



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA *In vitro* DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE HOJAS DE *FRAGARIA X ANANASSA*  
DUCH. "FRESA" FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC  
25923 Y *Candida albicans* ATCC 10231

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. MINAYA DELGADO, JUDITH ELENA

<https://orcid.org/0000-0003-0010-5737>

Bach. LLONTOP DELGADO, MIRIAM RUTH

<https://orcid.org/0000-0002-6527-3996>

ASESOR

Mg. FLORES LÓPEZ, OSCAR BERNUY

<https://orcid.org/0000-0001-9091-2537>

LIMA – PERÚ

2022

## DEDICATORIA

En especial a Dios, con todo mi amor, por su bendición, guía y bondad.

A mis amados padres, por ser la base de amor, fe y perseverancia.

A mi hermana Johana, por darme su amor y apoyo. Y ser el pilar importante en mi formación profesional.

A mi esposo e hijos, por su amor constante y apoyo en este camino profesional, porque ellos son la motivación de mi vida.

*Miriam Ruth Llontop Delgado*

Mi tesis la dedicó con cariño y todo mi amor a mis seres queridos, quiénes han sido mis pilares para seguir adelante con mis proyectos y nunca rendirme y llegar a ser un ejemplo para ellos, en especial para mis hijos por haber depositado su confianza en mi persona

A mi hermano, que me ilumina desde el cielo para seguir superándome cada día.

*Judith Elena Minaya Delgado*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por ser nuestro ayudador en todo tiempo.

A nuestros formadores, personas de gran sabiduría, quienes se han esforzado por apoyarnos en nuestra formación profesional.

Y a todas las personas que nos apoyaron en la realización de esta tesis.

*Los autores*

## ÍNDICE GENERAL

	Páginas
ÍNDICE GENERAL	iv
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
II. MATERIALES Y MÉTODOS	14
<b>2.1 Enfoque y diseño de investigación</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Población, muestra y muestreo</b>	<b>14</b>
<b>2.3 Variables de investigación<sup>21</sup></b>	<b>15</b>
<b>2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos</b>	<b>15</b>
<b>2.5 Plan de recolección de datos</b>	<b>15</b>
<b>2.6. Métodos de análisis estadísticos</b>	<b>17</b>
<b>2.7 Aspectos éticos</b>	<b>18</b>
III. RESULTADOS	19
IV. DISCUSIÓN	27
<b>4.1. Discusión</b>	<b>27</b>
<b>4.2. Conclusiones</b>	<b>30</b>
<b>5.3. Recomendaciones</b>	<b>31</b>
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Metabolitos secundarios con actividad microbiológica presentes en el extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa"	21
Tabla 2. Análisis estadístico de los datos recolectados por grupos	22
Tabla 3. Determinación de la distribución normal	24
Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	25
Tabla 5. Análisis de la varianza (ANOVA)	26
Tabla 6. Análisis comparativo por subgrupos mediante la prueba de Tukey	27
Tabla 7. Evaluación de la Sensibilidad microbiana	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de medias de la actividad microbiológica del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch. "Fresa" frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	23
Figura 2. Recolección de la muestra vegetal	48
Figura 3. Evaluación de los criterios de inclusión y exclusión para obtener la mejor muestra	49
Figura 4. Lavado y desinfección de la muestra vegetal	49
Figura 5. Secado en estufa	50
Figura 6. Pulverizado de la muestra	51
Figura 7. Proceso de maceración en frío	51
Figura 8. Proceso de filtrado luego de 10 días de maceración	51
Figura 9. Obtención del extracto seco	52
Figura 10. Preparación de los extractos	53
Figura 11. Activación de las cepas microbiológicas	54
Figura 12. Preparación del inóculo – 0.5 McFarland	55
Figura 13. Sembrado en placa	55
Figura 14. Aplicación de los extractos en placa petri.	56
Figura 15. Halos de inhibición identificados	57
Figura: 16. Medición de los halos de inhibición	58

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Instrumentos de recolección de datos	39
Anexo B. Matriz de consistencia	40
Anexo C. Operacionalización de las variables	42
Anexo D. Identificación botánica de la muestra vegetal	43
Anexo E. Certificado de análisis de las cepas microbiológicas	44
Anexo F. Evidencias de la investigación	48

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la actividad microbiológica in vitro del extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231

**Material y métodos:** El enfoque de la investigación correspondió al cuantitativo, de nivel explicativo con diseño experimental, de tipo transversal, prospectivo, la población de estudio estuvo conformada por la especie vegetal *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” de la cual se consideró una muestra de 2 kilogramos de hojas, la técnica de estudio para la obtención del extracto etanólico fue la maceración en frío y para la determinación de la actividad microbiológica se empleó la técnica de difusión en pozo, con 15 repeticiones para cada grupo.

**Resultados:** Los valores promedio del tamaño de los halos de inhibición encontrados fueron para el extracto etanólico de hojas de fresa contra *Staphylococcus aureus* al 50% de 26.53mm DS: 0.38; al 75% de 30.83mm DS: 0.24; al 100% de 33.49mm DS: 0.31; el control positivo (ciprofloxacino) fue de 33.62 DS: 0.23; los extractos etanólicos de fresa frente a *Candida albicans* al 50% fue de 30.68mm DS: 0.40; al 75% fue de 32.73mm DS: 0.29 al 100% fue de 36.11mm DS: 0.33, el grupo control positivo (nistatina) tuvo halo de inhibición promedio de 34.15mm DS: 0.33 y el grupo control negativo (etanol) para ambos grupos fue de 6.32mm DS: 0.23.

**Conclusión:** Se determinó que el extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” presenta actividad microbiológica in vitro del frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231, siendo estos microorganismos altamente sensibles al extracto.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Fragaria x ananassa*, extracto etanólico, actividad microbiológica

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the in vitro microbiological activity of the ethanolic extract from leaves of *Fragaria x ananassa* Duch "Strawberry" against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Candida albicans* ATCC 10231.

**Material and methods:** The research approach corresponded to the quantitative, explanatory level with experimental design, cross-sectional, prospective, the study population was made up of the plant species *Fragaria x ananassa* Duch "Strawberry" of which a sample was considered. of 2 kilograms of leaves, the study technique for obtaining the ethanolic extract was cold maceration and for the determination of the microbiological activity the well diffusion technique was used, with 15 repetitions for each group.

**Results:** The average values of the size of the inhibition halos found were for the ethanolic extract of strawberry against *Staphylococcus aureus* at 50% of 26.53mm SD: 0.38; at 75% of 30.83mm SD: 0.24; at 100% of 33.49mm SD: 0.31; the positive control (ciprofloxacin) was 33.62 SD: 0.23; the ethanolic extracts of strawberry against *Candida albicans* at 50% was 30.68mm SD: 0.40; at 75% it was 32.73mm SD: 0.29 at 100% it was 36.11mm SD: 0.33, the positive control group (nystatin) had an average inhibition halo of 34.15mm SD: 0.33 and the negative control group (ethanol) for both groups it was 6.32mm DS: 0.23.

