

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE GUAYABA (*Psidium
guajava*) FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 8739 Y
Staphylococcus aureus ATCC 6538**

TESIS

Presentada por:

Bach. Estefany Shirley Atencio Quispe

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

TACNA – PERÚ

2025

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
LAS HOJAS DE GUAYABA (*Psidium guajava*) FRENTE A *Escherichia coli*
ATCC 8739 Y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

TESIS

Presenta por:

Bach. Estefany Shirley Atencio Quispe

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Aprobada por UNANIMIDAD, ante el siguiente jurado

Dra. Lourdes Adriana Luque Ramos

Presidente

Mgr. Karla Nohely Ramos Cáceres

Miembro

Mgr. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra

Miembro

Mgr. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra

Asesor

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Mgr. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra**, en mi condición de asesor acreditado por la Resolución de Facultad N° **13087-2024-FACS-UNJBG**, de la tesis de investigación titulada: **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE GUAYABA (*Psidium guajava*) FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 8739 Y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538**, presentado por la bachiller Estefany Shirley Atencio Quispe para optar el Título Profesional de **QUÍMICO FARMACÉUTICO**.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual **TURNITIN**, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es de **6%**.

Por lo que, **CERTIFICO LA SIMILARIDAD** de la ESCALA DE SIMILITUD de la tesis, está de acuerdo al nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado con fines de continuar con los trámites respectivos para su obtención del Título Profesional.

FIRMA ASESOR

Mgr. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra

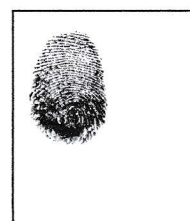
DNI: 00797995



FIRMA TESISTA

Bach. Estefany Shirley Atencio Quispe

DNI: 71524822



DEDICATORIA

“Dedicado a mi hijo Alexis, quien es mi fortaleza que impulsa mis pasos, cada uno de mis logros, cada esfuerzo y sacrificio, lleva su nombre.”

AGRADECIMIENTOS

"Agradezco a Dios por guiarme en este camino, a mi familia por su constante apoyo, Expreso mi gratitud a mis profesores de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, especialmente a mi asesor, Mgr. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra, por su exigencia y aprendizaje que me ha demostrado durante el proceso de mi desarrollo de tesis."

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.2.1. <i>Problema principal.....</i>	<i>4</i>
1.2.2. <i>Problemas específicos</i>	<i>4</i>
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	5
1.4. ALCANCES Y LIMITACIONES	6
1.5. OBJETIVOS	7
1.5.1. <i>Objetivo general</i>	<i>7</i>
1.5.2. <i>Objetivos específicos.....</i>	<i>7</i>
1.6. HIPÓTESIS	8
1.6.1. <i>Hipótesis general.....</i>	<i>8</i>
1.6.2. <i>Hipótesis específicas.....</i>	<i>8</i>
1.7. VARIABLES.....	9
1.7.1. <i>Variable independiente.....</i>	<i>9</i>
1.7.2. <i>Variable dependiente.....</i>	<i>9</i>
1.7.3. <i>Indicadores.....</i>	<i>9</i>
1.7.4. <i>Definición operacional de las variables</i>	<i>10</i>

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	11
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	11
2.1.1. <i>Antecedentes internacionales</i>	11
2.1.2. <i>Antecedentes nacionales</i>	14
2.2. BASES TEÓRICAS.....	20
2.2.1. <i>Guayaba</i>	20
2.2.2. <i>Taxonomía</i>	22
2.2.3. <i>Composición química de la guayaba</i>	22
2.2.4. <i>Usos medicinales</i>	23
2.2.5. <i>Escherichia coli</i>	23
2.2.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.2.7. <i>Método de Kirby-Bauer o de difusión de disco</i>	24
2.2.8. <i>Concentración mínima inhibitoria (CMI)</i>	24
2.2.9. <i>Concentración mínima bactericida (CMB)</i>	25
2.2.10. <i>Medios de cultivos</i>	25
2.2.11. <i>Prueba estadística F de análisis de varianza (ANOVA)</i>	25
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS	25
CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO	27
3.1. TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN.....	27
3.1.1. <i>Tipo</i>	27
3.1.2. <i>Diseño</i>	27
3.1.3. <i>Nivel</i>	28
3.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO	28
3.2.1. <i>Población</i>	28
3.2.2. <i>Muestra</i>	28
3.2.3. <i>Muestreo</i>	28
3.3. MATERIALES E INSTRUMENTOS	29

3.3.1.	<i>Materiales</i>	29
3.3.2.	<i>Equipos e instrumentos</i>	30
3.4.	INSUMOS Y REACTIVOS	30
3.5.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	31
3.5.1.	<i>Recolección de muestras de las hojas de guayaba</i>	31
3.5.2.	<i>Tratamiento de las muestras</i>	31
3.5.3.	<i>Certificación de la especie de guayaba</i>	31
3.5.4.	<i>Preparación del extracto etanólico de las hojas de guayaba</i>	32
3.5.5.	<i>Ensayo in vitro de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de guayaba</i>	33
3.6.	TÉCNICA DE ANÁLISIS DE DATOS	40
	CAPÍTULO IV RESULTADOS	41
4.1.	RESULTADOS PARA <i>ESCHERICHIA COLI</i> ATCC 8739	41
4.2.	RESULTADOS PARA <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ATCC 6538	51
4.3.	RESULTADOS ANTE A <i>ESCHERICHIA COLI</i> ATCC 8739. Y <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ATCC 6538.....	61
	CAPÍTULO V DISCUSION	64
	CONCLUSIONES	71
	RECOMENDACIONES	72
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	ANEXOS	81

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Operacional de las variables	10
Tabla 2. Registro de los halos de inhibición obtenidos frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	41
Tabla 3. Parámetros estadísticos de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	42
Tabla 4. ANOVA de un factor para evaluar la variación de los halos de inhibición a distintas concentraciones del extracto frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	45
Tabla 5. Prueba de Subconjunto de Tukey del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) en la inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.	46
Tabla 6. Grado de sensibilidad, de acuerdo con Duraffourd et al., de los halos inhibidores del extracto etanólico extraído de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) en la inhibición <i>in vitro</i> contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.	47
Tabla 7. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	49

Tabla 8. Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....	50
Tabla 9. Registro de los halos de inhibición obtenidos frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	51
Tabla 10. Parámetros estadísticos de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	52
Tabla 11. ANOVA de un factor para evaluar la variación de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	54
Tabla 12. Evaluación del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) sobre el desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 mediante la prueba de subconjunto de Tukey.....	55
Tabla 13. Grado de sensibilidad, de acuerdo con Duraffourd et al., de los halos inhibitorios del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) en relación con la inhibición <i>in vitro</i> ante <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	57

Tabla 14. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	59
Tabla 15. Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	60
Tabla 16. Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Representación gráfica de la media de los halos inhibitorios del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....	44
Figura 2. Representación gráfica de la media de lo halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	53

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Constancia de identificación taxonómica de la especie de guayaba	82
Anexo 2. Se envolvió la preparación del Extracto etanólico el frasco con papel aluminio.....	83
Anexo 3. Medios de cultivo empleados en el ensayo: caldo Infusión Cerebro Corazón (izquierda). agar Müeller Hinton (centro) y agar Nutritivo (derecha).....	83
Anexo 4. Tubos de ensayo con caldo BHI.	84
Anexo 5. Preparación del agar Müeller Hinton.....	84
Anexo 6. Preparación de las placas con agar Müeller Hinton.....	85
Anexo 7. Viales con <i>Escherichia coli</i> (izquierda) y <i>Staphylococcus aureus</i> (derecha).....	85
Anexo 8. Primer paso: preparación de la suspensión del agente bacteriano.	86
Anexo 9. Proceso de incubación.....	86
Anexo 10. Segundo paso: preparación de cultivo en vial con la suspensión del agente bacteriano por siembra en estría y agotamiento. ..	87

Anexo 11. Tercer paso: preparación de la suspensión final del agente bacteriano.	87
Anexo 12. Nefelometría de McFarland.....	88
Anexo 13. Discos de sensibilidad inactivados.....	88
Anexo 14. Preparación de los discos de sensibilidad con las diluciones del extracto de las hojas de guayaba	89
Anexo 15. Inoculación de la suspensión bacteriana.	89
Anexo 16. Siembra por diseminación en superficie.	90
Anexo 17. Placas de control positivo y negativo para <i>E. coli</i>	90
Anexo 18. Placas de control positivo y negativo para <i>S. aureus</i>	91
Anexo 19. Medición de los halos de inhibición <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	91
Anexo 20. Preparación de las diluciones para la determinación de la CMI.	92
Anexo 21. Resultados de la determinación de la CMI para <i>E. coli</i>	92
Anexo 22. Resultados de la determinación de la CMI para <i>S. aureus</i>	93
Anexo 23. Resultados de la determinación CMB para <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	93

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. La investigación tuvo un enfoque experimental, explicativo, analítico, prospectivo y cuantitativo. Las hojas se recolectaron aleatoriamente en Yarada los Palos y el extracto se obtuvo por maceración simple. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de Kirby-Bauer, usando concentraciones del 10 % (3,24mg/ml) al 100 % (32,4mg/ml), la mayor inhibición se observó al 100 %, con halos de 14,87 mm para *Escherichia coli* y 17,33 mm para *Staphylococcus aureus*. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para *Escherichia coli* fue de 30,6 mg (94,44 %) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de 31,32 mg (96,67 %). Para *Staphylococcus aureus*, la CMI fue de 30,24 mg (93,33 %) y la CMB de 30,96 mg (95,56 %). En conclusión, el extracto etanólico de hojas de guayaba evidenció actividad antibacteriana *in vitro* frente a ambas bacterias, siendo más eficaz contra *Staphylococcus aureus*, lo que resalta su potencial como agente antibacteriano natural.

Palabras clave: *Psidium guajava*, cepas, halo, CMI, CMB.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the *in vitro* antibacterial activity of the ethanolic extract of guava leaves (*Psidium guajava*) against *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. The research has an experimental, explanatory, analytical, prospective, and quantitative approach. The leaves were collected randomly in Yarada los Palos, and the extract was obtained by simple maceration. The antibacterial activity was evaluated using the Kirby-Bauer method, with concentrations ranging from 10% (3,24 mg/ml) to 100% (32,4 mg/ml). The greatest inhibition was observed at 100%, with halos of 14,87 mm for *Escherichia coli* and 17,33 mm for *Staphylococcus aureus*. The minimum inhibitory concentration (MIC) for *Escherichia coli* was 30,6 mg (94,44%) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was 31,32 mg (96,67%). For *Staphylococcus aureus*, the MIC was 30,24 mg (93,33%) and the MBC was 30,96 mg (95,56%). In conclusion, the ethanolic extract of guava leaves showed *in vitro* antibacterial activity against both bacteria, being more effective against *Staphylococcus aureus*, which highlights its potential as a natural antibacterial agent.

Keywords: *Psidium guajava*, strains, halo, MIC, MBC.

INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana es una preocupación global creciente, ello propicia la exploración de alternativas terapéuticas novedosas resulta indispensable (1), lo cual representa un desafío más significativo de la medicina moderna, afectando la eficacia de los tratamientos antibióticos y contribuyendo a una mayor morbilidad y mortalidad a nivel global. Para enfrentar esta problemática, la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos ha conllevado a los investigadores a explorar fuentes naturales, incluyendo las plantas medicinales. Una de estas plantas es la guayaba, que se cultiva ampliamente pero no ha sido estudiada extensivamente por sus propiedades terapéuticas (2).

La guayaba (*Psidium guajava*), una planta ampliamente extendida en el entorno tropical y subtropical. En el Perú, esta especie ha sido tradicionalmente valorada por sus propiedades medicinales, pero sus capacidades terapéuticas, especialmente en términos de actividad antibacteriana, no han sido completamente estudiadas. Esta investigación busca cambiar eso, otorgando valor farmacéutico a este recurso mediante la extracción A partir de las hojas y analizando su actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* ATCC 8739. Estos microorganismos son causantes de diversas enfermedades, cuya gravedad varía desde afecciones menores hasta situaciones que

representan un peligro para la vida, y se caracterizan por su facilidad para generar resistencia a múltiples medicamentos.

Además, *Staphylococcus aureus*, bacteria comúnmente en la piel, puede originar numerosas afecciones serias. Si estas no reciben tratamiento oportuno, pueden derivar en complicaciones graves como endocarditis, septicemia, neumonía y síndrome de shock tóxico, las cuales podrían, lamentablemente, resultar fatales.

Este estudio es relevante porque la resistencia bacteriana a nivel mundial está aumentando y es una preocupación crítica, lo que hace necesario encontrar soluciones terapéuticas novedosas. El extracto etanólico de las hojas de guayaba podría ofrecer una alternativa asequible y natural para combatir infecciones causadas por esas bacterias si se muestra actividad contra ellas.

El presente estudio contribuirá al conocimiento sobre las propiedades medicinales de la guayaba, específicamente en el contexto antibacteriano, proporcionando datos valiosos para futuras investigaciones y posibles aplicaciones farmacéuticas.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La resistencia a los antimicrobianos constituye actualmente uno de los principales riesgos para la salud pública a nivel global. La OMS subraya que esta resistencia impacta a todas las esferas de la salud. Este desafío se ha intensificado drásticamente debido al uso generalizado y a menudo indiscriminado de antibióticos, lo que ha acelerado el surgimiento de cepas bacterianas con resistencia a múltiples medicamentos. Entre los patógenos más problemáticos se encuentran *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, ambos asociados a infecciones graves que pueden llegar a ser mortales.

