitamina C a los cuales se les atribuye propiedades antioxidantes y fotoprotectoras<sup>13</sup>. Sin embargo, muchos de estos compuestos también presentan propiedades antibacterianas.

La fragarina es una sustancia con 316 Da aislada de las hojas de *Fragaria x ananassa*, que presenta actividad antibiótica, se ha aislado de hojas de fresa y al parecer se produce en respuesta al estrés<sup>27</sup>. La fragarina es molécula anfipática y demostró ser 10 a 100 veces más activa contra bacterias que contra hongos, no presenta estructura peptídica por lo tanto es resistente a las proteasas y a la hidrólisis alcalina<sup>28</sup>.

En el estudio se determinó la actividad inhibitoria de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* "fresa" frente a *Staphylococcus aureus* se observa en la tabla 1, se observa una zona de inhibición con diámetro promedio de  $19.71 \pm 0.06$ mm para la concentración al 50%,  $20.43 \pm 0.06$ mm para la concentración al 75% y  $22.44 \pm 0.06$ mm para la concentración al 100%, se observa un crecimiento de la zona de inhibición en relación a la concentración del extracto.

Del mismo modo el efecto inhibitorio de los mismos extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* "fresa" pero frente a *Escherichia coli* se puede observar en la tabla 2, se observa una zona de inhibición con diámetro promedio de  $12.26 \pm 0.06$ mm para la concentración al 50%,  $14.15 \pm 0.06$ mm para la concentración al 75% y  $16.68 \pm 0.06$ mm para la concentración al 100%, de la misma manera se observa un crecimiento de la zona de inhibición en relación a la concentración del extracto, pero con zonas de inhibición más pequeñas que las producidas sobre *Staphylococcus aureus*.

Piangka N. et al (2017) realizaron un estudio similar del extracto del fruto de la fresa sobre *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Staphylococcus spp.* y *Pseudomonas spp*, el tamaño de los halos de inhibición producidos en el estudio fue de 12mm para *Escherichia coli* y 17mm para *Staphylococcus spp*, estos resultados al contrastarse con el nuestro muestran ser similares, los halos de inhibición para *Staphylococcus*

*aureus* fue de  $19.71 \pm 0.06\text{mm}$  y para *Escherichia coli* de  $12.26 \pm 0.06\text{mm}$  conforme se observan en las tablas 1 y 2, se nota en ambos estudios un mayor efecto inhibitorio de los extractos etanólicos tanto del fruto como de la hoja sobre *Staphylococcus spp* y *Staphylococcus aureus*.

En los grupos control negativo no se observó crecimiento como era de esperar, se formaron zonas de inhibición con halo promedio de  $6.07 \pm 0.09\text{mm}$  para el *Staphylococcus aureus* y de  $6.02 \pm 0.09\text{mm}$  para *Escherichia coli*, en cuanto a las zonas de inhibición producidas por el control positivo con Ciprofloxacino, se produjeron halos promedio para *Staphylococcus aureus* de  $33.55 \pm 0.07\text{mm}$  y para *Escherichia coli*  $40.11 \pm 0.07\text{mm}$ . Se observa que el ciprofloxacino tiene mayor actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, en cambio el extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. "fresa" tiene mayor actividad sobre *Staphylococcus aureus*.

El comportamiento inhibitorio de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. "fresa" a diferentes concentraciones sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, así como de los grupos control, negativo y positivo se puede apreciar en la figura 1. Se nota un comportamiento creciente dependiente de la concentración del extracto por encima de halos de inhibición de 10.0 mm y debajo de 25mm, sin embargo, existe una diferencia notoria del efecto del ciprofloxacino. Los grupos control se mantuvieron sobre la base de 6mm de diámetro.

Se determinó la existencia de diferencia significativa entre los efectos de los grupos de tratamientos a base de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, para lo cual se determinaron pruebas previas al análisis como la prueba de normalidad y de homogeneidad de varianzas (anexo F y G).

En la tabla 4 se observa el análisis de la prueba de análisis de varianza (ANOVA) realizada mediante el software estadístico SPSS versión 26, esta prueba compara las medias de los grupos de datos obtenidos en los tratamientos de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. "fresa" sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, dicha prueba encontró un p-valor menor al nivel de significancia alfa de 0.05 establecida para el estudio, por lo tanto, existe diferencia significativa en al menos uno de los grupos analizados.