**Conclusion:** It was determined that the ethanolic extract from leaves of *Fragaria x ananassa* Duch "Strawberry" presents in vitro microbiological activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Candida albicans* ATCC 10231, being these microorganisms highly sensitive to the extract.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones microbianas siguen siendo de gran relevancia a nivel mundial debido a los grandes retos sobre morbilidad y mortalidad.<sup>1</sup> *Staphylococcus aureus* es una bacteria que infecta la piel, tejidos blandos y también enfermedades transmitidas por alimentos, su mecanismo de patogenicidad se debe a sus factores de virulencia como los polisacáridos capsulares, formación de biopelículas y unión a proteínas; en Europa *S. aureus* es el segundo agente causante de bacteriemia en nosocomios y en América la primera causa.<sup>2</sup> Por otro lado, *Candida albicans* es una levadura que también produce infecciones desde superficiales no graves hasta sistémicas que ponen en riesgo la vida del paciente. A nivel mundial más del 70% de los casos de candidiasis son originados por *C. albicans*.<sup>3</sup>

Por su parte, la Organización Mundial de la Salud indicó en el 2017 que el 64% de pacientes con infecciones por *Staphylococcus aureus* metilinoresistente tenían probabilidades de fallecer y con respecto a *Candida albicans* señaló que las infecciones fúngicas están produciendo resistencia a los fármacos (Fluconazol y Anfotericina B), con cifras que cada vez van en aumento haciendo más difícil el tratamiento terapéutico, alargando las estadías hospitalarias y generando opciones para su tratamiento mucho más caras.<sup>4</sup>

En nuestro país, en el Hospital Nacional Cayetano Heredia de Lima a través de un estudio realizado en el 2017, se demostró la frecuencia de aislamientos de *Staphylococcus aureus* metilinoresistente (MRSA) es bajo, sin embargo, se halló que la tasa más alta de resistencia fue del 22.2% para la Eritromicina, 17.2% Gentamicina y 11.1% para Clindamicina.<sup>5</sup> Asimismo, en la Ciudad de Arequipa en un Hospital se analizaron 71 hemocultivos de pacientes, donde el 33% le corresponde para la especie de *Candida albicans*, siendo las áreas más afectadas la UCI, medicina interna y pediatría.<sup>6</sup>

En ese sentido, las infecciones por *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* generan una problemática no solo a nivel mundial sino también de manera local, es

por ello, que se recurre a plantas con propiedades terapéuticas, como *Fragaria x ananassa* Duch. "Fresa" cuyos estudios han demostrado una variedad de propiedades medicinales ante infecciones por microorganismos patógenos.

*Fragaria x ananassa* Duch "Fresa" es una de las plantas más reconocidas y populares en el mundo por su sabor único de su fruto; pertenece a la familia Rosaceae, es herbácea de 15 a 45cm de largo, sus hojas son de color verde intenso, su fruto es un poliaquenio de color rojo y tamaño variado; la fresa como fruto forma parte de la dieta alimentaria por su alto contenido de vitamina C, compuestos fenólicos y antioxidantes. Las antocianinas en los frutos maduros de la fresa son el componente más importante y responsable de color rojo.<sup>7</sup> La planta de la fresa presenta propiedades medicinales como antiinflamatorio, anticancerígeno, astringente, laxante, hepatoregulador, hipotensor, diurético, antigotoso.<sup>8</sup>

Con respecto a *Staphylococcus aureus* es una bacteria patógena de forma esférica Gram-positiva, vista en microscopio se observa agrupada en forma de racimos de uvas, además forma colonias color amarillo, es causante de muchas infecciones a nivel comunitario como hospitalario, su virulencia es muy versátil pudiendo cambiar desde una infección no grave hasta una bacteriemia, endocarditis o meningitis.<sup>9</sup>

*Candida albicans*, es un hongo que según las condiciones del medio que habita puede presentarse en forma de levadura y vivir en simbiosis con su huésped o en forma de hifa que se convierte en parásito para el huésped procediéndole una serie de sintomatología; es causante de infecciones en la piel, mucosas, uñas y se disemina la enfermedad en pacientes inmunodeprimidos.<sup>10,11</sup>

A nivel internacional contamos con los estudios de Cairone F. et al (2021) publicaron su estudio con el objetivo de "evaluar la inhibición enzimática y actividad anti *Candida* de *Fragaria x ananassa*", según los resultados las enzimas relacionadas a la aparición de la diabetes y enfermedades neurodegenerativas fueron inhibidas por *Fragaria x ananassa*, además, presentó un efecto antifúngico contra *Candida albicans*.<sup>12</sup>

Por su parte, Cárdenas J. et al (2018) con el objetivo de "evaluar la actividad

antimicrobiana de los extractos de la fruta de *Fragaria x ananassa* contra bacterias enteropatógenas humanas”. Según el resultado se observó que los extractos de *Fragaria x ananassa* inhibió significativamente a *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* y *S. choleraesuis*.<sup>13</sup>

También, Cárdenas J. et al (2018) en su artículo definieron como objetivo “evaluar el efecto de los extractos antociánicos de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) variedad Jacona sobre el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* asociados a la mastitis bovina”. De acuerdo con resultados los extractos antociánicos lograron inhibir el crecimiento de la cepa de *S. aureus* ATCC 27543 hasta 54%, demostrando el potencial antimicrobiano de extractos antociánicos de fresa contra *S. aureus* asociada a la mastitis bovina.<sup>14</sup>

A nivel nacional podemos citar el estudio de Rivera A. y Vides N. (2021) quienes tuvieron por objetivo “demostrar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” sobre *Staphylococcus aureus* y *E. coli*”. Los resultados indicaron que los extractos etanólicos de fresa obtuvieron halos de inhibición para las concentraciones de 50%, 75% y 100% de 19.71mm + 0.06, 20.43mm + 0.06 y 22.44mm + 0.06 para *Staphylococcus aureus* y de 12.26mm + 0.06, 14.15mm + 0.06 y 16.68mm + 0.06 para *E. coli* respectivamente, ciprofloxacino produjo halos de inhibición de 33.55mm + 0.07mm para *Staphylococcus aureus* y 12.26mm + 0.06 para *E. coli*.<sup>15</sup>

De la misma manera, Rodríguez J. (2019) en su tesis tuvo como objetivo “evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Fragaria ananassa* (“fresa”) sobre *Microsporium gypseum*”, los resultados indicaron que el extracto al 75% tuvo mayor efecto antifúngico sobre *Microsporium gypseum* con un halo de inhibición de 28,1mm a diferencia de la concentración al 5% con un halo de inhibición de 11,2mm; se encontró diferencia entre el fluconazol (14,7 mm) y la concentración al 75% del extracto etanólico de *F. ananassa* (28,1 mm).<sup>16</sup>

Barreto M. (2017) en su tesis estableció como objetivo “determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Fragaria vesca* L. sobre *Streptococcus*

*mutans* ATCC 25175". En los resultados se determinó la concentración mínima inhibitoria que fue la del 25% y la concentración al 75% del extracto etanólico de *Fragaria vesca* mostró un halo de inhibición de 10.25mm.<sup>17</sup>

Por otro lado, Moya T. (2017) mediante su investigación sobre la actividad fotoprotectora de una formulación a base del extracto hidroalcoholico de *Fragaria vesca* L. de cual realizó una marcha fitoquímica donde obtuvo que los metabolitos presentes en el extracto de la planta son carbohidratos, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, flavonoides, triterpenos y esteroides, quinonas, alcaloides y sanopinas<sup>18</sup>.