Staphylococcus aureus, una de las bacterias más virulentas, causa infecciones graves que suelen requerir tratamientos largos y costosos. Su resistencia a múltiples antibióticos ha creado una urgente necesidad de alternativas seguras y efectivas.

De igual forma, *Escherichia coli*, común en el intestino, ha desarrollado resistencia, complicando el tratamiento de infecciones

urinarias y gastrointestinales. Estas resistencias refuerzan la importancia de investigar nuevas opciones antimicrobianas.

Se propone un estudio experimental para analizar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de guayaba contra cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con el fin de explorar su potencial como agente antibacteriano. Esto se debe a la biodiversidad del país. El objetivo de la investigación es apoyar el uso del extracto de guayaba en fitofármacos para combatir bacterias resistentes a los antibióticos de forma económica y eficaz, con efectos secundarios mínimos.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema principal

- ¿Presentará actividad antibacteriana *in vitro* el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

1.2.2. Problemas específicos

- 1) ¿El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) genera halo de inhibición *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

- 2) ¿Cuál es la concentración inhibitoria mínima del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?
- 3) ¿Cuál es la concentración mínima bactericida del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

La guayaba no ha sido estudiada en profundidad por sus propiedades terapéuticas, aunque es una planta común en nuestra ciudad. La finalidad de este estudio es modificar esto, al darle un valor farmacéutico a este recurso a través de la obtención del extracto etanólico de sus hojas y el análisis de su efecto antibacteriano en un entorno *in vitro* contra *E. coli* ATCC 8739 y *S. aureus* ATCC 6538.

Esta investigación es crucial, ya que la acelerada problemática frente a la resistencia bacteriana a nivel global exige fundamentalmente la necesidad de encontrar soluciones terapéuticas innovadoras. Si el extracto etanólico de esta especie presenta efectividad antibacteriana, podría representar el inicio de futuras investigaciones el potencial sobre el acceso como agente antibacteriano.

La utilización de plantas con propiedades medicinales es una práctica ancestral cuya efectividad ha sido demostrada en múltiples ocasiones, por lo que es esencial que estos métodos cuenten con el respaldo de evidencia científica sólida. Esta investigación contribuirá a expandir el conocimiento existente sobre las propiedades medicinales de la guayaba, específicamente en el contexto antibacteriano, proporcionando datos valiosos para futuras investigaciones y posibles aplicaciones farmacéuticas. La valorización de recursos naturales locales, como la guayaba, fomenta el uso sostenible de la biodiversidad y puede beneficiar la economía regional al impulsar el desarrollo de productos naturales respaldados científicamente.

1.4. ALCANCES Y LIMITACIONES

Alcances

Esta investigación propone determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de guayaba. Se evaluará su efecto contra las cepas de *E. coli* ATCC 8739 y *S. aureus* ATCC 6538. Los hallazgos alcanzados servirán las bases para futuras investigaciones, ampliando el conocimiento sobre el prometedor potencial de la guayaba como recurso natural con propiedades antibacterianas y su posible integración para la creación de tratamientos alternativos.

Limitaciones

El estudio se enfrentó a restricciones económicas, tales como la escasez de medios de cultivo y cepas bacterianas, lo que restringió la diversidad de pruebas. Además, la falta de equipo especializado limitó la realización de análisis más profundos, como el uso de técnicas avanzadas tipo cromatografía líquida de alto rendimiento, para identificar y cuantificar los compuestos activos. Asimismo, la ausencia de modelos biológicos más complejos impidió realizar estudios de seguridad y toxicidad, factores cruciales para validar su aplicación farmacéutica.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. Objetivo general

- Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.5.2. Objetivos específicos

- 1) Determinar el halo de inhibición del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

- 2) Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- 3) Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.6. HIPÓTESIS

1.6.1. Hipótesis general

- El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) presenta actividad antibacteriana *in vitro* contra *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.6.2. Hipótesis específicas

- 1) El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) evidencia la formación de halo de inhibición *in vitro* contra *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- 2) El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) presenta una concentración mínima inhibitoria contra *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

- 3) El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) presenta una concentración mínima bactericida contra *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.7. VARIABLES

1.7.1. Variable independiente

- Extracto etanólico de hojas de guayaba (*Psidium guajava*).

1.7.2. Variable dependiente

- Actividad antibacteriana.

1.7.3. Indicadores

- Concentración
- Diámetro del halo de inhibición
- Concentración mínima inhibitoria
- Concentración mínima bactericida

1.7.4. Definición operacional de las variables

Tabla 1. Operacional de las variables

	Variable	Definición	Dimensión	Indicador	Escala
Variable independiente	Extracto etanólico de hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	Extracto obtenido a partir de hojas desecadas por maceración en contacto con etanol al 70°.	Cuantitativa	Concentración	Porcentaje masa/volumen.
			Cuantitativa	Diámetro de halo de inhibición.	Medido en mm.
Variable dependiente	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico frente a <i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739).	Capacidad del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) a de inhibir el crecimiento bacteriano.	Semicuantitativa	Concentración mínima inhibitoria	Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++)
			Cuantitativa	concentración mínima bactericida	Medido en mg/ml.
			Cuantitativa	Diámetro de halo de inhibición.	Medido en mm.
			Semicuantitativa	concentración mínima inhibitoria	Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++)
			Cuantitativa	concentración mínima bactericida	Medido en mg/ml.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Antecedentes internacionales

En India, Rabiya H.M. (2017), se centró en los patógenos bacterianos aeróbicos responsables de infecciones en la piel y tejidos blandos (incluyendo *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*) para examinar el impacto antibacteriano de los extractos etanólicos derivados de las hojas de guayaba. Empleando el método de difusión en pozos de agar, evaluaron diferentes dosis del extracto, que oscilaron entre 50mg/ml a 250mg/ml (incremento de 50mg/ml), demostrando que la mayor inhibición bacteriana se lograba a 250 mg/ml, lo que apunta a un potencial significativo de estos extractos para abordar infecciones bacterianas en heridas (3).

En Indonesia, Qonita, Noer y colaboradores (2019), compararon la capacidad inhibitoria de extractos etanólicos al 96% de hojas de guayaba (tanto jóvenes como maduras) en una concentración del 10% contra *E. coli* y *V. cholerae*. Emplearon el diseño completamente aleatorio teniendo cinco tratamientos experimentales que variaban en las proporciones de hojas jóvenes y maduras: A (0 mL de hojas jóvenes : 10 mL de hojas maduras), B (2.5: 7.5), C (5: 5), D (7.5: 2.5) y E (10: 0). La evaluación con mayor

inhibición se dio por el método de Kirby-Bauer se logró con el tratamiento A (8.16mm para *E. coli* y 6.96mm para *V. cholerae*), el cual también mostró el contenido más alto de taninos (7.092 %GAE). Por el contrario, el tratamiento E exhibió la menor inhibición (6.6mm para *E. coli* y 6.43mm para *V. cholerae*) con un contenido menor de taninos (4.456 %GAE), lo que confirma la actividad antibacteriana (4).

En Egipto, Hassan A. Hemeg y colaboradores (2020), evaluaron actividad antimicrobianos del extracto etanólico de cinco plantas herbáceas: Las hojas de guayaba, olivo, morera, rhamnus y salvia se utilizan para combatir a *M. gallisepticum*, a *B. cereus*, a *E. coli*, a *S. aureus*, a *Salmonella Enteritidis* y a *Pasteurella multocida*. Emplearon el procedimiento de Kirby-Bauer y establecieron la CMB y la CMI. Encontraron que todos los extractos no inhibieron *M. gallisepticum* excepto *Psidium guajava*. Las CMI y CMB variaron de 625 a 5000 µg/ml. Concluyeron que los extractos pueden inhibir los microorganismos seleccionados con concentraciones variables (5).

En México, Mónica Silva y colaboradores (2020) caracterizaron y evaluaron la capacidad de los extractos de hojas de guayaba para inhibir la actividad de *Escherichia coli* O157, preparando dos tipos de extractos: uno crudo (Extracto A) y otro concentrado (Extracto B) con etanol al 70%, y determinando su perfil químico mediante cromatografía de gases. Tras

muestrear rumiantes lactante con diarrea y aislar *E. coli* O157, las pruebas de movilidad en medio SIM revelaron que tanto los extractos de guayaba (A y B) como la quercetina, un componente principal, fueron efectivos para inhibir la movilidad de las 78 cepas de *E. coli* O157 identificadas (6).

En Ghana, Enid Owusu y colaboradores (2021), evaluaron extractos etanólicos y acuosos de cinco plantas medicinales (*Alchornea cordifolia*, *Momordica charantia*, *Justicia flava*, *Psidium guajava* y *Myrianthus arboreus*) por sus actividades antimicrobianas contra patógenos bacterianos multirresistentes (MDR) aislados de heridas postoperatorias. El método de Kirby-Bauer fue empleado para examinar su actividad antibacteriana. Análisis fitoquímicos mostraron saponinas, fenólicos y azúcares reductores en casi todas las plantas. Todos los extractos mostraron alguna actividad antimicrobiana. *A. cordifolia* presentó la mayor inhibición contra todas las bacterias MDR. *J. flava*, *M. charantia*, *P. guajava* y *M. arboreus* mostraron mayor actividad contra *Staphylococcus aureus*. Concluyeron que estas plantas tienen compuestos bioactivos con potenciales valores medicinales para tratar infecciones, especialmente en el manejo de heridas agudas y crónicas (7).

En Ecuador, Holguín Castro y colaboradores (2022), evaluaron los extractos alcohólicos, hidroalcohólicos y acuosos de guayaba en concentraciones de 15 y 30 mg/ml frente a las bacterias *S. aureus* ATCC

6538 y *E. coli* ATCC 11229, mediante Kirby-Bauer. Se realizaron al menos 12 réplicas por cada uno de los niveles de concentración. Los resultados indicaron que *S. aureus* fue más sensible, alcanzando halo de de 25.5mm con el extracto hidroalcohólico a 30 mg/ml; en contraste, *E. coli* alcanzó 20.3 mm en las mismas condiciones, y los extractos alcohólicos y acuosos mostraron menor actividad, concluyendo su efecto antibacteriano (8) .

En Nigeria, Dogun, O. y colaboradores (2023) investigaron la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos, etanólicos y acuosos de hojas de guayaba y naranja contra *E. coli* y *S. aureus*, utilizando la técnica de dilución en caldo para calcular la CMI, con concentraciones que alcanzan los 200 mg/ml. Los hallazgos indicaron que el extracto etanólico fue el más eficiente. con (halos de 18 mm en *S. aureus*, 17 mm en *E. coli*; CMI: 50 mg/ml). El metanólico mostró actividad moderada (15 mm y 14 mm; CMI: 62,5 mg/ml) y el acuoso la menor (13 mm y 12 mm).

Asimismo, identificó en la marcha fitoquímica taninos, alcaloides, flavonoides y saponinas, resaltando a los taninos y alcaloides como responsables de la acción antibacteriana (9).

2.1.2. Antecedentes nacionales

En Huánuco, Durand Chávez (2009), investigó la acción antibacteriana de un extracto etanólico de las hojas de guayabo con el fin

de controlar la mastitis. Evaluó disoluciones al 10%, 20%, 30% y 40% contra *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *E. coli* usando difusión en agar. Se emplearon como controles: 10% de etanol (negativo), estreptomicina (10 mg/ml) para las grampositivas y levofloxacin (4 mg/ml) para las gramnegativas (positivos). La disolución al 30% demostró una efectividad del 53% contra *S. aureus* y del 83% contra *S. agalactiae* en comparación con los controles positivos, pero no mostró efecto contra *E. coli*. (10).

En Huancayo, Cruz Huapalla, R (2018), realizó una investigación para analizar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico al 100% de hojas de guayaba contra las bacterias *Lactobacillus spp.* y *Streptococcus mutans*. Utilizó 42 muestras que fueron cultivadas en placas de Petri con Agar Mueller Hinton., aplicando 20 µl del extracto en cada perforación y realizando incubación a 37 °C en 24hr. Obtuvieron halos con mayor efectividad contra *S. mutans* (15.14 mm) en comparación con *Lactobacillus spp.* (13.66 mm) (11).

En Lima, Ccoscco H. y Zavaleta P. (2019), realizaron una investigación con el fin de examinar la conexión entre los componentes químicos del extracto etanólico extraído de las semillas de guayaba. y su capacidad antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923. Mediante pruebas con reactivos se identificaron compuestos como taninos y triterpenos en

alta concentración (+++), así como aminoácidos y esteroides en menor cantidad (++)). Para evaluar la actividad antibacteriana, se emplearon concentraciones variadas del extracto (entre 10% y 100%), usando cefazolina como control positivo y etanol como control negativo. Solo las concentraciones de 100% y 85% generaron halos significativas (29.26 mm y 27.70 mm), evidenciando una acción antibacteriana. Las demás concentraciones no mostraron efecto, similar al control con etanol; la cefazolina produjo un halo de 38.00 mm, confirmando su eficacia. En cuanto a la citotoxicidad, se observó un leve efecto (43.55%) en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) a 30 mg/ml. Para las pruebas de solubilidad, el extracto resultó soluble en etanol y parcialmente soluble en cloroformo, diclorometano y hexano. Además, se cuantificaron 8.476 mg/100 ml de flavonoides y 12.92 mg/100 ml de polifenoles en el extracto (12).