En la tabla 5 se realiza un análisis por grupos emparejados mediante la prueba de Tukey para comparaciones múltiples por sub grupos, para determinar cuál de los grupos estudiados presentan diferencias significativas en sus medias, la prueba nos demuestra que todos los grupos analizados son diferentes, existiendo actividad antibacteriana creciente en los extractos con diferencia significativa entre ellos, no se logró determinar un efecto similar del extracto de fresa con el control positivo empleado en el estudio sobre ambas bacterias.

En la tabla 6 se *muestra* la sensibilidad bacteriana obtenida por los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* según la escala de Duraffourd, esta clasifica a *Staphylococcus aureus* como una bacteria sumamente sensible a los extractos etanólicos de fresa en todas sus concentraciones y a *Escherichia coli* como sensible de igual manera a todos los extractos.

Varios estudios reconocen el efecto antimicrobiano de la fresa, como el estudio realizado por Rodriguez J. (2019) evaluó el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch. sobre *Microsporum gypseum* empleando concentraciones de al 5%, 25%, 50% y 75% de las que obtuvo halos de inhibición promedio de 11.2mm, 18.2mm, 22.5mm y 28.1mm respectivamente, el control empleado fue fluconazol con un halo de inhibición de 14.7mm. El estudio empleó el fruto de la fresa con etanol al 96%, esto difiere de nuestro estudio en la parte de la planta tomada para la extracción de los principios, ya que se empleó la hoja, el estudio demostró un poder antimicótico superior al control empleado, lo que difiere del nuestro ya que el efecto antibacteriano fue menor al control positivo. Las diferencias pueden deberse a componentes presentes en el fruto en mayor cantidad o afinidad por los hongos que las bacterias.

Por otro lado, Moya T. y Osorio R. (2017) evaluó la actividad fotoprotectora del extracto hidroalcohólico del fruto de esta planta, determinando su poder antioxidante por el método de DPPH, así mismo, encontró la presencia de taninos, antocianinas, compuestos fenólico, flavonoides, entre otros, estos componentes por tener características polares son fácilmente extraídos por soluciones hidroalcohólicas, el poder para captar los electrones del extracto puede también desestabilizar la membrana de las bacterias e influir sobre su actividad antibacteriana.

Un estudio similar del extracto etanolico de *Fragaria vesca* L “fresa” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a diferentes concentraciones lo realizó Barreto M. (2017), encontró diámetro de halo de inhibición de 6.7mm, 7.3mm y 10.5mm para las concentraciones de 25%, 50% y 75% respectivamente, los diámetros encontrados difieren en tamaño a los nuestros, pero al igual que nuestro estudio, este demuestra también la actividad antibacteriana que presenta la fresa.

Similar estudio al anterior empleando también el fruto de la fresa lo realizó Caicedo M. (2019) sobre *Streptococcus mutans* donde obtuvo resultados similares que el estudio anterior lo que confirma la efectividad antibacteriana que presenta esta planta, estos resultados se corroboran con nuestros resultados.

El poder antimicrobiano de la fresa según Cardenas J. (2016) se debe a las antocianinas presentes quien demostró que estas presentan actividad antimicrobiana sobre *Salmonella choleraesuis*, *Shigella flexneri* y *E. coli*, sin embargo, no son los únicos componentes que poseen actividad antimicrobiana como los flavonoides y compuestos fenólicos.

## 4.2 Conclusiones

- Se obtuvo diámetros de halos de inhibición de  $19.71 \pm 0.06$ mm para la concentración al 50%,  $20.43 \pm 0.06$ mm para la concentración al 75% y  $22.44 \pm 0.06$ mm para la concentración al 100% de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch* sobre *Staphylococcus aureus*, demostrándose la actividad antibacteriana de todos los extractos para esta bacteria.
- Se obtuvo diámetros de halos de inhibición de  $12.26 \pm 0.06$ mm para la concentración al 50%,  $14.15 \pm 0.06$ mm para la concentración al 75% y  $16.68 \pm 0.06$ mm para la concentración al 100% de los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch* sobre *Escherichia coli*, demostrándose la actividad antibacteriana de todos los extractos para esta bacteria.
- Los extractos etanólicos de las hojas de *Fragaria x ananassa Duch* tienen menor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