Por lo tanto, se formula el objetivo de Determinar la actividad microbiológica in vitro del extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch "Fresa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231.

Así mismo, se formula la hipótesis del estudio: El extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duch "Fresa" tiene actividad microbiológica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231 in vitro, del mismo modo.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de investigación

La presente investigación se basa en un enfoque cuantitativo, donde a través de la observación del desarrollo del proyecto recolectará datos y los analizará estadísticamente para responder las preguntas de la investigación.<sup>19</sup>

Asimismo, el diseño de la investigación es experimental y de nivel explicativo, debido a que el investigador manipulará a su criterio las variables durante el desarrollo de su proyecto.<sup>19</sup>

El tipo de estudio es prospectivo y de corte transversal, porque la recolección de los datos será obtenida después de la planeación del proyecto y transversal porque la información será recogida en un solo momento.<sup>20</sup>

### 2.2 Población, muestra y muestreo

La población de la investigación estuvo conformada por 6 kilogramos de hojas y ramas de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” recolectada en el centro poblado de Solecape del distrito, provincia y departamento de Lambayeque ubicada a 5°28'36” de latitud Sur y 79°41'30” de longitud oeste.

La muestra estuvo conformada por 2 Kg. de hojas frescas de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa”, los cuales cumplieron los siguientes criterios:

#### **Criterios de inclusión:**

- La muestra debe estar en buenas condiciones de conservación
- La muestra debe ser recién recolectada de la planta
- La muestra debe haber sido identificada previamente

#### **Criterios de exclusión:**

- La muestra debe corresponder a la zona de estudio
- Otra especie diferente a la de estudio

El tipo de muestreo fue no probabilístico por conveniencia,

## 2.3 Variables de investigación<sup>21</sup>

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

**Definición conceptual:** Sustancia que contiene principios activos de la planta

**Definición operacional:** Maceración con el etanol por medio de la cual se obtienen los principios activos

**Variable dependiente:** Actividad microbiológica in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231. Es una variable que depende de la manipulación que el investigador realizó en la variable independiente.

**Definición conceptual:** Inhibición en el crecimiento o desarrollo normal de los microorganismos

**Definición operacional:** Medición del halo de inhibición formado

## 2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

La técnica que se empleó para la recolección de datos fue la de Difusión en pozo de agar, con posterior medida del halo de inhibición que se formó alrededor del pozo<sup>21</sup>.

En cuanto al instrumento que se empleó para la recolección de datos fue el vernier digital y tabla de registro de datos.

## 2.5 Plan de recolección de datos

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

Previo a la recolección de la muestra vegetal se solicitó el permiso correspondiente al propietario para acceder a tomar muestras de la planta en las primeras horas de la mañana.

Se recolectaron muestras representativas de la planta para solicitar la identificación taxonómica por un profesional biólogo especialista en botánica quien emitió una constancia con el nombre científico correcto de la planta.

### **2.5.2. Recolección de la muestra vegetal**

La muestra vegetal será recolectada en las primeras horas de la mañana se escogerá cerca de 2,0 kilogramos de hojas frescas de la planta de fresa, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión para su recolección.

Las muestras de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” recolectadas fueron llevadas al laboratorio inmediatamente en bolsas de papel, luego fueron lavadas con abundante agua y desinfectadas con lejía al 1% y nuevamente se volvieron a enjuagar con abundante agua.

Se colocaron las muestras sobre una mesa, extendidas y frente a una corriente de aire para su secado por 48 horas, luego de transcurrido este tiempo se llevó a la estufa a 45°C para secarla y deshidratarla completamente, luego se trituró manualmente y llevo a un molinillo eléctrico para obtener un polvo fino el cual pasó por el tamiz ASTM N°30.

### **2.5.3. Preparación del extracto etanólico de fresa:**

Se pesó 800 gramos del pulverizado de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa”, el pulverizado obtenido se colocó en un matraz de 2 litros de capacidad y se agregó 1400mL de etanol de 96°, luego se dejó macerar por 10 días, mezclando cada 12 horas la muestra.

Luego de transcurrido ese tiempo se filtró y llevó a estufa a 45°C hasta su evaporación completa, el residuo obtenido se consideró el extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch.

A partir de este extracto se elaboraron las concentraciones del 100% y 75% de la muestra de *Fragaria x ananassa* Duch "Fresa"

#### **2.5.5. Reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231:**

La reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231 se realizó según la información técnica del catálogo de la empresa comercializadora de la cepa, manteniéndose en agar TSA para posteriormente preparar las diluciones a ensayar.

#### **2.5.6. Evaluación de la actividad microbiológica del extracto etanólico de fresa:**

- a) Se realizó un sembrado en estrías en TSA, en todas las placas de agar.
- b) Se perforó con un sacabocado 3 pozos de un diámetro de 6 mm y se elaboraron de la siguiente manera:
  - En una placa se colocaron en 1 pozo con 20ul de alcohol etílico 96° (control negativo), 20ul del extracto etanólico (grupo experimental) al 75 % y 100%.
  - En otra placa se colocará en 1 pozo con 20ul de nistatina (control positivo) y 20ul de Ciprofloxacino (grupo experimental).
  - Se realizaron 15 repeticiones para cada tratamiento<sup>22</sup>.
- c) Luego de esto las muestras se incubaron por 24 horas a 37°C, una vez transcurrido este periodo de tiempo, se retiraron de la incubadora y midieron el tamaño de los halos de inhibición. Los datos fueron registrados en la ficha de recolección de datos.

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

El análisis estadístico de la presente investigación busco analizar los datos para obtener mediante pruebas de normalidad e inferenciales, la aceptación o rechazo de la hipótesis alterna, en ese sentido se escogió la prueba de Anova y Tukey con un alfa de 0,05.