En Trujillo, Villanueva Leyva (2019), analizó *in vitro* el impacto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de guayaba frente a *S. aureus* ATCC 25923. Se llevaron a cabo pruebas de CMB, CMI y sensibilidad. Los resultados, examinados con ANOVA, Duncan y medidas de tendencia central, revelaron que los halos de inhibición se expanden a medida que la concentración se incrementa (de 10.6 mm y 42 mg/ml a 12.5 mm y 420 mg/ml), lo cual señala sensibilidad en todas las concentraciones según la escala de Duraffourd. La CMI se fijó en 42 mg/ml, y no hubo

variaciones importantes entre el número de unidades que componen colonias en las concentraciones más altas del extracto y la clindamicina (2 µg). En síntesis, el extracto etanólico de las hojas de guayaba mostró un efecto antibacteriano *in vitro* contra *S. aureus* ATCC 25923 (13).

En Arequipa, Escobar F. y colaboradores (2019), estudió la efectividad antimicrobiana de las hojas de guayaba, que se obtuvieron por el método Soxhlet y se disolvieron en etanol. Sus hallazgos revelaron que la bacteria *E. coli* ATCC 25922 no reaccionó a ninguna concentración del extracto, con diámetros de inhibición que oscilaban entre 7.6 y 13.4 mm. Por otro lado, *S. aureus* ATCC 25923 mostró una sensibilidad del 100% al extracto (con halos de 22.5 mm), así como una sensibilidad intermedia a las concentraciones del 60 % y el 80 % (16.4 mm y 17.5 mm, respectivamente). *Candida albicans* ATCC 10231, al final, fue sensible a la concentración máxima (halo de 19.6 mm) y tuvo sensibilidad intermedia al extracto guayaba en un 80% (14).

En Trujillo, Carrero Montenegro (2019), realizó un estudio *in vitro* para determinar la capacidad antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de guayaba contra *S. aureus*. Las concentraciones del 2.25%, 6.7% y el 9% fueron sometidas a análisis utilizando el método de Kirby-Bauer. La concentración más efectiva fue la

del 9%, según los resultados, generando halos de 12.25 ± 0.851 mm. Este valor se comparó con el ciprofloxacino, que alcanzó 23.35 ± 1.137 mm (15).

En Arequipa, Milagros Jully Colman (2020), investigó el efecto antibacteriano del extracto de guayaba contra la bacteria *S. aureus* (ATCC 25923) y *E. coli* (ATCC 25922). Los resultados siguientes se lograron después de realizar un ensayo de sensibilidad en placas de agar de pozos: los extractos en concentraciones del 100%, 80% y 60% generaron halos inhibitorios de 16.3 mm, 12.5 mm y 10.2 mm, en ese orden, frente a *E. coli*. *S. aureus* produjo halos de 15,0 mm y 11,5 mm a concentraciones del 100 % y 80 %, respectivamente. Para *E. coli*, la CMI se estableció en 4 mg/mL; para *S. aureus*, en 8 mg/mL. En síntesis, el extracto de guayaba mostró una actividad antibacteriana más alta contra *E. coli* que contra *S. aureus* (16) .

En Lima, Llamaza Maldonado y colaboradores (2022), examinaron la eficacia antimicrobiana de extractos etanólicos obtenidos de hojas de guayaba contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. La identificación de compuestos bioactivos como las antraquinonas, los flavonoides, los alcaloides, las lactonas, los taninos, las saponinas y las antocianinas fue mostrada por el extracto. Los análisis estadísticos (ANOVA y Tukey) revelaron que las concentraciones del 5%, 15% y 25% del extracto mostraron actividad significativa contra *Staphylococcus aureus* al

compararse con el grupo de control, pero no se observó el mismo efecto inhibitorio contra *Escherichia coli*. En consecuencia, la investigación comprobó que el extracto etanólico de las hojas de guayaba tiene propiedades antibacterianas frente a *Staphylococcus aureus*, pero no así contra *Escherichia coli* (17).

En Lima, Alexander David M. (2022), investigó la acción antibacteriana de guayaba en extractos acuosos y etanólicos contra bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei* y *Salmonella infantis*. Empleó 20 µl de cada extracto, con dosis de 100, 10 y 1mg/mL, extraídos de hojas de guayaba de Cuzco, Ucayali y Madre de Dios. Las pruebas se realizaron sobre 5 cepas bacterianas mediante antibiograma, comparando los resultados con ciprofloxacino y sulfametoxazol. Se visualizó un halo de inhibición en un 33.3% en muestras con extracto acuoso y un 66.6% en extracto etanólico, mostrando variaciones según la región de origen y la concentración. El extracto etanólico exhibió el mayor efecto sobre *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, generando un halo de 8.18 mm, aunque este fue inferior al de ciprofloxacino (25.25 mm) y sulfametoxazol (38.78 mm) (18).

En Lima, Castro Mercado, A. (2023), llevaron a cabo una investigación para examinar la acción antibacteriana de los extractos etanólico y acuoso de *Psidium guajava*, planta de reconocida acción

antimicrobiana y originaria del Perú, lo que facilita su disponibilidad local. tuvo como finalidad precisar los efectos antibacterianos de los extractos acuoso y etanólico de guayaba provenientes de Madre de Dios y Cusco frente a cepas de *E. coli* productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEE). Este fue un estudio experimental prospectivo donde se emplearon hojas recolectadas de *P. guajava* en Cusco (provincia de La Convención) y Madre de Dios (provincia de Tambopata). A partir de estas hojas se elaboraron extractos en concentraciones de 100 y 10 mg/mL. Su impacto se evaluó en cepas de *E. coli* ATCC 8739 y *E. coli* BLEE, no mostraron halos de inhibición con ninguno de los extractos ni concentraciones utilizadas, lo que indicó que las cepas BLEE de *E. coli* fueron resistentes. Concluyendo que los extractos acuoso y etanólico de guayaba no mostraron actividad antibacteriana frente a *E. coli* BLEE (100 mg/mL y 10 mg/mL) (19).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Guayaba

Es un árbol arbusto tropical y planta alimenticia que pertenece a la familia Myrtaceae . Crece hasta 10 m y está ampliamente distribuida en muchos países. *Psidium guajava* L. es una planta alimenticia de importancia

económica con diversas propiedades medicinales. Tiene un tronco corto, corteza irregular, lisa y descascarada.

Sus hojas son verde oscuro y carnosas con venas prominentes, tiene flores blancas y el fruto contiene pulpa y pequeñas semillas duras (20).

Los extractos y los componentes activos presentes en *P. guajava*, especialmente en sus hojas y frutos, poseen propiedades farmacológicas significativas. La literatura científica destaca que esta planta es conocida principalmente por sus efectos antiespasmódicos y antimicrobianos, siendo utilizada para tratar la diarrea y la disentería. Además, su uso como agente hipoglucemiante es ampliamente reconocido.

Numerosos estudios farmacológicos han validado sus múltiples propiedades, incluyendo propiedades anticancerígenas, antidiabéticas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antialérgicas, citotóxicas, cardioactivas y antiespasmódicas. Esto respalda las ventajas que se le atribuyen a su empleo tradicional (21) .

2.2.2. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: *Psidium*

Nombre científico: *Psidium guajava* L.

2.2.3. Composición química de la guayaba

Los flavonoides, taninos, fenoles, alcaloides, triterpenos, saponinas, carotenoides, lectinas, vitaminas, carbohidratos, fibra, ácidos grasos y glucósidos. Las hojas tienen una gran cantidad de compuestos fenólicos beneficiosos como guaijaverina, quercetina, kaempferol, apigenina, catequina, ácido clorogénico, hiperina, ácido gálico, epicatequina, miricetina, ácido cafeico y galato de epigallocatequina. Estudios han demostrado la abundancia de los siguientes aceites esenciales; β -bisaboleno, Longiciclono, β -copaneno, selenino, humlono, cariofileno, farneseno, curcumeno y cardineno., pineno. Su fruta es una fuente rica de fibra dietética (pectina), proteínas, vitaminas (A y C) y además en minerales como el hierro, fósforo y calcio (21).

2.2.4. Usos medicinales

Las hojas de guayaba han sido empleadas globalmente para el tratamiento de diversas dolencias. La investigación científica ha corroborado esta práctica al identificar una rica concentración de compuestos bioactivos, incluyendo catequina, flavonoides, antocianinas y taninos. Estos son responsables de las propiedades atribuidas a la planta, que incluyen efectos antibacterianos, antiinflamatorios, antiparasitarios, analgésicos, antidiarreicos, hipoglucemiantes, antioxidantes y cicatrizantes. Esto subraya el potencial de las hojas de guayaba como recurso importante para la elaboración de productos farmacológicos y productos nutricionales (22).

2.2.5. *Escherichia coli*

Especie de bacteria gramnegativa del tipo de bacilos flagelados, habita naturalmente en el tracto gastrointestinal donde se integra a la flora bacteriana, sin embargo, puede desarrollarse en otros órganos y causar severas infecciones diarreica aguda que afecta a la niñez principales de causa de mortalidad infantil (23).

2.2.6. *Staphylococcus aureus*

Bacteria grampositiva que forma parte del grupo de los cocos que forman racimos. Sus principales hábitats en mamíferos son las fosas

nasales, la piel y el tracto gastrointestinal, donde a veces desarrolla un amplio abanico de enfermedades, infecciones cutáneas leves hasta sistémicas potencialmente mortales, y en muchos casos es resistente a diversos antibióticos (24).

2.2.7. Método de Kirby-Bauer o de difusión de disco

Método reconocido por (NCCLS), es un estándar para analizar cuán susceptibles son las bacterias a los agentes antimicrobianos. Este procedimiento implica la colocación de discos con el agente antimicrobiano en varias concentraciones, que se disponen en una placa de Petri que contiene el microorganismo de interés ya inoculado. Con el contacto al agar, el antimicrobiano se dispersa de manera radial. Después de la incubación, Se lleva a cabo la medición de la zona de inhibición (25).

2.2.8. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Es la menor concentración de un agente antimicrobiano (en $\mu\text{g/mL}$) que puede evitar el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas a una temperatura de 37°C . Esta Concentración es considerada el estándar para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana. Es crucial para confirmar resistencias atípicas y proporcionar resultados definitivos en casos donde otros métodos no son concluyentes (26).

2.2.9. Concentración mínima bactericida (CMB)

Se refiere a la concentración más baja de un agente antimicrobiano que puede acabar con más del 99,9% de los microorganismos viables, generalmente después de incubar por un día entero (26).

2.2.10. Medios de cultivos

Son preparaciones diseñadas que suministran los elementos nutricionales requeridos para el crecimiento, desarrollo y reproducción de determinados microorganismos (27).

2.2.11. Prueba estadística F de análisis de varianza (ANOVA)

Método estadístico que se emplea para discernir si hay distinciones significativas entre las varianzas y medias de tres o más grupos de datos. Esencialmente, evalúa si las discrepancias entre las medias de una variable cuantitativa resultan ser estadísticamente significativas cuando se comparan los diferentes niveles de una variable cualitativa con al menos tres categorías.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Cepa

Es un grupo de microorganismos, como bacterias o virus, que pertenecen a la misma especie pero que se distinguen por características específicas que no se encuentran en otras poblaciones de esa especie (28).

Halo (de inhibición)

Zona de distribución radial que es producida por la difusión de un agente antimicrobiano en una placa de agar con algún microorganismo. Está expresada por diámetro en milímetros (mm) (25).

Bacteria

“Microorganismo unicelular sin núcleo diferenciado, algunas de cuyas especies descomponen la materia orgánica, mientras que otras producen enfermedades” (29).

Extracto

“Producto sólido o espeso obtenido por evaporación de un zumo o de una disolución de sustancias vegetales o animales” (30).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo

Cuantitativo, se fundamentó en la recolección y el estudio de datos numéricos, como halos de inhibición y los valores de CMI y CMB, con el fin de contrastar hipótesis mediante el uso de análisis estadístico.

Prospectivo, porque son observadas las variables durante un corto periodo de tiempo para recopilar información y registrar resultados.

Analítico, ya que se proponen y se examinan las hipótesis.

3.1.2. Diseño

Este estudio se considera experimental porque la variable independiente (el extracto etanólico de guayaba) se modifica intencionalmente para observar cómo afecta a la variable dependiente (la actividad antibacteriana).

3.1.3. Nivel

Explicativo, ya que busca verificar si el extracto de guayaba, obtenido de las hojas y mezclado con etanol, produce un efecto antibacteriano en las cepas estudiadas, estableciendo una relación de causa y efecto entre la actividad antibacteriana y el extracto.

3.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

3.2.1. Población

Hojas de guayaba de Tacna.

3.2.2. Muestra

Hojas de guayaba obtenidas en el campo (Pozo 3-G16) del distrito La Yarada Los Palos.