### **4.3. Recomendaciones**

- Es necesario emplear técnicas de separación de los componentes de *Fragaria x ananassa Duch* “fresa” con diferentes solventes para poder determinar los componentes que producen el efecto antibacteriano de la planta.
- Existe un potencial medicinal para combatir las bacterias y hongos, como lo demuestra el presente estudio, en ese sentido, se recomienda profundizar con estudios aplicativos que faciliten el uso terapéutico de esta planta.
- Se recomienda en futuras investigaciones determinar el efecto antibacteriano sinérgico de esta planta con otras u medicamentos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rocha C, Reynolds ND, Simons MP. Resistencia emergente a los antibióticos: Una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. Acta Medica Peruana. 2015;139-45.
2. OMS. Resistencia a los antibióticos [Internet]. [citado 28 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>
3. OMS | Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. WHO. 2018;
4. OPS/OMS Perú - Los alimentos insalubres causan más de 200 enfermedades [Internet]. [citado 29 de enero de 2020]. Disponible en: [https://www.paho.org/per/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2924:los-alimentos-insalubres-causan-mas-200-enfermedades&Itemid=900](https://www.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=2924:los-alimentos-insalubres-causan-mas-200-enfermedades&Itemid=900)
5. OPS. Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes region de las americas. Eer Not Sem [Internet]. 2007;19(9):443-5. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0212-71992002000900001&script=sci\\_arttext](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0212-71992002000900001&script=sci_arttext)
6. Miranda J, Pinto J, Faustino M, Sánchez-Jacinto B, Ramirez F. Resistencia antimicrobiana de uropatógenos en adultos mayores de una clínica privada de Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 22 de marzo de 2019 [citado 29 de enero de 2020];36(1):87. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3765>
7. Frecuencia y características epidemiológicas de las bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en la unidad de cuidados intensivos de un hospital del norte del Perú | Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque [Internet]. [citado 29 de enero de 2020]. Disponible en: <http://www.rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/341>
8. Aguilar Gamboa FR, Niño Valiente J, Moreno Mantilla M. Portadores nasofaríngeos de Staphylococcus aureus y Streptococcus pneumoniae en personal de salud del hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque. Rev

- Exp en Med. 2015;1(2):46-50.
9. Domini AK. Mejora Genética de la fresa ( *Fragaria ananassa* Duch .), a través de metodos biotecnológicos. *Cultiv Trop*. 2012;33(3):34-41.
  10. Carmona RA. Fresa «*Fragaria ananassa*». Bayer CropScience. 2015;48.
  11. De O, De T, De R. Universidad Complutense de Madrid. [citado 24 de enero de 2020]; Disponible en: <http://www.ucm.es/otri-1>
  12. Olivera Soto J. Cultivo de Fresa. 2012;1-54.
  13. Benjamín Alberto Rojano III C. Capacidad antioxidante de dos variedades de *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne (fresa) sometidas a variaciones en la nutrición vegetal. *Rev Cuba Plantas Med [Internet]*. 2012 [citado 25 de enero de 2020];17(1):37-53. Disponible en: <http://scielo.sld.cu>
  14. Álvarez I. y Ponce J. *Staphylococcus aureus*, evolución de un viejo patógeno [Internet]. *REVISTA CUBANA DE PEDIATRIA*. 2012 [citado 25 de enero de 2020]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75312012000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312012000400007)
  15. Reyes S. *Escherichia coli*, Universidad Veracruzana. 2011;14. Disponible en: <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/Escherichia-coli-I.pdf>
  16. MINISTERIO DE SALUD DE BOGOTA. Documentos de Evaluacion de Riesgos en Inocuidad de Alimentos. Bogota - Colombia; 2015.
  17. Rodríguez J. EFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Fragaria ananassa* «fresa» SOBRE *Microsporum gypseum*. Universidad Privada Antenor Orrego; 2019.
  18. Moya T. y Osorio R. Actividad fotoprotectora de formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (fresa) [Internet]. 2017. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6878/Moya\\_ct.pdf?sequence=2&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6878/Moya_ct.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
  19. Barreto Geldres MO. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de

