



Universidad Nacional

SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2026-FFBB-053

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

**Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico,
metanólico e hidroalcohólico de hojas de *Fragaria x ananassa*
Duchesne ex Rozier "Fresa"**

Presentado por:

MACHACA CHACALTANA JERALDINNE LIZETH

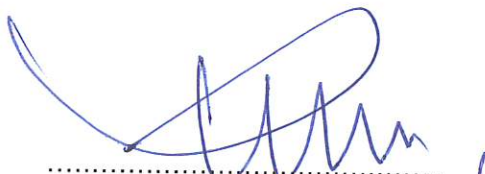
Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es 1% por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matricula: 20155143

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 28 de abril de 2026


.....
Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



PGJJ/hadp

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico, metanólico e hidroalcohólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”

Línea de investigación

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Bach. Machaca Chacaltana Jeraldinne Lizeth

Ica, Perú

2025

DEDICATORIA

A Dios, por guiar cada paso que doy en mi vida, iluminando mi camino con tu sabiduría y amor infinito.

A mis abuelitos, por estar siempre presentes durante mis estudios universitarios.

A mis padres, por su amor incondicional, apoyo constante y sacrificios que hicieron posible este logro.

A mi hermano, por ser mi fuente constante de motivación y por inspirarme a crecer personal y profesionalmente.

A mis tías, por la consideración hacia nuestra familia y el apoyo incondicional que me brindaron durante este arduo pero gratificante camino hacia la culminación de mi tesis.

A mi madrina, Rosa, por tu disposición y generosidad al brindarme todas las herramientas necesarias para la culminación de mi tesis.

AGRADECIMIENTO

A Dios por su amor y su gracia que han sido mi sostén en los momentos de incertidumbre y desafío.

A mi estimada asesora, la Dra. Q. F. María Dolores Rocío Bendezú Acevedo, por su guía paciente y recta a lo largo de todo el proceso de investigación. Su amplia experiencia profesional, conocimientos, actitud y compromiso fueron fundamentales para el desarrollo de esta tesis. Agradezco su apoyo voluntario e incondicional, sin el cual no habría sido posible llevar a cabo este trabajo.

A mis docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Luis Gonzaga, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de mi preparación profesional para lograr mis metas.

A la familia Acifana por abrirme las puertas y a compartir generosamente sus conocimientos. Su compañía fue fundamental para mí durante este proceso.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	12
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA.....	26
2.1.Enfoque, diseño y tipo de la investigación.....	26
2.2. Población y muestra	26
2.3. Técnicas y procedimientos de recolección de datos.....	26
2.3.1. Recolección de material y vegetal.....	26
2.3.2. Tratamiento del material vegetal.....	26
2.3.3. Certificación taxonómica.	27
2.3.4. Obtención de los extractos.	27
2.3.5. Ensayos Fitoquímicos.	28
2.3.6. Determinación de la actividad antimicrobiana.	30
III.RESULTADOS.....	34
3.1.Resultados descriptivos.....	34
3.1.1. Ensayos Fitoquímicos	34
IV.DISCUSIÓN	45
V. CONCLUSIONES	50
VI.RECOMENDACIONES.....	51
VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS	52
VIII.ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de fresa “ <i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne ex Rozier”	32
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las hojas de fresa “ <i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne ex Rozier”.....	33
Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico obtenido a partir de las hojas de fresa “ <i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne ex Rozier”	33
Tabla 4. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico mediante el método de Difusión en Agar a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.	34
Tabla 5. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico mediante el método de Difusión en Agar, a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%.	36
Tabla 6. Actividad antimicrobiana del extracto metanólico mediante el método de Difusión en Agar a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%.	38
Tabla 7. Valores del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto etanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%.	42
Tabla 8. Valores del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto hidroalcohólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%.	40
Tabla 9. Valores del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto metanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medias $\pm$ desviación estándar (DE) de los diámetros de halos de inhibición (mm) de diferentes microorganismos frente a extracto etanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.	37
Figura 2. Medias $\pm$ desviación estándar (DE) de los diámetros de halos de inhibición (mm) de diferentes microorganismos frente a extracto hidroalcohólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.	39
Figura 3. Medias $\pm$ desviación estándar (DE) de los diámetros de halos de inhibición (mm) de diferentes microorganismos frente a extracto metanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.	41
Figura 4. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto etanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.	42
Figura 5. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto hidroalcohólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.	43
Figura 6. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto metanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.	44
Figura 7. Campo de cultivo de <i>Fragaria x ananassa</i> en el distrito de Chancay, provincia de Huaral, Lima.	60
Figura 8. Proceso de recolección manual de la muestra.	60
Figura 9. Secado natural de las hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne ex Rozier “Fresa”.	61
Figura 10. Secado de las hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne ex Rozier “Fresa” en la estufa.	61
Figura 11. Molienda de las hojas de <i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne ex Rozier “fresa”.	62
Figura 12. Pesado de la muestra triturada para el proceso de extracción.	63
Figura 13. Medición del volumen del solvente extractor.	63
Figura 14. Proceso de maceración del material vegetal en contacto con el solvente.	63
Figura 15. Filtración del extracto obtenido del macerado.	63
Figura 16. Colocación del extracto etanólico e hidroalcohólico filtrado en bandeja para su concentración.	64
Figura 17. Secado del extracto etanólico e hidroalcohólico a temperatura ambiente para la evaporación del solvente.	64
Figura 18. Transferencia del extracto metanólico filtrado a balón de evaporación para su concentración.	64
Figura 19. Ajuste de la temperatura a 40 °C y presión al vacío aproximada de 360 mbar.	64
Figura 20. Inicio del proceso de evaporación del solvente metanólico bajo presión reducida.	65
Figura 21. Concentración progresiva del extracto metanólico mediante evaporación controlada	

del solvente.	65
Figura 22. Pesado del extracto concentrado.....	65
Figura 23. Almacenamiento de los extractos concentrados en recipientes protegidos de la luz.	65
Figura 24. Obtención de la Fracción A	66
Figura 25. Obtención de la Fracción B.	66
Figura 26. Obtención de la Fracción C.	66
Figura 27. Obtención de la Fracción D.	66
Figura 28. Reacción de identificación para taninos.	67
Figura 29. Reacción de identificación para grupos fenólicos libres.....	67
Figura 30. Reacción de identificación para aminoácidos.....	67
Figura 31. Reacción de identificación para flavonoides.	67
Figura 32. Reacción de identificación para triterpenos y/o esteroides.....	68
Figura 33. Reacción de identificación para alcaloides.	68
Figura 34. Reacción de identificación para leucoantocianinas /catequinas.	68
Figura 35. Reacción de identificación para saponinas.	68
Figura 36. Materiales utilizados para determinar la actividad antimicrobiana	69
Figura 37. Placas con medios selectivos para el crecimiento de los microorganismos utilizados en el ensayo antimicrobiano.....	69
Figura 38. Pesado de los medios Agar Müeller-Hinton y Agar Dextrosa Sabouraud para la preparación de cultivos bacterianos y fúngicos.....	70
Figura 39. Disolución de los medios de cultivo en agua destilada según las indicaciones del fabricante.....	70
Figura 40. Calentamiento y agitación de los medios hasta su completa homogenización.....	70
Figura 41. Esterilización de los medios de cultivo en autoclave a 121 °C y 15 lb de presión. ...	70
Figura 42. Pesado del extracto seco para la preparación de las diferentes concentraciones	71
Figura 43. Resuspensión del extracto en los solventes correspondientes para la obtención de concentraciones al 100 %, 75 %, 50 % y 25 %.	71
Figura 44. Esterilización de asa de siembra en llama de mechero Bunsen dentro de la campana de bioseguridad.	71
Figura 45. Toma de la colonia microbiana con el asa esterilizada desde el medio selectivo.....	71
Figura 46. Transferencia de la cepa al tubo con caldo de enriquecimiento estéril.....	72
Figura 47. Incubación de los cultivos microbianos en estufa a temperatura controlada de 35–37 °C durante un periodo de 18 a 24 horas.	72
Figura 48. Observación macroscópica del crecimiento microbiano evidenciado por la turbidez del medio posterior al periodo de incubación.	72
Figura 49. Ajuste de la concentración del cultivo microbiano al estándar 0,5 de McFarland para la obtención del inóculo estandarizado.	72

Figura 50. Agar Sabouraud/ Müller Hinton mantenido a 40 °C antes de la incorporación del inóculo.....	73
Figura 51. Apertura del frasco con la cepa microbiana dentro de la campana de flujo laminar para garantizar condiciones estériles.....	73
Figura 52. Extracción de 1 mL de inóculo estandarizado utilizando micropipeta estéril.	73
Figura 53. Mezcla homogénea del inóculo con el agar mantenido a 40 °C antes de su vertido en placas de Petri.	73
Figura 54. Señalización de la ubicación de los pocillos sobre la placa de Petri mediante marcación con plumón indeleble en la superficie inferior.....	74
Figura 55. Formación de los pocillos de 6 mm de diámetro en el agar previamente solidificado.	74
Figura 56. Retiro del agar de los pocillos, dejando espacios vacíos para la adición de los extractos.	74
Figura 57. Pocillos sellados en el agar para delimitar el área de aplicación del extracto.	74
Figura 58. Inoculación de los extractos en los pocillos de agar con las muestras a evaluar.	75
Figura 59. Inoculación de los controles positivo y negativo en los pocillos correspondientes...	75
Figura 60. Disposición de múltiples placas mostrando el procedimiento de adición de extractos y controles.....	75
Figura 61. Placas con inóculo durante el tiempo de incubación	75
Figura 62. Tres repeticiones de los halos de inhibición producidos por el extracto etanólico frente a las cepas estudiadas.....	76
Figura 63. Lectura de la actividad antimicrobiana.....	76
Figura 64. Tres repeticiones de los halos de inhibición producidos por el extracto hidroalcohólico frente a las cepas estudiadas.....	76
Figura 65. Tres repeticiones de los halos de inhibición producidos por el extracto metanólico frente a las cepas estudiadas.....	76
Figura 66. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13216. .	77
Figura 67. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.....	77
Figura 68. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	78
Figura 69. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028.....	78
Figura 70. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.	79
Figura 71. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13216.....	79
Figura 72. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

ATCC 9027.....	80
Figura 73. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	80
Figura 74. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028.....	81
Figura 75. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	81
Figura 76. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 13216.....	82
Figura 77. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.....	82
Figura 78. Figura 78. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	83
Figura 79. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028.....	83
Figura 80. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	84

RESUMEN

La presente investigación evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos etanólico, metanólico e hidroalcohólico obtenidos de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier "Fresa"; con el objetivo de determinar su capacidad inhibitoria frente a microorganismos patógenos de importancia clínica.

El estudio fue transversal con diseño experimental. Las hojas se recolectaron en el distrito de Chancay, provincia de Huaral, departamento de Lima. Los extractos se obtuvieron mediante maceración con etanol, alcohol de 70° y metanol como solventes. El screening fitoquímico se realizó siguiendo la metodología de Lock de Ugaz. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión en agar frente a *Escherichia coli* ATCC 13216, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 y *Candida albicans* ATCC 10231. En concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, utilizando ciprofloxacino y fluconazol (0,2 mg/mL) como controles positivos. Los resultados evidenciaron la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides y catequinas. Los extractos etanólico, hidroalcohólico y metanólico a concentración del 75% presentaron halos máximos de 26 mm, 25,3 mm y 24.7 mm frente a *Staphylococcus aureus*, respectivamente. El mayor porcentaje de inhibición relativa (PIR) se observó frente a *Candida albicans* con un 70% para el extracto metanólico y 61,90 % para *S. aureus* con el extracto etanólico.

Se concluye que los extractos de hojas de fresa exhiben una actividad antimicrobiana significativa, frente a *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, destacando el potencial biológico de sus metabolitos secundarios para futuras investigaciones.

Palabras clave: *Fragaria x ananassa*, actividad antimicrobiana, difusión en agar.

ABSTRACT

The present study evaluated the **in vitro** antimicrobial activity of ethanolic, methanolic, and hydroalcoholic extracts obtained from the leaves of *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier "strawberry", with the aim of determining their inhibitory capacity against clinically relevant pathogenic microorganisms.

The study was cross-sectional with an experimental design. The leaves were collected in the district of Chancay, province of Huaral, Lima. The extracts were obtained by maceration using ethanol, 70% ethanol, and methanol as solvents. Phytochemical screening was performed following the methodology described by Lock de Ugaz (1988). Antimicrobial activity was determined using the agar diffusion method against *Escherichia coli* ATCC 13216, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, and *Candida albicans* ATCC 10231, at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%, using ciprofloxacin and fluconazole (0.2 mg/mL) as positive controls.

The results revealed the presence of flavonoids, tannins, alkaloids, steroids, and catechins. The ethanolic, hydroalcoholic, and methanolic extracts at 75% concentration showed maximum inhibition zones of 26 mm, 25.3 mm, and 24.7 mm against *Staphylococcus aureus*, respectively. The highest relative inhibition percentage (RIP) was observed against *Candida albicans* (70%) for the methanolic extract and 61.90% against *S. aureus* for the ethanolic extract.

It is concluded that strawberry leaf extracts exhibit significant antimicrobial activity, particularly against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, highlighting the biological potential of their secondary metabolites for future research.

Keywords: *Fragaria x ananassa*, antimicrobial activity, agar diffusion.

I. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, las enfermedades causadas por microorganismos resistentes a los antibióticos se han incrementado dramática y exponencialmente. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), una de las mayores amenazas para la población está relacionada con la resistencia antimicrobiana (RAM), que podría revertir siglos de avances médicos y dificultar, en ocasiones hasta imposibilitar, el tratamiento de enfermedades como neumonía, tuberculosis, infecciones de vías urinarias y faringoamigdalitis (1).

Este problema está relacionado con varios mecanismos generales de resistencia a los antibióticos, entre los que se incluyen la modificación enzimática del fármaco, el bloqueo de su transporte, la expulsión del antibiótico mediante sistemas de bombeo, la alteración del sitio de acción del antibiótico y la producción de enzimas alternativas (2). Bacterias como *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella spp.* han mostrado altos niveles de resistencia a múltiples generaciones de antibióticos, representando un grave riesgo para la salud (3). Se estima que la resistencia a los antimicrobianos podría causar hasta 10 millones de muertes anuales para el año 2050, subrayando la urgencia de abordar este desafío global. (4)

En la búsqueda de nuevas alternativas, ha surgido un creciente interés en los productos fitoterapéuticos con actividad antimicrobiana (5). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la fitoterapia como la "ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con fines terapéuticos, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico" (6). Aproximadamente el 80% de la población mundial utiliza el conocimiento tradicional para tratar enfermedades, confiando en las propiedades efectivas de las plantas medicinales en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Esta práctica resalta que las plantas son una valiosa fuente de principios activos para el desarrollo de nuevos fármacos. (7)

En este contexto, destaca el uso de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier, comúnmente conocidas como fresas. Esta planta, que pertenece al género *Fragaria* dentro de la familia *Rosaceae*, es un fruto de tipo baya con gran importancia económica y cultural a nivel mundial. La especie híbrida *Fragaria x ananassa* forma parte regular de la dieta de millones de personas y se cultiva en muchos países, desde el Ártico hasta los Trópicos, siendo especialmente prevalente en regiones de clima templado (8).

La planta de fresa es una especie perenne y herbácea, caracterizada por un tallo central llamado corona, del cual emergen hojas, raíces, estolones e inflorescencias. Sus hojas son trifoliadas,

dispuestas en espiral alrededor de la corona, con folíolos ovalados y bordes dentados. La inflorescencia de la fresa es una cima terminal que culmina en una flor primaria, generalmente blanca con cinco pétalos y cinco sépalos. Botánicamente, el fruto de la fresa es un fruto agregado; lo que comúnmente se considera el fruto es en realidad una parte del tallo denominado receptáculo, sobre el cual se insertan los verdaderos frutos conocidos como aquenios (9).

En cuanto a su composición química, las fresas proporcionan una variedad notable de nutrientes, como potasio, manganeso, vitaminas C y E, ácido fólico y carotenoides. Además de estos nutrientes esenciales, las hojas fresas también son una fuente rica en metabolitos secundarios. Los polifenoles, entre los que se incluyen ácidos fenólicos, flavonoides, taninos hidrolizables y lignanos, son los componentes más destacados en esta planta (10).

Los polifenoles constituyen un amplio grupo de fitoquímicos que comparten la característica central de tener al menos un grupo fenol en su estructura química. Estos compuestos son los principales pigmentos en frutas, vegetales y cereales, y desempeñan diversas funciones en las plantas, como atraer polinizadores, proteger contra la radiación ultravioleta y defenderse de contaminaciones virales y microbianas (11).

Cada familia de polifenoles incluye una amplia variedad de compuestos, los cuales se distinguen por la posición y el número de grupos hidroxilos, así como por los diferentes grupos funcionales presentes, como metilos, azúcares y ácidos orgánicos (12). Los ácidos fenólicos, por ejemplo, se dividen en dos subgrupos principales: ácidos benzoicos y ácidos cinámicos, junto con sus derivados. Entre los derivados más importantes del ácido benzoico se encuentran los ácidos gálico y elágico, que están presentes en diversas bayas y nueces. En contraste, los derivados más comunes del ácido cinámico son los ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico; de estos, el ácido cafeico, que se encuentra en el café y en la mayoría de las frutas, es el ácido fenólico más abundante (13).

Por otro lado, los flavonoides se subdividen en ocho subgrupos principales: flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles (12). Además, los taninos hidrolizables se descomponen fácilmente por la acción de ácidos, bases o enzimas, generando un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. Según el tipo de ácido producido, se subdividen en galotaninos, que contienen ácido gálico, y elagitaninos, que contienen ácido elágico (13). Finalmente, los lignanos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se cree que actúan como fitoalexinas, generando un mecanismo de protección contra enfermedades y plagas tanto de bacterias como de hongos (14).

Actualmente, la investigación sobre las funciones fisiológicas de los compuestos presentes en las plantas de fresa es un campo en expansión, impulsado por sus potenciales beneficios para la salud humana. Diversos estudios han demostrado que los frutos de fresa contienen polifenoles, ácidos

fenólicos y flavonoles, cuya ingesta elevada está estrechamente asociada con una menor incidencia de enfermedades cancerosas, enfermedades relacionadas con la inflamación, incluidas las enfermedades cardiovasculares, el Alzheimer y la diabetes tipo II (10).

Aparte de la fruta, las hojas de fresa se consideran una fuente potencialmente barata, renovable y abundante de componentes bioactivos. Estas hojas, ricas en compuestos como la quercetina, derivados de kaempferol, ácido cafeico, ácido clorogénico y elagitaninos, tienen potencial para diversas aplicaciones biológicas. Recientemente, se ha descubierto que la actividad antioxidante de las hojas de fresa es considerablemente mayor que la de las bayas. Además, se ha encontrado que el extracto etanólico de las hojas de fresa exhibe efectos antidiabéticos, antioxidantes, antiinflamatorios y anti-apoptóticos (15).

Las hojas de fresa han atraído considerable interés debido a su potencial como fuente de metabolitos bioactivos para la formulación de suplementos alimenticios y productos farmacéuticos. En particular, los elagitaninos destacan como compuestos de gran relevancia. Recientemente, se ha descubierto que las fracciones enriquecidas en elagitaninos podrían actuar como agentes terapéuticos prometedores contra el carcinoma hepatocelular (16).

Los elagitaninos, un tipo de tanino hidrolizable, se descomponen en ácido elágico bajo condiciones ácidas o básicas. Tanto el ácido elágico como los elagitaninos ofrecen múltiples beneficios para la salud, actuando como antioxidantes y agentes antivirales. Además, se ha comprobado que estos compuestos tienen un efecto preventivo contra varios tipos de cáncer, incluyendo los de colon, pulmón, esófago y próstata (17).

Desde la perspectiva de la medicina tradicional, el consumo de hojas de fresa desempeña un papel importante en el tratamiento de la gastroenteritis y la diarrea leve, en el fortalecimiento del corazón y el sistema circulatorio, así como en los trastornos metabólicos para "mejorar el metabolismo" y "purificar la sangre". La eficacia de estas recomendaciones no está suficientemente documentada, por lo que su aplicación terapéutica es actualmente limitada (18). Sin embargo, se han reportado varios beneficios para la salud derivados de su uso. Los estudios han demostrado que las hojas de fresa inhiben la proliferación de células humanas de leucemia (HL60) y células de carcinoma hepatocelular (Hep-G2). También se ha observado que ayudan a aliviar el deterioro cognitivo asociado con la diabetes en modelos animales, presentan efectos hipoglucémicos y tienen un potencial analgésico. Además, se utilizan en aplicaciones cosméticas (11).

Curiosamente, estudios recientes han ampliado el espectro de beneficios de las hojas de fresa al revelar su potencial en aplicaciones antimicrobianas. Se ha demostrado que el extracto de hoja de fresa tiene acción antibacteriana contra *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella choleraesuis* y *Micrococcus luteus* (11). Además, los extractos fenólicos de fresa han mostrado capacidad para inhibir el crecimiento de *Candida albicans* (19).

De acuerdo con lo mencionado previamente, en el ámbito internacional se identifican diversos antecedentes que sustentan la presente investigación:

Khan I et al. (20) en su investigación titulada “Actividades antioxidantes, citotoxicidad, inhibición de la proteína quinasa y antibacterianas de las hojas de *Fragaria x ananassa*”, tuvieron como objetivo evaluar el efecto de diferentes disolventes en la obtención de extractos de hojas de *Fragaria* × *ananassa* y su influencia sobre diversas actividades biológicas. Para ello, utilizaron hojas recolectadas e identificadas taxonómicamente, las cuales fueron secadas, pulverizadas y sometidas a procesos de extracción mediante maceración en frío, empleando disolventes de diferente polaridad, tanto de manera individual como en combinación. Los extractos obtenidos fueron posteriormente filtrados y concentrados para su evaluación mediante ensayos *in vitro*.

Los resultados demostraron que las actividades biológicas variaron significativamente según el disolvente empleado. En la evaluación de la actividad antioxidante, se observó que la combinación de metanol y acetato de etilo exhibió el mayor potencial antioxidante y reductor, con valores de $207,65 \pm 6$ µg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) por miligramo y $88,58 \pm 20$ µg EAA/mg, respectivamente. Además, la máxima eliminación de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picrilo hidrazilo) se logró con las fracciones de metanol: cloroformo y acetato (87,68% y 86,68%, respectivamente). El contenido de fenoles totales y flavonoides también mostró variaciones significativas entre los distintos solventes. En relación con la actividad citotóxica, el extracto con mayor efecto contra las larvas de camarón salobre fue el preparado con etanol: n-hexano (50 µg/ml) con una LD50 destacada.

