



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

**Efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de
Psidium guajava (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Cirujano Dentista

AUTORES:

Moscoso Paz, Allyson Mercedes (ORCID: 0000-0003-0969-7329)

Osnayo Cañihua, Ronald Sergio (ORCID: 0000-0002-8172-9690)

ASESORA:

Ms. Donayre Escriba, Julieta Emperatriz (ORCID: 0000-0001-6876-7804)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

PIURA – PERÚ

2021

Dedicatoria

A Dios por permitirme llegar hasta este punto de mi crecimiento profesional.

Con todo mi corazón a mi padre, *Edward* que desde que inicie la carrera siempre estuvo apoyándome incondicionalmente en todo momento. A mi madre, *Shiomara* por su gran cariño y sus palabras de amor y aliento.

A mi hermano *Edward* por sus buenos consejos.

A mi mama grande *Sara Lozada* por su continuo aliento y ejemplo de superación, por saberme guiar por el camino del bien.

A mi Bisabuelo *Juan Lozada* que partió con Dios, pero siempre estuvo orgulloso por terminar mi carrera.

A mis abuelos *Ezequiel Moscoso* y *Mercedes Postigo* por estar conmigo cuando más los necesité.

A todos mis familiares que siempre me impulsaron a cumplir mis sueños.

Allyson Moscoso

A Dios por permitirme compartir este momento con mis seres queridos.

A mis abuelos *Francisca Lupo* y *Efraín Cañihua*, un claro ejemplo de esfuerzo, perseverancia y en reconocimiento a su anhelo de verme profesional.

A mis padres *Mery Cañihua* y *Celio Osnayo*, que siempre fueron un ejemplo de honradez, lealtad y responsabilidad y por guiarme en los momentos más difíciles.

A mi hermano *Yuri*, por alegrar mi vida con sus ocurrencias, por su constante apoyo y por impulsarme a cumplir mis sueños.

A mis primos *Cesar* y *Paul* por ser las estrellas que ahora me alumbran y guían desde el cielo.

Ronald Osnayo

Agradecimiento

A Dios, a mis padres y familiares.

A nuestra asesora metodológica Dra. Julieta Donayre por la asesoría brindada en la realización de esta tesis.

Al la Dra. Verónica Portillo Valdivia, Dra. Romina Rondón Chambi, Dr. Carlos Manrique Palo y Dr. Miguel Angel Ruiz Barrueto y a todos aquellos que contribuyeron en la ejecución de la presente investigación.

Allyson Moscoso

A Dios y a la Virgen por guiarme en el camino correcto, por darme salud y bendecirme para alcanzar mis metas como persona.

A mis abuelos, padres y a mi hermano por brindarme su apoyo emocional a lo largo de mi vida.

Ronald Osnayo

Índice de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA.....	12
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	12
3.2. Variables y operacionalización	12
3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis.....	12
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	13
3.5. Procedimientos	13
3.6. Método de análisis de datos	15
3.7. Aspectos éticos.....	16
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN.....	20
VI. CONCLUSIONES	24
VII. RECOMENDACIONES.....	25
REFERENCIAS.....	26
ANEXOS	35
ANEXO 1	35
ANEXO 2	36
ANEXO 3	37