- fragaria vesca l. sobre streptococcus mutans atcc 25175. Univ Nac Trujillo [Internet]. 2017; Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7526>
20. M C. Efecto antibacteriano del extracto etanolico de la fresa (Fragaria vesca L.) al 50, 75% Y 100% sobre el Streptococcus mutans, estudio in vitro [Internet]. 2019. [citado 10 de enero de 2020]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19016>
  21. Piangka N, Ahmed T, Acharjee M. Microbiological analysis for drug resistant pathogenic microorganisms with determination of the antibacterial properties found in Fragaria x ananassa (strawberry) samples. Stamford J Microbiol. 2017;6(1):16-9.
  22. J. C. "EFECTO ANTIBACTERIANO DE ANTOCIANINAS DE FRESA (Fragaria ananassa Duch) SOBRE BACTERIAS PATOGENAS DE HUMANOS. Instituto Politécnico Nacional; 2016.
  23. Hernández Sampieri R. Metodología de la Investigación. 6ta edició. México,D.F.: Mc Graw Hill; 2014.
  24. Grove S, Gray J. Investigación en Enfermería: Desarrollo de la práctica enfermera basada en evidencia. 7ma ed. Barcelona - España: Elsevier; 2019. 487 p.
  25. Gilman, Goodman. Terapéutica, Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 12ed ed. Laurence L B, editor. Laurence Brunton. México: McGraw-Hill/Interamericana; 2014.
  26. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalizacion de la Técnica de Kirby-Bauer. Biomedica. 2018;35(1):103-9.
  27. Medina Puche L. Functional characterization of strawberry ( Fragaria x ananassa ) ripening-related genes identified throughout a custom-made oligo-based microarray platform. 2015;
  28. Rosenberg Y. Las tesinas de Belgrado. Universidad de Belgrado; 2014.

# **ANEXOS**

## Anexo A. Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Extracto etanólico de las hojas de <i>Fragaria x ananassa Duch.</i> "fresa"	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	100%	Porcentaje
				75%	
				50%	
	Solubilidad	Cualitativo	Nominal	Poco soluble	+
				Soluble	++
				Muy soluble	+++
	Marcha fitoquímica	Cualitativo	Nominal	Presencia	+
Ausencia				-	
VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Actividad antibacteriana	Halo de inhibición	Cuantitativo	Ordinal	Nula Sensible Medio Muy sensible	≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm

## Anexo B. Instrumento y recolección de datos

Placa	Diámetro del halo de inhibición (mm) <i>Sthaphylococcus aureus</i>					Diámetro del halo de inhibición (mm) <i>Escherichia coli</i>				
	Control Negativo	Control Positivo	50%	75%	100%	Control negativo	Control positivo	50%	75%	100%
1	6,0	33,5	19,6	20,2	22,4	6,0	40,1	12,1	14,3	16,5
2	6,0	33,2	19,8	20,8	22,3	6,0	40,8	12,4	14,2	16,6
3	6,0	33,3	20,1	20,3	22,3	6,2	39,6	12,1	13,8	16,9
4	6,0	33,3	19,5	19,9	22,1	6,0	40,4	12,0	14,0	17,1
5	6,0	33,7	19,7	20,1	22,5	6,0	40,2	11,9	14,1	16,9
6	6,1	34,0	19,9	20,3	22,4	6,1	40,3	12,9	14,2	16,1
7	6,0	33,2	19,6	20,1	22,7	6,1	39,6	11,7	13,7	16,2
8	6,0	33,6	20,1	20,7	22,4	6,0	39,9	12,8	14,1	16,7
9	6,2	34,4	18,8	20,5	22,3	6,2	39,9	12,0	14,4	16,9
10	6,0	32,9	19,6	20,0	22,6	6,2	40,3	12,8	14,1	17,0
11	6,0	33,3	20,0	19,9	22,7	6,0	40,1	12,5	14,3	16,9
12	6,1	33,7	19,8	21,0	22,5	6,1	40,7	12,0	14,2	16,4
13	6,0	33,1	19,7	20,7	22,6	6,0	40,2	12,5	14,3	16,7
14	6,0	33,5	20,3	20,4	22,2	6,0	40,1	12,5	14,3	16,6
15	6,1	33,5	19,6	20,4	22,5	6,1	39,8	11,8	13,9	16,5
16	6,0	34,4	19,7	20,5	22,0	6,3	40,1	12,6	14,1	17,1
17	6,0	33,3	19,5	20,4	22,2	6,0	40,2	12,2	13,9	16,7
18	6,0	33,5	19,9	20,4	22,8	6,0	40,4	12,4	14,0	16,4
19	6,1	33,8	19,9	20,5	22,4	6,1	40,0	12,3	14,2	16,3
20	6,0	33,8	19,6	20,4	22,4	6,3	40,1	12,3	14,2	16,5
21	6,0	33,9	19,2	20,4	22,9	6,0	40,0	12,3	15,0	16,6
22	6,0	33,3	20,0	20,2	22,7	6,0	40,7	12,3	13,8	17,2
23	6,0	33,3	19,7	20,6	21,8	6,0	40,0	12,5	14,4	17,1
24	6,0	32,9	20,0	20,6	22,5	6,1	40,1	12,5	13,8	16,5
25	6,1	33,6	19,7	20,0	23,0	6,1	39,9	12,5	14,7	16,4
26	6,0	34,2	19,2	21,2	22,3	6,0	40,1	12,4	14,3	17,2
27	6,0	33,9	19,8	20,3	21,9	6,2	39,9	11,7	14,4	16,2
28	6,0	33,7	20,1	21,2	22,7	6,0	40,4	11,6	14,4	17,0
29	6,0	33,1	19,3	20,4	22,8	6,0	39,7	12,4	13,4	16,3
30	6,0	33,6	19,5	20,5	22,3	6,1	39,8	11,7	14,0	16,8

**Anexo C. *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa”**



## Anexo D. Identificación Taxonómica de *Fragaria x ananassa* Duch. “Fresa”

“Año de la Universalización de la Salud”

---

### CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La Bióloga Rocio del Pilar Sarmiento Castro con colegiatura del Colegio de Biólogos del Perú Nro. 6315 deja constancia que:

La muestra botánica recibida de los bachilleres **Ana Karen Rivera Tineo** y **Natividad Vides Sanchez**, quienes realizan una investigación en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora – San Juan de Lurigancho; ha sido estudiada e identificada como: *Fragaria x ananassa* Duch (**Fresa**) y tiene la siguiente posición taxonómica según el sistema de clasificación APG III (Angiosperm Phylogeny Group).

Clase: Equisetopsida  
Orden: Rosales Bercht. & J. Presl  
Familia: Rosaceae Juss  
Género: *Fragaria* L.  
Especie: *Fragaria x ananassa* Duch

Nombre vulgar: “Fresa”

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que considere pertinente.

Lambayeque, 20 de octubre del 2020

  
  
Bilga. Rocio Sarmiento Castro  
C.B.P. 6315

## Anexo E. Certificado de análisis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-407** Reference Number: ATCC® 25923™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Keshia L Negen Release Date: 2018/9/11
--	---

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic <b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	<b>Medium:</b> SBAP  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b> See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



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

## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

### Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*  
 Sample Description: 0360  
 Sample ID: 360-407  
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++)(A)	360-407	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.34

Comments:

N/A

Anexo F. Certificado de análisis de *Escherichia coli* ATCC 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>                  Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i>                  Catalog Number: 0335                  Lot Number: 335-506**                  Reference Number: ATCC® 25922™*                  Purity: Pure                  Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2023/3/31                  Release Information:                  Quality Control Technologist: Mary L. Bowman                  Release Date: 2020/4/8</p>
--	---

<b>Performance</b>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                  2 colony types, both are gray &amp; beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge &amp; smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge &amp; rough</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                  Gram negative straight rod</p>	<p><b>Medium:</b>                  SBAP</p> <p><b>Method:</b>                  Gram Stain (1)</p>

<p><b>ID System: MALDI-TOF (1)</b>                  See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>                  (1) Oxidase (Kovacs): negative                  Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive                  (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm                  (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm                  (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <div style="text-align: right;">                       Amanda Kuperus                      Quality Control Manager                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>
--	--