Para la evaluación de la actividad antibacteriana, los extractos fueron ensayados frente a diversas cepas bacterianas, entre ellas *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bordetella bronchiseptica*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. y *Salmonella typhi*, mediante el método de difusión en agar, utilizando cefixima como control positivo y dimetilsulfóxido como control negativo. La mayoría de las fracciones evaluadas evidenciaron actividad antibacteriana frente a las cepas analizadas; sin embargo, las fracciones acuosas, etanol: n-hexano, metanol: cloroformo y acetona: agua no mostraron efecto inhibitorio.

En conclusión, el estudio subraya el potencial de estas hojas como una fuente valiosa para el aislamiento de fitoquímicos activos con aplicaciones en diversas industrias.

Liya et al. (21) en su estudio titulado “Determinación de la actividad antimicrobiana de algunas frutas comerciales (manzana, papaya, limón y fresa) contra bacterias causantes de infección del tracto urinario”, tuvieron como objetivo identificar alternativas a los antibióticos convencionales mediante la evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de frutas comerciales. Para ello, emplearon extractos metanólicos y etanólicos obtenidos mediante la técnica de extracción Soxhlet, los cuales fueron evaluados frente a cinco cepas bacterianas asociadas a infecciones del tracto urinario: *Escherichia coli* (ATCC 15922 y 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC

27853), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y *Klebsiella pneumoniae*.

La actividad antimicrobiana fue determinada mediante el método de difusión en agar, utilizando ciprofloxacino como control positivo y agua destilada esterilizada como control negativo. Los resultados indicaron que los extractos de limón y fresa exhibieron un efecto inhibitorio notable frente a las bacterias evaluadas, observándose que los extractos etanólicos presentaron una mayor actividad antimicrobiana en comparación con los extractos metanólicos en ambas frutas. Asimismo, los extractos de limón mostraron halos de inhibición superiores a los de fresa; sin embargo, los extractos etanólicos de esta última también evidenciaron actividad antimicrobiana, registrando una zona de inhibición de $16,33 \pm 0,58$ mm frente a *Pseudomonas aeruginosa* y de $13,33 \pm 0,58$ mm frente a *Klebsiella pneumoniae*. En conclusión, los autores sugirieron que, dada su eficacia contra bacterias multirresistentes, el limón y la fresa podrían ser considerados como agentes antimicrobianos en el tratamiento de infecciones urinarias.

Ginting et al. (22) en su investigación titulado “Estudio de la actividad antibacteriana del extracto de etanol de hojas de fresa (*Fragaria x ananassa* (Weston) Rozier) contra la bacteria *Propionibacterium acnés*” analizaron el potencial antibacteriano del extracto etanólico de hojas de fresa frente a *Propionibacterium acnés*, microorganismo asociado al desarrollo del acné.

El estudio se desarrolló bajo un enfoque experimental y empleó la técnica de maceración con etanol al 70 % para la obtención de los extractos, los cuales fueron sometidos a análisis fisicoquímicos, cribado fitoquímico y evaluación antimicrobiana mediante el método de difusión en disco a diferentes concentraciones (10 %, 12 % y 14 %). Los resultados evidenciaron la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas en las hojas de fresa. Asimismo, el extracto mostró un claro efecto inhibidor sobre el crecimiento de la bacteria *Propionibacterium acnes*. La concentración más efectiva fue del 14%, que produjo el mayor diámetro de zona de inhibición, con 19.08 mm. En conclusión, los autores demostraron que el extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* tiene una fuerte actividad antibacteriana contra *Propionibacterium acnés*.

Cerviño et al. (23) en el estudio denominado “Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos de hojas de diferentes cultivares de *Fragaria ananassa* Duch. para la formulación de bioinsumos fitosanitarios” evaluaron la capacidad de extractos de hojas de distintos genotipos de *F. ananassa* para inhibir el crecimiento de microorganismos fitopatógenos con potencial uso en formulaciones de bioinsumos. En el estudio, se obtuvieron extractos metanólicos y acuosos mediante maceración a partir de hojas de los genotipos “San Andreas” (SA), “Benicia” (BE), “Camarosa” (CA), “Camino Real” (CR) y “Merced” (ME). La actividad antimicrobiana de dichos extractos fue evaluada frente a bacterias (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* y *Xanthomonas citri* subsp. *citri*) y hongos (*Penicillium digitatum* y *Corynespora cassiicola*) mediante la determinación de la concentración efectiva 50 (CE50), definida como la concentración necesaria para inhibir el 50 % del crecimiento microbiano, a través de curvas dosis-

respuesta en medio líquido. Los resultados indicaron que los extractos metanólicos (EM) presentaron mayor eficacia frente a bacterias que frente a hongos, mientras que los extractos acuosos (EA) mostraron sensibilidad similar para ambos tipos de microorganismos. Los valores promedio de CE50 para los EA oscilaron entre 0,46 y 6,3 mg /ml para bacterias y entre 1,6 y 11,8 mg/ml para hongos. En contraste, los valores de CE50 para los EM varían de 0,81 a 5,71 mg/ml para bacterias y de 10,2 a 31,4 mg/ml para hongos. En resumen, la investigación evidenció actividad antimicrobiana en todos los genotipos evaluados.

Elfeky et al. (24) en la investigación presentada como “Evaluación de la eficacia de extractos de hojas de *Fragaria ananassa* como agentes antibacterianos frente a bacterias resistentes a múltiples fármacos” evaluaron la capacidad de extractos de hojas de fresa, como agentes antibacterianos frente a bacterias resistentes a múltiples fármacos (MDR).

Para ello, se prepararon extractos utilizando distintos disolventes orgánicos (metanol, etanol, acetona y acetato de etilo), y cada extracto se dividió en dos porciones: una se esterilizó en autoclave [AE] y la otra se mantuvo sin tratamiento térmico [NAE]. La actividad antibacteriana fue determinada mediante el ensayo de difusión en pocillos de agar, y se comparó la eficacia entre AE y NAE, estableciendo además la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). Los resultados evidenciaron que la acetona y el etanol fueron los disolventes más eficaces, generando zonas de inhibición de 26 mm y 25 mm, respectivamente. Además, la esterilización incrementó significativamente la actividad antibacteriana, con una CMI de 2 mg/mL y una CMB de 4 mg/mL para AE, mientras que los valores para NAE fueron de 8 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente. Estos hallazgos demostraron que el tratamiento térmico potencia el efecto antibacteriano de los compuestos bioactivos de las hojas de fresa. Finalmente, los investigadores concluyeron que las hojas de fresa son efectivos como terapia alternativa contra bacterias resistentes a múltiples fármacos.

Hamad et al. (25) en su estudio titulado "Síntesis verde de nanopartículas de cobre a partir de hojas de fresa: propiedades, acción anticancerígena y actividad frente a bacterias aisladas de pacientes con COVID-19" evaluaron la eficacia de las nanopartículas de cobre (NPs), obtenidas mediante el extracto acuoso de hojas de fresa. El estudio analizó dos aspectos principales: primero, el efecto de las NPs sobre células cancerosas de carcinoma de laringe (línea celular HEP-2), y segundo, su capacidad para inhibir el crecimiento de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes con COVID-19. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en pozo de agar. Los resultados evidenciaron que las NPs inhibieron significativamente el crecimiento de las células cancerosas HEP-2, con una tasa de inhibición del 44,08%, mientras que las células normales de hígado (WRL-68) solo fueron afectadas en un 5,99%, lo que indica que actúan principalmente sobre células malignas. En cuanto a la actividad antibacteriana, las Cu NPs generaron un halo de inhibición de 22 mm frente a *S. aureus* y 12 mm frente a *P. aeruginosa*, indicando que las bacterias Gram positivas fueron más

sensibles que las Gram negativas. Los autores señalaron que esta diferencia podría deberse a variaciones en la composición de las paredes celulares bacterianas y destacaron que el efecto antimicrobiano podría implicar múltiples mecanismos, incluyendo la interacción de los iones de cobre con las membranas bacterianas y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan el ADN y las estructuras celulares de los microorganismos. En conclusión, los investigadores refuerzan la relevancia de las hojas de fresa como fuente de compuestos con actividad antimicrobiana.

En el ámbito nacional, se identifican diversos antecedentes que respaldan la presente investigación, centrados en la actividad antimicrobiana de extractos de hojas de *Fragaria × ananassa* frente a bacterias y hongos de interés sanitario:

Rivera et al. (26) en su tesis titulada “Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*” tuvieron como objetivo demostrar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *F. x ananassa* frente a estas bacterias. Los resultados mostraron que, frente a *S. aureus*, los extractos a concentraciones del 50%, 75% y 100% produjeron halos de inhibición de $19,71 \pm 0,06$ mm, $20,43 \pm 0,06$ mm y $22,44 \pm 0,06$ mm, respectivamente. Para *E. coli*, los halos de inhibición fueron de $12,26 \pm 0,06$ mm, $14,15 \pm 0,06$ mm y $16,68 \pm 0,06$ mm para las mismas concentraciones. Aunque la actividad antibacteriana de los extractos fue menor que la del ciprofloxacino, el estudio evidenció que las hojas de *F. x ananassa* poseen compuestos con efecto inhibitorio sobre *S. aureus* y *E. coli*. Los autores concluyeron que el extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. ("fresa") exhibió actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Llontop et al. (27) en su investigación titulado “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” determinaron el potencial antibacteriano y antifúngico del extracto de fresa. Para ello, utilizaron la técnica de maceración en frío para la extracción de los compuestos bioactivos, y la actividad microbiológica lo evaluaron mediante la técnica de difusión en pozo, utilizando ciprofloxacino como control positivo para *S. aureus* y nistatina para *C. albicans*. Los resultados mostraron que el extracto produjo halos de inhibición crecientes con el aumento de la concentración. En el caso de *S. aureus*, los diámetros de inhibición fueron de 26,53 mm ($\pm 0,38$), 30,83 mm ($\pm 0,24$) y 33,49 mm ($\pm 0,31$) a concentraciones del 50%, 75% y 100%, respectivamente. Para *C. albicans*, los halos de inhibición fueron de 30,68 mm ($\pm 0,40$), 32,73 mm ($\pm 0,29$) y 36,11 mm ($\pm 0,33$) a las mismas concentraciones. En conclusión, los investigadores determinaron que el extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. ("fresa") mostró una actividad microbiológica significativa in vitro contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Acosta et al. (28) en el estudio titulado “Actividad antibacteriano del extracto etanólico de *Fragaria X ananassa* Duch. (fresa) frente a *Escherichia coli* ATCC 10231” plantearon como objetivo demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas de fresa frente a *E. coli*. El trabajo de estudio se basó en un diseño experimental *in vitro*, y la técnica empleada fue la maceración y difusión en pozo. El análisis fitoquímico del extracto evidenció una cantidad abundante de compuestos fenólicos, una cantidad moderada de flavonoides, y taninos y alcaloides en cantidad escasa. Los resultados mostraron halos de inhibición de 13,64 mm, 17,02 mm y 17,82 mm a concentraciones de 50%, 75% y 100%, respectivamente, indicando actividad antibacteriana frente a *E. coli*. No obstante, al compararse con el ciprofloxacino, el antibiótico de referencia presentó un efecto superior en todas las concentraciones evaluadas. En conclusión, los autores determinaron que el extracto etanólico de hojas de *F. × ananassa* posee actividad antibacteriana significativa frente a *E. coli*, aunque menor en comparación con el antibiótico de referencia.

Rodríguez (29) en la tesis titulada “Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Fragaria ananassa* "fresa" sobre *Microsporum gypseum*” tuvo como objetivo evaluar el efecto antifúngico *in vitro* del extracto etanólico de *F. × ananassa* sobre *Microsporum gypseum*, un hongo dermatofito responsable de micosis superficiales que afectan piel, cabello y uñas.

El método consistió en un estudio experimental *in vitro*, en el cual se preparó el extracto etanólico de *F. × ananassa* en concentraciones del 5%, 25%, 50% y 75%. Se utilizaron el método de Kirby-Bauer y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para evaluar la actividad antifúngica. Se establecieron dos grupos: un grupo experimental tratado con las distintas concentraciones del extracto y un grupo control positivo con fluconazol, realizando 13 repeticiones por cada grupo. Los hallazgos indicaron que el extracto etanólico al 75% de concentración generó un halo de inhibición de 28,1 mm, mientras que el control con fluconazol produjo un halo de 14,7 mm, evidenciando que el extracto presenta un efecto antifúngico significativo. En consecuencia, el estudio demostró que el extracto etanólico de hojas de *F. × ananassa* posee actividad antifúngica *in vitro*, lo que respalda su potencial como fuente de compuestos bioactivos con propiedades antifúngicas.

Loayza (30) en su tesis titulada “Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Fragaria ananassa* (fresa) frente a *Streptococcus mutans*”, tuvo como finalidad determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de fresa frente a *S. mutans*, bacteria implicada en la formación de caries dental y en el deterioro de la salud oral.

El estudio se desarrolló mediante un diseño experimental *in vitro*, en el cual se manipuló la concentración del extracto etanólico como variable independiente para evaluar su efecto sobre *S. mutans*. Se prepararon extractos a concentraciones del 25%, 50% y 75%, y se empleó la técnica de difusión en pozo, que permite medir la zona sin crecimiento bacteriano alrededor del pozo

impregnado con el extracto como indicador de actividad antibacteriana. Como instrumento de recolección de datos se utilizó una ficha estandarizada, y la interpretación de los resultados se realizó mediante la escala de Duraffourd, un sistema de evaluación microbiológica que clasifica la sensibilidad bacteriana basándose en el diámetro del halo de inhibición (en mm) según su intensidad de actividad: débil, moderada o fuerte. Para determinar si las diferencias entre concentraciones eran estadísticamente significativas, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba post hoc de Tukey. Los resultados mostraron que, a las 24 horas de exposición, el extracto al 75% produjo un halo de inhibición de 15,96 mm, indicando una alta sensibilidad de *S. mutans*. La concentración del 50% generó un halo de 15,12 mm, también considerado muy sensible, aunque su efecto disminuyó a las 48 y 72 horas, mostrando diferencias significativas según el análisis estadístico. La concentración del 25% produjo un halo de 8,84 mm, clasificado como resistente, con tendencia a disminuir aún más a las 48 y 72 horas. Estos resultados evidencian que la actividad antibacteriana del extracto es dependiente de la concentración, y que las diferencias observadas entre tratamientos y tiempos son estadísticamente significativas, respaldando la confiabilidad de los hallazgos.

De manera complementaria, se identifican estudios que, si bien no evalúan directamente la actividad antimicrobiana de hojas de *Fragaria × ananassa*, aportan información relevante sobre los compuestos bioactivos, la composición fitoquímica y otras propiedades biológicas de extractos de fresa, los cuales fortalecen la base científica del presente estudio:

Martinelli et al. (31) en el estudio titulado “Investigación de los elagitaninos de la fresa (*Fragaria × ananassa* Duch.) como nueva estrategia para contrarrestar la infección y la inflamación por *H. pylori*” tuvieron como objetivo determinar su actividad antiinflamatoria del extracto de *Fragaria × ananassa* Duch. y elagitaninos puros, agrimoniina y casuarictina, sobre la inflamación mediada por TNF α (Factor de Necrosis Tumoral alfa) y la infección por *H. pylori*, así como su efecto antibacteriano.

Se realizaron dos experimentos paralelos: primero, se trató un extracto de fresa en células epiteliales gástricas humanas (GES-1) estimuladas con TNF α o infectadas con cepas de *H. pylori* que expresaban o no el factor de virulencia cagA, gen asociado con mayor capacidad de inducir inflamación y riesgo de gastritis y cáncer gástrico. Segundo, los elagitaninos puros se evaluaron por separado en el mismo modelo celular y frente a las mismas cepas, para determinar su contribución específica a la actividad observada. La actividad antiinflamatoria se evaluó mediante la liberación de IL-6 e IL-8 (citocinas proinflamatorias que median la respuesta inmune) y la modulación de NF-K κ B (factor nuclear que regula genes inflamatorios y de supervivencia celular). La actividad antibacteriana se determinó mediante ensayos de inhibición y concentración mínima inhibitoria (CMI). Los resultados indicaron que, en células GES-1 estimuladas con TNF α , ambos

elagitaninos mostraron perfiles antiinflamatorios similares. No obstante, frente a la infección por *H. pylori*, que induce una respuesta inflamatoria más compleja, la agrimoniina presentó un efecto más completo, inhibiendo la inflamación independientemente de la presencia de *cagA*.

La actividad antibacteriana frente a la cepa *cagA*⁺, más virulenta, se observó con el extracto de fresa (CMI: 125 µg/mL) y los elagitaninos puros (CMI: 25 µM para agrimoniina y 50 µM para casuarictina), mientras que frente a la cepa *cagA*⁻ solo el extracto y la agrimoniina mostraron efecto a la concentración más alta, siendo la casuarictina no efectiva. En conclusión, los autores demostraron que el extracto de fresa y los elagitaninos puros presentan actividad antiinflamatoria y antibacteriana *in vitro* frente a *H. pylori*.

Kačániová et al. (32) en su trabajo de investigación titulado “Actividad antibacteriana e insecticida *in vitro* e *in situ* del aceite esencial de *Fragaria ananassa*” tuvieron como objetivo evaluar su efecto frente a bacterias grampositivas, como *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus larvae* y *Listeria ivanovii*, y gramnegativas, entre ellas *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y *Shigella sonnei*, así como su potencial insecticida sobre *Megabruchidius dorsalis*. Para ello, los autores realizaron ensayos que permitieron medir la inhibición del crecimiento bacteriano y la mortalidad del insecto bajo distintas concentraciones del aceite esencial. Los resultados evidenciaron una actividad antibacteriana significativa, especialmente frente a *P. larvae*, además de presentar actividad insecticida a concentraciones elevadas. Estos hallazgos confirman que *F. ananassa* contiene compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana.

Haria et al. (33) en su artículo de investigación titulado “El potencial inhibidor del extracto de fresa (*Fragaria x ananassa*) frente a *Staphylococcus aureus*: implicaciones para la prevención de la caries dental”. Los autores buscaron determinar el potencial inhibidor del extracto de fresa frente a *Staphylococcus aureus*, considerando su implicancia en la prevención de la caries dental, dado que esta bacteria puede contribuir al desarrollo y progresión de la enfermedad cariogénica en la cavidad oral. El estudio se realizó bajo un diseño experimental de laboratorio con grupo control post-test. Se prepararon diferentes concentraciones del extracto de fresa (10%, 15%, 20% y 25%) y se evaluó su actividad antibacteriana mediante el método de difusión en disco frente a *S. aureus*, utilizando agua destilada como control negativo. Tras 24 h de incubación a 37 °C, se midieron los diámetros de los halos de inhibición. Los resultados mostraron que a concentraciones de 15%, 20% y 25% del extracto produjeron halos de inhibición de aproximadamente 0,54 mm, 2,30 mm y 3,00 mm, respectivamente, mientras que la concentración de 10% y el control negativo no presentaron inhibición. Estos hallazgos evidencian que el extracto de fresa posee actividad antibacteriana *in vitro*, destacando su potencial para la prevención de enfermedades bucales asociadas a *S. aureus*.

Moya et al. (34) en su tesis titulada “Actividad fotoprotectora de una formulación tópica a base

de extracto hidroalcohólico del fruto de *Fragaria vesca* L.” tuvieron como objetivo evaluar la actividad fotoprotectora del extracto hidroalcohólico del fruto de fresa y describir sus principales componentes fitoquímicos. El estudio se desarrolló mediante un diseño experimental *in vitro*, en el cual el extracto fue obtenido por filtración y posterior evaporación del solvente, realizándose pruebas preliminares para la identificación de metabolitos secundarios. Los autores reportaron que el extracto hidroalcohólico del fruto de *Fragaria vesca* L. presentó como principales metabolitos secundarios a los compuestos fenólicos, taninos y flavonoides. Asimismo, determinaron el contenido total de polifenoles, expresado como equivalentes de ácido gálico (GAE), con un valor de 15,150 mg por gramo de pulpa de fresa. No se evidenció la presencia de antocianinas en el extracto seco. La actividad antioxidante, evaluada mediante el ensayo DPPH, mostró un porcentaje de captación de radicales libres del 81,22%. En cuanto a la evaluación fotoprotectora, la formulación tópica elaborada con extracto hidroalcohólico al 5% presentó un factor de protección solar (FPS) de 12,05, lo que evidenció la presencia de compuestos con capacidad fotoprotectora frente a la radiación UVA y UVB. En conclusión, los autores demostraron que el fruto de *Fragaria vesca* L. contiene metabolitos secundarios, principalmente compuestos fenólicos y flavonoides, que confieren actividad antioxidante y fotoprotectora.

A partir de los antecedentes expuestos, resulta pertinente abordar la situación del cultivo de *Fragaria x ananassa* en el contexto nacional.

En nuestro país, el cultivo de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier (fresa) se realiza principalmente en zonas templadas, especialmente en las regiones de Lima y La Libertad, para el consumo humano. Sin embargo, las partes aéreas de la planta, como las hojas, a menudo se descartan. A pesar de ello, estudios previos han demostrado que las hojas poseen una actividad antioxidante significativa, así como otras propiedades farmacológicas, incluyendo efectos analgésicos, hipoglucémicos y potenciales aplicaciones en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer.

En este contexto, y con el objetivo de lograr un aprovechamiento integral del cultivo de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier, surge la siguiente pregunta de investigación:

“¿Existe actividad antimicrobiana *in vitro* el extracto etanólico, metanólico e hidroalcohólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier (fresa)?”

Para abordar esta pregunta, se realizaron diversas pruebas con microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Candida albicans*.

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram-positiva que pertenece al género *Staphylococcus*, conocido por su agrupación en racimos similares a uvas. Este patógeno oportunista es relevante tanto en ambientes hospitalarios como en la comunidad y puede causar una amplia gama de infecciones, incluyendo infecciones de la piel y mucosas, infecciones respiratorias, osteoarticulares, bacteriemias, endocarditis y complicaciones relacionadas con técnicas invasivas.

Además, puede provocar infecciones mediadas por toxinas, como el síndrome de shock tóxico (TSST), caracterizado por fiebre alta, vómitos, diarrea, hipotensión, fallo renal, erupciones cutáneas e incluso la muerte. También puede causar el síndrome de la piel escaldada, que se manifiesta como una descamación del epitelio en recién nacidos y lactantes. La alta variabilidad de *S. aureus*, su capacidad para adaptarse rápidamente a cambios en el entorno y su continua adquisición de mecanismos de resistencia antibiótica lo han convertido en un problema persistente en hospitales, donde las cepas resistentes a la meticilina (SARM) son particularmente preocupantes, extendiéndose también a la comunidad y generando infecciones nosocomiales a nivel mundial (35).