## **2.7 Aspectos éticos**

Se tomó en consideración el Principio de no Maleficencia, durante el desarrollo de la tesis se mantuvo extremo cuidado de contaminar el medio ambiente, no causar daño a los participantes, en ese sentido, se cumplió con lo establecido en las guías de manuales de bioseguridad y de manejo de residuo sólido.<sup>23,24</sup>

### III. RESULTADOS

**Tabla 1. Metabolitos con actividad microbiológica presentes en el extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa”**

IDENTIFICACION DE METABOLITOS		
Metabolitos Primarios	Reactivos	Resultado
Carbohidratos	Molish	++
Aminoácidos	Ninhidrina	+
Metabolitos Secundarios	Reactivos	Resultado
Quinonas	Borntrager	-
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	+++
Flavonoides	Shinoda	++
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	+
Alcaloides	Dragendorff	-
<u>Triterpenos / Esteroides</u>	Liebermann Burchard	-
Saponinas	Espuma	+

**Tabla 2. Análisis estadístico de los datos recolectados por grupos**

	Diámetro del halo de inhibición							
	N	Medi a	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
					Límite Superior	Límite Inferior		
Ext. etan. fresa - 50% ( <i>Staphylococcus</i> )	1 5	26,53	0,38	0,10	26,32	26,73	25,89	27,12
Ext. etan. fresa - 75% ( <i>Staphylococcus</i> )	1 5	30,83	0,24	0,06	30,69	30,96	30,39	31,15
Ext. etan. fresa - 100% ( <i>Staphylococcus</i> )	1 5	33,49	0,31	0,08	33,32	33,67	33,12	34,18

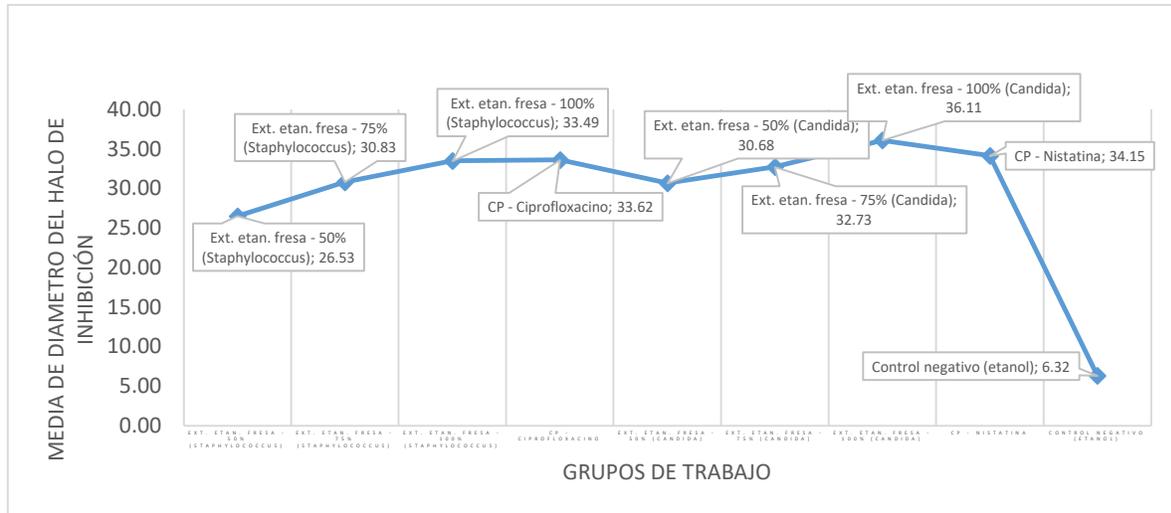
CP - Ciprofloxacino	1 5	33,62	0,23	0,06	33,49	33,74	33,28	34,09
Ext. etan. fresa - 50% (Candida)	1 5	30,68	0,40	0,10	30,47	30,90	29,74	31,39
Ext. etan. fresa - 75% (Candida)	1 5	32,73	0,29	0,07	32,58	32,89	32,18	33,22
Ext. etan. fresa - 100% (Candida)	1 5	36,11	0,33	0,08	35,93	36,30	35,71	36,87
CP - Nistatina	1 5	34,15	0,33	0,09	33,96	34,33	33,47	34,65
Control negativo (etanol)	1 5	6,32	0,23	0,06	6,19	6,45	5,86	6,63

Fuente: SPSS versión 26

### Interpretación:

En la tabla 2, se puede apreciar el valor medio o promedio de los 15 datos recolectados para cada grupo de tratamiento tanto experimental como control; por otro lado, a partir de estos datos se determinaron los parámetros estadísticos con respecto a la desviación estándar, el error estándar, el intervalo de confianza al 95%, y los valores máximo y mínimo encontrados. Los valores promedio del tamaño de los halos de inhibición encontrados fueron para el extracto etanólico de fresa contra *Staphylococcus aureus* al 50% de 26.53mm DS: 0.38; al 75% de 30.83mm DS: 0.24; al 100% de 33.49mm DS: 0.31; el control positivo (ciprofloxacino) fue de 33.62 DS: 0.23; los extractos etanólicos de fresa frente a *Candida albicans* al 50% fue de 30.68mm DS: 0.40; al 75% fue de 32.73mm DS: 0.29 al 100% fue de 36.11mm DS: 0.33, el grupo control positivo (nistatina) tuvo halo de inhibición promedio de 34.15mm DS: 0.33 y el grupo control negativo (etanol) para ambos grupos fue de 6.32mm DS: 0.23.

**Figura 1. Gráfico de medias de la actividad microbiológica del extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa Duch.* "Fresa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231**



### Interpretación:

En la figura 1, mediante el gráfico de medias del diámetro del halo de inhibición se puede apreciar la actividad microbiológica del extracto etanólico de *hojas de Fragaria x ananassa Duch.* "Fresa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231, este gráfico nos permite evaluar de manera comparativos que el extracto etanólico de fresa presenta mayor actividad microbiológica frente a *Candida albicans* comparado con *Staphylococcus aureus*, al presentar halos de inhibición de mayor diámetro; así mismo, se aprecia similar o mayor actividad microbiológica del extracto etanólico de fresa al 100% comparado con ciprofloxacino contra *Staphylococcus aureus* y nistatina contra *Candida albicans*.

**Tabla 3. Determinación de la distribución normal**

Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk			
	Estadístico	df	Sig.	
Ext. etan. fresa - 50% (Staphylococcus)	0,968	1 5	0,822	
Ext. etan. fresa - 75% (Staphylococcus)	0,950	1 5	0,520	
Ext. etan. fresa - 100% (Staphylococcus)	0,923	1 5	0,213	
CP – Ciprofloxacino	0,974	1 5	0,908	
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Ext. etan. fresa - 50% (Candida)	0,919	1 5	0,183
	Ext. etan. fresa - 75% (Candida)	0,984	1 5	0,991
	Ext. etan. fresa - 100% (Candida)	0,931	1 5	0,278
	CP – Nistatina	0,976	1 5	0,938
	Control negativo (etanol)	0,926	1 5	0,238

Fuente: SPSS ver. 26

### Interpretación:

En la tabla 3, se observa el análisis estadístico realizado a cada grupo (15 datos) mediante la prueba de Shapiro Wilk para determinar el comportamiento o distribución normal de cada grupo, de la comparación del nivel de significancia del estudio con el nivel de significancia obtenido por cada grupo podemos apreciar que los niveles de significancia en la tabla 2, son superiores al nivel de significancia del estudio, en tal sentido, se decide rechazar la hipótesis alterna y confirma la hipótesis nula que confirma que todos los grupos de datos analizados presentan distribución normal.

**Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)**

		Estadístico de Levene	df 1	df2	p-valor
<b>Diámetro del halo de inhibición</b>	Basado en la media	0,777	8	126	0,623
	Basado en la mediana	0,691	8	126	0,699
	Basado en la mediana con ajuste de df	0,691	8	99,154	0,698
	Basado en la media recortada	0,779	8	126	0,622

Fuente: SPSS ver. 26

**Interpretación:**

En la tabla 4, se observa de manera similar el análisis estadístico realizado para la determinación de la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Levene, en los resultados obtenidos en el p-valor con respecto a la media se aprecia un valor de 0.623, valor que es superior al nivel de significancia de 0.05 empleado en el estudio, por lo tanto, se rechaza igualmente la hipótesis alterna y confirma la hipótesis nula que indica que todos los grupos de datos analizados presentan varianzas homogéneas.

## CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS DEL ESTUDIO:

H<sub>1</sub>: El extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” tiene actividad microbiológica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231 in vitro

H<sub>0</sub>: El extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” no tiene actividad microbiológica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231 in vitro.

**Tabla 5. Análisis de la varianza (ANOVA)**

Diámetro del halo de inhibición

	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	9869,097	8	1233,637	12905,325	0,000
Dentro de los grupos	12,045	126	0,096		
Total	9881,141	134			

Fuente: SPSS ver. 26

### Interpretación:

En la tabla 5, se muestra el análisis de la varianza o prueba de ANOVA, con respecto a la media de los halos de inhibición de cada grupo con el propósito de comparar cada grupo de datos y determinar si existe diferencia significativa entre sus medias, la prueba mediante el análisis permitió determinar al comparar el p-valor = 0.00 con el valor de significancia del estudio (0.05) que existe evidencia suficiente para confirmar que los grupos de datos presentan diferencias significativas entre las medias de sus valores de los halos de inhibición y en semejanza con actividad microbiológica.

**Tabla 6. Análisis comparativo por subgrupos mediante la prueba de Tukey**

HSD Tukey <sup>a</sup>								
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Control negativo (etanol)	1	6,31						
	5							
Ext. etan. fresa - 50% (Staphylococcus)	1		26,5					
	5		2					
Ext. etan. fresa - 50% (Candida)	1			30,6				
	5			8				
Ext. etan. fresa - 75% (Staphylococcus)	1			30,8				
	5			2				
Ext. etan. fresa - 75% (Candida)	1				32,7			
	5				3			
Ext. etan. fresa - 100% (Staphylococcus)	1					33,49		
	5							
CP – Ciprofloxacino	1					33,61		
	5							
CP – Nistatina	1						34,14	
	5							
Ext. etan. fresa - 100% (Candida)	1							36,1
	5							1
Sig.		1,00	1,00	0,94	1,00	0,975	1,000	1,00
		0	0	0	0			0

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

**Fuente: SPSS ver. 26**

### Interpretación:

En la tabla 6, se realizó un análisis comparativo de las medias de cada grupo por pares mediante la prueba de Tukey, la cual nos permite comparar la actividad microbiológica de los extractos etanólicos de fresa a diferentes concentraciones sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* mediante la comparación de los valores promedio de los halos de inhibición, esta prueba agrupa en la misma columna los grupos que no demuestran diferentes significativas en sus medias; se observa que las columnas con mayor número presentan mayor actividad microbiológica, se observa que el control negativo presenta el menor halo de inhibición seguido por el extracto etanólico de fresa al 50% frente a *Staphylococcus aureus*, seguido por el extracto etanólico de fresa al 50% y 75% frente a *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* respectivamente, el extracto etanólico de fresa al

100% contra *St. aureus*, presento similar efecto que el ciprofloxacino contra esta bacteria y efecto superior contra *Candida albicans* que la nistatina.

**Decisión:** Por lo tanto, se rechaza la hipótesis  $H_0$  y se acepta la  $H_1$  la cual confirma que el extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” tiene actividad microbiológica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231 in vitro.

**Tabla 7. Evaluación de la Sensibilidad microbiana**

Tratamiento	Sensibilidad nula	Sensible	Muy sensible	Altamente sensible
	$\leq 8$ mm	8–14 mm	15-20 mm	> 20 mm
Control negativo (etanol)	6,31			
Ext. etan. fresa - 50% (Staphylococcus)				26,52
Ext. etan. fresa - 50% (Candida)				30,68
Ext. etan. fresa - 75% (Staphylococcus)				30,82
Ext. etan. fresa - 75% (Candida)				32,73
Ext. etan. fresa - 100% (Staphylococcus)				33,49
CP - Ciprofloxacino				33,61
CP – Nistatina				34,14
Ext. etan. fresa - 100% (Candida)				36,11

**Interpretación:**

En la tabla 7, se observa la valoración de la sensibilidad microbiana de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* al extracto etanólico de fresa a diferentes concentraciones empleando como escala valorativa la escala de Durafourd, en la cual se observa que ambos microorganismos son altamente sensibles al extracto etanólico de fresa a todas las concentraciones estudiadas.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión

La problemática a nivel mundial con respecto a la resistencia bacteriana ha ocasionado que microorganismos comunes e inofensivos se conviertan en altamente patógenos, los cuales provocan altos índices de morbi-mortalidad como es el caso de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, por tal motivo, es necesario obtener vías alternativas para poder tratar las infecciones provocadas por estos microorganismos sin que estos generen nuevamente resistencia a las drogas, por tal razón el presente trabajo de investigación busca encontrar en *Fragaria x ananassa* Duch. Una fuente natural que ayude a combatir este tipo de microorganismos y reducir la resistencia a los antimicrobianos, en tal sentido, los resultados encontrados en el estudio se discuten a continuación.

Los metabolitos secundarios obtenidos mediante el estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. fueron fenólicos, taninos, aminoácidos, flavonoides y saponinas, estos resultados son congruentes con los encontrados en el estudio de Moya T. (2017) en el extracto hidroalcohólico de las hojas de la misma planta, pero adicionalmente se encontró triterpenos y esteroides, quinonas y alcaloides, lo que supone que el tipo de solvente empleado por Moya T, presenta mayor poder de extracción de los metabolitos presentes en la planta.