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitale®: Although the Vitale® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazarduality information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologica, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

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



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

## Anexo G. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov corregida por Lilliefors para cada grupo de datos

	Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
		Statistic	df	p-valor.
Diámetro del halo de inhibición	Extracto Etanólico de Fresa (50%) - Sth. aureus	0,14	30,00	0,17
	Extracto Etanólico de Fresa (75%) - Sth. aureus	0,15	30,00	0,09
	Extracto Etanólico de Fresa (100%) - Sth. aureus	0,11	30,00	0,20*
	Extracto Etanólico de Fresa (50%) - E. coli	0,15	30,00	0,09
	Extracto Etanólico de Fresa (75%) - E. coli	0,14	30,00	0,13
	Extracto Etanólico de Fresa (100%) - E. coli	0,13	30,00	0,20*
	Control Negativo E. coli (Etanol)	0,32	30,00	0,00
	Control Positivo E. coli (Ciprofloxacino)	0,15	30,00	0,08
	Control Negativo St. aureus (Ciprofloxacino)	0,48	30,00	0,00
	Control Positivo St. aureus (Ciprofloxacino)	0,14	30,00	0,14

\*. This is a lower bound of the true significance.\*

a. Lilliefors Significance Correction<sup>a</sup>

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 26

H<sub>1</sub>: El grupo de datos no presenta una distribución normal. Para un p-valor < 0.05

H<sub>0</sub>: El grupo de datos presenta una distribución normal. Para un p-valor > 0.05

La tabla presenta el análisis de la prueba de Kolmogorov-Smirnov corregida por Lilliefors para la determinación de la distribución normal de cada grupo de datos, donde se plantea las siguientes hipótesis. Por lo tanto, dado que todos los grupos de datos presentan un p-valor > 0.05 excepto, los grupos control negativo para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* podemos asegurar con un nivel de confianza del 95% que los datos analizados poseen una distribución normal.

## Anexo H. Prueba de homogeneidad de varianzas para los grupos de datos

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene			p-
		Statistic	df1	df2	valor
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	0,767	7	232	0,616
	Based on Median	0,685	7	232	0,685
	Based on Median and with adjusted df	0,685	7	221,271	0,685
	Based on trimmed mean	0,760	7	232	0,622

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 26

H<sub>1</sub>: Los datos analizados no presentan varianzas homogéneas. Para un p-valor < 0.05

H<sub>0</sub>: Los datos analizados presentan varianzas homogéneas. Para un p-valor > 0.05

Se observa la prueba estadística de Levene o de homogeneidad de varianzas para los grupos de datos que cumplen la distribución normal, se observa un p-valor basado en la media de 0.616 el cual es superior al  $\alpha = 0.05$ , por lo tanto, se rechaza la H<sub>1</sub> y acepta la H<sub>0</sub>: Los datos analizados presentan varianzas homogéneas.

## Anexo I. Escala de Duraffourd

Sensibilidad antibacteriana	Diámetro del halo e inhibición			
	-	+	++	+++
Nula	$\leq 8$ mm			
Sensible	9–14 mm			
Muy sensible	15-19 mm			
Sumamente sensible	$\geq 20$ mm			

Elaborada por el investigador

## Anexo J. Evidencia de trabajo de campo



Figura 2. Recolección de la muestra de *Fragaria x ananassa* Duch. "fresa"



Figura 3. Preparación de la muestra:

a) Separación de muestra que cumple los criterios de inclusión y exclusión. b) Lavado de la muestra c) y d) Secado a corriente de aire