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram-negativo aerobio, considerado un patógeno oportunista altamente versátil. Capaz de tolerar bajas concentraciones de oxígeno y sobrevivir en condiciones de bajos nutrientes y temperaturas variables (4 a 42°C), puede causar neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias. En pacientes con fibrosis quística, es responsable de infecciones crónicas que pueden llevar a daño pulmonar severo e insuficiencia respiratoria. Las infecciones por *P. aeruginosa* son difíciles de erradicar debido a su elevada resistencia intrínseca y a su capacidad para adquirir resistencia a múltiples antibióticos (36).

Escherichia coli (*E. coli*) son bacilos Gram-negativos anaerobios facultativos que residen mayoritariamente en el tracto intestinal de humanos y animales de sangre caliente, donde coexisten de manera inofensiva. Sin embargo, algunas cepas de *E. coli* son causantes de infecciones graves en humanos y animales. En humanos, es una de las principales causas de enteritis, infecciones del tracto urinario (ITU) tanto en la comunidad como en hospitales, septicemia, peritonitis postquirúrgica y meningitis neonatal. La transmisión ocurre principalmente por vía fecal-oral, con alimentos y agua contaminados como medios de propagación (37). Algunas cepas de *E. coli* que causan síntomas graves incluyen la enterotoxigénica (ETEC), la enterohemorrágica (EHEC), la enteroinvasiva (EIEC), la enteropatógena (EPEC), la enteroagregativa (EAEC) y la de adherencia difusa (DAEC). La flexibilidad genética y la capacidad de adaptación de *E. coli* le permiten adquirir mecanismos de resistencia a antimicrobianos, lo que sirve como un indicador importante de presión selectiva y de la aparición de resistencia en patógenos (38).

Salmonella es un bacilo Gram-negativo que actúa como patógeno intracelular facultativo, presente en el intestino de personas y animales sanos. Las heces de estos hospedadores son el principal foco de contaminación de alimentos y agua. Cuando *Salmonella* contamina alimentos frescos, puede multiplicarse rápidamente y causar salmonelosis, una infección gastrointestinal. La epidemiología de las infecciones por *Salmonella* varía según el tipo de *Salmonella spp.*. La fiebre tifoidea, causada por *Salmonella enterica serotipo Typhi* (*S. Typhi*), se transmite a través de agua y alimentos contaminados (39). Una vez ingerida, *S. Typhi* se multiplica y pasa al torrente sanguíneo, causando fiebre alta prolongada, cansancio, cefaleas, náuseas, dolor abdominal y

estreñimiento o diarrea, y en algunos casos, erupciones cutáneas. Esta enfermedad puede llevar a complicaciones graves y a la muerte, especialmente en comunidades de países con menos recursos. Aunque la fiebre tifoidea se trata con antibióticos, la resistencia emergente de las cepas de *S. Typhi* requiere el uso de medicamentos más caros y difíciles de conseguir en muchas regiones afectadas (40).

Por último, las especies del género *Candida* son hongos levaduriformes que viven como comensales en la piel y mucosas de individuos inmunocompetentes, así como en sistemas gastrointestinales, respiratorios y genitourinarios. Aunque *Candida* es el hongo más común en infecciones fúngicas en pacientes críticos, las infecciones sistémicas requieren un aumento significativo en la cantidad de levaduras (41). *Candida albicans* es un patógeno oportunista que puede causar infecciones mucocutáneas debilitantes y sistémicas potencialmente mortales en personas inmunocomprometidas. Responsable de infecciones dolorosas como vaginitis y candidiasis orofaríngea, *C. albicans* también puede provocar infecciones graves en el torrente sanguíneo y órganos internos en pacientes vulnerables (42). El tratamiento de la candidiasis puede ser tópico o sistémico, con el fluconazol como uno de los antifúngicos más utilizados, aunque su eficacia está disminuyendo debido a la resistencia emergente de *C. albicans* (43).

En un contexto de creciente preocupación por la resistencia bacteriana, es crucial explorar fuentes naturales de posibles agentes antimicrobianos. En este sentido, las hojas de fresa se han destacado como una alternativa prometedora debido a su efecto antibacteriano. Según la investigación de Martos *et al.*, el elagitánico HeT obtenido de las hojas de fresa fue estudiado para evaluar su influencia en la integridad de la membrana celular bacteriana y su impacto en la respiración celular. Mediante análisis espectroscópicos y espectroquímicos, se demostró que HeT inhibe el consumo de oxígeno y la reducción de NADH y MTT (metiltiazol tetrazolio), lo que sugiere una inhibición en la cadena respiratoria de las membranas bacterianas (44).

Con base en estos hallazgos, la presente investigación tiene como propósito determinar el efecto antimicrobiano del extracto de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier, utilizando diferentes solventes y concentraciones. Los resultados de este estudio no solo permitirán aprovechar los residuos naturales de las hojas de esta especie, que se generan en las agroindustrias, sino que también podrían proporcionar una fuente potencial de metabolitos secundarios para aplicaciones en los sectores industrial, alimenticio y farmacéutico. A pesar de su potencial, estos residuos son comúnmente desechados en la cadena productiva, perdiendo así su valor económico y comercial.

Además, la investigación busca ofrecer una alternativa económica para combatir las principales infecciones microbianas actuales, que representan un creciente problema de salud pública debido a la resistencia bacteriana. Esta solución de bajo costo podría contribuir significativamente a la

lucha contra las infecciones y promover un desarrollo económico más sostenible en el sector. Por ello, el objetivo general establecido fue evaluar actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico, metanólico e hidroalcohólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”.

Mientras que los objetivos específicos fueron:

- Identificar la presencia de metabolitos secundarios del extracto etanólico, metanólico e hidroalcohólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa” que serán responsables de la actividad antimicrobiana.
- Determinar actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico, metanólico e hidroalcohólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”
- Determinar actividad antimicótica *in vitro* del extracto etanólico, metanólico e hidroalcohólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”.

Hipótesis de investigación:

Existe actividad antimicrobiana *in vitro* en el extracto etanólico, metanólico e hidroalcohólico de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”.

El informe se organizó en varios capítulos que abordan diferentes aspectos de la investigación. El primer capítulo presenta la introducción, estableciendo el contexto y los objetivos del estudio. El segundo capítulo detalla la estrategia metodológica, explicando de manera exhaustiva cómo se llevó a cabo la investigación. A continuación, el tercer capítulo expone los resultados, incluyendo las tablas con los datos recopilados durante el estudio. El cuarto capítulo está dedicado a la discusión, donde se analizaron, compararon e interpretaron los resultados obtenidos. El quinto capítulo expone las conclusiones, formuladas en base a los objetivos propuestos. En el sexto capítulo se encuentran las recomendaciones, que ofrecen sugerencias basadas en los hallazgos del estudio. Finalmente, el séptimo capítulo incluye las referencias bibliográficas utilizadas en el desarrollo e la tesis.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Enfoque, diseño y tipo de la investigación

El estudio de investigación presentó un enfoque cuantitativo, del cual, a través de la utilización de técnicas estadísticas se realizó la recolección de resultados con el propósito de interpretar el fenómeno analizado (45).

Por otro lado, el diseño de investigación fue experimental y de nivel explicativo debido a que las variables son manipuladas por el investigador durante el desarrollo, con la finalidad de comprobar la hipótesis planteada (46).

El tipo de estudio fue prospectivo puesto que los datos son recogidos a propósito de la investigación; transversal, porque se llevó a cabo en una sola ocasión; y descriptiva, porque solo se estimó los parámetros en la población de estudio a partir de una muestra (47).

2.2. Población y muestra

Población

- **Población vegetal:** Hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”; procedente del Distrito de Chancay, provincia Huaral, departamento de Lima.
- **Población biológica:** *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Candida albicans*.

Muestra

- **Muestra biológica:** Cepas estandarizadas proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de Ica.
- **Muestra Vegetal:** 5 kg de hojas *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier.

2.3. Técnicas y procedimientos de recolección de datos.

2.3.1. Recolección de material y vegetal.

Para la presente investigación, se recolectó las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier; proveniente del distrito Chancay, provincia Huaral (departamento de Lima), a una altitud de 500 msnm. Previamente se prepararon unas bolsas de papel Kraft para trasladar el material vegetal a la ciudad de Ica.

La recolección se realizó durante horas de la mañana y; se seleccionaron hojas en buen estado de conservación, sin picaduras, ni signos de deterioro por hongos y/o insectos.

2.3.2. Tratamiento del material vegetal.

- **Lavado:** Se procedió a lavarlas con abundante agua y después con agua destilada, para eliminar el polvo presente en las hojas de fresa.
- **Desecación:** "Las hojas limpias, colocadas sobre papel Kraft, se dejaron reposar en

una mesa durante aproximadamente dos semanas. Una vez completado el secado natural, se trasladaron a una estufa y se secaron a una temperatura de entre 35 y 40°C."

- **Molienda:** El proceso de la molienda, se realizó con un molino manual, procurando que las hojas no queden muy molidas, porque dificulta el proceso de extracción de principios activos.
- **Conservación:** Se conservaron en un frasco de vidrio de 4 litros, forrado con papel de aluminio. El frasco se etiquetó con el nombre científico de la planta y la fecha que se almacenó.

2.3.3. Certificación taxonómica.

La muestra vegetal fue clasificada taxonómicamente, por el Sistema de Clasificación APG IV (2016), y determinado por MSc. Hamilton Beltrán Santiago del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (ANEXO 1)

2.3.4. Obtención de los extractos.

La extracción de los compuestos bioactivos a partir de las hojas secas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier; se realizó mediante el método de maceración, una técnica convencional ampliamente reconocida por su simplicidad, bajo costo y efectividad para obtener extractos fitoquímicos (48).

Se prepararon tres tipos de extractos:

- **Extracto etanólico:** En un recipiente de vidrio oscuro con tapa se realizó la maceración del extracto, utilizando 400 g de muestra vegetal seca y 4000 ml de etanol de 96° (20). El proceso se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 14 días, con agitación diaria de 10 minutos.
- **Extracto hidroalcohólico:** Se maceró con alcohol de 70°, utilizando 400 g de hojas de fresa y 4000 ml de etanol de 70° (20), por 14 días con agitación constante.
- **Extracto metanólico:** La maceración, se efectuó mezclando 400 g de hojas de fresas secas con 4000 ml de metanol (20), durante 14 días en un ambiente protegidos de la luz.

Tras completarse el tiempo de maceración, los extractos se separaron del residuo vegetal mediante filtración simple utilizando papel de filtro Whatman N°01.

La evaporación del disolvente se realizó de acuerdo con las propiedades físicas de cada solvente. Los extractos etanólico e hidroalcohólico fueron concentrados mediante evaporación a temperatura ambiente, mientras que el extracto metanólico se concentró utilizando un rotavapor debido a la alta volatilidad del metanol.

Finalmente, los extractos obtenidos se pesaron y almacenaron a temperatura

ambiente, en recipientes protegidos de la luz, hasta su posterior análisis.

2.3.5. Screening Fitoquímico.

Se realizó siguiendo la metodología descrita por Olga Lock de Ugaz, basada en la extracción de metabolitos secundarios mediante solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y precipitación para la identificación cualitativa de los principales grupos de constituyentes químicos presentes en el extracto.

Para la determinación cualitativa de los principales grupos de constituyentes químicos presentes en el extracto, se realizó una marcha fitoquímica con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración, obteniéndose 6 fracciones denominadas A, B, C, D, E y F.

2.3.5.1. Detección de grupos funcionales y metabolitos secundarios.

La identificación de los metabolitos secundarios se realizó mediante los siguientes grupos fitoquímicos (49):

- **Taninos:**

Reacción de Gelatina- sal: Se vertieron 0,5 mL de extracto disuelto en agua en cada uno de los tres tubos de ensayo. En el primer tubo se agregó 1 mL de solución de NaCl al 5%, en el segundo tubo se agregó la solución de gelatina al 1%, y en el tercer tubo la gelatina-sal. La precipitación con este último reactivo o con ambos el 1° y 2° confirmó la presencia de taninos y si la reacción solo ocurre con el 1°, podrá ser falso positivo.

- **Grupos fenólicos libres:**

Reacción de Cloruro Férrico: Se colocaron 0.5 mL del extracto disuelto en su solvente en un tubo de ensayo y se añadió una gota de solución acuosa de FeCl_3 al 1%. La reacción de los extractos se considera positiva cuando se observa colores azul-negro o azul verdoso.

- **Aminoácidos:**

Sobre tiras de papel de filtro, se colocó una gota del extracto disuelto en su solvente, utilizando una pipeta capilar, seguida de una gota del reactivo Ninhidrina al 2%. Para el grupo control, se aplicó una gota del reactivo Ninhidrina al 2% sin el extracto. Posteriormente, se procedió al secado de las tiras de papel y se compararon los resultados. La reacción se considera positiva cuando el papel de la muestra presenta un color azul violáceo.

- **Flavonoides:**

La reacción de Shinoda para detectar flavonoides, fue agregando 3 gotas del extracto, 2 gotas de HCl concentrado, y 5 limaduras de Mg. La coloración de

rojo/rojiza nos indica que la reacción es positiva.

• **Triterpenos y/o Esteroides:**

Para el ensayo de Liebermann-Buchard, se disolvió con 1 mL de diclorometano y con ayuda de la bagueta se uniformizó. Luego se colocó en un tubo de ensayo y; se añadió 5 gotas de anhidro acético y 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Si la muestra se torna de una coloración azul o verdosa nos indica la presencia de esteroides. En cambio, la aparición de una coloración roja o violeta se considera positiva para triterpenos.

• **Antraquinonas:**

Se empleó el reactivo de Borntrager, con 1 mL para cada extracto, luego se llevó a sequedad y se re-disolvió con 1mL de diclorometano en un tubo de ensayo. Finalmente, se añadieron 3 mL de NaOH al 5%, se tapó el recipiente y se agitó suavemente.

La reacción se considera positivo si se observa una coloración roja en la fase acuosa.

• **Alcaloides:** Se tomó 1 mL de extracto metanólico, etanólico e hidroalcohólico y se evaporó hasta obtener un residuo seco. Posteriormente, se colocaron 2 mL de HCl al 1% en un tubo de ensayo y se filtró la mezcla. A continuación, en tres tubos de ensayo con el extracto disuelto; se realizaron las reacciones de precipitación de Dragendorff, Mayer y Wagner, respectivamente. La reacción se considera positiva al observarse la formación de un precipitado.

• **Leucoantocianidinas y catequinas:**

A 0,2 mL del extracto se agregó 0,1 mL de HCl concentrado, se calentó durante 10 minutos a 100°C. Seguidamente, se dejó enfriar y se adicionó 3 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico.

Si se torna de un color rojo indica la presencia de leucoantocianidinas. Si se torna de un color marrón indica la presencia de catequinas.

• **Saponinas:** Se utilizaron aproximadamente 0,5 g del extracto crudo y se transvasó a un tubo de ensayo con 2 mL de agua destilada. Posteriormente, la mezcla se agitó energéticamente durante 30 segundos.

La presencia de saponinas se considera positiva si se forma una espuma persistente durante 10 minutos, que se extiende a una altura de 3 cm por encima de la superficie del líquido. Sin embargo, en la prueba no se observó este indicador.

2.3.6. Determinación de la actividad antimicrobiana.

Para determinar la actividad antimicrobiana, se siguió el siguiente procedimiento:

2.3.6.1. Preparación de la concentración de los extractos y controles.

Se pesó el extracto seco para cada concentración utilizando una balanza analítica. Luego, fueron resuspendidos en etanol 96°, 70° y metanol, hasta obtener concentraciones de: 100%, 75%, 50% y 25%, de los diferentes extractos.

Por otro lado, para evaluar la actividad antibacteriana, se utilizó el antibiótico ciprofloxacino a una concentración de 0,2 mg/mL en una dosis de 25 µL. Para determinar la actividad antifúngica, se empleó el fluconazol a la misma concentración (0,2 mg/mL) también en una dosis de 25 µL. En cuanto al control negativo, se realizó con etanol al 96° para los extractos alcohólicos, de 70° para los extractos hidroalcohólico y metanol para en el caso de los extractos metanólico.

2.3.6.2. Preparación de medios de cultivos.

a) **Medios de cultivos:** Para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, el medio de cultivo será el siguiente:

Agar Müller Hinton (AMH): Medio de cultivo nutritivo no selectivo que favorece el desarrollo de microorganismos patógenos. Debido a su composición, se utiliza comúnmente en antibiogramas realizados en medios sólidos (49).

Caldo BHI (Brain Heart Infusion): Infusión cerebro corazón, es un medio líquido de enriquecimiento, indicado para el cultivo de una gran variedad de microorganismos exigente nutricionalmente, tanto aerobios como anaeróbios, así como de hongos y levaduras (49).

Agar de Nutritivo: Es un medio de cultivo no selectivo, utilizado para el aislamiento y recuento de microorganismos que tienen requerimientos nutricionales escasos (50).

Caldo dextrosa Sabouraud: Es un medio de enriquecimiento que contiene agentes inhibidores en baja concentración, los cuales retrasan el crecimiento de microorganismos contaminantes y favorecen la recuperación del microorganismo objetivo. Se utiliza para cultivar hongos, levaduras y microorganismos acidófilos. La alta concentración de dextrosa y la acidez

del pH hacen que este medio sea selectivo para hongos. En este medio, las peptonas proporcionan carbono y nitrógeno para el crecimiento de los microorganismos, mientras que la dextrosa sirve como fuente de energía (51).

Agar dextrosa Sabouraud: Medio de cultivo sólido y selectivo. Diseñado para el cultivo de hongos y levaduras (52).

b) Preparación:

Los materiales de vidrio se envolvieron en papel Kraft y se trasladaron a la cámara de secado, donde se mantuvieron a 180°C durante 120 minutos para su esterilización.

Para el crecimiento de las bacterias, se utilizó el medio de cultivo Agar Müller-Hinton, mientras que para las levaduras se empleó Agar Dextrosa Sabouraud. Se disolvió la cantidad requerida de cada medio de cultivo (polvo) en agua destilada, siguiendo las proporciones indicadas en la ficha técnica del fabricante. La mezcla se agitó hasta obtener una solución uniforme y se calentó con agitación frecuente hasta que el polvo se disolvió completamente. Posteriormente, se dejó enfriar unos minutos y se distribuyeron 25 ml de agar en cada frasco o tubo con tapón. Finalmente, se esterilizó en autoclave a 121°C durante 30 minutos y 15 lb de presión (49).

2.3.6.3. Preparación del inóculo.

a) **Microorganismos utilizados.** Los microorganismos para la prueba fueron 1 bacteria gram positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), 3 Gram negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Salmonella typhi* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 13216) y una levadura: *Candida albicans*. (ATCC 10231).

b) **Procedimiento:** La activación de las cepas liofilizadas fue realizada siguiendo la formalidad indicada en el protocolo de bacterias y con las normas de bioseguridad del Laboratorio de Microbiología.

Para la recuperación de la cepa se utilizó el caldo BHI, como medio nutritivo y enriquecedor, debido a que permite el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos. Por otra parte, para el crecimiento de los hongos se utilizó el caldo dextrosa Sabouraud. Posteriormente, se llevó a la incubadora durante un periodo de 48 h a 37 °C.

Finalizado, este período de tiempo, observamos un crecimiento de los microorganismos en los tubos de ensayos.

Obtenido este resultado y con ayuda de un asa bacteriológica se procedió a realizar la siembra de la muestra en la superficie de una placa de agar selectivo: a. Manitol Salado (*Staphylococcus aureus*), b. Cetrimide (*Pseudomonas aeruginosa*), c. Salmonella Shigella (*Salmonella typhi*), d. Mc conkey (*Escherichia coli*), y Dextrosa Sabouraud (*Candida albicans*). Seguidamente, se incubó a 37°C por 24 horas para las bacterias y 48-72 horas para los hongos, transcurrido el tiempo visualizamos el crecimiento de colonias.

Se toma una muestra, de las colonias de bacterias y levadura que crecieron en el medio selectivo. Luego, para el caso de las bacterias se realizó la resiembra en tubos con Caldo Nutritivo y para los hongos, con caldo dextrosa Sabouraud. Seguidamente, se incubó a 37 °C durante 24 horas. Por último, los microorganismos fueron diluidos a una concentración equivalente a 0,5 de la escala de Mac Farland la cual equivale a una concentración de 108 UFC/ml.

2.3.6.4. Método de difusión en pozo.

Posteriormente se agregó 1 mL de suspensión de inóculo de cada microorganismo patógeno estandarizado al 0,5 de la escala de Mac Farland; por cada 25 mL del medio Agar Müeller Hinton para las bacterias y de medio Agar dextrosa Sabouraud para los hongos; a una temperatura de 35-40°C. Luego, se mezcló asépticamente y se repartió en placas petri hasta solidificarse.

Seguidamente se hizo pozos excavados en el mismo medio de cultivo, con la ayuda de un sacabocado de acero inoxidable de 6 mm de diámetro interno, distribuidos equitativamente en el interior de cada placa.

Continuamente, se procedió al sellado de cada pozo con 20 µL de agar Müeller Hinton y agar dextrosa Sabouraud para bacterias y hongos, respectivamente.

Por último, se procedió a la inoculación de los extractos en diferentes concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25%; con un volumen de 25 µL, para cada pozo.

Luego, los cultivos se incubaron a 37 °C durante aproximadamente 16 horas. Transcurrido este tiempo, se procedió a medir los halos de inhibición del crecimiento bacteriano. Los ensayos para cada extracto se realizaron por

triplicado. La medición de los halos de inhibición se registró en una hoja de recolección de datos, lo cual permitió evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos (49).

2.3.6.5. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR).

Para determinar el Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR), se utilizaron los resultados obtenidos por los extractos frente al Ciprofloxacino y Fluconazol en la concentración de 5 µg/mL. (49)

$$\% PIR = \frac{A}{B} \times 100$$

A= Promedio del diámetro del halo de inhibición de la muestra.

B= Promedio del diámetro del halo de inhibición del antibiótico.

La valoración cuantitativa de la actividad antimicrobiana se realizó considerando el porcentaje de inhibición relativa respecto al control positivo. De acuerdo con este criterio, se clasificó como alto cuando el PIR fue mayor al 70 %, intermedio cuando se situó entre el 50 % y 70 %, y bajo cuando fue inferior al 50 % (53).