3.2.3. Muestreo

Aleatorio

3.3. MATERIALES E INSTRUMENTOS

3.3.1. Materiales

- Papel Kraft (pliego)	40
- Papel aluminio (rollo)	1
- Algodón	500 g
- Papel filtro (pliego)	2
- Gaza 1m	1m
- Bisturí N°10	4
- Guantes de nitrilo color negro talla M (caja x 50 unidades)	1
- Vaso Beaker de vidrio de 200 y 250 mL	4, 1
- Probeta de vidrio graduada de 25, 100 y 500 mL	1, 1, 1
- Piseta de laboratorio	1
- Matraz Erlenmeyer de 100, 125 y 600 mL	2, 1, 1
- Tubo de ensayo de 15 x 125 mm	20
- Tubo de ensayo 13 x 100 mm	20
- Placa Petri de 10 x 100 mm	40
- Pipeta de vidrio 1, 5 y 10 mL	20, 10, 2
- Frasco de vidrio color ámbar de 5 L	1

3.3.2. Equipos e instrumentos

- Deshidratador de alimentos marca Blackline HB-327B	2
- Autoclave marca GCA modelo 67018	1
- Incubadora marca MEMMERT modelo DIL-12880-KI	1
- Balanza analítica marca KERN modelo AES-2004C	1
- Balanza de precisión marca KERN modelo PBS6200-2M	1

3.4. INSUMOS Y REACTIVOS

- Hojas secas de guayaba	614 g
- Alcohol 70° (litro)	4L
- Ron de quemar (litro)	1L
- Dimetilsulfóxido	40 mL
- Discos de sensibilidad marca Oxoid de 30 µg	200 g
- Agar Müller-Hinton marca Liofilchem	200 g
- Caldo Müller-Hinton marca Liofilchem	100 g
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) marca Liofilchem	150 g

3.5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.5.1. Recolección de muestras de las hojas de guayaba

Las muestras se obtuvieron en un único día, en el horario comprendido entre las 6:00am - 10:00 am, en la chacra ubicadas en el distrito de Yarada Los Palos pozo 3 G16, durante la recolección, se emplearon guantes para garantizar la protección y la integridad de las muestras. Las hojas recolectadas fueron colocadas en bolsas de papel Kraft , acumulando un peso aproximado de 2 kg y posteriormente identificadas en el herbario Takana de la UNJBG.

3.5.2. Tratamiento de las muestras

Una vez recolectadas, las muestras se trasladaron al laboratorio, donde se limpiaron cuidadosamente con brochas de cerda fina, se colocaron en bandejas y se deshidrataron durante 20 horas continuas a una temperatura de 40 °C.

3.5.3. Certificación de la especie de guayaba

La validación de la especie estuvo en manos del biólogo Dr. Pablo Franco León. Se le entregaron muestras de la raíz, tallo, frutos, hojas y las flores de la guayaba, junto con datos sobre su origen, para que pudiera emitir el certificado que confirmara la especie (ver Anexo 1).

3.5.4. Preparación del extracto etanólico de las hojas de guayaba

Las hojas secas se trituraron con un molino manual y el material pulverizado se pesó en una balanza de precisión, obteniéndose 614 g de muestra. Esta se puso en vidrio ámbar y se le incorporaron 3000 mL de etanol al 70°, elegido por ser un solvente ampliamente utilizado en procesos de extracción debido a su baja toxicidad y eficacia para obtener principios activos. El frasco se cubrió con papel aluminio (ver Anexo 2) para protegerlo de la luz solar y se dejó en maceración durante aproximadamente 45 días, agitándose manualmente tres veces al día en un tiempo de 10 minutos cada vez.

Una vez concluido el tiempo de maceración, el contenido se filtró dos veces empleando papel filtro para la separación de los residuos sólidos del líquido extraído. Luego, 50 mL del extracto etanólico filtrado se vertió en una placa Petri y se evaporó el alcohol en una estufa a 45 °C durante 24 horas, obteniendo así los principios activos en forma de polvo. Posteriormente, el extracto seco se diluyó con agua destilada para preparar soluciones con concentraciones del 10 % al 100 %, que serían empleadas en el ensayo *in vitro*.

Con la finalidad de asegurar su correcta conservación, el extracto etanólico se almacenó en un recipiente de vidrio de color ámbar, el cual debía haber sido previamente limpiado y secado a fondo.

3.5.5. Ensayo *in vitro* de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de guayaba

El ensayo *in vitro* se llevó a cabo en laboratorio de Microbiología de la UNJBG, en Tacna, bajo la asesoría del biólogo Edwin Obando y utilizando métodos básicos para analizar la sensibilidad a los antimicrobianos (31).

En cada jornada de trabajo en el laboratorio de Microbiología se aseguró la asepsia mediante la desinfección de las superficies con alcohol yodado, así como la utilización de equipo de protección personal (mascarilla, cofia, guantes y bata) y mechero de alcohol. El material de vidrio y metal utilizado fue lavado con agua destilada, envuelto en papel Kraft y esterilizado a 180 °C durante 2 horas para garantizar la eliminación de impurezas.

Preparación de medios de cultivo

Se prepararon tres medios de cultivo: caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI), agar Müeller Hinton (MH) y agar Nutritivo (AN), destinados a un ensayo (ver Anexo 3). Para el caldo BHI, se pesaron 3.7 g para obtener 100 mL, distribuyéndose posteriormente en alícuotas de 10 mL por tubo (ver Anexo 4).

En la preparación del agar Müeller Hinton, se pesaron 26.6g para elaborar 700 mL(ver Anexo 5), distribuyéndose 320 mL para cada cepa y

60 mL para los controles. El medio se vertió manualmente en 48 placas Petri, con un volumen aproximado de 15 mL por placa (ver Anexo 6).

Para la preparación del agar Nutritivo, se pesaron 3.64 g, obteniendo 70 mL de medio, que fueron distribuidos manualmente en 10 viales con un volumen aproximado de 7 mL cada uno. Los viales, conjuntamente con los tubos y las placas de ensayo que contenían los medios de cultivo, se envolvieron en papel Kraft, se rotularon y se esterilizaron en autoclave a 121 °C de temperatura. Finalmente, se conservaron en refrigeración a 5 °C hasta su uso.

Preparación bacteriana del inóculo (Técnica de Paula y Martins, 2000)

Las cepas bacterianas que se usaron ya estaban previamente activadas en un vial con agar nutritivo y refrigeradas debido a que ya se había realizado trabajos anteriormente con estas cepas ATCC (ver Anexo 7).

La preparación bacteriana del inóculo consta de 3 pasos, los cuales están en relación con las fases del ciclo biológico de las bacterias ya que cada una de estos pasos se realizan en una determinada fase del ciclo:

Primer paso (en fase cero): Para preparar la suspensión del inóculo del agente bacteriano en estudio, se tomaron asas del cultivo y se suspendieron (ver Anexo 8) en dos tubos de ensayo con caldo BHI, uno

correspondiente a cada cepa. Luego, se incubaron durante 24 horas a 35 ± 2 °C (ver Anexo 9).

Segundo paso (en fase de latencia): Al día siguiente, se tomaron asas de la suspensión de cada agente bacteriano y fueron sembrados utilizando el método de agotamiento y estría (ver Anexo 10) en dos viales con agar Nutritivo, uno para cada cepa. Posteriormente, se incubaron nuevamente durante 24 horas a 35 ± 2 °C.

Tercer paso (en fase exponencial): Al día siguiente, se tomaron asas del cultivo previo y se suspendieron en dos tubos de ensayo con caldo BHI, uno para cada cepa. Estos se incubaron por última vez durante 2 horas a 35 ± 2 °C (ver Anexo 11). Transcurrido el tiempo, se ajustó la turbidez de las suspensiones añadiendo 1 mL de caldo BHI, que fue comparado con el tubo 0.5 de la escala de McFarland a través de un nefelómetro, se refiere a una concentración de $1,5 \times 10^8$ cel/mL (ver Anexo 12).

El nefelómetro de McFarland utilizado incluye un tubo de ensayo que alberga una combinación de BaCl_2 y H_2SO_4 con turbidez estandarizada para representar dicha concentración bacteriana. Así, al igualar visualmente la turbidez de ambas suspensiones frente a un fondo contrastante, se asume que la suspensión bacteriana alcanzó la misma densidad celular por mililitro.

3.5.5.1. Preparación de los discos de sensibilidad

Se emplearon discos estandarizados (amoxicilina +ácido clavulánico y sulfametoxazol +Trimetoprima) de 6 mm de diámetro, estos fueron sumergidos en un vaso de precipitados que tiene 250 mL de agua destilada y posteriormente esterilizados en autoclave a 121 °C. Finalizado el ciclo, se eliminó el agua destilada y los discos se separaron dentro del vaso precipitado (ver Anexo 13). Luego, se sometieron a esterilización en estufa con calor seco a 180 °C por un periodo de 60 minutos, con el fin de inactivar cualquier resto de actividad antibiótica. Finalmente, se impregnaron los discos con el extracto etanólico (ver Anexo 14).

3.5.5.2. Preparación de los discos de sensibilidad con extracto etanólico de las hojas de guayaba

Se usaron 50 mL del extracto etanólico que se obtuvo de las hojas de guayaba y se procedió a evaporar el alcohol a 60 °C durante 24 horas, obteniéndose 1,62 g de material seco. La densidad del extracto se determinó en 0,0324 g/mL, a partir de la cual se elaboraron las siguientes concentraciones: 3,24 mg/mL (10 %), 6,48 mg/mL (20 %), 9,72 mg/mL (30 %), 12,96 mg/mL (40 %), 16,2 mg/mL (50 %), 19,44 mg/mL (60 %), 22,68 mg/mL (70 %), 25,92 mg/mL (80 %), 29,16 mg/mL (90 %) y 32,4 mg/ml (100%).

Cada concentración fue homogeneizada con un agitador Vórtex y, utilizando micropipetas, se impregnaron discos con 30 μ L de extracto etanólico, realizando ocho repeticiones por concentración. Finalmente, los discos se dejaron en contacto con el extracto durante una hora para asegurar una impregnación óptima.

3.5.5.3. Determinación del halo de inhibición por el método Kirby-Bauer

Este método se empleó para determinar la actividad antibacteriana del extracto, descrito originalmente en 1966. Este método es el estándar reconocido por (CLSI) en el análisis de la efectividad de los compuestos antimicrobianos contra microorganismos patógenos. Permite visualizar halos de inhibición, que son zonas sin crecimiento bacteriano alrededor de los discos con el compuesto, indicando su actividad antimicrobiana. Estos halos se pueden medir y comparar con los rangos de referencia establecidos. Los resultados fueron presentados conforme a las directrices establecidas por Duraffourd et al. (1987): sensibilidad nula <8 mm, sensible (>8 mm a ≤ 14 mm), muy sensible (>14 mm a ≤ 20 mm) y sumamente sensible (>20 mm) las cuales se representaran como (-), (+), (++) y (+++) respectivamente (24).

Luego de que los discos que contienen el extracto y las placas de agar Müller Hinton estén listos y transcurridas dos horas desde el tercer

paso de la preparación del inóculo, se realizó la siembra y colocación de los discos de sensibilidad. Primero, cada placa fue rotulada con la concentración del extracto y la cepa bacteriana correspondiente. Se utilizó la técnica de siembra por diseminación en superficie, depositando 100 μ L de la suspensión bacteriana (ver Anexo 15) en cada placa y distribuyéndola uniformemente con un asa de Digrafski. Tras su uso en cada placa, el asa se esterilizó mediante alcohol y flameado (ver Anexo 16).

Posteriormente, se colocaron, con ayuda de pinzas, cuatro discos de sensibilidad por placa según la concentración asignada, distribuyéndolos sobre la superficie del agar. Las pinzas fueron esterilizadas en alcohol y flameadas después de utilizarlas en cada placa. Por último, las placas se cubrieron y se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 35 ± 2 °C.

Al concluir el periodo de incubación, se utilizó un vernier digital para medir los halos de inhibición producidos por cada uno de los discos y se registraron estos datos en la bitácora. Los controles positivos evidenciaron actividad antimicrobiana, con halos definidos frente a *S. aureus* y *E. coli*, mientras que los controles negativos no mostraron zonas de inhibición (ver Anexos 17,18 y19).

3.5.5.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

Con el fin de establecer la concentración mínima inhibitoria (CMI) primero se obtuvieron los resultados de los halos de inhibición. Se empleó la técnica de dilución en medio líquido para evaluar la CMI, preparando diluciones seriadas a partir de una concentración inicial del 93,3 % (30,24 mg/mL) hasta el 100 % (30,40 mg/mL). Se utilizaron diez tubos de ensayo, a cada uno de los cuales se adicionaron 300 μ L de la suspensión estandarizada de bacterias. Posteriormente, se incorporaron volúmenes específicos de extracto para obtener las diferentes concentraciones, manteniendo la proporción correspondiente. Los tubos 11 y 12 se emplearon como controles positivo y negativo, respectivamente (ver Anexo 20).

Las muestras se incubaron durante 18 a 24 hr con una temperatura de 37 °C. La CMI se estableció como la concentración más baja del extracto capaz de inhibir completamente el crecimiento bacteriano. La ausencia de turbidez en el tubo indicó inhibición total del microorganismo, observada de forma directa y sin necesidad de aparatos (ver Anexos 21 y 22).

3.5.5.5. Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

Se seleccionaron los tubos sin turbidez (indicando inhibición del crecimiento), el contenido de cada uno de estos tubos se resembró en placas de agar Mueller Hinton, incubadas por 24 horas a una temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$. El objetivo fue verificar la ausencia de crecimiento bacteriano (≤ 1 unidad formadora de colonias por placa) (ver Anexos 23).