ANEXO 4	38
ANEXO 5	39
ANEXO 6	40
ANEXO 7	44

Índice de tablas

Tabla 1.....	17
Tabla 2.....	18
Tabla 3.....	19

Resumen

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto antifúngico *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava* (guayaba) y de un control Nistatina sobre *Candida albicans* ATCC 90028. Fue una investigación básica de diseño experimental. El extracto hidroalcohólico fue obtenido a partir de hojas de *P. guajava* y mediante el sistema Soxhlet. A partir del extracto total se prepararon 5 concentraciones desde 600 a 1000 µg/mL. Se utilizó Nistatina 100000 UI como control positivo y el control negativo fue DMSO 1%. El efecto antifúngico se determinó mediante el método de difusión en disco y el método de microdilución para establecer la CMI y la CMF. Se reportó efecto antifúngico en todas las concentraciones evaluadas sin embargo las concentraciones de 800, 900 y 1000 µg/mL superaron el efecto del control positivo (13,26 ± 0,573 mm) con halos de inhibición de 15,94 ± 0,316 mm; 17,94 ± 0,309 mm y 19,25 ± 0,529 mm respectivamente. La CMI se determinó en 600 µg/mL y la CMF en 700 µg/mL. Se concluye que el extracto hidroetanólico de *P. guajava* (guayaba) tiene efecto antifúngico sobre *C. albicans* ATCC 90028 en todas las concentraciones evaluadas.

Palabras clave: Antifúngico, *Candida albicans*, Psidium, Extractos vegetales.

Abstract

The objective of the present investigation was to evaluate the antifungal effect in vitro of different concentrations of the hydroalcoholic extract of *Psidium guajava* (guava) and of a control Nystatin on *Candida albicans* ATCC 90028. It was a basic investigation of experimental design. The hydroalcoholic extract was obtained from *P. guajava* leaves and using the Soxhlet system. From the total extract, 5 concentrations were prepared from 600 to 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Nystatin 100,000 IU was used as a positive control and the negative control was 1% DMSO. The antifungal effect was determined using the disk diffusion method and the microdilution method to establish MIC and CMF. Antifungal effect was reported in all the concentrations evaluated, however the concentrations of 800, 900 and 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ exceeded the effect of the positive control ($13.26 \pm 0.573 \text{ mm}$) with inhibition halos of $15.94 \pm 0.316 \text{ mm}$; $17.94 \pm 0.309 \text{ mm}$ and $19.25 \pm 0.529 \text{ mm}$ respectively. The MIC was determined at 600 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and the CMF at 700 $\mu\text{g} / \text{mL}$. It is concluded that the hydroethanolic extract of *P. guajava* (guava) has an antifungal effect on *C. albicans* ATCC 90028 in all the concentrations evaluated.

Keywords: Antifungal, *Candida albicans*, *Psidium*, Plant extracts.

I. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se ha reportado un notable incremento en la incidencia de enfermedades fúngicas.¹ La incidencia de estas patologías se relacionan con el incremento de pacientes inmunocomprometidos, tratamientos quimioterápicos, nutrición parenteral, procedimientos quirúrgicos por trasplante, uso indiscriminado y no prescrito de agentes antimicrobianos de amplio espectro, entre otros.² En ese sentido, las infecciones sistémicas por hongos contribuyen a la morbimortalidad en pacientes inmunocomprometidos y generan altos costos de atención médica en todo el mundo.^{3,4} Uno de los ejemplos más relevantes en la actualidad son los altos índices de dermatomicosis candidiásica altamente virulenta en niños, asociados a un sistema sanitario deficiente.^{5,6}

Candida albicans es un hongo oportunista clásico que reside inofensivamente como comensal en aproximadamente entre el 35% y 80% de las personas, pero un patógeno de los inmunodeprimidos y de los pacientes en los que se han roto las barreras que impiden la diseminación.^{7,8} Se le considera el hongo patógeno grave más común de los seres humanos, y se ha informado de diversas formas como causantes de entre 250 000 y 400 000 muertes al año en todo el mundo.⁸ La evolución de este microorganismo le ha permitido establecer diferentes tipos de relaciones con el ser humano pudiendo regular su potencial patógeno para dañar el tejido del huésped, evadir y trastornar la vigilancia inmunitaria.^{7,9}

Actualmente, esta especie fúngica es considerada un patógeno emergente resistente a múltiples fármacos que representa una fuente importante de enfermedades invasivas en los seres humanos y genera altos costos de atención médica en todo el mundo.¹⁰ El diagnóstico clínico de la candidiasis es complicado debido a la ausencia de síntomas y signos clínicos específicos.^{11,12} Por su parte la candidiasis oral no es una infección única. Se han escrito cuatro formas distintas de esta patología basadas en la manifestación clínica, pero todas generalmente son causadas por una especie extremadamente heterogénea como *Candida albicans*.^{13,14} Es probable que una combinación de factores del huésped y factores microbianos determine en última instancia la aparición de una forma particular de candidiasis oral.^{15,16}