III. RESULTADOS

3.1. Resultados descriptivos

3.1.1. Screening Fitoquímico

Se presentan los resultados de las reacciones de identificación de metabolitos secundarios realizados en las hojas de fresa “*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier”

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de fresa “*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier”

Fracción	Metabolitos secundarios	Reacción de identificación	Resultado
A	Taninos	Gelatina-sal	+
	Grupos fenólicos libres	Cloruro Férrico	+
	Aminoácidos	Ninhidrina	+
	Flavonoides	Shinoda	+
B	Esteroides y/o triterpenoides	Liebermann-Burchard	+
	Antraquinonas	Borntrager	–
C	Esteroides y/o triterpenoides	Liebermann-Burchard	+
	Alcaloides	Dragendorff	+
		Mayer	+
		Wagner	+
D	Leucoantocianidinas / catequinas	Rosenheim	+
	Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	+
	Flavonoides	Shinoda	+
	Alcaloides	Dragendorff	+
		Mayer	+
		Wagner	+
E	Flavonoides	Shinoda	+
	Leucoantocianidinas y catequinas	Rosenheim	+
F	Saponinas	Espuma	–

Leyenda: signo (+) indica presencia, signo (–) indica ausencia.

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las hojas de fresa “*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier”

Metabolitos secundarios	Reacción de identificación	Resultado
Taninos	Gelatina–sal	-
Grupos fenólicos libres	Cloruro férico	+
Aminoácidos	Ninhidrina	+
Flavonoides	Shinoda	+
Esteroides y/o	Liebermann–	+
triterpenoides	Burchard	
Antraquinonas	Borntrager	–
Alcaloides	Dragendorff	–
	Mayer	–
	Wagner	–
Leucoantocianidinas	Rosenheim	+
/catequinas		
Saponinas	Espuma	–

Leyenda: signo (+) indica presencia, signo (–) indica ausencia

Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico obtenido a partir de las hojas de fresa “*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier”

Metabolitos secundarios	Reacción de identificación	Resultado
Taninos	Gelatina–sal	+
Grupos fenólicos libres	Cloruro férrico	+
Aminoácidos	Ninhidrina	+
Flavonoides	Shinoda	+
Esteroides y/o	Liebermann–Burchard	+
triterpenoides		
Antraquinonas	Borntrager	–
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	–
	Wagner	+
Leucoantocianidinas /	Rosenheim	+
catequinas		
Saponinas	Espuma	–

Leyenda: signo (+) indica presencia, signo (–) indica ausencia.

3.1.2. Actividad Antimicrobiana

Tabla 4. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico mediante el método de Difusión en Agar a concentraciones 100%, 75%, 50% y 25 %.

Microorganismos (ATCC)	Diámetro de Halos de inhibición (mm) a diferentes concentraciones				Control positivo (+)	Control negativo (-)
	100%	75%	50%	25%		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	21.7± 0.6	20.0± 1.0	18.7± 0.6	17.7± 0.6	40	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	20.3± 0.6	21.7± 1.5	18.0± 0.0	16.3± 0.6	40	8
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	24.3± 2.5	26.0± 1.7	24.0± 2.6	22.0± 2.6	42	8
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	19.0± 1.0	20.3± 0.6	21.7± 0.6	18.7± 1.5	40	8
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	19.0± 1.0	18.0± 1.7	15.7± 0.6	13.7± 1.2	30	6

Nota:

- a. Los valores son promedios de los halos de inhibición y desviación estándar: n=3
- b. Volumen usado del extracto etanólico 25 µL.
- c. Control positivo (C+): ciprofloxacino para bacterias y fluconazol para hongos.

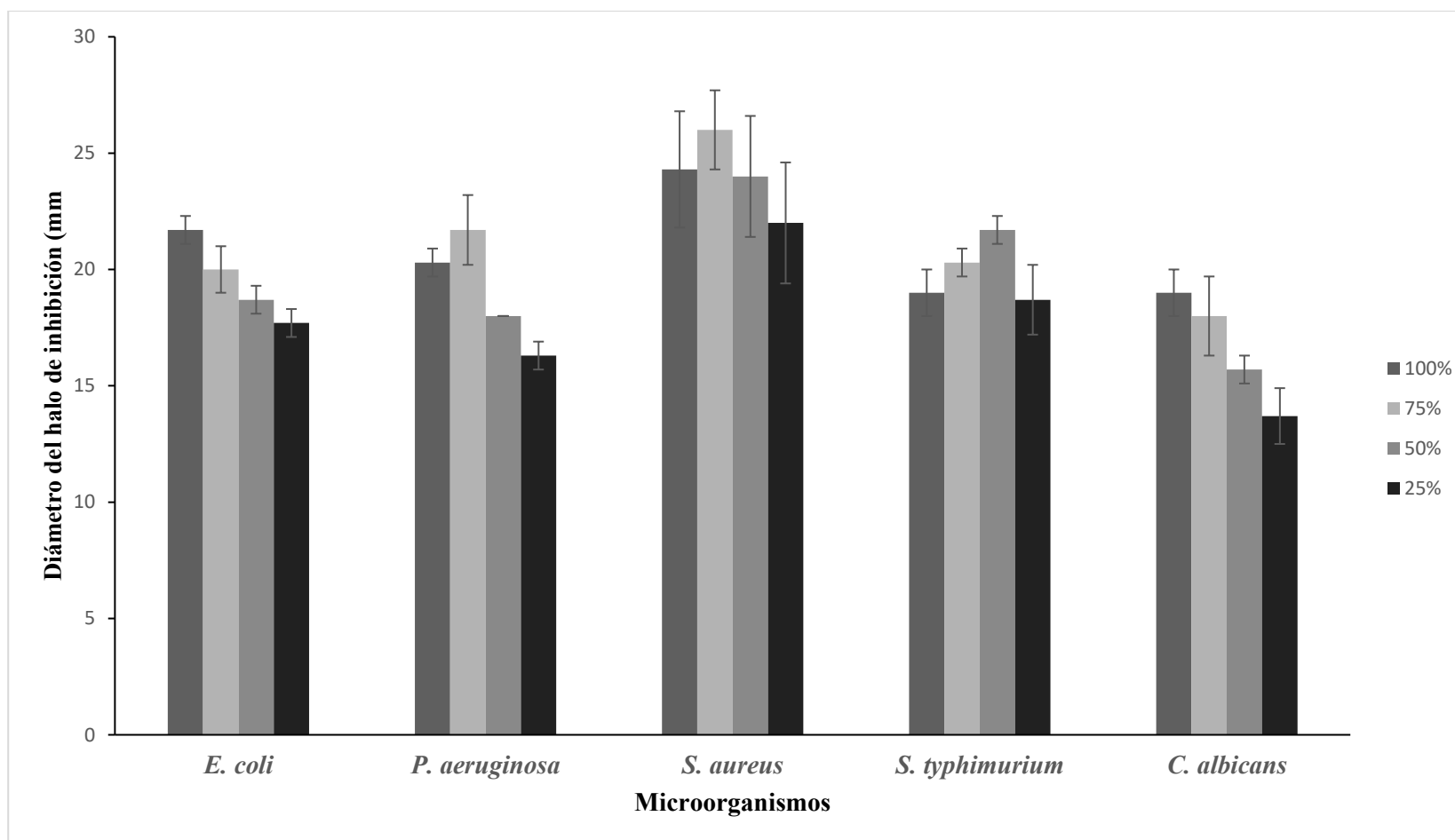


Figura 1. Medias $\pm$ desviación estándar (DE) de los diámetros de halos de inhibición (mm) de diferentes microorganismos frente a extracto etanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

Tabla 5. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico mediante el método de Difusión en Agar a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

Microorganismos (ATCC)	Diámetro de Halos de inhibición (mm) a diferentes concentraciones				Control positivo (+)	Control negativo (-)
	100%	75%	50%	25%		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	20.3 ± 0.6	19.0 ± 1.0	16.7 ± 1.5	15.3 ± 1.2	40	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	19.3 ± 0.6	21.3 ± 1.5	17.7 ± 2.5	16 ± 2.7	40	8
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	23.7 ± 1.5	25.3 ± 1.5	22.7 ± 2.5	20 ± 1.5	42	8
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	18.0 ± 2.0	19.7 ± 1.5	21.0 ± 2.7	15.0 ± 1.0	40	8
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	19.3 ± 0.6	18.0 ± 1.0	17.7 ± 1.2	15.3 ± 1.5	30	6

Nota:

- Los valores son promedios de los halos de inhibición y desviación estándar: n=3
- Volumen usado del extracto hidroalcohólico 25 µL.
- Control positivo (C+): ciprofloxacino para bacterias y fluconazol para hongos.

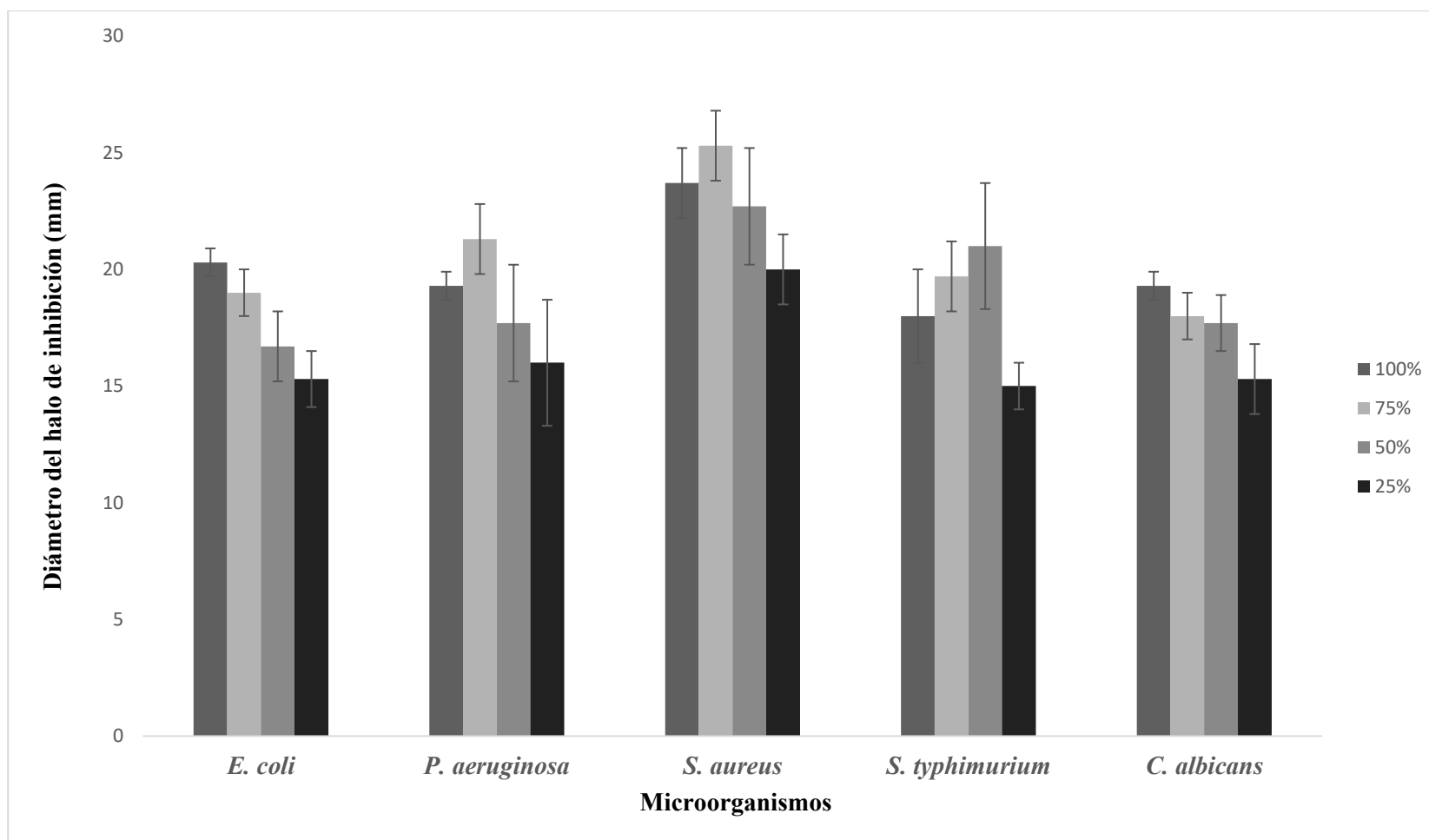


Figura 1. Medias $\pm$ desviación estándar (DE) de los diámetros de halos de inhibición (mm) de diferentes microorganismos frente a extracto hidroalcohólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

Tabla 6. Actividad antimicrobiana del extracto metanólico mediante el método de Difusión en Agar a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

Microorganismo (ATCC)	Diámetro de Halos de inhibición (mm) a diferentes concentraciones				Control positivo (+)	Control negativo (-)
	100%	75%	50%	25%		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	19.7 ± 1.5	19.3 ± 0.6	17.0 ± 0.0	16.3 ± 0.6	40	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	18.3 ± 0.5	21.3 ± 1.2	17.7 ± 0.5	16.7 ± 0.6	40	8
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	23.0 ± 1.0	24.7 ± 0.6	20.7 ± 2.1	19.3 ± 3.1	42	8
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	20.0 ± 1.0	20.7 ± 1.5	20.7 ± 1.5	17.0 ± 1.0	40	8
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	21.0 ± 1.0	20.7 ± 0.6	17.3 ± 0.5	16.7 ± 1.2	30	6

Nota:

- Los valores son promedios de los halos de inhibición y desviación estándar: n=3
- Volumen usado del extracto metanólico 25 µL.
- Control positivo (C+): ciprofloxacino para bacterias y fluconazol para hongos.

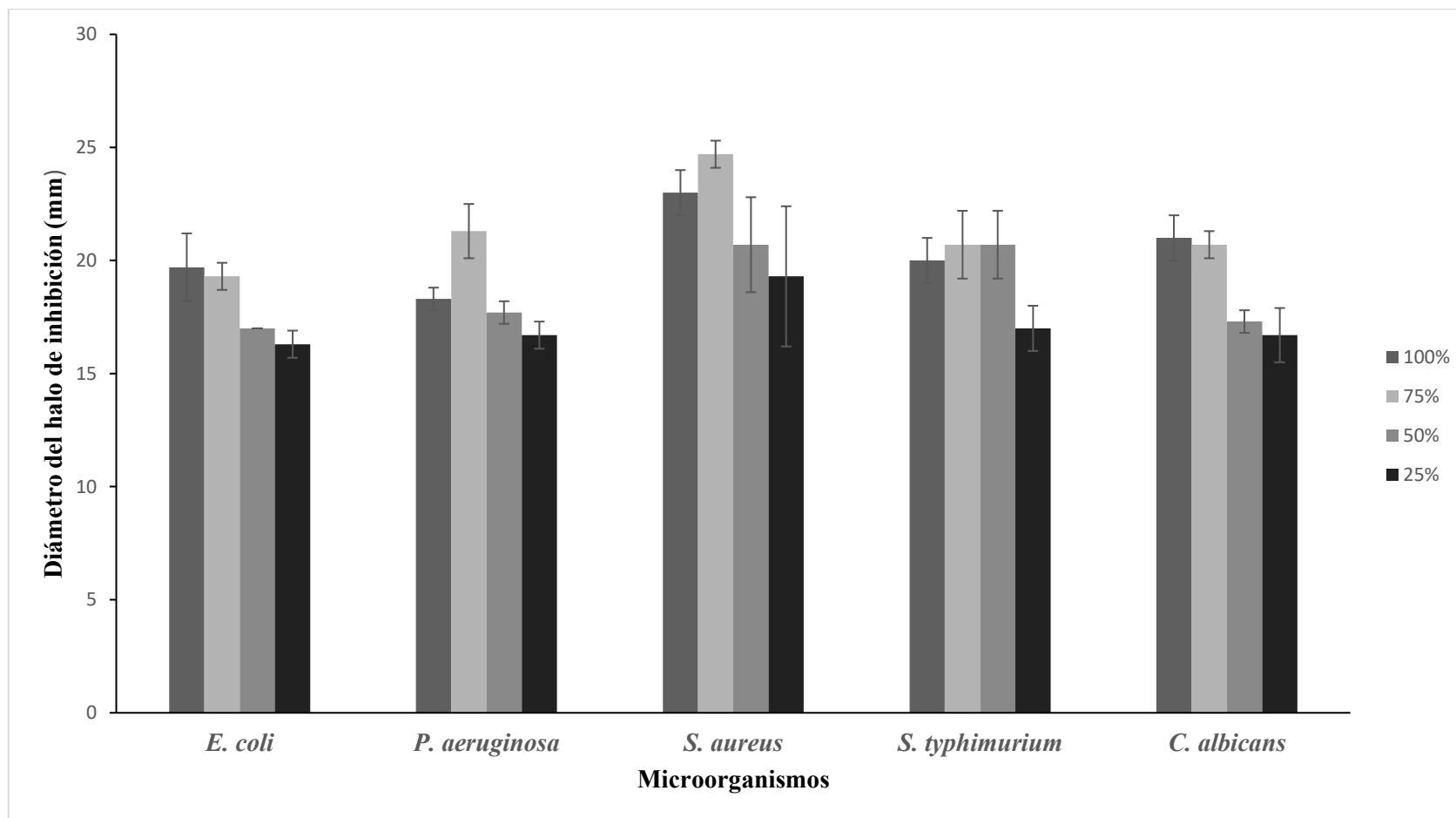


Figura 2. Medias $\pm$ desviación estándar (DE) de los diámetros de halos de inhibición (mm) de diferentes microorganismos frente a extracto metanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %

Tabla 7. Valores del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto etanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

%DE INHIBICIÓN	EXTRACTO ETANÓLICO				
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus.</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>C. albicans</i>
100	54.25 ^b	50.75 ^b	57.86 ^b	47.50 ^c	63.33 ^b
75	50.00 ^b	54.25 ^b	61.90 ^b	50.75 ^b	60.00 ^b
50	46.75 ^c	45.00 ^c	57.14 ^b	54.25 ^b	52.33 ^b
25	44.25 ^c	40.75 ^c	52.38 ^b	46.75 ^c	45.67 ^b

Nota: a. alta cuando su porcentaje de inhibición relativo es >70 %, b. intermedia entre el 50 - 70 %, c. baja cuando es <50 %.

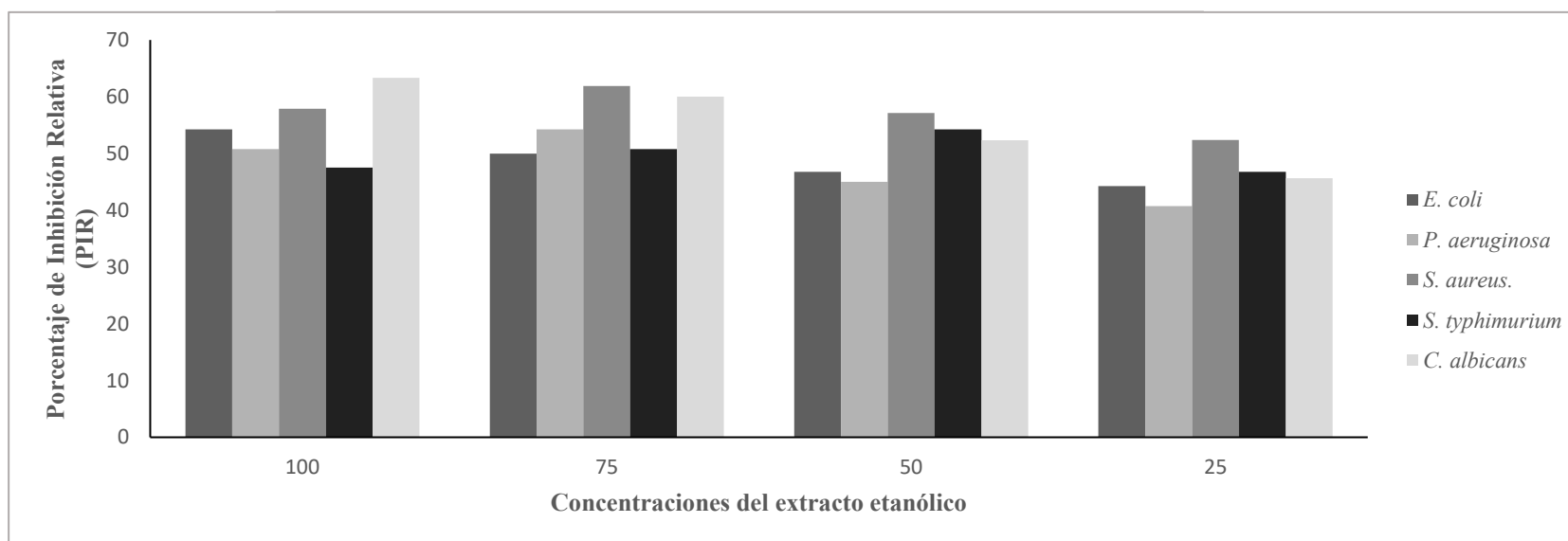


Figura 3. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto etanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

Tabla 8. Valores del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto hidroalcohólico a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100 %.

%DE INHIBICIÓN	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO				
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus.</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>C. albicans</i>
100	50.75 ^b	48.25 ^c	56.43 ^b	45.00 ^c	64.33 ^b
75	47.50 ^c	53.25 ^b	60.24 ^b	49.25 ^c	60.00 ^b
50	41.75 ^c	44.25 ^c	54.05 ^b	52.50 ^b	59.00 ^b
25	38.25 ^c	40.00 ^c	47.62 ^c	37.50 ^c	51.00 ^b

Nota: a. alta cuando su porcentaje de inhibición relativo es >70 %, b. intermedia entre el 50 - 70 %, c. baja cuando es <50 %.