3.6. TÉCNICA DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos recolectados en esta investigación fueron analizados manualmente y organizados a través de los programas Excel y SPSS, ambos de Microsoft. Para realizar el análisis estadístico, se empleó el método de análisis de varianza (ANOVA) con la ayuda de los exámenes F y p de Fisher, teniendo en cuenta niveles de significación del 0,01 y 0,05. El método de Tukey fue empleado para comparar las medias entre los grupos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. RESULTADOS PARA *ESCHERICHIA COLI* ATCC 8739

Tabla 2. Registro de los halos de inhibición obtenidos frente *Escherichia coli* ATCC 8739

Concentración [] (%v/v)	Halos de inhibición (mm)								Prom
	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	
Control (-)	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
10%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
20%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
30%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
40%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
50%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
60%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
70%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
80%	10.94	10.56	10.44	10.36	10.23	10.61	10.73	10.62	10.56
90%	13.57	12.60	12.89	13.01	12.46	12.66	12.82	12.87	12.86
100%	15.58	14.95	15.20	14.96	15.45	14.40	14.53	13.89	14.87
Control (+)	20.87	21.24	21.86	22.53	22.21	21.52	21.50	20.70	21.55

Fuente: elaboración propia

En la tabla 2, se muestran los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de guayaba en concentraciones que oscilan entre el 10% y el 100%. Se midieron los diámetros de los halos inhibitorios para *Escherichia coli* ATCC 8739 en milímetros.

Para cada concentración se realizó ocho repeticiones y se calculó el promedio. Además, se incluyeron un control positivo (antibiótico sulfametoxazol + trimetoprima) y un control negativo (disco sin extracto) para comparar los resultados.

Tabla 3. Parámetros estadísticos de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza al 95% para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
control (-)	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
10%	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
20%	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
30%	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
40%	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
50%	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
60%	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
70%	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
80%	8	10.56	0.22	0.08	10.38	10.75	10.23	10.94
90%	8	12.86	0.34	0.12	12.58	13.14	12.46	13.57
100%	8	14.87	0.57	0.20	14.39	15.35	13.89	15.58
control (+)	8	21.55	0.63	0.22	21.03	22.08	20.70	22.53
Total	96	8.99	4.87	0.50	8.00	9.97	6.00	22.53

Fuente: resultados obtenidos por SPSS

Nota: Los valores resumen la tendencia central y dispersión de los halos de inhibición por concentración.

En la Tabla 3, demuestra que el extracto etanólico de hojas de guayaba inhibe a *Escherichia coli* solo en concentraciones elevadas (80% o superiores). Las concentraciones bajas (hasta 70%) no mostraron inhibición (halo de 6.00 mm, desviación estándar 0.0), mientras que a altas concentraciones se observó actividad, llegando a un máximo de 14.87 mm (desviación estándar 0.57 mm) al 100%. Este efecto es inferior al del control positivo (21.55 mm, desviación estándar 0.63 mm). Esto valida el potencial antimicrobiano del extracto, destacando su eficacia dependiente de la concentración.

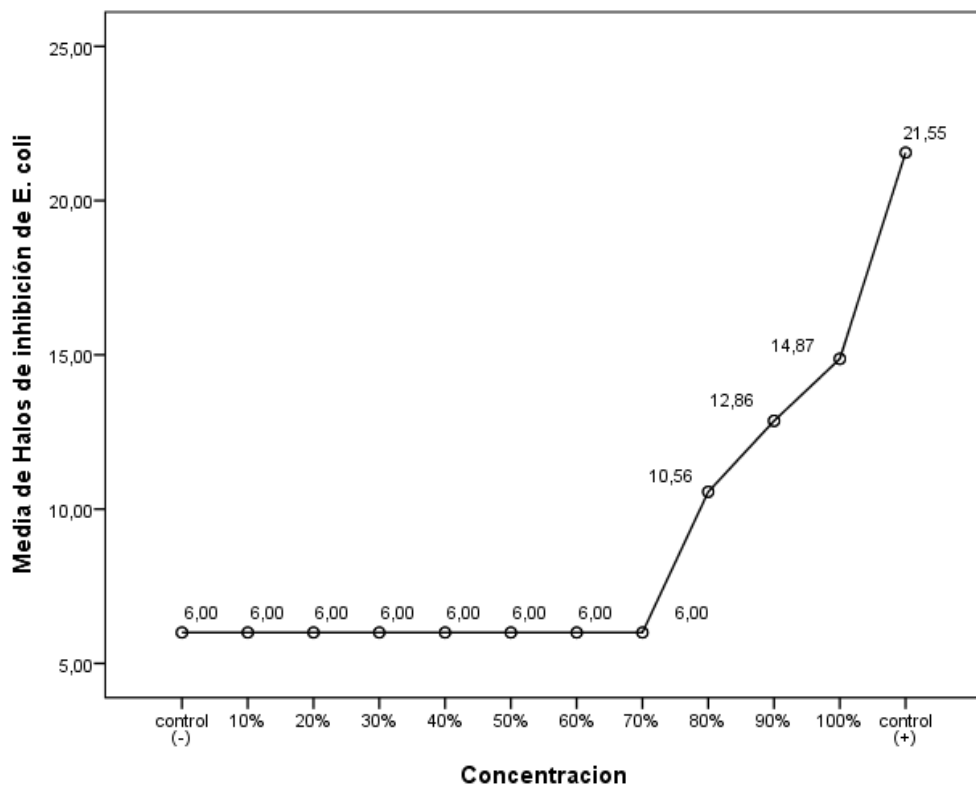


Figura 1. Representación gráfica de la media de los halos inhibitorios del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) contra *Escherichia coli* ATCC 8739

La Figura 1, se observa que la actividad aumenta con la concentración, logrando un máximo de 14.87 mm al 100%. Sin embargo, es menos efectivo que el control positivo (21.55 mm). Esto valida el potencial antimicrobiano del extracto, donde por lo general se observa que, a mayor concentración del extracto, mayor es su halo de inhibición.

Comprobación de hipótesis específica 1

Ha: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) evidencia la formación de halo de inhibición *in vitro* contra *Escherichia coli* ATCC 8739.

Ho: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) no evidencia la formación de halo de inhibición *in vitro* contra *Escherichia coli* ATCC 8739.

Tabla 4. ANOVA de un factor para evaluar la variación de los halos de inhibición a distintas concentraciones del extracto frente a *Escherichia coli* ATCC 8739

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Valor p
Entre grupos	2251.109	11	204.646	2783.097	0.00
Dentro de grupos	6.177	84	0.074		
Total	2257.286	95			

Fuente: resultados obtenidos por SPSS

En la tabla 4, se visualiza que el valor p fue de 0.0, siendo menor a 0.05 ($p < 0.05$) es decir altamente significativo. Esto permite evidenciar que existe diferencias estadísticamente significativas en la inhibición *in vitro* del crecimiento de *Escherichia coli* en al menos un grupo. Por tanto, se aceptaría la hipótesis alterna. Estos resultados conllevan a realizar una

prueba post-Hoc (Tukey) para determinar en cual de esos grupos es la variación.

Tabla 5. Prueba de Subconjunto de Tukey del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) en la inhibición *in vitro* del crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 8739.

grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
control (-)	8	6.00				
10%	8	6.00				
20%	8	6.00				
30%	8	6.00				
40%	8	6.00				
50%	8	6.00				
60%	8	6.00				
70%	8	6.00				
80%	8		10.56			
90%	8			12.86		
100%	8				14.87	
control (+)	8					21.55
Sig.		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Fuente: resultados obtenidos por SPSS

En la tabla 5, el análisis post hoc de Tukey evidenció que las concentraciones entre el 10% y el 70% no difieren significativamente del control negativo (6.00 mm), indicando una sensibilidad nula a estos niveles.

Por otro lado, la concentración a partir del 80% (10.56 mm) hasta el 100% (14.87 mm) resultó un aumento estadísticamente significativo en la medida de los halos de inhibición. El 100% de concentración del extracto

demostró la máxima actividad, aunque inferior a la del control positivo (21.55 mm).

Finalmente, para conocer el nivel de sensibilidad se procederá a seguir las pautas según Duraffourd *et al.* (1987).

Tabla 6. Grado de sensibilidad, de acuerdo con Duraffourd *et al.*, de los halos inhibidores del extracto etanólico extraído de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) en la inhibición *in vitro* contra *Escherichia coli* ATCC 8739.

Concentración [] (%v/v)	Media	Nivel de sensibilidad
10%	6.00	Nula (-)
20%	6.00	Nula (-)
30%	6.00	Nula (-)
40%	6.00	Nula (-)
50%	6.00	Nula (-)
60%	6.00	Nula (-)
70%	6.00	Nula (-)
80%	10.56	Sensible (+)
90%	12.86	Sensible (+)
100%	14.87	Muy sensible (++)

Fuente: propia elaboración.

En la tabla 6, se evidencian que concentraciones entre el 10% y 70% mostraron sensibilidad nula (-), con halos de inhibición constantes de 6.00 mm. La actividad antibacteriana se hizo perceptible a partir del 80% (10.56

mm, sensible (+)), incrementándose al 90% (12.86 mm, sensible (+)). La máxima actividad se logró al 100%, con un halo de 14.87mm, indicando como muy sensible (++)).

Comprobación de hipótesis específica 2

Ha: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) presenta una concentración mínima inhibitoria (CMI) contra *Escherichia coli* ATCC 8739.

Ho: El extracto etanólico de hojas de *Psidium guajava* no presenta una concentración mínima inhibitoria (CMI) contra *Escherichia coli* ATCC 8739.

El rango de concentración del 90% al 100% para la CMI se basó en análisis preliminares (Tabla 6). Si bien estos ya indicaban actividad inhibitoria contra *Escherichia coli* ATCC 8739 a partir del 80%, la prueba de CMI busca la ausencia de crecimiento antibacteriano visible (turbidez). Por ende, la evaluación se inició en el 90%, ya que este rango evidenció la actividad antibacteriana más pronunciada (Tabla 6: 90% Sensible, 100% Muy sensible), lo que permitió una determinación precisa y optimizada de la concentración mínima requerida para la inhibición completa.

Tabla 7. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) contra *Escherichia coli* ATCC 8739

N°	Concentración (%)	Concentración (mg)	Turbidez
1	90.00%	29.16	Presenta
2	91.11%	29.52	Presenta
3	92.22%	29.88	Presenta
4	93.33%	30.24	Presenta
5	94.44%	30.6	No presenta
6	95.56%	30.96	No presenta
7	96.67%	31.32	No presenta
8	97.78%	31.68	No presenta
9	98.89%	32.04	No presenta
10	100.00%	32.4	No presenta
11	control (+) bacteria y caldo BHI		Presenta
12	control (-) solo caldo BHI		No presenta

Fuente: propia elaboración

En la tabla 7, la Concentración Mínima Inhibitoria fue del 94.44% (30.6 mg). A esta concentración y superiores (hasta el 100%), Se notó una inhibición total del crecimiento bacteriana (ausencia de turbidez), mientras que concentraciones inferiores (90.00%-93.33%) mostraron presencia de crecimiento. Esto confirma que la efectividad del extracto depende de la dosis, estableciendo una concentración crítica para su posible aplicación antimicrobiana.

Comprobación de hipótesis específica 3

Ha: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) presenta una concentración mínima bactericida (CMB) contra *Escherichia coli* ATCC 8739.

Ho: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) no presenta una concentración mínima bactericida (CMB) contra *Escherichia coli* ATCC 8739.

Tabla 8. Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) contra *Escherichia coli* ATCC 8739

N° Placa	N° Tubo	Concentración (%)	UFC/placa	Resultados
5	5	94.44%	'Incontable'	
6	6	95.56%	2	
7	7	96.67%	0	CMB

Fuente: propia elaboración

En la tabla 8, la CMB del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) contra *Escherichia coli* ATCC 8739 mostró ser del 96.67%. A esta concentración, se observó una completa reducción de las unidades formadoras de colonias (0 UFC/placa), confirmando el efecto bactericida del extracto, ya que redujo un 99% de la población bacteriana.

Concentraciones inferiores (94.44% y 95.56%) mostraron presencia residual de crecimiento bacteriano ('Incontable' y 2 UFC/placa respectivamente), indicando que no alcanzaron el criterio de CMB. Estos hallazgos establecen que el extracto de guayaba posee una acción bactericida significativa a altas concentraciones, lo que complementa los resultados de CMI y potencia su consideración como un agente antimicrobiano.

4.2. RESULTADOS PARA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 6538.

Tabla 9. Registro de los halos de inhibición obtenidos frente *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Concentración [] (%v/v)	Halos de inhibición (mm)								Prom
	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	
Control (-)	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
10%	8.88	7.99	7.24	8.02	7.68	7.52	6.93	6.94	7.65
20%	8.16	7.19	6.97	6.94	6.70	6.75	6.46	6.01	6.90
30%	8.12	8.11	7.66	7.65	7.31	7.16	7.05	7.03	7.51
40%	8.73	8.54	9.68	8.92	8.10	8.09	8.00	7.94	8.50
50%	8.36	8.24	8.32	7.63	8.52	7.49	7.68	7.96	8.03
60%	8.29	7.85	8.28	8.51	8.52	8.15	8.85	9.18	8.45
70%	9.02	9.87	9.27	8.87	8.81	8.96	8.92	8.18	8.99
80%	15.80	14.31	14.32	11.98	12.14	12.10	12.11	13.10	13.23
90%	15.56	17.42	17.37	16.90	13.76	12.18	12.19	11.32	14.59
100%	17.92	22.74	22.40	16.46	16.03	16.03	15.90	11.14	17.33
Control (+)	27.00	26.90	25.90	25.86	24.23	25.60	26.70	24.90	25.89

Fuente: propia elaboración

En la tabla 9, se evidencia los registros de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de guayaba, examinados en diferentes concentraciones (de 10% a 100%).