La actividad microbiológica de los extractos de *Fragaria x ananassa* Duch. "Fresa" fue evaluada mediante la técnica de difusión en pozo, en la cual se relacionó la actividad microbiológica con el tamaño del diámetro del halo de inhibición, los resultados fueron para el extracto etanólico de fresa contra *Staphylococcus aureus* al 50% de 26.53mm DS: 0.38; al 75% 30.83mm DS: 0.24; al 100% de 33.49mm DS: 0.31; el control positivo (ciprofloxacino) fue de 33.62 DS: 0.23.

Cárdenas J, et al (2018), mediante su investigación evaluó los extractos antociánicos de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) sobre el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus*, los extractos se evaluaron mediante difusión en disco con concentraciones (10 ug, 25 ug, 50 ug, 75 ug y 100 ug); observando que los extractos antociánicos inhibieron el crecimiento de la cepa de *S. aureus* ATCC 27543 hasta un 54%, lo que confirma los resultados de nuestro estudio con respecto a la actividad antibacteriana de los extractos *De hojas de Fragaria x ananassa* Duch. Frente a *Staphylococcus aureus*.

Así mismo, Rivera A y Vides N. (2021), demostraron que el extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” presenta actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *E. coli* obteniendo halos de inhibición para las concentraciones de 50%, 75% y 100% de 19.71mm  $\pm$  0.06, 20.43mm + 0.06 y 22.44mm + 0.06 para *Staphylococcus aureus*, a pesar que los tamaños de los halos de inhibición en nuestro estudio resultaron ser de mayor tamaño, ambos estudios confirman sus resultados al determinar efecto antibacteriano del extracto de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” contra *Staphylococcus aureus*.

Los extractos etanólicos de fresa frente a *Candida albicans* al 50% presentaron halos de inhibición de 30.68mm DS: 0.40; al 75% fue de 32.73mm DS: 0.29 al 100% fue de 36.11mm DS: 0.33, el grupo control positivo (nistatina) tuvo halo de inhibición promedio de 34.15mm DS: 0.33 y el grupo control negativo (etanol) para ambos grupos fue de 6.32mm DS: 0.23.

Rodríguez J. (2019), mediante su estudio determinó que el extracto de *Fragaria ananassa* (“fresa”) presenta efecto antifúngico in vitro sobre *Microsporium gypseum* obteniendo halo de inhibición promedio de 28.1mm para el 75% y de 11.2mm para la concentración del 5%, reflejando de la misma manera, halos de inhibición de mayor tamaño pese a que el tipo de hongo empleado son diferentes.

Barreto M (2017), logro determinar que el extracto etanólico de *Fragaria vesca* L. presenta actividad antibacteriana contra una bacteria anaeróbica como es

*Streptococcus mutans* ATCC 25175 encontrando una CMI para la concentración del 25% encontrando halos de inhibición para la concentración al 76% de 10.25mm. Así mismo, Cárdenas J, et al (2018), mediante su estudio también pudo demostrar que el extracto de *Fragaria x ananassa* Duch. también presenta actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* y *Salmonella choleraesuis*. Así mismo, refieren que la actividad antibacteriana de los extractos de la planta en mención se debe al contenido de compuestos fenólicos (pelargonidina, cianidina-3-glucósido, quercetina y kaempferol), flavonoides y antocianinas.

Además los datos recolectados fueron evaluados mediante estadística descriptiva e inferencial mediante la aplicación de la prueba de ANOVA y Tukey con el objetivo de determinar diferencias significativas entre en la actividad microbiológica de los extractos sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* mediante el análisis de los diámetros de los halos de inhibición con un nivel de significancia del 0,5%, obteniendo como resultados diferencias significativas en casi todos los grupos de datos y presentado estos microorganismos ser **altamente sensibles** a los extractos etanólicos de *Hojas de Fragaria x ananassa Duch.* a las concentraciones de estudio.

## 4.2. Conclusiones

1. Los metabolitos secundarios con actividad microbiológica presentes en el extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” fueron fenólicos, taninos, aminoácidos, flavonoides y saponinas.
2. Se determinó la actividad microbiológica in vitro del extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” al 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con halo de inhibición al 100% de 33.49mm y frente a *Candida albicans* ATCC 10231 con halo de inhibición de 36.11mm, ambos microorganismos resultaron ser altamente sensibles al extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” a esta concentración.
3. Se determinó la actividad microbiológica in vitro del extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” al 75% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con halo de inhibición de 30.83mm y frente a *Candida albicans* ATCC 10231 con halo de inhibición de 32.73mm, ambos microorganismos resultaron ser altamente sensibles al extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” a esta concentración.
4. Se determinó la actividad microbiológica in vitro del extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” al 50% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con halo de inhibición de 26.53mm y frente a *Candida albicans* ATCC 10231 con halo de inhibición de 30.68mm, ambos microorganismos resultaron ser altamente sensibles al extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” a esta concentración.
5. Al comparar la actividad microbiológica del extracto etanólico de *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” con Ciprofloxacino y Nistatina, se demostró que a la concentración del 100% presenta similar actividad microbiológica que el ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y a la misma concentración presenta mayor actividad microbiológica que la nistatina frente *Candida albicans* ATCC 10231.

### 5.3. Recomendaciones

- ✓ Existe evidencia suficiente que confirma que *Fragaria x ananassa* Duch “Fresa” presenta actividad microbiológica sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, por tal motivo, se recomienda demostrar esta actividad frente a otros microorganismos en futuras investigaciones.
- ✓ Se recomienda al sector salud, poner en consideración el uso de esta planta para el tratamiento alternativo o complementario al medicamento en las patologías relacionadas a estos microorganismos.
- ✓ Al sector farmacéutico, se recomienda emplear esta planta en las formulaciones magistrales para el tratamiento de patologías comunes.
- ✓ Al Sector Salud, se recomienda promover el uso plantas medicinales como tratamiento inicial de enfermedades, con el objetivo de reducir los niveles de resistencia bacteriana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gómez A, Breña L, Sanz S, Bermejo L, Serradilla A, Clavijo M. Enfermedades importadas en España: dificultades en la atención sanitaria. *Enfermería Glob* [Internet]. 2019;18(53):582-607. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1695-61412019000100018&lng=es&nrm=iso&tlng=pt](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412019000100018&lng=es&nrm=iso&tlng=pt)
2. Pasachova J, Ramirez M, Munoz L. Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova* [Internet]. 2019;17(32):25-38. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-25.pdf>
3. Pineda J, Cortés A, Uribarren T, Castañon L. Candidosis vaginal. Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. *Rev Médica Risaralda* [Internet]. 2017 [citado 11 de julio de 2021];23(1):38-44. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmri/v23n1/v23n1a09.pdf>
4. Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. OMS. 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>
5. Cabrejos L, Vives C, Inga J, Astocondor L, Hinostroza N. Frecuencia de Staphylococcus aureus meticilinoresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* [Internet]. 2021;38(2):313-7. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/viewFile/6867/4320>
6. Moreno M, Moreno O. Características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en pacientes de un hospital de tercer nivel del sur del Perú, 2011-2014. *Acta Medica Peru* [Internet]. 2017;34(4):289-93. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v34n4/a06v34n4.pdf>
7. López D, Sánchez M, Acuña J, Gerhard F. Propiedades fisicoquímicas de siete variedades destacadas de fresa ( *Fragaria x ananassa* Duch .) cultivadas en