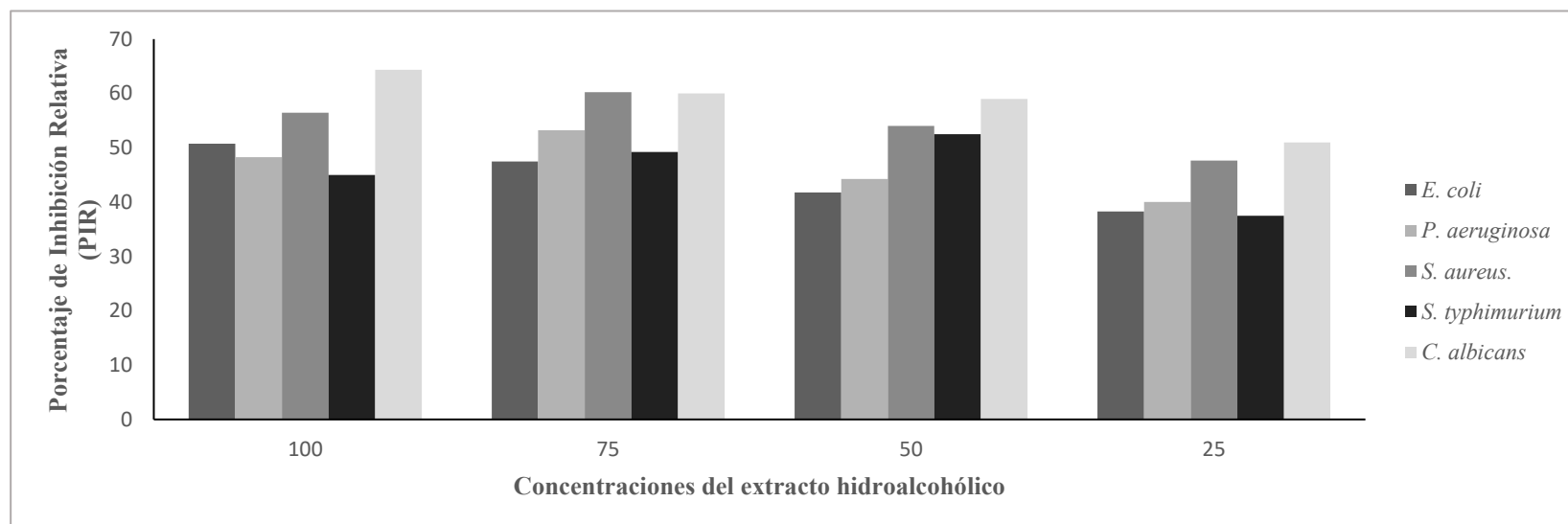


Figura 4. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto hidroalcohólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

Tabla 9. Valores del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto metanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

%DE INHIBICIÓN	EXTRACTO METANÓLICO				
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>C. albicans</i>
100	49.25 ^b	45.75 ^c	54.76 ^b	50.00 ^b	70.00 ^b
75	48.25 ^b	53.25 ^b	58.81 ^b	51.75 ^b	69.00 ^b
50	42.50 ^c	44.25 ^c	49.29 ^c	51.75 ^b	57.67 ^b
25	40.75 ^c	41.75 ^c	45.95 ^c	42.50 ^c	55.67 ^b

Nota: a. alta cuando su porcentaje de inhibición relativo es >70 %, b. intermedia entre el 50 - 70 %, c. baja cuando es <50 %.

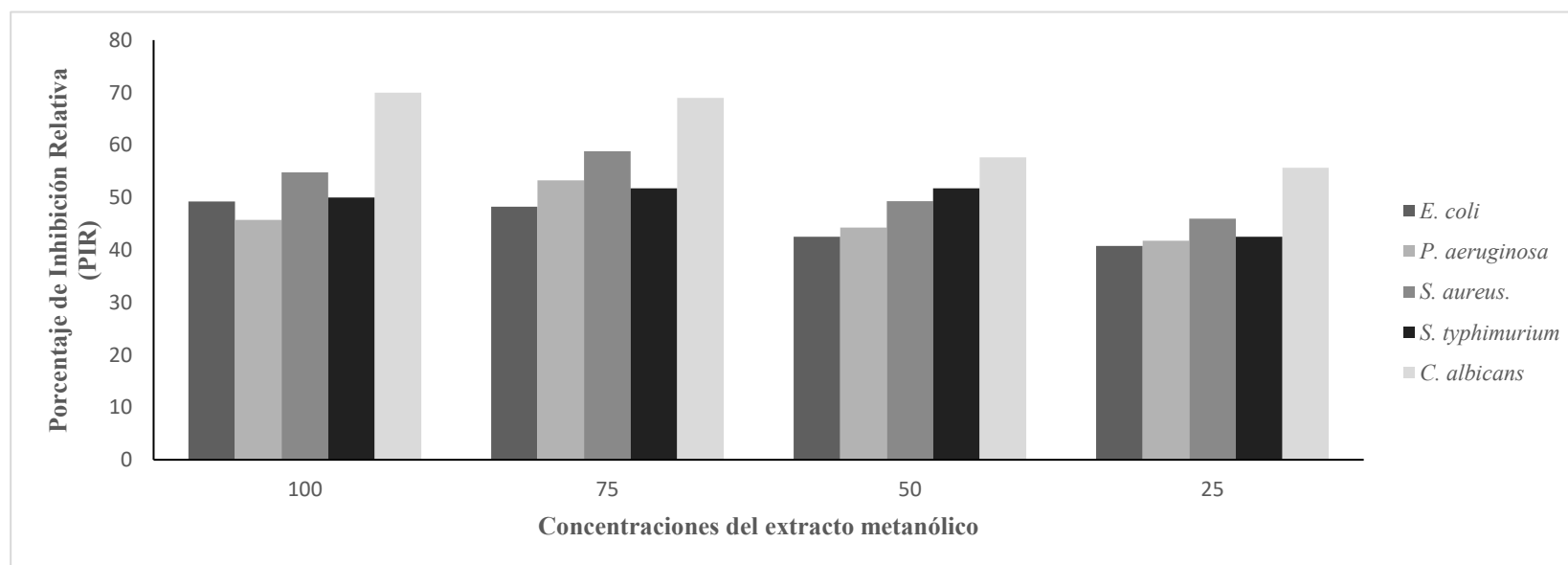


Figura 5. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) del extracto metanólico a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25 %.

IV. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos etanólico, metanólico e hidroalcohólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier (fresa), con el objetivo de aportar datos relevantes que sirvan de base para futuras investigaciones sobre su potencial antimicrobiano.

El análisis fitoquímico de los extractos permitió identificar diversos metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Fragaria x ananassa*. En el extracto etanólico se evidenció la presencia de taninos, aminoácidos, flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, así como leucoantocianidinas y/o catequinas; sin embargo, no se detectó la presencia de saponinas (Tabla 1). Estos resultados concuerdan parcialmente con lo reportado por Llontop (27) quien identificó flavonoides, taninos y otros compuestos fenólicos en extractos etanólicos de hojas de *Fragaria x ananassa*, además de saponinas, asociando dichos metabolitos con una actividad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* y *candida albicans*. En contraste, Acosta (28) reportaron resultados negativos para saponinas en el extracto etanólico de hojas de *Fragaria x ananassa*, lo cual coincide con los hallazgos obtenidos en la presente investigación.

En relación con el extracto hidroalcohólico, no se evidenció la presencia de alcaloides ni saponinas; sin embargo, se identificaron compuestos fenólicos (Tabla 2). Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Moya (34) quienes en extractos hidroalcohólicos de *Fragaria spp.*, identificaron compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, aminoácidos, triterpenoides y esteroides; sin embargo, a diferencia de la presente investigación, dichos autores reportaron resultado positivo para saponinas, mientras que los alcaloides fueron negativos.

Por último, en el extracto metanólico no se evidenció la presencia de saponinas; sin embargo, se confirmó la presencia de compuestos fenólicos (Tabla 3). En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que en todos los extractos evaluados predominó la presencia de compuestos fenólicos, como flavonoides y taninos. En este sentido, Grande-Tovar (54) señalaron que numerosos extractos naturales con actividad biológica contienen metabolitos secundarios tales como fenoles, flavonoides y taninos, los cuales están implicados en mecanismos de defensa y respuestas fisiológicas de la planta, además de estar asociados con actividades antioxidantes y, potencialmente, con efectos antimicrobianos. Estos antecedentes respaldan la hipótesis de que los metabolitos fenólicos identificados en los extractos de *Fragaria x ananassa* podrían ser uno de los principales grupos responsables de la actividad biológica observada en el presente estudio.

La actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos etanólico, metanólico e hidroalcohólico de

las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier fue evaluada en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % mediante el método de difusión en agar, utilizando cinco cepas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* y *Candida albicans*. El efecto antimicrobiano de cada extracto se determinó en función del diámetro de los halos de inhibición del crecimiento microbiano, expresados como media $\pm$ desviación estándar, lo que permitió comparar la respuesta de las distintas cepas frente a las variaciones en el tipo de solvente y la concentración del extracto.

En el caso del extracto etanólico, se observó actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, con halos de inhibición que aumentaron conforme se incrementó la concentración del extracto, evidenciando una relación directamente proporcional entre ambas variables (Tabla 4, Figura 1). Los halos de inhibición frente a *E. coli* fueron de 17,7 mm, 18,7 mm, 20 mm y 21,7 mm, para concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, respectivamente. Estos resultados son coherentes con los reportados por Acosta (28), quienes informaron halos de 13,64 mm, 17,02 mm y 17,82 mm para las concentraciones del 50 %, 75 % y 100 %, respectivamente. De manera similar, Rivera (26) observaron halos de inhibición de 12,26 mm $\pm$ 0,06, 14,15 mm $\pm$ 0,06 y 16,68 mm $\pm$ 0,06 para las mismas concentraciones. Al evaluar otras cepas con el extracto etanólico, se identificaron los siguientes diámetros de halos: *P. aeruginosa* presentó halos de 16,3 mm, 18 mm, 21,7 mm y 20,3 mm; *S. aureus* mostró halos de 22 mm, 24 mm, 26 mm y 24,3 mm; mientras que *S. Typhimurium* tuvo halos de 18,7 mm, 21,7 mm, 20,3 mm y 19 mm, respectivamente. Esto sugiere que la mayor actividad se alcanza al 75 % de concentración en *P. aeruginosa* y *S. aureus*, mientras que en *S. Typhimurium* la mayor inhibición se presenta al 50 %. La variabilidad en la eficacia antimicrobiana podría explicarse por un posible efecto sinérgico entre los metabolitos secundarios durante la maceración, lo cual aumentaría la actividad bactericida o bacteriostática. Para confirmar estas hipótesis, sería necesario realizar estudios complementarios como la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB), a fin de establecer una medida más precisa de la potencia antimicrobiana.

En el análisis comparativo, el mayor efecto inhibitorio se evidenció contra *S. aureus* a una concentración etanólica del 75 %. Este hallazgo podría estar relacionado con las diferencias estructurales entre bacterias Gram positivas y Gram negativas. Las bacterias Gram negativas, como *E. coli* y *P. aeruginosa*, poseen una membrana externa compuesta por lipopolisacáridos (LPS), que actúa como una barrera impermeable a numerosos agentes antimicrobianos, incluidos compuestos de origen vegetal y antibióticos convencionales. Por el contrario, las bacterias Gram positivas, como *S. aureus*, presentan una pared celular más permeable y sin membrana externa, lo que facilita la penetración de compuestos polares contenidos en el extracto (55,56).

Por otro lado; el extracto etanólico también mostró actividad antifúngica frente a *Candida*

albicans, con halos de inhibición de 13,7 mm, 15,7 mm, 18 mm y 19 mm para las concentraciones del 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, respectivamente, mientras que el control positivo (fluconazol) presentó un halo de 30 mm (Tabla 4, Figura 1). Comparado con el estudio de Rodríguez (29), quien evaluó el fruto de fresa frente a *Microsporum gypseum* usando etanol al 96 %, los halos de inhibición fueron mayores: 11,2 mm, 18,2 mm, 22,5 mm y 28,1 mm. La diferencia podría deberse al uso del fruto en lugar de la hoja, así como a la variabilidad en la concentración de compuestos bioactivos.

Asimismo, Llontop y su equipo de trabajo (27) analizaron las hojas de fresa frente a *C. albicans* ATCC 10231 y reportaron halos superiores: 30,68 mm, 32,73 mm y 36,11 mm para las concentraciones del 50 %, 75 % y 100 %, respectivamente, siendo su control positivo (nistatina) de 34,15 mm. Estas diferencias podrían atribuirse a variables experimentales como la preparación del extracto o la parte de la planta utilizada, así como a la concentración de metabolitos secundarios presentes en cada muestra.

En cuanto al extracto hidroalcohólico, el mayor halo de inhibición fue de 25,3 mm frente a *S. aureus* al 75 %, mientras que el menor se registró frente a *S. Typhimurium* al 25% con 15 mm, y frente a *C. albicans* fue de 19.3 mm al 100 % (Tabla 5, Figura 2). Estos resultados sugieren diferencias significativas en la eficacia antimicrobiana, posiblemente relacionadas con la variabilidad en la concentración y composición de metabolitos secundarios presentes en el extracto. Estos hallazgos coinciden con los reportados por Moya (34), quienes evaluaron la actividad fotoprotectora del extracto hidroalcohólico del fruto de la misma planta y confirmaron la presencia de taninos, antocianinas, flavonoides y compuestos fenólicos con reconocida actividad antioxidante. Debido a sus características polares, estos metabolitos son fácilmente solubilizados en soluciones hidroalcohólicas, lo que facilita su extracción y, por tanto, podría explicar la actividad antimicrobiana observada. Esta relación sugiere que los compuestos fenólicos presentes en el extracto hidroalcohólico desempeñan un papel clave en la inhibición del crecimiento de microorganismos, especialmente en bacterias Gram positivas como *S. aureus*.

Por otra parte, al analizar los resultados obtenidos en el estudio de los halos de inhibición generados por el extracto metanólico de hojas de fresa a concentraciones del 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* y *Candida albicans*, se observó que la concentración del 75 % produjo el mayor halo de inhibición, alcanzando 24,7 mm frente a *S. aureus* (Tabla 6, Figura 3). En contraste, el menor halo de inhibición se registró frente a *Escherichia coli* al 100% con 19,7 mm, mientras que frente a *Candida albicans* fue de 21 mm a la misma concentración. Estos resultados evidencian que la actividad antimicrobiana del extracto metanólico varía según el microorganismo y la concentración, mostrando una tendencia de mayor inhibición a concentraciones intermedias en

bacterias Gram positivas y un efecto más lineal frente a hongos.

Al comparar los efectos de los tres solventes empleados (etanólico, hidroalcohólico y metanólico) frente a *Candida albicans* al 100 %, los halos de inhibición obtenidos fueron de 19 mm, 19,3 mm y 21 mm, respectivamente. Estos resultados indican que el extracto metanólico presentó un mayor efecto antifúngico en comparación con los otros dos solventes evaluados, lo cual sugiere una mayor eficacia en la extracción de compuestos bioactivos con actividad antifúngica. Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Suurbaar (57), quienes evaluaron extractos de *Ricinus communis* frente a diversos patógenos, incluido *Candida albicans*. En su estudio, el extracto metanólico demostró la mayor actividad inhibitoria, seguido por el etanólico. Además, se observó que los microorganismos más sensibles al extracto metanólico fueron *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. De manera interesante, en nuestra investigación; a pesar de utilizar una planta distinta, también se evidenció que *P. aeruginosa* fue susceptible al extracto metanólico, lo que refuerza la hipótesis de que dicho solvente tiene la capacidad para extraer compuestos con actividad antimicrobiana de origen vegetal.

Desde un enfoque fitoquímico, esta mayor eficacia puede atribuirse al carácter más polar del metanol en comparación con el etanol, lo cual le permite disolver y arrastrar con mayor eficiencia metabolitos secundarios presentes en las hojas, tales como flavonoides, fenoles, taninos y saponinas. Estos compuestos han sido ampliamente asociados a actividades antimicrobianas (58). Por lo tanto, es razonable interpretar que el metanol actuó como un mejor agente de extracción en las hojas de fresa, debido a su capacidad para solubilizar una gama más amplia de principios activos con efectos inhibitorios sobre microorganismos. Sin embargo, investigaciones como la de Cerviño (23) exploraron la actividad antimicrobiana in vitro de extractos de hojas de diversas variedades de *Fragaria × ananassa* Duch., con el propósito de desarrollar bioinsumos fitosanitarios. En dicho estudio, se evaluaron cepas bacterianas (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *Xanthomonas citri* subsp. *citri*) y fúngicas (*Penicillium digitatum*, *Corynespora cassiicola*), encontrándose que el extracto metanólico fue más eficaz contra bacterias que contra hongos. Estos resultados contrastan con nuestros hallazgos, en los cuales el extracto metanólico evidenció una actividad antifúngica más destacada frente a *Candida albicans*. Esta diferencia podría explicarse por factores como la variabilidad en la composición fitoquímica entre variedades de *F. × ananassa*, las diferencias en las concentraciones extractivas, o la naturaleza específica de las especies microbianas evaluadas. No obstante, ambos estudios coinciden en subrayar el potencial del metanol como un solvente eficaz para la obtención de compuestos con actividad antimicrobiana, ya sea frente a bacterias o hongos, consolidando su valor en procesos de extracción fitoquímica.

El análisis del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR %) permite clasificar la actividad

antimicrobiana de los extractos evaluados como alta cuando el PIR % es superior al 70 %, intermedia cuando se encuentra entre el 50–70 % y baja cuando es inferior al 50 % (53).

Bajo este criterio, el extracto etanólico mostró una actividad intermedia frente a todas las cepas evaluadas. El efecto más destacado se observó contra *Staphylococcus aureus*, con un PIR % máximo de 61,90 % a la concentración del 75 %. *Pseudomonas aeruginosa* presentó un valor intermedio de 54,25 % a 75 %, mientras que *Escherichia coli* alcanzó 54,25 % a 100 %. En *Salmonella Typhimurium*, el valor máximo intermedio fue 54,25 % a 50 %, y frente a *Candida albicans* se registró un PIR % de 63,33 % a la concentración del 100 % (Tabla 7).

De manera similar, el extracto hidroalcohólico presentó una actividad intermedia frente a todas las cepas evaluadas. El efecto más pronunciado se evidenció frente a *Candida albicans*, con un PIR % máximo de 64,33 % a la concentración del 100 %, seguido de *Staphylococcus aureus*, que alcanzó 60,24 % a 75 %. Entre las bacterias, *Pseudomonas aeruginosa* mostró un valor máximo intermedio de 53,25 % a 75 %, *Escherichia coli* presentó 50,75 % a 100 % y *Salmonella Typhimurium* registró 52,50 % a 50 % (Tabla 8). Este comportamiento concuerda con lo descrito en la literatura, donde la menor susceptibilidad de las bacterias Gram negativas se atribuye, en parte, a la presencia de una membrana externa rica en lipopolisacáridos, que actúa como barrera frente a diversos agentes antimicrobianos (54,56).

Por otra parte, el extracto metanólico evidenció una actividad intermedia a alta frente a las cepas evaluadas. El efecto más destacado se observó frente a *Candida albicans*, con un PIR % máximo de 70 % a la concentración del 100 %, seguido de 69 % a 75 %, lo que evidencia un efecto antifúngico superior al de los extractos etanólico e hidroalcohólico. Entre las bacterias, *Staphylococcus aureus* mostró un valor máximo intermedio de 58,81 % a 75 %, mientras que *Salmonella Typhimurium* alcanzó 51,75 % a la misma concentración. *Pseudomonas aeruginosa* presentó un PIR % máximo de 53,25 % a 75 % y *Escherichia coli* registró 49,25 % a 100 % (Tabla 9).

En conjunto, los resultados evidencian que los tres extractos presentan actividad antimicrobiana variable según el solvente, la concentración y el microorganismo evaluado. El metanólico mostró mayor efecto antifúngico, mientras que el etanólico e hidroalcohólico fueron más efectivos contra *S. aureus*. Estas evidencias respaldan el uso de extractos naturales como alternativas terapéuticas para infecciones microbianas.

En conclusión, los resultados demuestran que los tres tipos de extractos presentan actividad antibacteriana y antifúngica, aunque con diferencias atribuibles al tipo de solvente, al método de extracción y a la susceptibilidad de las cepas utilizadas. Este trabajo aporta una base científica para futuras investigaciones sobre el potencial terapéutico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier.