Para cada concentración se realizó ocho repeticiones y se calculó el promedio. Además, se incluyeron un control positivo (antibiótico amoxicilina) y un control negativo (disco sin extracto) para comparar los resultados. Además, se calculó el promedio para cada concentración.

Tabla 10. Parámetros estadísticos de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza al 95% para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
control (-)	8	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00
10%	8	7.65	0.65	0.23	7.11	8.19	6.93	8.88
20%	8	6.90	0.62	0.22	6.38	7.42	6.01	8.16
30%	8	7.51	0.44	0.16	7.14	7.88	7.03	8.12
40%	8	8.50	0.60	0.21	8.00	9.00	7.94	9.68
50%	8	8.03	0.39	0.14	7.70	8.35	7.49	8.52
60%	8	8.45	0.42	0.15	8.11	8.80	7.85	9.18
70%	8	8.99	0.47	0.17	8.59	9.38	8.18	9.87
80%	8	13.23	1.43	0.50	12.04	14.43	11.98	15.80
90%	8	14.59	2.53	0.90	12.47	16.71	11.32	17.42
100%	8	17.33	3.78	1.34	14.17	20.48	11.14	22.74
control (+)	8	25.89	0.98	0.35	25.07	26.71	24.23	27.00
Total	96	11.09	5.75	0.59	9.92	12.25	6.00	27.00

Fuente: resultados obtenidos por SPSS

Nota: Los valores resumen la tendencia central y dispersión de los halos de inhibición por concentración.

En la tabla 10, se observó que todas las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba presentaron halos de inhibición superiores a 6 mm frente a *Staphylococcus aureus*, indicando actividad antibacteriana. El control negativo no mostró efecto, mientras que el extracto alcanzó su mayor inhibición a 100 % (17.33 ± 3.78 mm), menor que el control positivo (25.89 ± 0.98 mm).

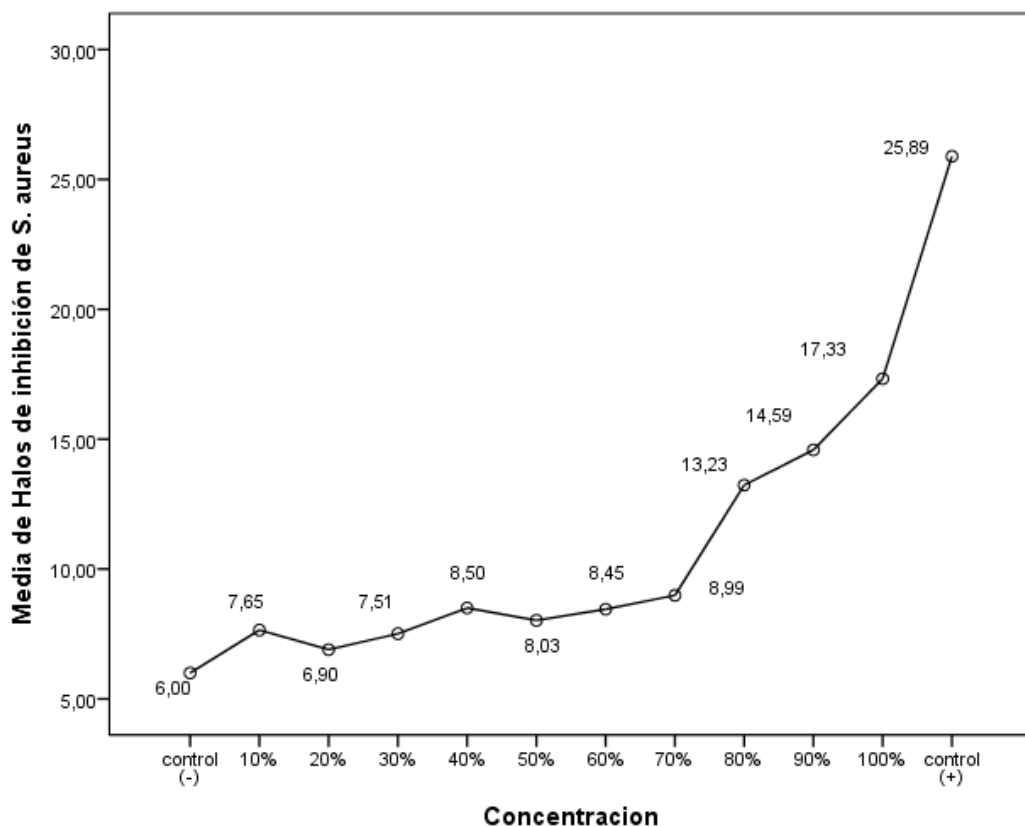


Figura 2. Representación gráfica de la media de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

La Figura 2, se confirma que la actividad aumenta con la concentración, alcanzando un máximo de 17.33 mm al 100%. Sin embargo, es menos efectivo que el control positivo (25.89 mm). Esto valida el potencial antimicrobiano del extracto, se observa que el halo de inhibición se incrementa a medida que la concentración del extracto aumenta.

Comprobación de hipótesis específica 1

Ha: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) evidencia la formación de halo de inhibición *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Ho: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) no evidencia la formación de halo de inhibición *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Tabla 11. ANOVA de un factor para evaluar la variación de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Valor p
Entre grupos	2962.056	11	269.278	126.232	0.000
Dentro de grupos	179.188	84	2.133		
Total	3141.245	95			

Fuente: resultados obtenidos por SPSS

En la tabla 11, se visualiza que el valor p fue de 0.0, siendo menor a 0.05 ($p < 0.05$), lo que evidencia estadísticamente que existe inhibición *in vitro* del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en al menos un grupo. Por tanto, se aceptaría la hipótesis alterna. Estos resultados conllevan a realizar una prueba post-Hoc (Tukey) para determinar en cual de esos grupos es la variación.

Tabla 12. Evaluación del efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 mediante la prueba de subconjunto de Tukey.

grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
control (-)	8	6.00				
20%	8	6.90	6.90			
30%	8	7.51	7.51			
10%	8	7.65	7.65			
50%	8	8.03	8.03			
60%	8	8.45	8.45			
40%	8		8.50			
70%	8		8.99			
80%	8			13.23		
90%	8			14.59		
100%	8				17.33	
control (+)	8					25.89
Sig.		0.05	0.17	0.78	1.00	1.00

Fuente: resultados obtenidos por SPSS

En la tabla 12, mediante la prueba de Tukey, permitió agrupar las medias de los halos de inhibición en subconjuntos homogéneos. El control negativo y las concentraciones del 10%, 20%, 30%, 50% y 60% conformaron el primer subconjunto, sin presentar diferencias significativas entre sí. Las concentraciones del 10% al 70% exhibieron un comportamiento similar en la actividad antibacteriana, constituyendo un segundo subconjunto con halos de inhibición superiores al primero. Es importante destacar que algunas concentraciones se solaparon en ambos subconjuntos.

Por otro lado, las concentraciones del 80%, 90% y 100%, así como el control positivo, formaron subconjuntos distintos y significativamente diferentes entre sí. Esto indicó un incremento directo en la actividad antibacteriana a medida que la concentración aumentaba. El control positivo obtuvo el mayor halo (25.89 mm), mientras que la concentración al 100% del extracto presentó la máxima actividad (17.33 mm), seguida por las concentraciones del 80% y 90% (medias de 13.23 mm y 14.59 mm, respectivamente). Finalmente, para conocer el nivel de sensibilidad se procederá a seguir las pautas según Duraffourd *et al.* (1987).

Tabla 13. Grado de sensibilidad, de acuerdo con Duraffourd et al., de los halos inhibitorios del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) en relación con la inhibición *in vitro* ante *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Concentración [] (%v/v)	Media de los halos de inhibición (mm)	Nivel de sensibilidad
10%	7.65	Nula (-)
20%	6.90	Nula (-)
30%	7.51	Nula (-)
40%	8.50	Sensible (+)
50%	8.03	Sensible (+)
60%	8.45	Sensible (+)
70%	8.99	Sensible (+)
80%	13.23	Sensible (+)
90%	14.59	Muy sensible (++)
100%	17.33	Muy sensible (++)

Fuente: propia elaboración

En la tabla 13, los resultados evidencian que concentraciones entre el 10% y 30% mostraron sensibilidad nula (-), con halos de inhibición constantes de 6.00 mm. La actividad antibacteriana se hizo perceptible a partir del 40% (8.50 mm, sensible (+)), incrementándose al 80% (13.23 mm, sensible (+)). Asimismo, las concentraciones al 90% y 100%, con un halo de 14.59 mm y 17.33 mm, se calificaron como muy sensible (++)

Comprobación de hipótesis específica 2

Ha: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) presenta una concentración mínima inhibitoria (CMI) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Ho: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) no presenta una concentración mínima inhibitoria (CMI) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

El rango de concentración del 80% al 100% para la CMI se basó en análisis preliminares (Tabla 13). Si bien estos ya indicaban actividad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a partir del 40%, la prueba de CMI busca la ausencia total de crecimiento visible (turbidez). Por ende, la evaluación se inició en el 80%, ya que este rango evidenció la actividad antibacteriana más pronunciada (Tabla 13: 80% Sensible, 90% y 100% Muy sensible), lo que permitió una determinación precisa y optimizada de la concentración mínima requerida para la inhibición completa.

Tabla 14. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

N°	Concentración (%)	Concentración (mg)	Turbidez
1	80.00%	25.92	Presenta
2	82.22%	26.64	Presenta
3	84.44%	27.36	Presenta
4	86.67%	28.08	Presenta
5	88.89%	28.80	Presenta
6	91.11%	29.52	Presenta
7	93.33%	30.24	No presenta
8	95.56%	30.96	No presenta
9	97.78%	31.68	No presenta
10	100.00%	32.40	No presenta
11	control (+) bacteria y caldo BHI		Presenta
12	control (-) solo caldo BHI		No presenta

Fuente: propia elaboración

En la Tabla 14, la CMI del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 reveló que la CMI es del 93.33% (30.24 mg). A esta concentración y superiores (hasta el 100%), se observó una completa inhibición del crecimiento bacteriano (ausencia de turbidez), mientras que concentraciones inferiores (80% - 91.11%) mostraron presencia de crecimiento. Esto confirma que la efectividad del extracto depende de la dosis, estableciendo una concentración crítica para su posible aplicación antimicrobiana.

Comprobación de hipótesis específica 3

Ha: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) presenta una concentración mínima bactericida (CMB) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Ho: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) no presenta una concentración mínima bactericida (CMB) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Tabla 15. Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

N° Placa	N° Tubo	Concentración (%)	UFC/placa	Resultados
7	7	93.33%	4	
8	8	95.56%	0	CMB
9	9	97.78%	0	

Fuente: propia elaboración

En la Tabla 15, la CMB del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, es al 95.56%. A esta concentración, se observó una completa reducción de las unidades formadoras de colonias (0 UFC/placa), confirmando el efecto bactericida del extracto, ya que redujo un 99% de la población bacteriana. Concentraciones inferiores (93.33%) mostraron presencia residual de crecimiento bacteriano (4 UFC/placa), indicando que no alcanzaron el

criterio de CMB. Estos hallazgos establecen que el extracto de guayaba posee una acción bactericida significativa a altas concentraciones, lo que complementa los resultados de CMI y potencia su consideración como un agente antimicrobiano.

4.3.RESULTADOS ANTE A *ESCHERICHIA COLI* ATCC 8739. Y *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 6538

Comprobación de hipótesis general

Ha: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Ho: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) no tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC 8739. y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Para *Escherichia coli*, el ANOVA (Tabla 4) reveló diferencias significativas. Las pruebas Tukey (Tabla 5) indicaron que las concentraciones del extracto del 80% (10.56 mm) y con incrementos sucesivos hasta el 100% (14.87 mm) se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la actividad inhibitoria. Asimismo, la CMI

fue del 94.44% (30.6 mg) y la CMB del 96.67% demostraron que el extracto es capaz de inhibir y erradicar el crecimiento de esta bacteria a elevadas concentraciones.

Para *Staphylococcus aureus*, el ANOVA (Tabla 11) demostró diferencia significativa, y con Tukey (Tabla 12) se vio que la actividad antibacteriana aumentaba notablemente a partir del 80% de concentración del extracto, siendo el pico de actividad al 100% (17.33 mm de halo inhibitor). Además, la CMB y la CMI fueron del 95.56% (30.24 mg) y del 93.33%, respectivamente, lo que evidencia que el extracto puede eliminar e inhibir totalmente el crecimiento de esta bacteria a concentraciones altas.