- Cundinamarca ( Colombia ), durante su maduración. *Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu* [Internet]. 2018;19(45):147-62. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v19n1/0122-8706-ccta-19-01-00147.pdf>
8. Amézquita M. Niveles de “bocashi” y “microorganismos eficaces” en el rendimiento de fresa (*Fragaria x ananassa duch*) cv. selva en condiciones de zonas áridas – irrigación majes. [Internet]. 2018. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/6141/AGamalma.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  9. Betran A, Lapresta C, Lavilla M, Abad J, Torres L. Bacteremias por *staphylococcus aureus*: factores de riesgo asociados a la resistencia a meticilina. *Rev Cient Cienc Medica* [Internet]. 2020;23(1):44-51. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/pdf/rccm/v23n1/v23n1\\_a07.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rccm/v23n1/v23n1_a07.pdf)
  10. Vircell Microbiologists. *Candida albicans* - Vircell [Internet]. Vircell Microbiologists. 2017 [citado 5 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.vircell.com/enfermedad/27-candida-albicans/>
  11. Cervera C. *Candidiasis crónica: El síndrome oculto del siglo XXI* [Internet]. Google Libros. [citado 3 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=0u54DwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=cándida+albicans+pdf&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwj8irz-3v7qAhXKCrkGH8PCiMQ6AEwAHoECAIQAg#v=onepage&q=cándida+albicans+pdf&f=false>
  12. Cairone F, Simonetti G, Orekhova A, Casadei M, Zengin G, Cesa S. Health Potential of Clery Strawberries: Enzymatic Inhibition and Anti- *Candida* Activity Evaluation. *Molecules* [Internet]. 2021 [citado 13 de noviembre de 2021];26(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33808822/>
  13. Cárdenas J, Orege E, Oyoque G, Angoa M, Padilla S, Molina J, et al. Antimicrobial activity of fruit extracts of *Fragaria x ananassa* against human enteropathogenic bacteria. *J Bioeng Biomed Res* [Internet]. 2018;2(2):17-25. Disponible en: <https://www.researchgate.net/profile/Ernesto-Oregel->

Zamudio/publication/326840528\_Antimicrobial\_activity\_of\_fruit\_extracts\_of\_Fragaria\_x\_ananassa\_against\_human\_enteropathogenic\_bacteria/links/5b6866af92851ca6505110d2/Antimicrobial-activity-of-fruit-extrac

14. Cárdenas J, Oyoque G, Loeza P, Oregel E, Angoa M, Mena H. Antibacterial potential of anthocyanic extracts of strawberry on Staphylococcus aureus associated to bovine mastitis. Acta Univ [Internet]. 2018;28(5):52-7. Disponible en: [http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/1699/1/Antibacterial\\_potential\\_of\\_anthocyanic\\_extracts\\_of\\_strawberry\\_on\\_Staphylococcus\\_aureusassociated\\_to\\_bovine\\_mastitis.pdf](http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/1699/1/Antibacterial_potential_of_anthocyanic_extracts_of_strawberry_on_Staphylococcus_aureusassociated_to_bovine_mastitis.pdf)
15. Rivera A, Vides N. Actividad antibacteriana del extracto etanolico de las hojas de fragaria x ananassa Duch «fresa» sobre Staphylococcus aureus. [Internet]. 2019. Disponible en: [https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/397/ACTIVIDAD\\_ANTIBACTERIANA\\_DEL\\_EXTRACTO\\_ETANÓLICO\\_DE\\_LAS\\_HOJAS\\_DE\\_Fragaria\\_x\\_ananassa\\_Duch.\\_"fresa" SOBRE Sthaphylococcus aureus Y Escherichia coli.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/397/ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_DEL_EXTRACTO_ETANÓLICO_DE_LAS_HOJAS_DE_Fragaria_x_ananassa_Duch._)
16. Rodríguez J. Efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de Fragaria ananassa «fresa» sobre Microsporum gypseum. 2019.
17. Barreto M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de fragaria vesca l. sobre streptococcus mutans atcc 25175 [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo. 2017. Disponible en: [https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7526/PROTEJIDO\\_Milagros\\_Omayra\\_Barreto\\_Geldres-Tesis.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7526/PROTEJIDO_Milagros_Omayra_Barreto_Geldres-Tesis.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
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. Otero A. Criterios epistemológicos y metodológicos para la fundamentación de estudios sobre el desarrollo urbano regional en el Caribe Colombiano. En: Enfoques de Investigación [Internet]. 2018 [citado 13 de noviembre de 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/326905435\\_ENFOQUES\\_DE\\_INVESTIGACION/link/5b6b7f9992851ca650526dfd/download](https://www.researchgate.net/publication/326905435_ENFOQUES_DE_INVESTIGACION/link/5b6b7f9992851ca650526dfd/download)
20. Pavón P, Gogeoascoechea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014;44. Disponible en: [http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseño\\_sde...pdf](http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseño_sde...pdf)
21. Carballo M, Guelmes E. Algunas consideraciones acerca de las variables en las investigaciones que se desarrollan en educación. Rev Univ y Soc [Internet]. 2016;8(1):140-50. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rus/v8n1/rus20116.pdf>
22. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. Biomedica. 2018;35(1):103-9.
23. Zurita S, Urcia F. Manual De Procedimientos Técnicos Para El Diagnóstico Micológico [Internet]. 2017. 139 p. Disponible en: [https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual\\_de\\_procedimientos\\_técnicos\\_para\\_el\\_diagnóstico\\_micologico.final.pdf?sequence=1](https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual_de_procedimientos_técnicos_para_el_diagnóstico_micologico.final.pdf?sequence=1)
24. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;