V. CONCLUSIONES

1. El análisis fitoquímico de las hojas de *Fragaria × ananassa* Duchesne ex Rozier demostró la presencia de compuestos fenólicos, taninos y flavonoides en los extractos etanólico, hidroalcohólico y metanólico. La identificación de estos metabolitos sugiere que la planta posee un potencial antimicrobiano atribuible principalmente a los compuestos fenólicos.
2. La evaluación in vitro mediante la técnica de difusión en pozo confirmó que todos los extractos exhiben una actividad antimicrobiana significativa frente a cepas patógenas Gram positivas (*S. aureus*), Gram negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. Typhimurium*) y fúngicas (*C. albicans*). Este hallazgo indica que los extractos podrían ser considerados como agentes potenciales en la inhibición del crecimiento microbiano.
3. Al comparar los extractos, el metanólico presentó la mayor eficacia antifúngica contra *C. albicans*, alcanzando un PIR del 70 % a la concentración del 100 %. Este comportamiento posiblemente se deba a la mayor capacidad del metanol para extraer metabolitos polares, como taninos y flavonoides, que han sido vinculados en la literatura con la actividad antifúngica.
4. Se evidenció que los extractos mostraron mayor actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas. En particular, el extracto etanólico presentó un halo máximo de inhibición de 26 mm frente a *Staphylococcus aureus* al 75 %, seguido de 21,7 mm frente a *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. El extracto hidroalcohólico alcanzó 25,3 mm frente a *S. aureus* al 75 %, mientras que el extracto metanólico mostró un halo de 24,7 mm frente a la misma bacteria a la misma concentración. Estos resultados sugieren que las bacterias Gram positivas presentan mayor susceptibilidad a los compuestos bioactivos extraídos con solventes polares, lo que indica un posible valor en el desarrollo de alternativas terapéuticas basadas en productos naturales

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar con investigaciones orientadas a establecer la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos, a fin de obtener una medida cuantitativa precisa de su potencia antimicrobiana.
2. Investigar el desarrollo de formulaciones farmacéuticas que integren los extractos obtenidos, tales como cremas, ungüentos o soluciones tópicas. Este enfoque permitiría optimizar la eficacia, estabilidad y biodisponibilidad de los compuestos, favoreciendo su aplicación en el tratamiento de infecciones de interés clínico.
3. Realizar análisis comparativos de los extractos de hojas de *Fragaria* × *ananassa* Duchesne ex Rozier procedentes de distintas variedades y zonas geográficas. Este procedimiento permitiría evaluar la influencia de la variabilidad fitoquímica sobre la actividad antimicrobiana, contribuyendo a la estandarización de futuros productos naturales con eficacia consistente y reproducible.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Bacterias y súper bacterias ponen en riesgo la salud humana. [Internet]. Washington, DC: OPS. [Citado el 04 Set 2024]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-bacterias-super-bacterias-ponen-riesgo-salud-humana>
2. Paredes F, Roca J. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicina antimicrobiana. Offarm. Farmacia y Sociedad. 2004; 23(3): p. 116-124. [Online].; 2022 [Citado el 01 setiembre 2024]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-antibioticosperspectiva-medicacion-antimicrobiana-13059414>
3. Organización Panamericana de la Salud. Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS. [Internet]. Washington, DC: OPS. [Citado el 04 Set 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/vptbu>
4. Camou T, Zunino P, Hortal M. Alarma por la resistencia a antimicrobianos: situación actual y desafíos. Revista Médica Uruguay [Internet]. 2017 [Citado el 15 Set 2024]; 33(4):277-284. Disponible en: <https://n9.cl/h7za9>
5. Frías J, Ramírez G, De la paz Lorente C, Herrero C, Acosta Y. *Sechium edule* (jacq) sw: potencia fitoterapéutica como agente antibacteriano. Medisur [Internet]. 2016 [Citado el 30 Set 2024]; 3,14(6):664-670. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1727-897X2016000600002
6. Jurado Y. Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana* L. “Cardo Santo”. [Tesis Profesional]. Ica: Universidad San Luis Gonzaga 2024 [citado el 25 de oct. 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/server/api/core/bitstreams/98f09d90-f6fd-4036-b984-f6ee34fcdc80/content>
7. Hernández Moreno LV, Pabón Baquero LC, Hernández-Rodríguez P. Estudio fitoquímico y actividad antimicrobiana de plantas medicinales empleadas para el control de infecciones urinarias. Rev. Fac. Cienc. Básicas [Internet]. 19 de marzo de 2021 [citado 12 de enero 2025]; 16(1):43-56. Disponible en: <https://revistas.umng.edu.co/index.php/rfcb/article/view/4896>
8. Cumplido Laso G. Caracterización funcional de genes específicos del fruto y relacionados con la maduración de la fresa (*Fragaria x Ananassa*) implicados en la biosíntesis de aromas y antocianinas. [Tesis Doctoral] Colombia: Universidad de Córdoba, 2013. [citado 12 de enero 2025] Disponible en: <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/9362/2013000000695.pdf?sequence=1&isAllo wed=y>
9. Kirschbaum DS. 2.1. Cultivo de la fresa 2.1.1. Características botánicas, fisiología y tipos de

variedades de fresas [Internet]. Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). [citado el 12 de enero de 2025]. Disponible en:

https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/12068/INTA_CRTucuman-Santiago_EEAFamailla_Kirschbaum_DS_Fresa_Caracteristicas_botanicas_variedades.pdf?sequence=4&isAllowed=y

10. Gleńsk M, Dudek MK, Rybacka A, Włodarczyk M, Fecka I. Triterpenoids from strawberry *Fragaria* × *ananassa* Duch. cultivar Senga Sengana leaves. Producción de cultivos industriales. Revista Elsevier [sciencedirect]. 2021[Citado el 12 enero 2025];169(113668). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669021004325>
11. Salas-Arias K, Salas-Morgan B, Calvo-Castro L. Potencial bioactivo de los residuos del cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*) en Costa Rica. Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales [Internet].2022 [Citado el 12 enero 2025], 9 (2): 55-68. DOI: <https://doi.org/10.23850/24220582.4875>
12. Tarazona Roch, A. Estudio de la actividad actividad antioxidante y antiinflamatoria de la fresa (*Fragaria* × *ananassa*) y su relación con la composición en compuestos bioactivos. [Máster universitario] España: Universidad Politécnica de Valencia; 2020. [citado 12 de enero 2025] Disponible en: <https://riunet.upv.es/entities/publication/a218dccd-ceb6-46b8-aa04-b34c0fa0b7ae>
13. Huerta M, Aguilar MR, Vázquez B. Polifenoles: propiedades y papel en desarrollos biomédicos. Rev. Plásticos Mod. [Internet] 2022; [citado 17 de febrero de 2025];123(775):3-15. Disponible en: https://digital.csic.es/bitstream/10261/308865/1/107_924959.pdf
14. Alvarez Agüero CM, Lock de Ugaz O. Taninos. Rev. Quim. [Internet].1992 [citado 17 de febrero de 2025];6(1):47-63. Disponible en: <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/4619/4606>
15. Sun X, Cui B, Zheng K, Zhang Y, An X, Nie Y, et al. Mechanism study on the inhibitory effect of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) leaves on advanced glycation end-products formation. Food Biosci [sciencedirect] 2024; [citado 15 de marzo de 2025], 58(103691). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429224001214>
16. D'Urso G, Cosimo P, Piacente S, Montoro P. Combination of LC–MS based metabolomics and antioxidant activity for evaluation of bioactive compounds in *Fragaria vesca* leaves from Italy. J Pharm Biomed Anal [sciencedirect] 2018; [citado 15 de marzo de 2025]; 150:233–40. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708517326250>
17. Kool MM, Comeskey DJ, Cooney JM, McGhie TK. Structural identification of the main ellagitannins of a boysenberry (*Rubus loganbaccus* × *baileyanus* Britt.) extract by LC–ESI-MS/MS, MALDI-TOF-MS and NMR spectroscopy. Food Chem [sciencedirect]. 2010; [citado 15 de marzo de 2025]; 119(4):1535–43. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881460901098X>

18. Fecka I, Bednarska K, Włodarczyk M. Hoja de *Fragaria* × *ananassa* cv. Senga Sengana: *Fragaria* × *ananassa* cv. Senga Sengana Leaf: An Agricultural Waste with Antiglycation Potential and High Content of Ellagitannins, Flavonols, and 2-Pyrone-4,6-dicarboxylic Acid. *Molecules* [Internet]. 2022[citado 15 de marzo de 2025]; 27(16):5293. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9415522/>
19. 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 15 de marzo de 2025], 26(6):1731. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26061731>
20. Khan I, Tababum S, Rehman T, Ikram M, Ihsan ul Haq, Zia M. Antioxidant, cytotoxicity, protein kinase inhibition, and antibacterial activities of *Fragaria* × *ananassa* leaves. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* [Internet]. 2018[Citado el 09 mayo 2025];31(4): 1423-1429. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30033429/>
21. Liya S. & Siddique R. Determination of antimicrobial activity of some commercial fruit (apple, papaya, lemon and strawberry) against bacteria causing urinary tract infection. *Revista Europea de Microbiología e Inmunología* [Internet]. 2018 [Citado el 09 mayo 2025]; 8(3), 95–99. DOI: <https://doi.org/10.1556/1886.2018.00014>
22. Ginting M, Ginting P, Sari SA. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto de etanol de hoja de fresa (*Fragaria* × *ananassa* (Weston) Rozier) contra la bacteria *Propionibacterium acnes*. *JPS* [Internet]. 7 de enero de 2023 [citado el 23 de sept. 2025];6(1):281-6. Disponible en: <https://journal-jps.com/new/index.php/jps/article/view/56>
23. Cerviño A, Grellet C, Di Peto P, Rodríguez L, Castagnaro A, Filippone M, et al. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de extractos de hojas de diferentes cultivares de *Fragaria ananassa* Duch. para la formulación de bioinsumos fitosanitarios. *Revista agronómica del noroeste argentino* [Internet]. 2019 [Citado el 09 mayo 2025]; 39(2): 83-87. Disponible en: <https://www.scielo.org.ar/pdf/ranar/v39n2/v39n2a01.pdf>
24. Elfeky N, Zayed M, Mohamed Mohamed Mousa A, Abdelsameea Mahmoud E, Mohammed Awad S, El-Sabbagh S. Antimicrobial activities of *Fragaria* × *ananassa* leaves against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Revista Delta de Ciencias* [Internet]. 2023 [citado el 09 de mayo 2025]; 47(1):154-170. Disponible en: https://djs.journals.ekb.eg/article_331166.html
25. Hamad A, Atiyea Q, Hameed D, Dalaf A. Green synthesis of copper nanopar een synthesis of copper nanoparticles using strcticles using strawberry leaves and studyes and study. *Karbala International Journal of Modern Science* [Internet]. 2023[Citado el 09 de mayo 2025]; 9(1): 122-136. DOI: <https://doi.org/10.33640/2405-609X.3275>
26. Rivera A & Vides N. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria*

- x ananassa* Duch. “fresa” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Tesis Profesional en Internet]. Lima: Universidad María Auxiliadora, 2021[Citado el 09 de mayo 2025]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/397>
- 27.Llontop-Delgado M& Minaya-Delgado J. 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 Profesional en Internet]. Lima: Universidad María Auxiliadora, 2022[Citado el 09 de mayo 2025]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1097>
 - 28.Acosta E & Fernández R. Actividad antibacteriano del extracto etanólico de *Fragaria X Ananassa* Duch. (fresa) frente a *Escherichia coli* ATCC 10231. [Tesis Profesional]. Huancayo: Universidad Roosevelt,2023[citado el 09 de mayo 2025]. Disponible en: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/1615>
 - 29.Rodríguez J. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Fragaria ananassa* "fresa" sobre *Microsporum gypseum*. [Tesis Profesional en Internet]. Trujillo, Universidad Privada Antenor Orrego, 2019 [Citado el 09 de mayo 2025]. Disponible en: <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/5333>
 - 30.Loayza K. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Fragaria ananassa* (fresa), frente al *Streptococcus mutans* en la Universidad Andina del Cusco 2021. [Tesis Profesional]. Cusco: Universidad Andina del Cusco,2022[Citado el 09 de mayo 2025]. Disponible en: <https://repositorio.uandina.edu.pe/handle/20.500.12557/4782>
 - 31.Martinelli G, Fumagalli M, Piazza S, Maranta N, Sangiovanni E, Pozzoli C, et al. Investigating ellagitannins from strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) as a new strategy to counteract *H. pylori* infection and inflammation. *Food & Function* [Internet].2025 [citado el 23 de sept 2025];16(1): 5049-5058.Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2025/fo/d5fo01022e#!divAbstract>
 - 32.Kačániová M, Kollár J, Paulen O. In vitro and in situ antibacterial and insecticidal activity of *Fragaria ananassa* essential oil. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies* [Internet]. 2025 [citado el 02 de ene. 2026];58(1):89–95. Disponible en: https://www.spasb.ro/index.php/public_html/article/view/2333/2225
 - 33.Haria Fitri, Reno Wiska Wulandari, Nabila Jihan Yandika. The Inhibitory Potential of Strawberry (*Fragaria x ananassa*) Extract Against *Staphylococcus aureus*: Implications for Dental Caries Prevention. *Bioscmed* [Internet]. 2024[citado el 02 de ene 2026];9(2):354-66. Disponible en: <https://bioscmed.com/index.php/bsm/article/view/1184>
 - 34.Moya T, Osorio R. Actividad fotoprotectora de formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (fresa). [Tesis Profesional]. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2017 [Citado el 15 de julio 2025]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/00bfca08-e65a-4bfd-b10b->

[8223c5714f74/content](#)

35. Fuentes X. Resistencia a β -lactámico por *Staphylococcus aureus*. [Internet] Universidad de La Laguna, 2018. Disponible en: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/9607/Resistencia%20a%20%C3%9F-lactamico%20por%20Staphylococcus%20aureus..pdf>
36. Ochoa Sara A, López-Montiel F, Escalona G, Cruz-Córdova A, Dávila-Leticia B, López-Martínez B, et al. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. Revista Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. [Internet]. 2013 [Citado el 09 de mayo 2025];70 (2): 136-150. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462013000200010&lng=es.
37. Ramos S, Silva V, Dapkevicius M de LE, Caniça M, Tejedor-Junco MT, Igrejas G, et al. Escherichia coli as Commensal and Pathogenic Bacteria Among Food-Producing Animals: Health Implications of Extended Spectrum β -lactamase (ESBL) Production. Animals (Basel) [Internet]. 2020; [Citado el 09 de jun 2025] 10(12):2239. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33260303/>
38. Escobar M. Estudio de la actividad antibacteriana de la tintura de las hojas de Origanum vulgare "Orégano" y frutos de Caesalpinia spinosa "Tara". [Tesis Profesional]. Ica: Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica. Facultad de Farmacia y Bioquímica; Perú - 2024. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/server/api/core/bitstreams/e1b6ad57-a0ec-45ba-a2ad-e9eb55050cdd/content>
39. Alfaro-Mora R. Aspectos relevantes sobre *Salmonella sp* en humanos. Revista Cuba Med Gen Integral [Internet]. 2019 [Citado el 09 de jun 2025];34(3):110–22. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252018000300012
40. Organización Mundial de la Salud. Fiebre tifoidea [Internet]. OMS. [Citado el 09 de jun 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/typhoid?gad_source=1&gclid=EAIaIaQobChMIv9TejdvYhwMVP19IAB0sxBTpEAAAYASAAEgJm5_D_BwE
41. Lazo V, Hernández G, Méndez R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. Revista Horiz. Med. [Internet]. 2018 [Citado el 09 de jun 2025]; 18(1): 75-85. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n1.11>
42. Kim J, Sudbery P. Candida albicans, a major human fungal pathogen. J Microbiol. [Internet]. 2011 [Citado el 09 de jun 2025] 49(2):171-7. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21538235/>
43. López-Ávila K, Dzul-Rosado K, Lugo-Caballero C, Arias-León J, Zavala-Castro J. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en Candida albicans. Una revisión. Rev. biomédica [Internet]. 2016 [citado 09 de jun 2025]; 27(3): 127-136. DOI:

<https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.541>.

44. Martos G, Mamani A, Filippo M, Abate P, Katz N, Castagna A. Ellagitannin HeT obtained from strawberry leaves is oxidized by bacterial membranes and inhibits the respiratory chain. *FEBS Open Bio* [Internet]. 2018 [Citado el 09 Oct 2024]; 8(2): 211-218. DOI: <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12361>
45. Sánchez Flores, F.A. Fundamentos epistémicos de la investigación cualitativa y cuantitativa: Consensos y disensos. *Revista Digital de Investigación en Docencia Universitaria* [Internet]. 2019 [Citado el 10 Oct 2024]; 13(1): 102-122. Disponible en: DOI: <https://doi.org/10.19083/ridu.2019.644>
46. 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 el 10 Oct 2024]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/326905435_ENFOQUES_DE_INVESTIGACION/link/5b6b7f9992851ca650526dfd/download
47. Dr. José Supo. *Seminarios de Investigación Científica: Sinopsis del Libro y Carpeta de Aprendizaje*. 1 ed. Arequipa: BIOESTADISTICO EIRL; 2014.
48. Đurović S, Domínguez R, Pateiro M, Teslić N, Lorenzo JM, Pavlić B. Industrial hemp nutraceutical processing and technology. En: *Industrial Hemp*. Elsevier; 2022. p. 191–218. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/maceration>
49. Santiago L. Efectividad antibacteriana de los extractos del alga marina “Caulerpa filiformis (suhr) hering” recolectada en la playa “el chaco” provincia de pisco. [Tesis Profesional]. Ica: Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de Ica. Facultad de Farmacia y Bioquímica; Perú - 2018. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/server/api/core/bitstreams/bb590637-9d06-4220-a56f-03a7a874d317/content>
50. Caycedo L, Corrales L, Trujillo D. Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova* [Internet]. 2021 [Citado el 10 Oct 2024]; 19(36): 49-94. DOI: <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
51. Especialistas en medios de cultivo MCD. Ficha técnica: Caldo Dextrosa Sabouraud Presentación Fco. 450 gramos. [Internet]. México: MCDLab, 2009 [citado 10 Oct 2024]. Disponible en: <https://mcd.com.mx/medios-de-cultivo/87-294-caldo-dextrosa-sabouraud.html>
52. Especialistas en medios de cultivo MCD. Ficha técnica: Agar Dextrosa Sabouraud. [Internet]. México: MCDLab, 2009 [Citado el 14 diciembre 2025]. Disponible en: <https://mcd.com.mx/>
53. Vélchez-Cáceda H, Cervantes-Ganoza L. Evaluación del efecto antibacteriano sinérgico de rifamicina en propóleo sobre bacterias grampositivas. *Rev Cub Med Mil* [Internet]. 1 de setiembre 2021 [citado 02 Ene 26]; 50(3). Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572021000300015&lng=es.

54. Grande-Tovar C, Aranaga-Arias C, Flórez-López E, Araujo-Pabón L. Determination of the antioxidant and antimicrobial activity from blackberry residues (*Rubus glaucus* Benth). *Informador Técnico* [Internet] 2020 [Citado el 15 de julio 2025] 85(1), 64-82. DOI: <https://doi.org/10.23850/22565035.2932>
55. Maldonado RF, Sá-Correia I, Valvano MA. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. *FEMS Microbiol Rev.* [Internet] 2016 [Citado el 15 de julio 2025] 40(4):93-480. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw007>
56. Lehman KM, Grabowicz M. Countering Gram-Negative Antibiotic Resistance: Recent Progress in Disrupting the Outer Membrane with Novel Therapeutics. *Antibiotics* **2019**, 8(4). DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040163>
57. Suurbaar J, Mosobil R, Donkor AM. Antibacterial and antifungal activities and phytochemical profile of leaf extract from different extractants of *Ricinus communis* against selected pathogens. *BMC Res Notes*. 2017 Dec 1;10(1):660. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13104-017-3001-2>
58. Božac MU, Poljuha D, Dudaš S, Bilić J, Šola I, Mikulič-Petkovšek M, et al. Phytochemical profile and antioxidant properties of invasive plants *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle and *Helianthus tuberosus* L. in Istria Region, Croatia. *Antioxidants* 2025, 14(6): 677. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antiox14060677>

VIII. ANEXOS

8.1. Certificación botánica.



**VICERRECTORADO DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

CONSTANCIA N° 214-USM-MHN-2023

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Jeraldinne Lizeth Machara Chacaltana**, egresada de la Universidad San Luis Gonzaga ha sido estudiada y clasificada como: *Fragaria* × *ananassa* Duchesne ex Rozier y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Rosales

FAMILIA : ROSACEAE

GÉNERO : *Fragaria*

ESPECIE : *Fragaria* × *ananassa* Duchesne ex Rozier

Nombre vulgar: “Fresa”

Procedencia: Huaral

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 05 de septiembre de 2023

Dra. Joaquina Alban Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

8.2. Recolección y tratamiento de la muestra botánico.



Figura 6. Campo de cultivo de *Fragaria x ananassa* en el distrito de Chancay, provincia de Huaral, Lima.



Figura 7. Proceso de recolección manual de la muestra.



Figura 8. Secado natural de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”.



Figura 9. Secado de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa” en la estufa.



Figura 10. Molienda de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “fresa”.

8.3. Proceso de obtención del extracto de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “fresa”



Figura 12. Pesado de la muestra triturada para el proceso de extracción.



Figura 13. Medición del volumen del solvente extractor.



Figura 14. Proceso de maceración del material vegetal en contacto con el solvente.



Figura 15. Filtración del extracto obtenido del macerado.



Figura 16. Colocación del extracto etanólico e hidroalcohólico filtrado en bandeja para su concentración.



Figura 17. Secado del extracto etanólico e hidroalcohólico a temperatura ambiente para la evaporación del solvente.



Figura 18. Transferencia del extracto metanólico filtrado a balón de evaporación para su concentración.



Figura 19. Ajuste de la temperatura a 40 °C y presión al vacío aproximada de 360 mbar.



Figura 20. Inicio del proceso de evaporación del solvente metanólico bajo presión reducida.



Figura 21. Concentración progresiva del extracto metanólico mediante evaporación controlada del solvente.



Figura 22. Pesado del extracto concentrado.

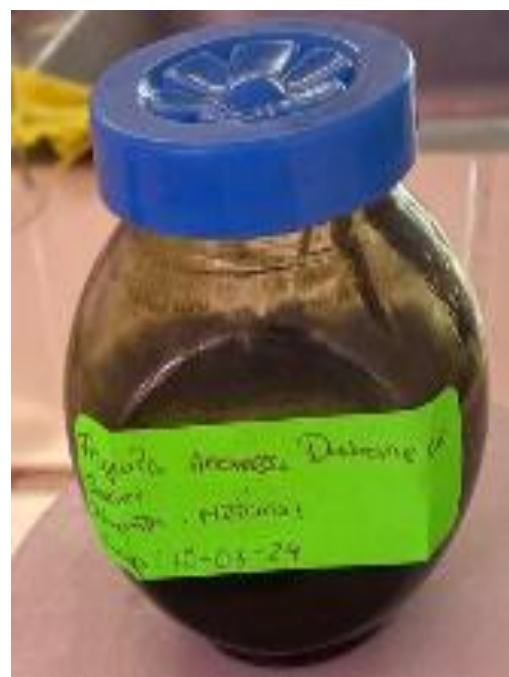


Figura 23. Almacenamiento de los extractos concentrados en recipientes protegidos de la luz.

8.4. Screening fitoquímico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “Fresa”



Figura 24. Obtención de la Fracción A.



Figura 25. Obtención de la Fracción B.

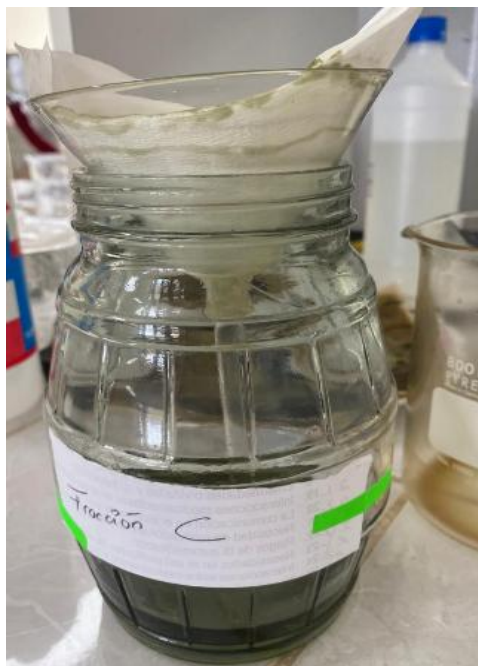


Figura 26. Obtención de la Fracción C.



Figura 27. Obtención de la Fracción D.

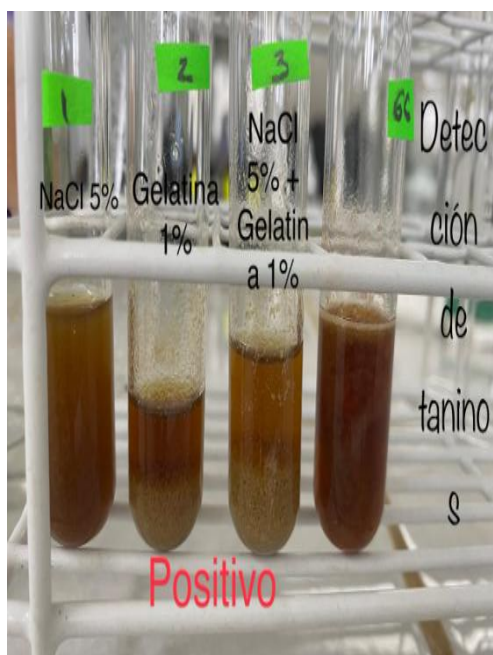


Figura 28. Reacción de identificación para taninos.