Seguidamente, se ofrece un resumen general de las actividades antibacterianas:

Tabla 16. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Cepa	Actividad antibacteriana
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Positivo(+)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Positivo(+)

Fuente: propia elaboración

En la tabla 16, se acepta la hipótesis alterna (Ha), demostrando que el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) tiene un efecto inhibitor importante contra las dos cepas bacterianas analizadas. Se determina que este extracto tiene actividad antibacteriana *in vitro*, cuya efectividad se intensifica a medida que aumenta la concentración.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de hojas de guayaba (*Psidium guajava*) frente a *E. coli* ATCC 8739 y *S. aureus* ATCC 6538. En el caso de *E. coli*, se observó que las concentraciones entre 10 % y 70 % produjeron halos de inhibición de 6 mm en promedio, en cambio, a partir del 80 % se incrementó notablemente la eficacia, alcanzando diámetros de 10,56 mm (80 %), 12,86 mm (90 %) y 14,87 mm (100 %). Respecto *S. aureus* mostró una mayor sensibilidad en todas las concentraciones evaluadas, ya que los halos superaron los 6 mm en todos los casos. Las concentraciones de 80 %, 90 % y 100 % registraron los mayores valores, con promedios de 13,91 mm, 14,56 mm y 17,33 mm respectivamente, lo que evidencia que esta bacteria fue más susceptible al extracto que *E. coli*. Además, se determinaron las CMI y CMB: 30,6 mg y 31,32 mg para *E. coli*, y 30.24 mg y 30.96 mg para *S. aureus*.

En comparación con investigaciones previas los resultados coinciden con investigaciones nacionales e internacionales que respaldan la acción antibacteriana de este extracto frente a microorganismos tanto grampositivos como gramnegativos evidenciando una mayor actividad frente a las bacterias grampositivas.

En India, Rabiya H.M. (2017) examinó el extracto etanólico de *P. guajava* contra *E. coli* y *S. aureus*, usando difusión en agar con concentraciones de entre 50 y 250 mg/ml. A 250 mg/ml se registró el efecto más relevante, con halos de 23 mm para *S. aureus* y 21 mm para *E. coli*. El extracto al 100 % (32,4 mg/ml) logró un área de inhibición de 17,33 mm para *E. coli* y de 14,87 mm para *S. aureus* en este estudio. Los resultados de ambas investigaciones muestran que la concentración determina la actividad antibacteriana.

En Indonesia, Qonita Noer y colaboradores (2019) analizaron extractos de hojas jóvenes y maduras (10 %), reportando halos de 8,16 mm frente a *E. coli* para hojas maduras y 6,6 mm para hojas jóvenes, atribuida a un mayor contenido de taninos. A diferencia, nuestro estudio utilizó hojas mixtas (jóvenes y maduras), logrando halos de 14,87 mm frente a *E. coli* y 17,33 mm frente a *S. aureus*, confirmando que tanto la edad de la hoja como la concentración influyen en la eficacia, destacando su actividad contra bacterias Gram positivas.

En Arabia Saudita, Hemeg et al. (2020) evaluaron varias plantas, incluido *P. guajava*, con extracto etanólico al 100 % (500 mg/mL), obteniendo halos de 15,62 mm contra *S. aureus* y 10,55 mm contra *E. coli*, con CMI de 1250 µg/ml y 625 µg/ml respectivamente. En nuestro estudio, el extracto al 100 % (32,4 mg/ml) mostró halos de 17,33 mm y 14,87 mm,

además de CMI y CMB en rangos cercanos a 30 mg. Ambas investigaciones concluyen que *S. aureus* es más sensible, lo que se debe a estructura de la pared celular Gram positiva, cuya permeabilidad es mayor que la de la membrana exterior de bacterias como las *E. coli*, que son Gram negativas (32).

En Ecuador, Holguín Castro y colaboradores (2022) compararon los extractos de hojas de *Psidium guajava*, extraídos con diferentes fórmulas solventes (hidroalcohólica, acuosa y alcohólica), con *E. coli* ATCC 11229 y *S. aureus* ATCC 6538 para estudiar su efecto antibacteriano utilizando además el método de Kirby-Bauer para determinar la sensibilidad bacteriana *in vitro*. En el estudio, se observó que el extracto hidroalcohólico a 30 mg/ml tuvo la actividad más alta, con halos de 25.5 mm para *S. aureus* y 20.3 mm para *Escherichia coli*; este resultado fue notablemente mayor que el de los extractos acuosos y alcohólicos. En comparación con nuestra investigación, se utilizó un extracto etanólico con una concentración de 32.4 mg/ml, que demostró igualmente actividad antibacteriana frente a las mismas cepas (produciendo halos de 17.33 mm para *S. aureus* y 14.87 mm para *E. coli*). Ambas investigaciones coinciden en que *S. aureus* tiene una mayor sensibilidad que *E. coli*.

En Nigeria, Dogun (2023), los extractos acuosos, metanólicos y etanólicos de las hojas de guayaba y naranja fueron objeto de estudio para

investigar su actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus*; en este análisis se empleó una dilución en caldo con concentraciones que fluctuaban entre 12.5 y 200 mg/ml. Los halos de inhibición más extensos fueron 18 mm para *S. aureus* y 17 mm para *E. coli*, a una concentración de 200 mg/ml. El extracto etanólico de *Psidium guajava*, en particular, demostró una CMI de 50 mg/ml para las dos bacterias citadas. Asimismo, Dogun realizó la marcha fitoquímica, que detectó la presencia de taninos, alcaloides, flavonoides, esteroides y saponinas. Se notaron, sobre todo, niveles más elevados de estos dos últimos compuestos; son los metabolitos que producen la actividad antibacteriana. En esta investigación, se produjeron halos de 14.87 mm para *E. coli* y 17.33 mm para *S. aureus* utilizando un extracto etanólico a una concentración de 32.4 mg/ml. Las dos investigaciones mostraron resultados parecidos, ya que confirmaron que el extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* tiene un efecto antimicrobiano importante, y este se intensifica si se aplica una concentración más alta.

En Trujillo, Villanueva (2019) evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de las hojas de guayaba, en extracto etanólico, frente al *S. aureus*, se examina con concentraciones que alcanzan hasta los 420 mg/ml. Los halos conseguidos frente a la cepa ATCC 25923, sin embargo, fueron relativamente pequeños (12,5 mm como máximo), con una CMI de 42

mg/ml. Comparativamente, en el presente estudio, empleando menores concentraciones (CMI de 30,24 mg/ml y CMB de 30,96 mg/ml para *S. aureus* ATCC 6538) y un método de maceración simple en lugar del rotavapor usado por Villanueva, se obtuvo una inhibición más notable, alcanzando halos de hasta 17,33 mm. Estas diferencias pueden explicarse por factores como la técnica de extracción, la cepa utilizada y las condiciones del material vegetal. Además, el extracto demostró no solo inhibir, sino también eliminar *S. aureus* y *E. coli*, con mayor eficacia frente a la primera, resultado coherente con lo descrito por Colman (2020), quienes asocian la mayor sensibilidad de bacterias Gram positivas a la estructura porosa de su pared de peptidoglicano. Según la marcha fitoquímica reportada por Villanueva, las hojas de *Psidium guajava* contienen flavonoides (quercetina, guayaverina), taninos, saponinas y compuestos fenólicos, compuestos capaces de alterar la membrana bacteriana, precipitar proteínas y bloquear enzimas esenciales, lo que explicaría el efecto inhibitorio y bactericida observado. Ambos estudios confirman el efecto antibacteriano, como fuente de agentes naturales frente a bacterias.

En Arequipa, Escobar (2019) evaluó la acción antimicrobiana de los extractos etanólicos de las hojas del *Psidium guajava* contra *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 y *Candida albicans* ATCC 10231,

mediante la extracción Soxhlet. Los resultados mostraron concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) significativamente menores (3,125 mg/mL) y halos de inhibición más amplios frente a *S. aureus* (22,5 mm) en comparación con nuestro estudio. Estas diferencias podrían atribuirse al método de extracción y al origen del material vegetal. No obstante, ambos estudios coinciden en que las bacterias Gram positivas presentan mayor sensibilidad. Además, Escobar también evidenció actividad antimicótica frente a *C. albicans*.

Trujillo, Carrero Montenegro (2019) evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de *Psidium guajava* frente a *S. aureus*, obteniendo halos de 12,25 mm con extractos al 9 % (8 mg/mL). En comparación, en nuestro estudio con extractos etanólicos a mayor concentración (32,4 mg/mL), se observaron halos de 17,33 mm. Esta diferencia se atribuye principalmente a la concentración del extracto; si se concentra más, hay una mayor cantidad de compuestos bioactivos que pueden detener el crecimiento de las bacterias. Ambos estudios emplearon maceración, lo que indica que el incremento en la actividad no se debe al método, sino a la concentración del extracto. Hallazgo concuerda con lo que fue reportado por Goly V. (2020), quien también evidenció que la actividad antibacteriana aumenta proporcionalmente con la concentración del extracto.

Finalmente, en Lima, Murillo (2022) estudió la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de *Psidium guajava* frente a bacterias entéricas, como *E. coli*, usando concentraciones de 1, 10 y 100 mg/ml y se evaluó la inhibición con pruebas de antibiograma. Los extractos etanólicos mostraron mayor eficacia, inhibiendo el 66,6 % de las muestras y alcanzando un halo máximo de 8,18 mm frente a *Salmonella typhimurium*, mientras que los acuosos solo lograron un 33,3 % de inhibición. En nuestro estudio, con extracto etanólico a 32,4 mg/mL, se obtuvieron halos mayores (17,33 mm frente a *S. aureus* ATCC 6538 y 14,87 mm contra *E. coli* ATCC 8739), evidenciando una actividad antibacteriana notable. Ambos estudios coinciden en que el extracto etanólico es más eficaz que el acuoso.

CONCLUSIONES

- Primera:** El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) si presentó actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- Segunda:** El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) evidenció halos de inhibición para *Escherichia coli* ATCC 8739 14,87 mm y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 17,33 mm , llegando a su concentración máxima (32,4 mg/ml) del 100%.
- Tercera:** La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) fue de 30,6 mg para *Escherichia coli* ATCC 8739 y 30,24 mg para *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, demostrando su eficacia inhibidora frente a ambas cepas bacterianas.
- Cuarta:** La concentración mínima bactericida del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) fue de 31,32 mg (96.67%) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y 30,96 mg (95.56%) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, confirmando su efecto bactericida en ambas cepas bacterianas.

RECOMENDACIONES

1. Priorizar la adquisición de equipos especializados (espectrofotómetros, cromatógrafos entre otros). Esto permitirá realizar investigaciones más profundas en el análisis de compuestos activos y su actividad farmacológica.
2. Se debe proseguir la investigación otras partes de *Psidium guajava* con diferentes métodos de extracción y microorganismos.
3. Se sugiere realizar la marcha fitoquímica y evaluar su eficacia en modelos in vivo y su toxicidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Daud A, Gallo A, Sánchez Riera A. Propiedades antimicrobianas de *Phrygilanthus acutifolius*. Journal of Ethnopharmacology. 3 de junio de 2005;99(2):193-7.
2. Sharma M, Mohan V, Abraham M, Sharma M. Antimicrobial potential of the phytoextracts of some Nyctaginaceae members. AJB. 15 de noviembre de 2010;9(46):7942-7.
3. Rabiyyathul Basiriya H.M, M. Kalaiselvam, Ananthan Anuswedha. Evaluation of antibacterial activity of ethanol leaf extracts of psidium guajava linn. Against clinical isolates from wound infections. WJPPS. 1 de mayo de 2017;1130-6.
4. Qonita N, Susilowati SS, Riyandini D. JOS | Universidad Jenderal Soedirman. Acta Pharmaciae Indonesia: Acta Pharm Indo. 30 de septiembre de 2019;7(2):51-7.
5. Hassan A. H, Moussa IM, Ibrahim S, Dawoud TM, Alhaji JH, Mubarak AS, et al. Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. Saudi Journal of Biological Sciences. 1 de diciembre de 2020;27(12):3221-7.

6. Silva-Vega M, Bañuelos-Valenzuela R, Delgadillo-Ruiz L, Gallegos-Flores P, Meza-López C, Valladares-Carranza B, et al. Caracterización química de extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) y su efecto como inhibidor de movilidad para *Escherichia coli* O157:H7. *Abanico veterinario* [Internet]. diciembre de 2020 [citado 17 de julio de 2024];10. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2448-61322020000100119&lng=es&nrm=iso&tlng=es
7. Owusu E, Ahorlu MM, Afutu E, Akumwena A, Asare GA. Antimicrobial Activity of Selected Medicinal Plants from a Sub-Saharan African Country against Bacterial Pathogens from Post-Operative Wound Infections. *Medical Sciences*. junio de 2021;9(2):23.
8. Holguín Castro PM, Tamayo Cueva FM. Determinación de actividad antimicrobiana en extractos de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L) frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Internet]. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas; 2022 [citado 21 de abril de 2025]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/61279>
9. Buah JD, Musa DD, Eberemu NC. Antibacteria Activities of Guava (*Psidium guajava*) and Orange (*Citrus sinensis*) Leaves Extracts on

Staphylococcus aureus and *Escherichia coli*. Sahel Journal of Life Sciences FUDMA. 31 de diciembre de 2023;1(1):130-6.