## **ANEXOS**

## Anexo A. Instrumentos de recolección de datos

Placa	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (mm)			<i>Control positivo</i>	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231 (mm)			<i>Control positivo</i>	Control Negativo
	50%	75%	100%	Ciprofloxacino	50%	75%	100%	Nistatina	Etanol
1	26,60	30,97	33,41	33,60	30,67	32,87	36,09	34,23	6,34
2	26,42	30,39	33,37	33,81	31,39	32,58	36,44	34,13	6,43
3	26,41	30,87	33,16	33,88	30,51	32,80	36,35	33,67	6,34
4	26,62	31,15	33,34	33,86	30,64	32,62	35,94	33,47	6,43
5	25,93	31,03	33,43	33,74	30,48	32,85	36,39	33,97	6,57
6	26,37	31,04	33,73	33,36	30,62	32,92	36,07	34,59	6,63
7	26,50	30,79	33,57	33,28	30,42	32,71	36,40	34,25	6,50
8	25,89	31,11	34,18	33,32	31,15	32,42	35,82	34,39	6,13
9	27,04	30,77	33,84	33,47	30,86	32,65	35,71	34,49	6,35
10	26,28	30,75	33,71	33,45	30,43	32,77	35,74	34,01	6,20
11	27,12	31,13	33,16	34,09	31,27	32,18	35,91	34,65	6,53
12	26,15	30,58	33,18	33,66	30,73	33,22	35,99	34,02	6,46
13	26,89	30,48	33,12	33,66	29,74	33,10	36,23	34,11	5,86
14	26,89	30,66	33,37	33,52	30,71	32,31	35,77	33,82	6,11
15	26,78	30,69	33,85	33,56	30,65	33,02	36,87	34,38	5,91

Anexo B. Matriz de consistencia

**Actividad microbiológica *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. "Fresa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231**

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Presentará actividad microbiológica <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa" frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	Determinar la actividad microbiológica <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa" frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	El extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa" tiene actividad microbiológica frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>in vitro</i>
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Presentará actividad microbiológica el extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa" al 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>in vitro</i> ?	Determinar la actividad microbiológica <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa" al 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	El extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa" al 100% tiene actividad microbiológica <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>in vitro</i>
¿Cuáles serán los metabolitos secundarios con actividad microbiológica presentes en el extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa"?	Determinar los metabolitos secundarios con actividad microbiológica presentes en el extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa"	El extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa" presentan los metabolitos secundarios con actividad microbiológica

<p>¿Presentará actividad microbiológica el extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” al 75% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 in vitro in vitro?</p>	<p>Determinar la actividad microbiológica del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” al 75% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>	<p>El extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” al 75% tiene actividad microbiológica in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>
<p>¿Presentará actividad microbiológica el extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” al 50% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 in vitro in vitro?</p>	<p>Determinar la actividad microbiológica del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” al 50% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>	<p>El extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” al 50% tiene actividad microbiológica in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>
<p>¿Cuál será la actividad microbiológica comparativa in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” con Ciprofloxacino y Nistatina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</p>	<p>Comparar la actividad microbiológica del extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” con Ciprofloxacino y Nistatina. frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>	<p>El extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch “Fresa” tiene mayor actividad microbiológica in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 que el Ciprofloxacino y Nistatina</p>

### Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico de hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duch "Fresa"	Sustancia que contiene principios activos de la planta	Maceración con el etanol por medio de la cual se obtienen los principios activos	Concentraciones	100 75 50	Ordinal	2	%
Actividad microbiológica frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Inhibición en el crecimiento o desarrollo normal de los microorganismos	Medición del halo de inhibición formado	Diámetro del halo de inhibición	≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm	Ordinal	4	Nula Sensible Medio Muy sensible

## Anexo D. Identificación botánica de la muestra vegetal

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

### CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como “FRESA” proporcionada por los Bachilleres, **Judith Elena Minaya Delgado** y **Miriam Ruth Llontop Delgado**, Tesisistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Fragaria x ananassa* Duch. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino:           Plantae  
División:       Magnoliophyta  
Clase:           Magnoliopsida  
Orden:          Rosales  
Familia:        Rosaceae  
Sub familia:   Rosoideae  
Género:        Fragaria  
Especie:       *Fragaria x ananassa* Duch.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

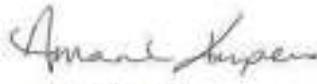
Lima, 04 enero 2022

  
Bigo. Hamilton Beltrán  
Hamilton W. Beltrán Santiago  
Fisiólogo - Botánico  
C. No. 2719

## Anexo E. Certificado de análisis de las cepas microbiológicas



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Staphylococcus aureus subsp. aureus <b>Catalog Number:</b> 0360 <b>Lot Number:</b> 360-467** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25923™** <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2022/6/21 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Klesha L. Negen <b>Release Date:</b> 2020/5/20
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies; opaque, beta hemolytic <b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	<b>Medium:</b> SBAP smooth,  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)  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 (Cefnase 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
<p>*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.</p> <p>Note for Vittek®: Although the Vittek® 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.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="259 1344 462 1480">  <p>ATCC Accredited Reference Material Producer CERT #2015.87</p> </div> <div data-bbox="438 1480 1356 1522"> <p>(*) 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.</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="259 1564 462 1701">  <p>TESTING CERT #2653.01</p> </div> <div data-bbox="511 1690 868 1711"> <p>(†) These tests are accredited to ISO15189:17025:2005.</p> </div> </div>	

**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

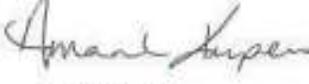
Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++) (A)	360-407	Staphylococcus aureus	2.34

Comments:

N/A



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Candida albicans <b>Catalog Number:</b> 0443 <b>Lot Number:</b> 443-1006** <b>Reference Number:</b> ATCC® 10231™** <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2022/12/28 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Alexandra D Siensvad <b>Release Date:</b> 2020/11/18
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	<b>Medium:</b> Nutrient <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)	<b>Other Features/ Challenges: Results</b>
See attached ID System results document.	(1) Germ Tube Test: positive
	(1) Chlamydospore production: positive
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<small>*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.</small>	
<small>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.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
 <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small>	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiological, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 <small>TESTING CERT #2655.01</small>	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005</small>

## 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: Candida albicans  
 Sample Description: 0443  
 Sample ID: 443-1006  
 Sample Creation Date/Time: 2019-03-06T14:55:06.305 ADS  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	443-1006	Candida albicans	2.11

Comments:

n/a

## Anexo F. Evidencias de la investigación

Figura 2. Recolección de la muestra vegetal



**Figura 3. Evaluación de los criterios de inclusión y exclusión para obtener la mejor muestra**



**Figura 4. Lavado y desinfección de la muestra vegetal**



**Figura 5. Secado en estufa**



**Figura 6. Pulverizado de la muestra**



**Figura 7. Proceso de maceración en frío**



**Figura 8. Proceso de filtrado luego de 10 días de maceración**



**Figura 9. Obtención del extracto seco**



**Figura 10. Preparación de los extractos**



**Figura 11. Activación de las cepas microbiológicas**



**Figura 12. Preparación del inóculo – 0.5 McFarland**



**Figura 13. Sembrado en placa**



**Figura 14. Aplicación de los extractos en placa petri.**



Figura 15. Halos de inhibición identificados



Figura: 16. Medición de los halos de inhibición