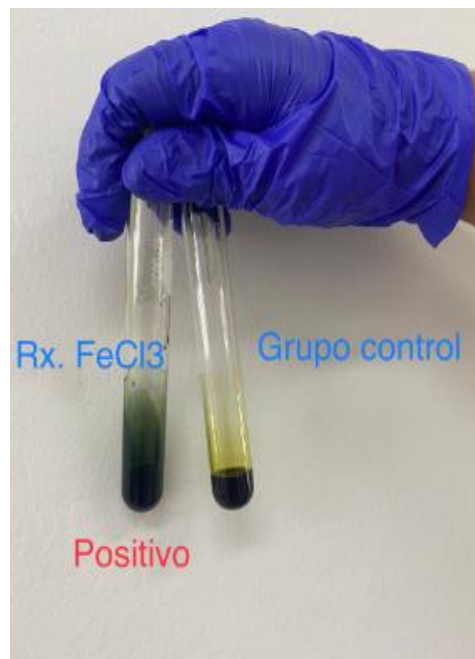


Figura 29. Reacción de identificación para grupos fenólicos libres.



Figura 30. Reacción de identificación para aminoácidos.

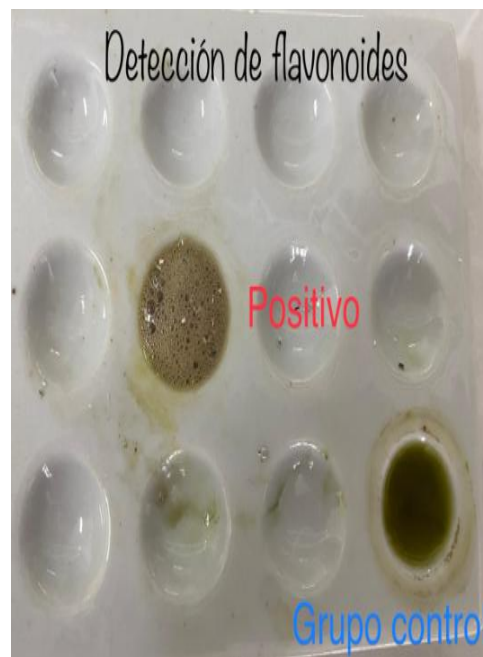


Figura 31. Reacción de identificación para flavonoides.

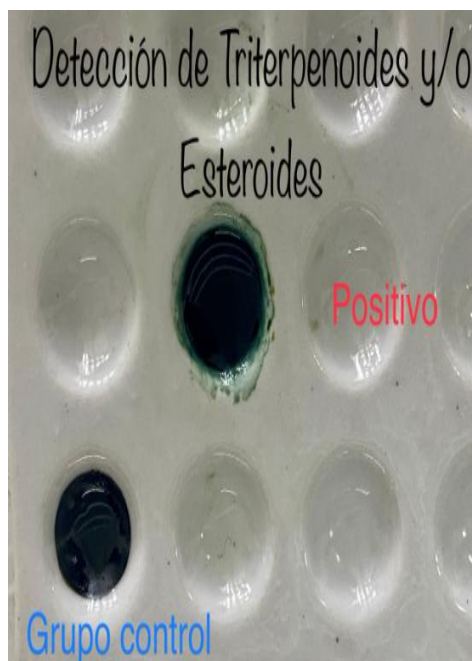


Figura 32. Reacción de identificación para triterpenos y/o esteroides.



Figura 33. Reacción de identificación para alcaloides.



Figura 34. Reacción de identificación para leucoantocianinas /catequinas.



Figura 35. Reacción de identificación para saponinas.

8.5. Actividad antimicrobiana de los extractos de hojas de *Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier “fresa”



Figura 36. Materiales utilizados para determinar la actividad antimicrobiana.



Figura 37. Placas con medios selectivos para el crecimiento de los microorganismos utilizados en el ensayo antimicrobiano.

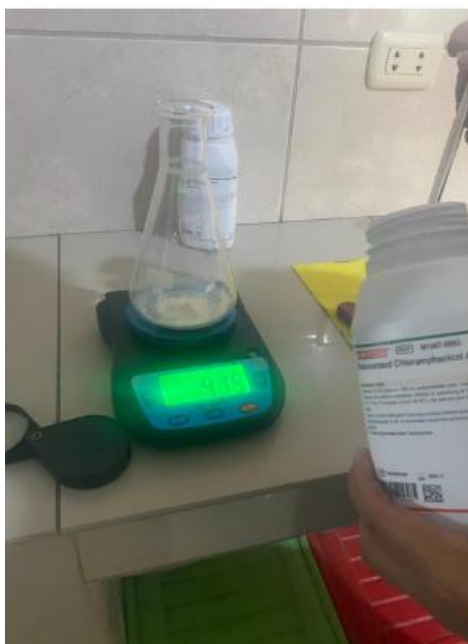


Figura 38. Pesado de los medios Agar Müeller-Hinton y Agar Dextrosa Sabouraud para la preparación de cultivos bacterianos y fúngicos.



Figura 39. Disolución de los medios de cultivo en agua destilada según las indicaciones del fabricante



Figura 40. Calentamiento y agitación de los medios hasta su completa homogenización.



Figura 41. Esterilización de los medios de cultivo en autoclave a 121 °C y 15 lb de presión.



Figura 42. Pesado del extracto seco para la preparación de las diferentes concentraciones



Figura 43. Resuspensión del extracto en los solventes correspondientes para la obtención de concentraciones al 100 %, 75 %, 50 % y 25 %.



Figura 44. Esterilización de asa de siembra en llama de mechero Bunsen dentro de la campana de bioseguridad.



Figura 45. Toma de la colonia microbiana con el asa esterilizada desde el medio selectivo.



Figura 46. Transferencia de la cepa al tubo con caldo de enriquecimiento estéril.



Figura 47. Incubación de los cultivos microbianos en estufa a temperatura controlada de 35–37 °C.



Figura 48. Observación macroscópica del crecimiento microbiano evidenciado por la turbidez del medio posterior al periodo de incubación.

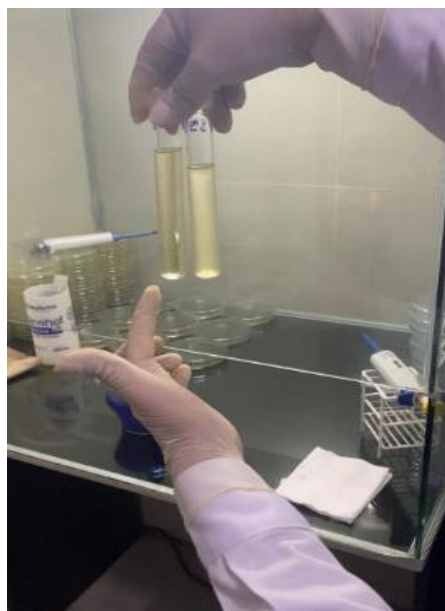


Figura 49. Ajuste de la concentración del cultivo microbiano al estándar 0,5 de McFarland para la obtención del inóculo estandarizado.



Figura 50. Agar Sabouraud/ Müller Hinton mantenido a 40 °C antes de la incorporación del inóculo.



Figura 51. Apertura del frasco con la cepa microbiana dentro de la campana de flujo laminar para garantizar condiciones estériles.

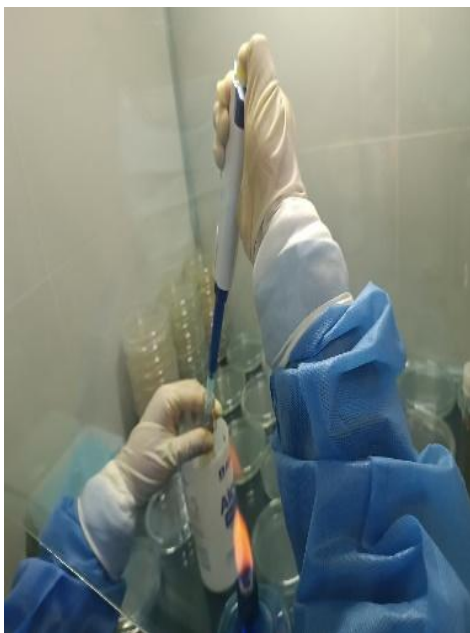


Figura 52. Extracción de 1 mL de inóculo estandarizado utilizando micropipeta estéril.

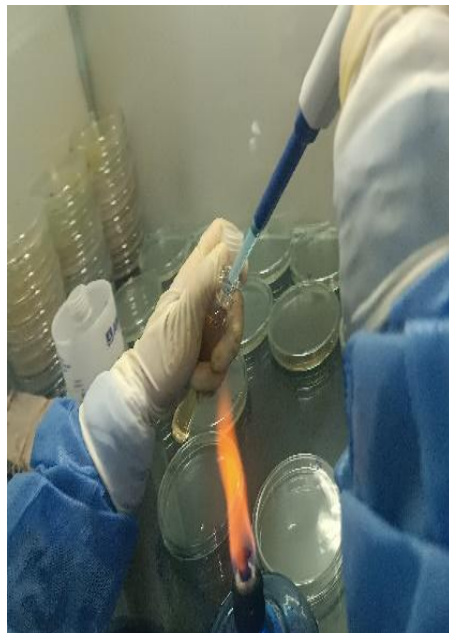


Figura 53. Mezcla homogénea del inóculo con el agar mantenido a 40 °C antes de su vertido en placas de Petri.

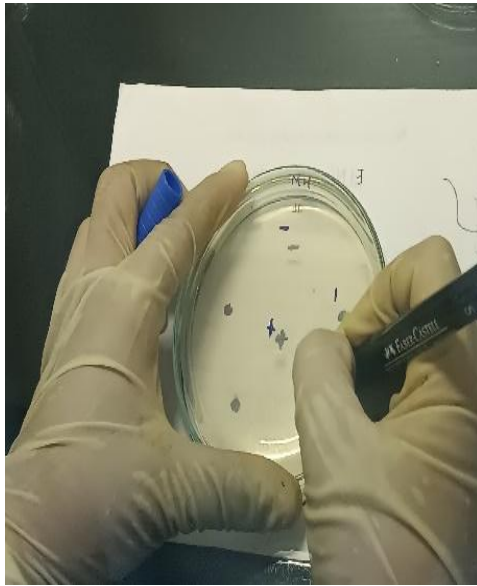


Figura 54. Señalización de la ubicación de los pocillos sobre la placa de Petri mediante marcación con plumón indeleble en la superficie inferior.

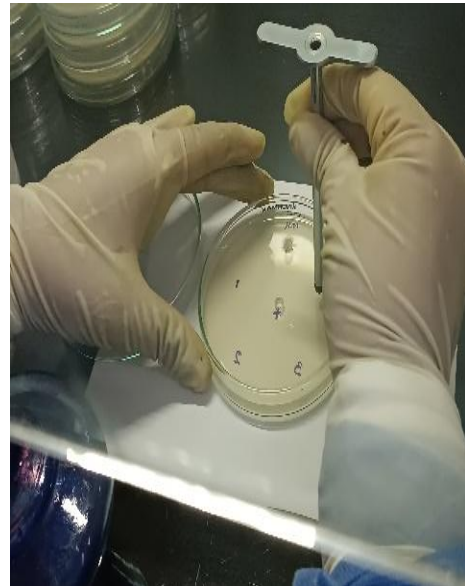


Figura 55. Formación de los pocillos de 6 mm de diámetro en el agar previamente solidificado.

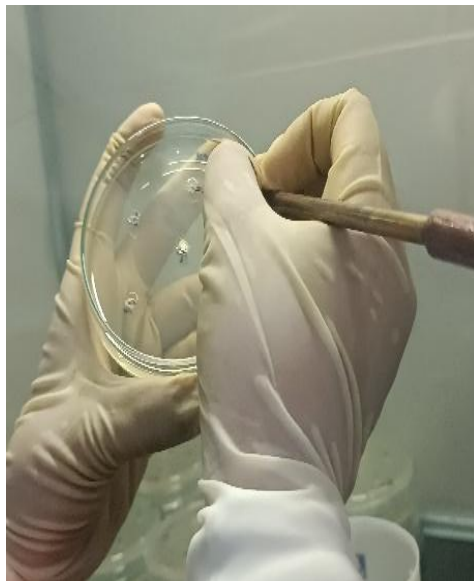


Figura 56. Retiro del agar de los pocillos, dejando espacios vacíos para la adición de los extractos.

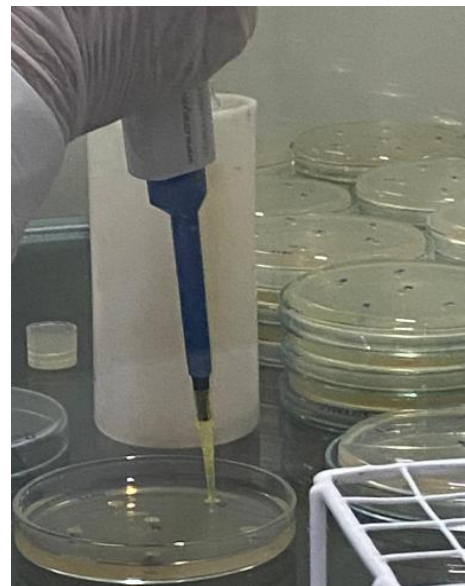


Figura 57. Pocillos sellados en el agar para delimitar el área de aplicación del extracto.

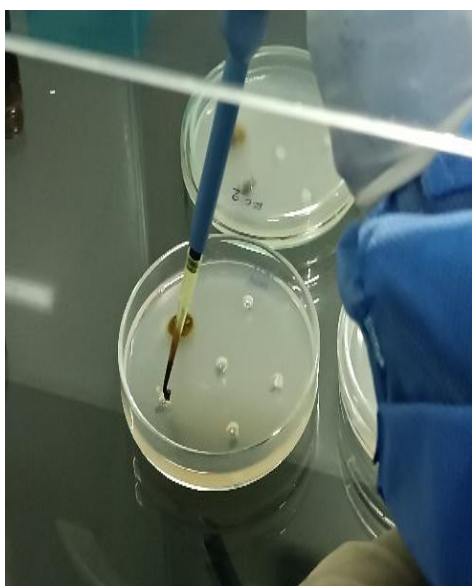


Figura 58. Inoculación de los extractos en los pocillos de agar con las muestras a evaluar.

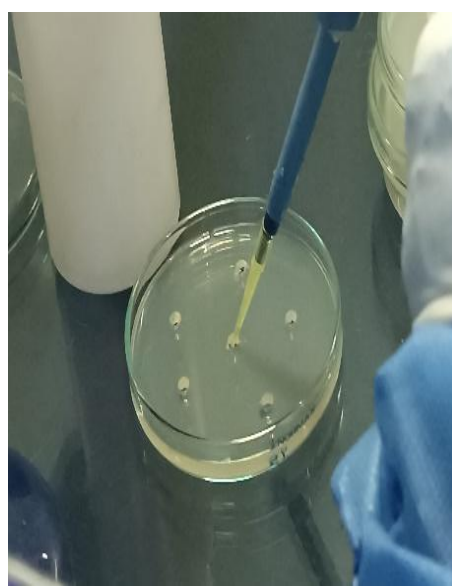


Figura 59. Inoculación de los controles positivo y negativo en los pocillos correspondientes.



Figura 60. Disposición de múltiples placas mostrando el procedimiento de adición de extractos y controles.



Figura 61. Placas con inóculo durante el tiempo de incubación

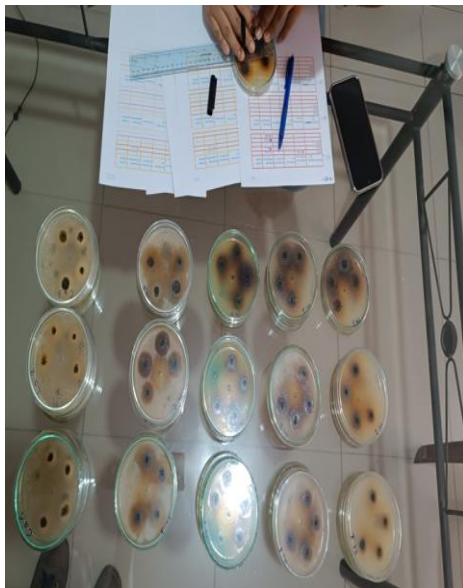


Figura 62. Lectura de la actividad antimicrobiana.



Figura 63. Tres repeticiones de los halos de inhibición producidos por el extracto etanólico frente a las cepas estudiadas.



Figura 64. Tres repeticiones de los halos de inhibición producidos por el extracto hidroalcohólico frente a las cepas estudiadas.



Figura 65. Tres repeticiones de los halos de inhibición producidos por el extracto metanólico frente a las cepas estudiadas.



Figura 66. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a *Escherichia coli* ATCC 13216.

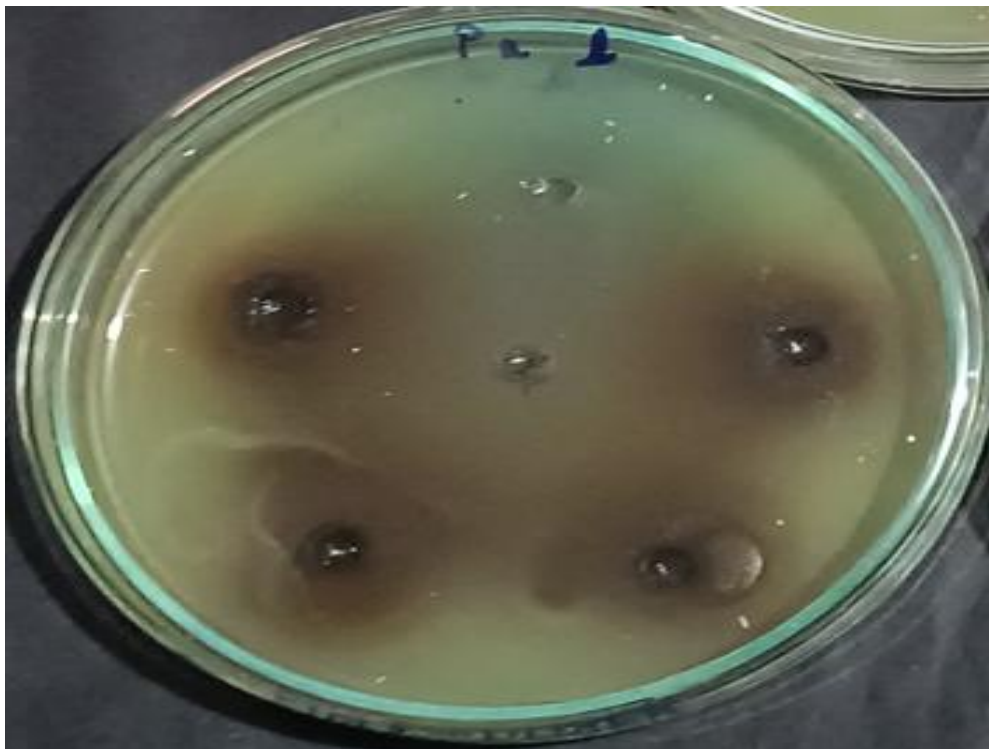


Figura 67. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

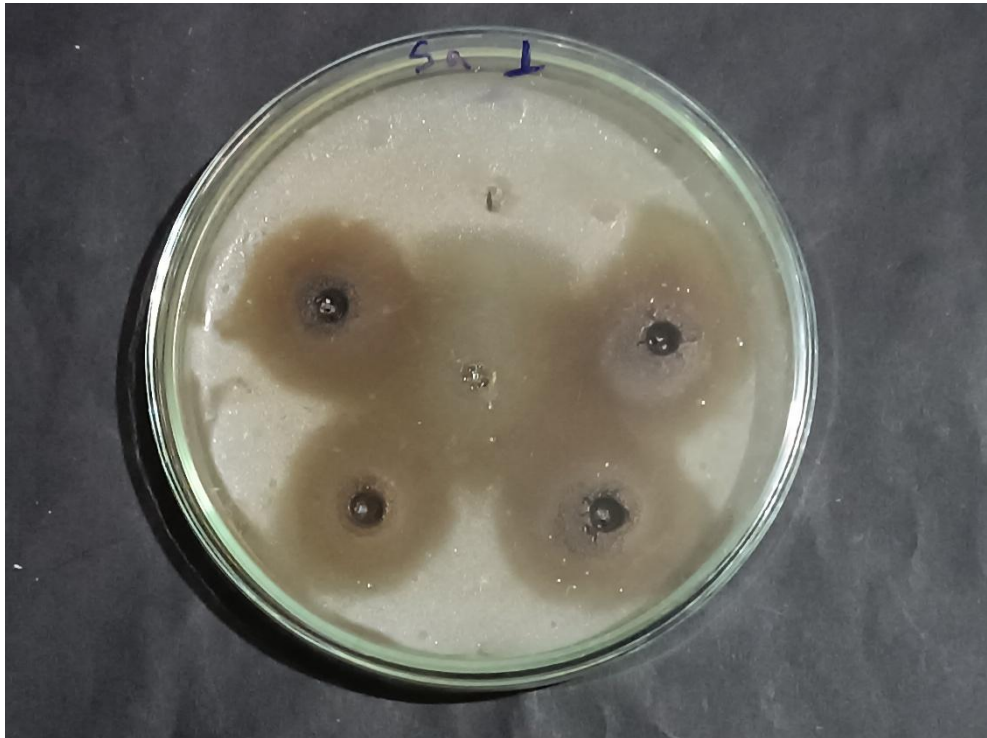


Figura 68. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

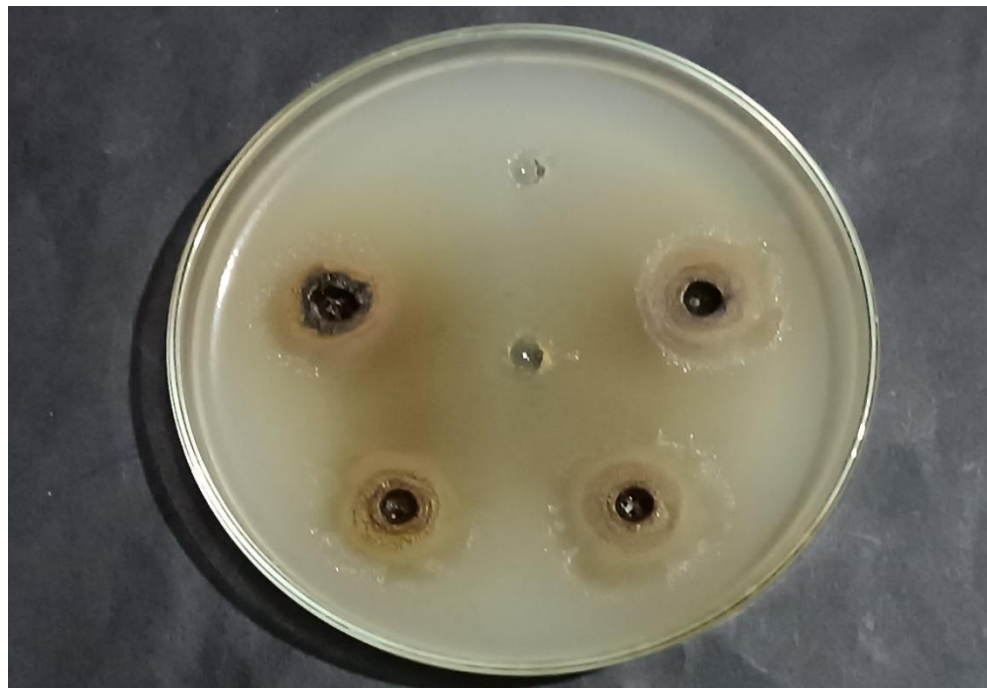


Figura 69. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028.