*Figura 4. Secado de muestra vegetal en estufa*



*Figura 5. Triturado de la muestra vegetal*



*Figura 6. Pulverizado de la muestra*



Figura 7. Tamizaje de la muestra



Figura 8. Preparación del macerado



Figura. 9. Evaporación del solvente en Baño maría



Figura 10. Filtrado del macerado

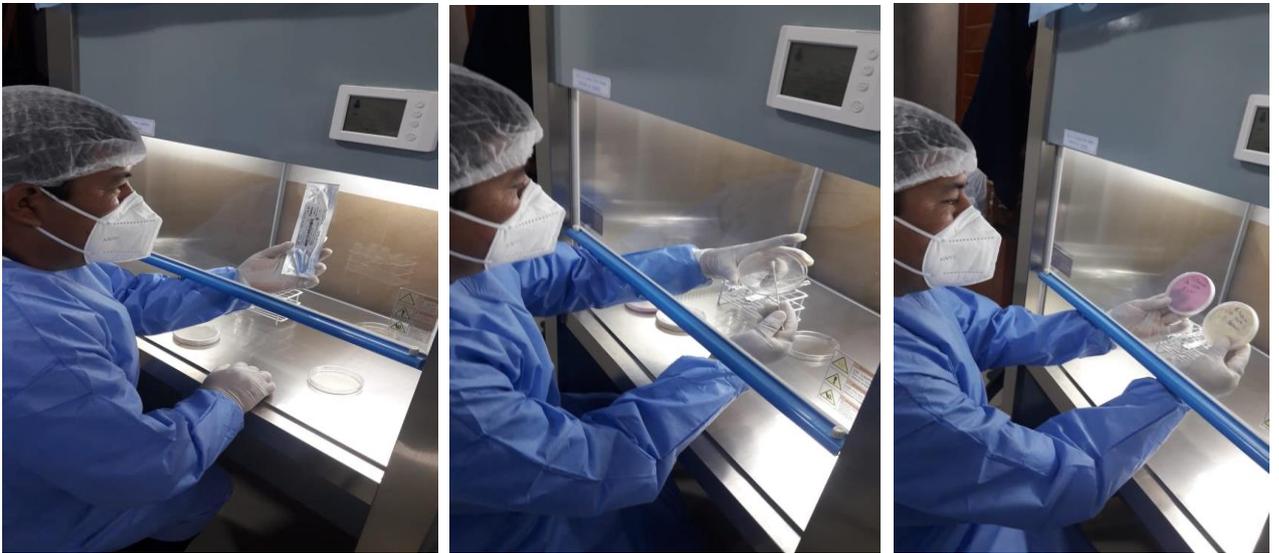


Figura 11. Activación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y preparación del inóculo.



Figura 12. Activación de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 y preparación del inóculo



Figura 13. Preparación de pozos en agar

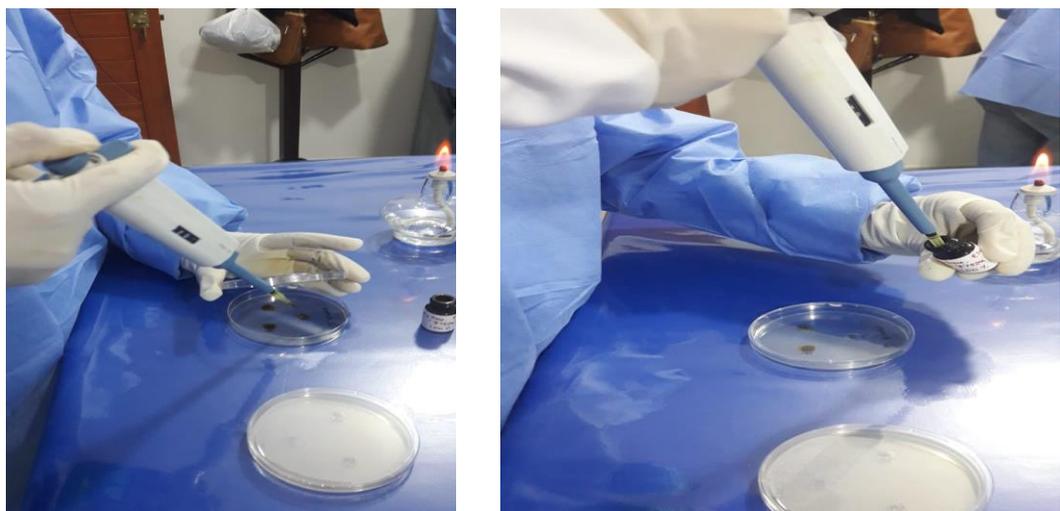


Figura 14. Aplicación de los extractos y controles



Figura 15. Incubación de placas y crecimiento de halo de inhibición



Figura 16. Lectura de halos de inhibición