10. Durand Chávez GL. Efecto del extracto etanológico de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.), en el control de los agentes etiológicos de la mastitis en el Alto Huallaga. 2009 [citado 22 de abril de 2025]; Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14292/892>
11. CRUZ R. FLORES G..pdf [Internet]. [citado 22 de abril de 2025]. Disponible en: <https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/470/CRUZ%20R.%20FLORES%20G..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. Ccosco Huayhuaya JP. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de semillas *Psidium guajaval* L.(Guayaba) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Internet]. 2020. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNID_e2921e638b87ae4ff3a504d023db78c2
13. Villanueva Leyva GZ. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *psidium guajava* l. (guayaba) sobre *staphylococcus aureus* [Internet]. Universidad Privada Antenor Orrego; 2020 [citado 14 de julio de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/6040>

14. Escobar Flores AJ. Efecto antimicrobiano del extracto de hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) sobre *staphylococcus aureus* ATCC 25923, *escherichia coli* ATCC 25922 y *cándida albicans* ATCC 10231, Arequipa-2018. 2019.
15. Carrero Montenegro CE. Efecto antimicrobiano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *psidium guajava* L. “guayaba” frente a *staphylococcus aureus* [Internet]. Universidad César Vallejo; 2019 [citado 17 de julio de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/36208>
16. Colman Cusilayme MJ. Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de *Psidium guajava* L. (1753) en *escherichia coli* y *staphylococcus aureus*. 2022 [citado 17 de julio de 2024]; Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12773/15074>
17. Llamaza Maldonado JM. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *Psidium guajava* L. “Guayaba” frente a bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) y gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922). 2022.
18. Murillo Zenozain AD. Efecto antibacteriano de los extractos acuosos y etanólico de *Psidium guajava* L. frente a *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* [Internet].

Universidad Científica del Sur; 2022 [citado 17 de julio de 2024].

Disponible en:

<https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/2752>

19. Mercado AYC. INFORME DE REVISIÓN DE ORIGINALIDAD [Internet].

Disponible en:

<https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/3320/TL-Castro%20A.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

20. Amadike Ugbogu E, Emmanuel O, Ebubechi Uche M, Dike Dike E, Chukwuebuka Okoro B, Ibe C, et al. Actividades etnobotánicas, fitoquímicas y farmacológicas de *Psidium guajava* L. Arabian Journal of Chemistry. 1 de mayo de 2022;15(5):103759.

21. Gutiérrez RMP, Mitchell S, Solis RV. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 17 de abril de 2008;117(1):1-27.

22. Martínez L, Martínez K, Noguera-Machado N. USOS MEDICINALES DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* L. «GUAYABA» USOS MEDICINALES DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* L. «GUAYABA» (MEDICINAL USES OF THE LEAVES OF *Psidium guajava* L. «GUAYABA»). MEDICINAL USES OF THE LEAVES OF *Psidium guajava* L «GUAYABA» [Internet]. 2020 [citado 18 de diciembre de

2024];3(94-105). Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/366055827_USOS_MEDICINALES_DE_LAS_HOJAS_DE_Psidium_guajava_L_GUAYABA_USOS_MEDICINALES_DE_LAS_HOJAS_DE_Psidium_guajava_L_GUAYABA_MEDICINAL_USES_OF_THE_LEAVES_OF_Psidium_guajava_L_GUAYABA

23. Gómez-Duarte OG. Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* enteropatógenas en Colombia. *Revista chilena de infectología*. octubre de 2014;31(5):577-86.
24. Montero-Recalde M, Mira JC, Avilés-Esquivel D, Pazmiño-Miranda P, Erazo-Gutiérrez R. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. abril de 2018;29(2):588-93.
25. Pérez Esteve E, Rivas Soler A. Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria por métodos fenotípicos. 9 de junio de 2021 [citado 23 de diciembre de 2024]; Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/167611>
26. Horna Quintana G, Silva Díaz M, Vicente Taboada W, Tamariz Ortiz J. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de

ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Revista Médica Herediana. enero de 2005;16(1):39-45.

27. Atmanto, Y. Kusumo Adi Arji, Paramita, Kartika, Handayani, Irda. (PDF) CULTURE MEDIA. International Journal of Current Research in Science Engineering & Technology. 6 de agosto de 2025;4:2213-25.

28. Definición de cepa de organismos - Diccionario de cáncer del NCI - NCI [Internet]. 2011 [citado 23 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/cepa-de-organismos>

29. ASALE R, RAE. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. 2024 [citado 25 de julio de 2024]. bacteria | Diccionario de la lengua española. Disponible en: <https://dle.rae.es/bacteria>



30. ASALE R, RAE. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. 2024 [citado 25 de julio de 2024]. extracto | Diccionario de la lengua española. Disponible en: <https://dle.rae.es/extracto>

31. Picazo JJ. Procedimiento en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2000. Procedimientos en Microbiología Clínica.

32. Nikaido H. Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. diciembre de 2003;67(4):593-656.

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de identificación taxonómica de la especie de guayaba

	HERBARIO TAKANA (TKA) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann Facultad de Ciencias Ciudad Universitaria - Av. Miraflores s/n, Tacna - Perú	
---	--	---

CONSTANCIA DE IDENTIFICACION TAXONOMICA

Yo Dr. Pablo Juan Franco León Docente de la Facultad de Ciencias, de la Cátedra de Botánica de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, dejo constancia que:


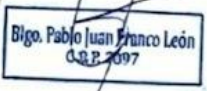
La muestra alcanzada al laboratorio de Botánica por **Estefany Shirley Atencio Quispe**, identificado con DNI N° 71524822; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto de Tesis: "Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava*) frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538", ha sido estudiada y clasificada como: *Psidium guajava* y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN MAGNOLIOPHYTA
CLASE MAGNOLIOPSIDA
ORDEN MYRTALES
FAMILIA MYRTACEAE
GÉNERO *Psidium*
ESPECIE *Psidium guajava* L. 1753

Nombre vulgar: Guayaba

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Tacna, 05 de noviembre del 2024

Anexo 2. Se envolvió la preparación del extracto etanólico el frasco con papel aluminio.



Anexo 3. Medios de cultivo empleados en el ensayo: caldo Infusión Cerebro Corazón (izquierda). agar Müeller Hinton (centro) y agar Nutritivo (derecha).



Anexo 4.. Tubos de ensayo con caldo BHI.



Anexo 5.. Preparación del agar Müeller Hinton.



Anexo 6. Preparación de las placas con agar Müller Hinton.



Anexo 7. Viales con *Escherichia coli* (izquierda) y *Staphylococcus aureus* (derecha).



Anexo 8. Primer paso: preparación de la suspensión del agente bacteriano.



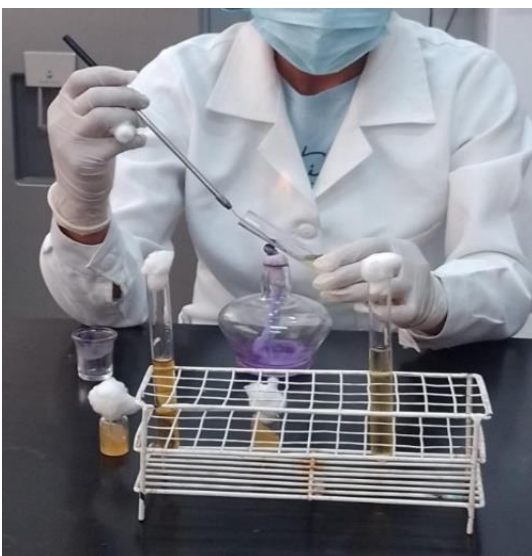
Anexo 9. Proceso de incubación.



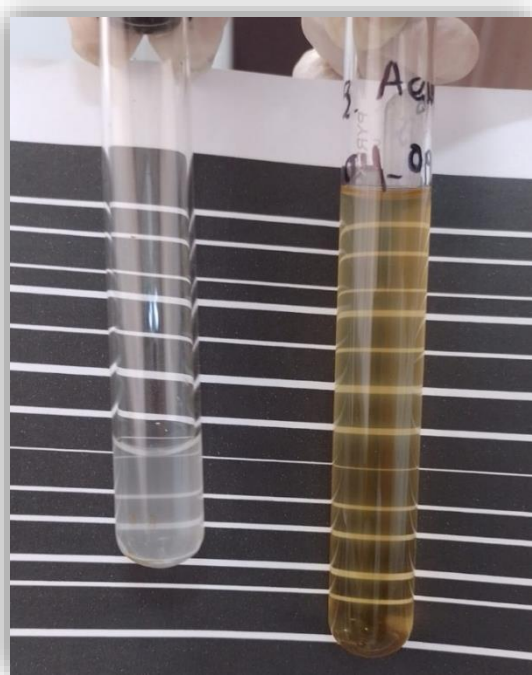
Anexo 10. Segundo paso: preparación de cultivo en vial con la suspensión del agente bacteriano por siembra en estría y agotamiento.



Anexo 11. Tercer paso: preparación de la suspensión final del agente bacteriano.



Anexo 12. Nefelometría de McFarland.



Anexo 13. Discos de sensibilidad inactivados.



Anexo 14. Preparación de los discos de sensibilidad con las diluciones del extracto de las hojas de guayaba



Anexo 15. Inoculación de la suspensión bacteriana.



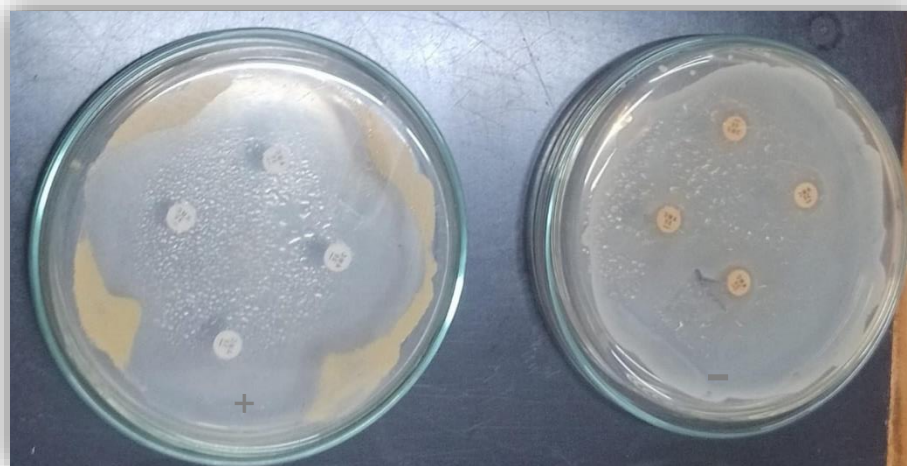
Anexo 16. Siembra por diseminación en superficie.



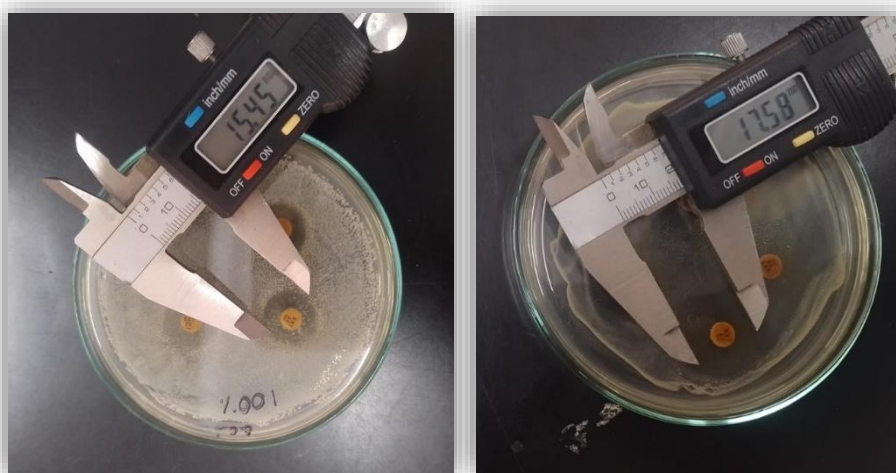
Anexo 17. Placas de control positivo y negativo para *E. coli*.



Anexo 18. Placas de control positivo y negativo para *S. aureus*.



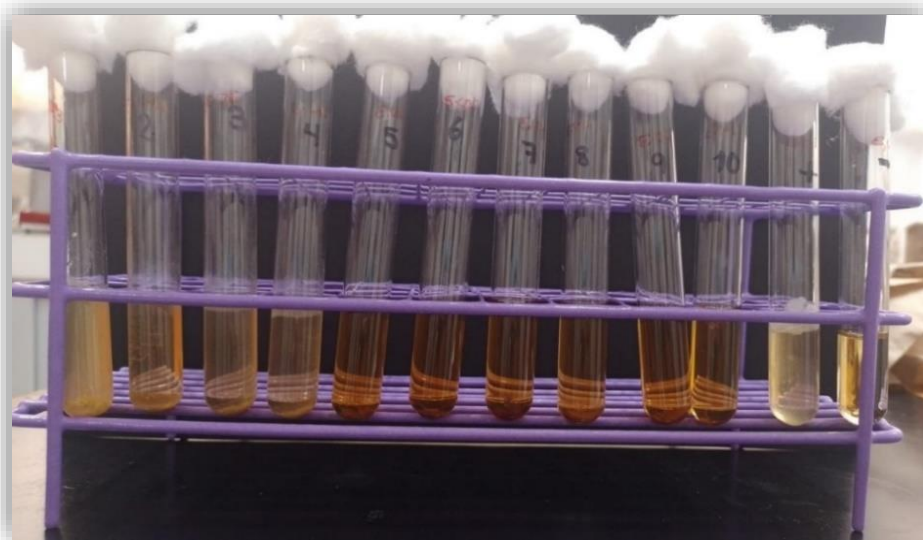
Anexo 19. Medición de los halos de inhibición *E. coli* y *S. aureus*.



Anexo 20. Preparación de las diluciones para la determinación de la CMI.



Anexo 21. Resultados de la determinación de la CMI para *E. coli*.



Anexo 22. Resultados de la determinación de la CMI para *S. aureus*.



Anexo 23. Resultados de la determinación CMB para *E. coli* y *S. aureus*.