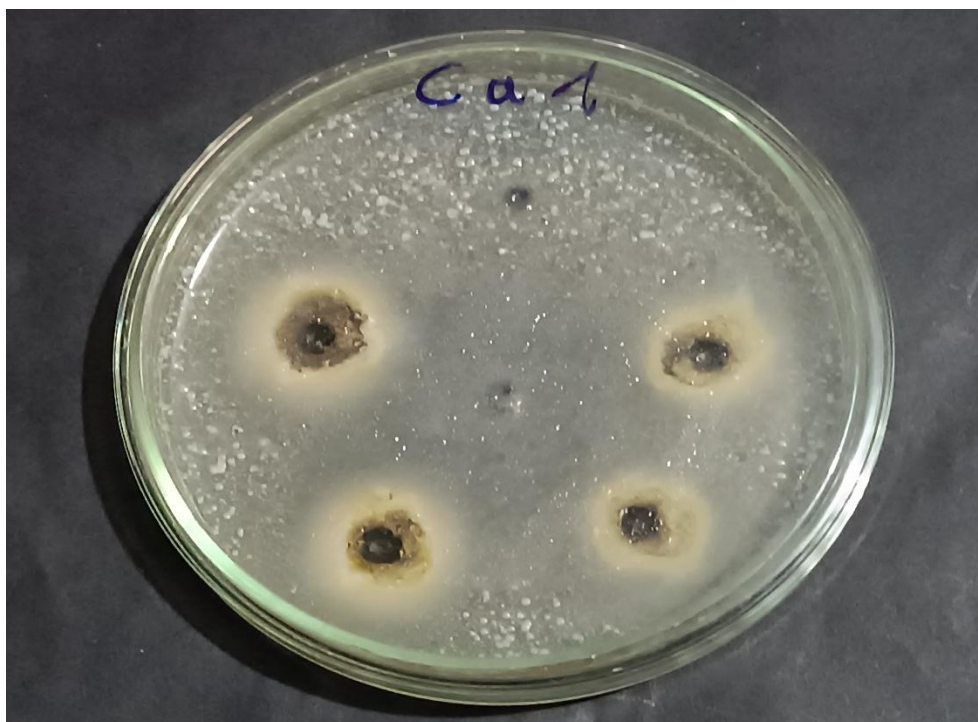


Figura 70. Halos de inhibición del extracto etanólico frente a *Candida albicans* ATCC 10231.



Figura 71. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a *Escherichia coli* ATCC 13216.

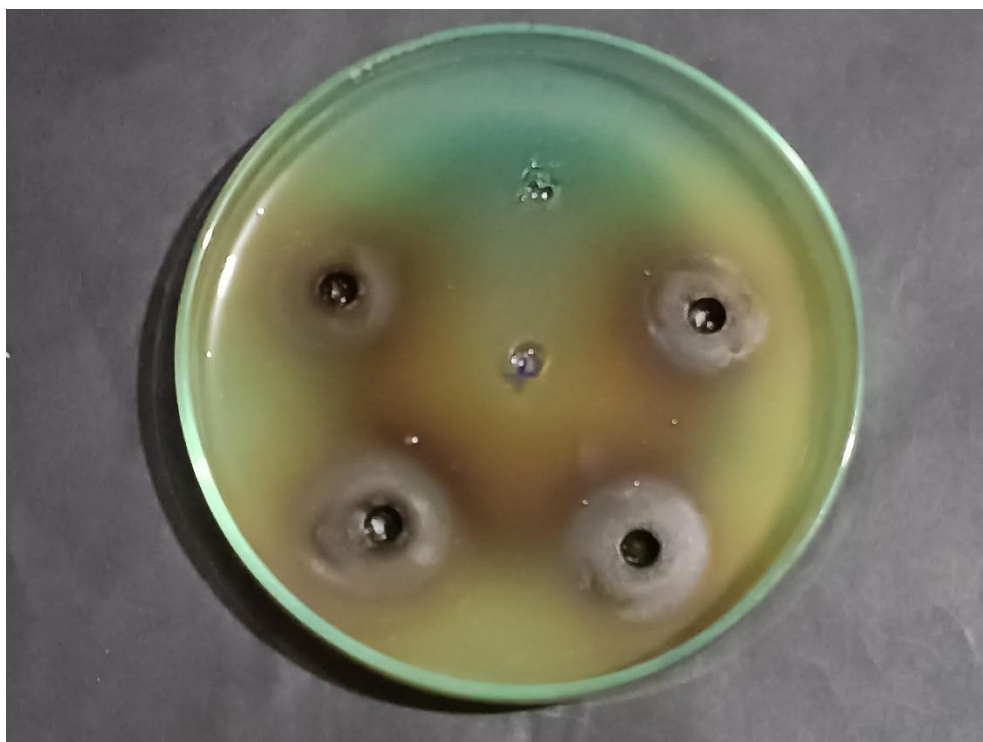


Figura 72. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

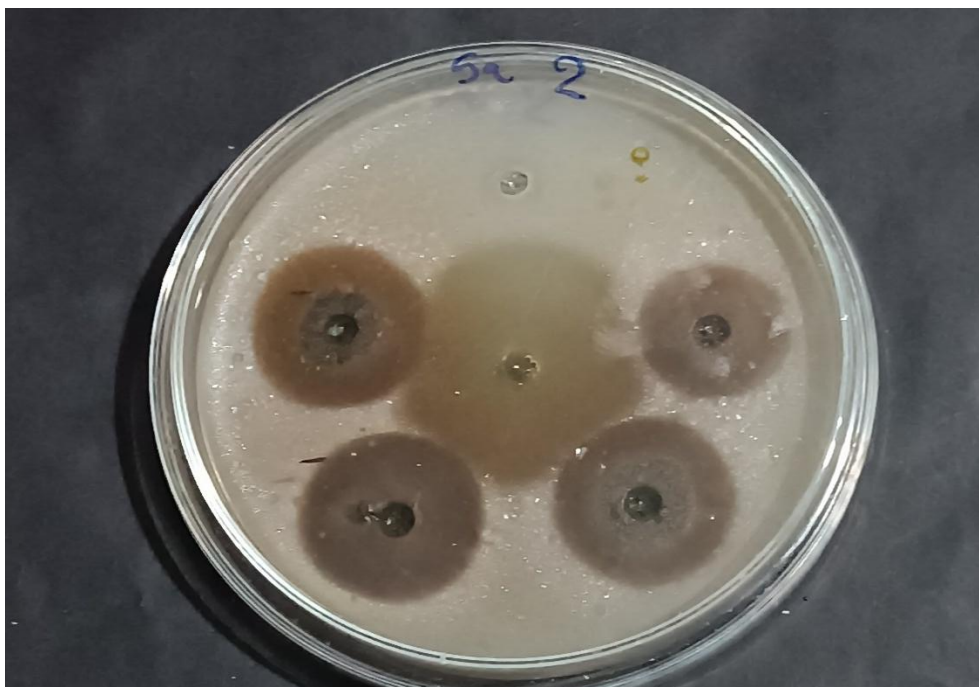


Figura 73. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

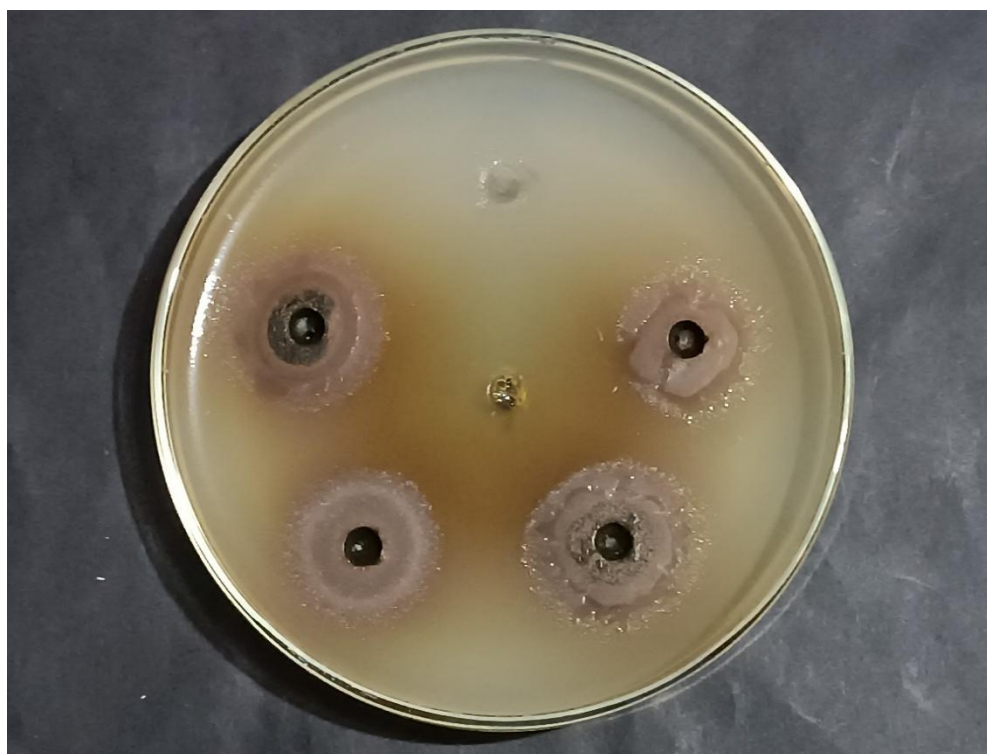


Figura 74. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028.

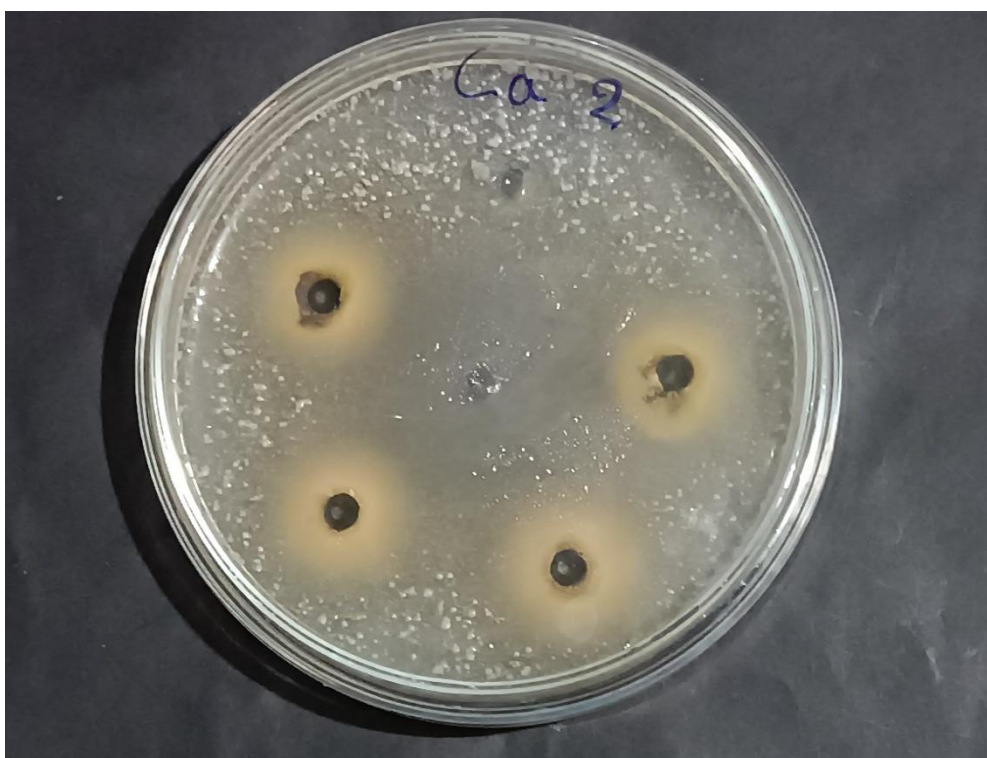


Figura 75. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

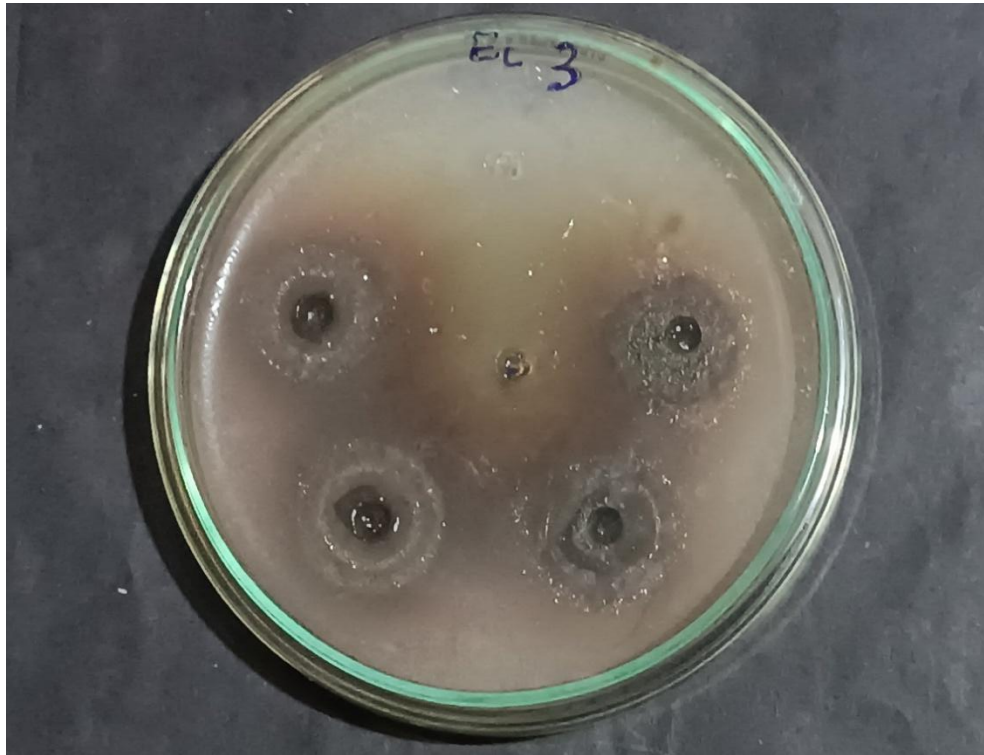


Figura 76. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a *Escherichia coli* ATCC 13216.

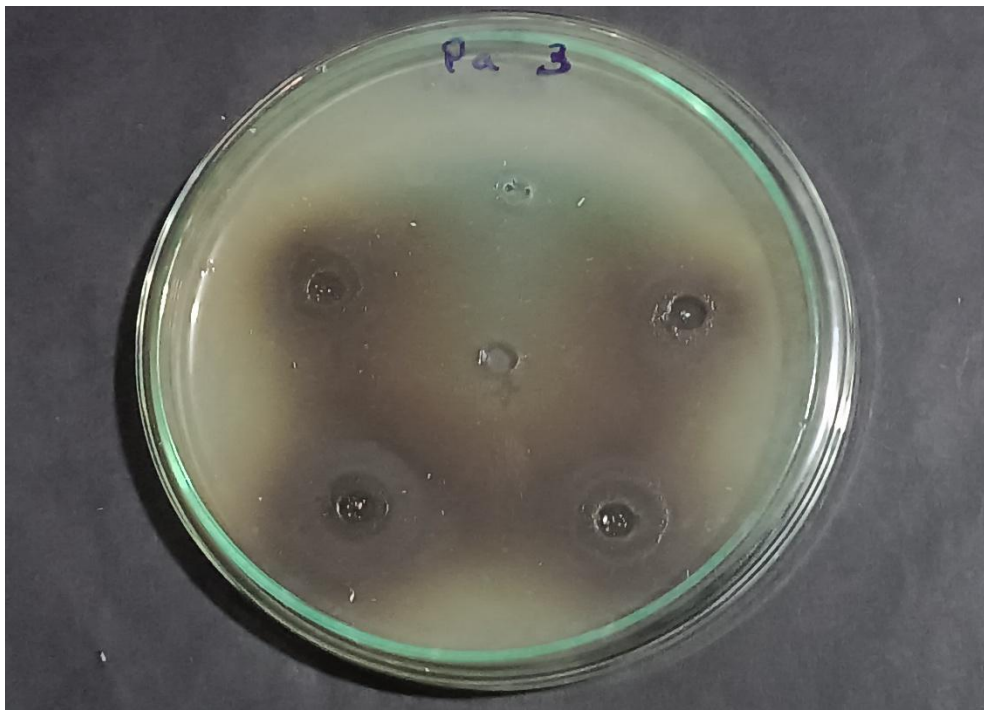


Figura 77. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

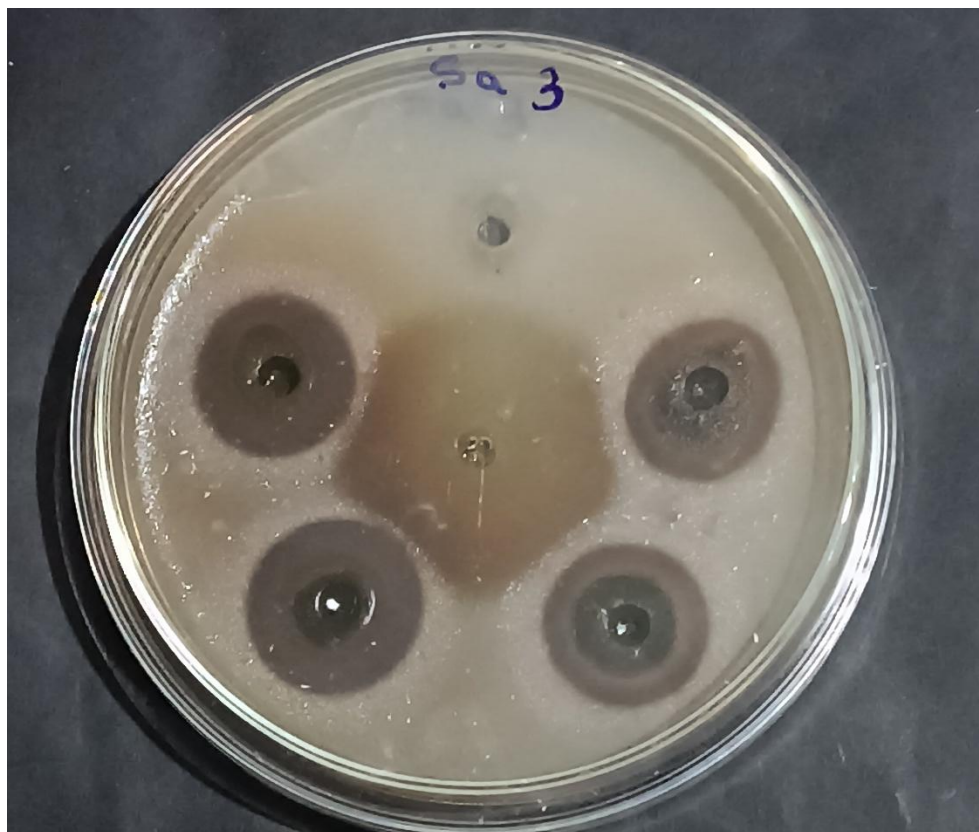


Figura 78. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

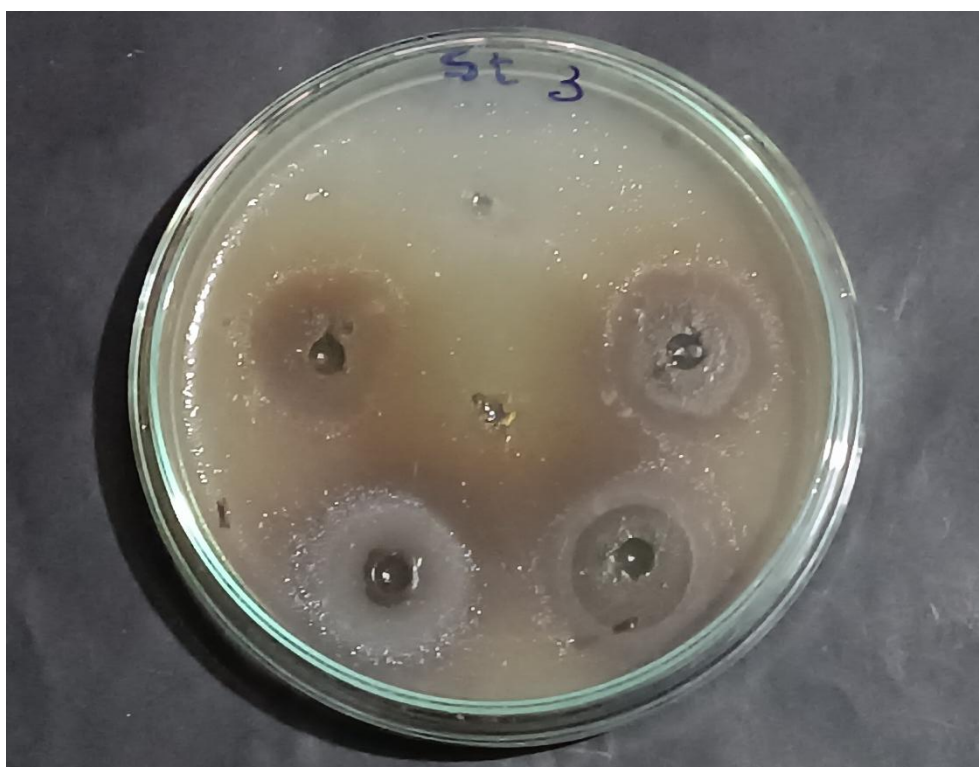


Figura 79. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028.



Figura 80. Halos de inhibición del extracto metanólico frente a *Candida albicans* ATCC 10231.