El control de *Candida albicans* y de las otras especies del género responsables de los diferentes tipos de candidiasis oral es preferentemente químico.¹⁷ Los agentes antimicóticos disponibles pertenecen a los grupos polienos, azoles, alilaminestiocarbamatos y morfolinis; el análogo de ADN 5-fluorocitosina, y otros agentes como las caspofunginas.¹⁸ Los antifúngicos poliénicos se denominan así debido a los dobles enlaces conjugados alternados que forman parte de su estructura de anillo macrólido. Dentro de estos encontramos a la nistatina, la anfotericina B y la pimaricina.¹⁹ Por su parte, los azoles son fármacos fungistáticos que inhiben la enzima fúngica lanosterol desmetilasa responsable de la síntesis de ergosterol. En este grupo, el más utilizado para la candidiasis oral es el fluconazol por su capacidad de alcanzar una mayor concentración en la saliva.²⁰

Sin embargo, *C. albicans* es un microorganismo muy adaptable que tiene capacidad de desarrollar resistencia tras una exposición prolongada a antifúngicos.²¹ Su capacidad para formar biopelículas disminuye la accesibilidad del antifúngico al sitio de acción²², la selección de mutaciones espontáneas que disminuyen su susceptibilidad, alteraciones cromosómicas anormales²³, sobreexpresión de bombas de flujo de múltiples fármacos y la capacidad de escapar de las defensas inmunitarias del huésped son algunos de los factores que contribuyen a la tolerancia y resistencia a los antifúngicos.²⁴

Vista la realidad problemática enunciada se planteó el problema de investigación ¿Cuál es el efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028?

Como se ha mencionado, el desarrollo de resistencia a los agentes antifúngicos usados clínicamente en la actualidad se ha convertido en un problema creciente que requiere ser atendido y genera la necesidad de buscar nuevos agentes antifúngicos que permitan controlar permanente a *C. albicans*. En ese sentido la presente investigación se justifica teóricamente pues esta investigación pretende demostrar la capacidad antifúngica de la planta *Psidium guajava* (guayaba) que crece en todo el territorio nacional. Una vez determinado su potencial antifúngico podría convertirse en una alternativa natural para el tratamiento de la candidiasis y para el control de su agente causal.

Este estudio también cuenta con justificación social pues la planta que se utilizará es de fácil acceso para la población, su cultivo no es costoso ni exigente. Lo que se busca es garantizar no solo su eficacia sino generar el contexto para que con futuras investigaciones se promueva su uso seguro por la población. Tiene justificación práctica porque si se demuestra que *Psidium guajava* tiene capacidad antifúngica podría ser una alternativa para solucionar el problema de la candidiasis no solo a nivel oral sino general y contribuir al control de otras infecciones fúngicas. Tiene justificación por conveniencia toda vez que la presente investigación permitirá a los investigadores optar el título de Cirujanos Dentistas.

Para responder el problema de investigación se propone el siguiente objetivo general; evaluar el efecto antifúngico *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava* (guayaba) y de un control Nistatina sobre *Candida albicans* ATCC 90028. El cual se fundamenta en los siguientes objetivos específicos. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028. Determinar la concentración mínima fungicida (CMF) de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028.

La Hipótesis propuesta es que el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava* (guayaba) es de tipo fungicida y dependiente de la concentración.

II. MARCO TEÓRICO

Ferreira, et al²⁵ (2020) en Brasil, evaluaron la actividad antifúngica in vitro de extractos crudos de *Eugenia uniflora*, *Libidibia ferrea* y *Psidium guajaba*. Fue una investigación experimental. La actividad antifúngica se investigó frente a aislados clínicos de *Candida* spp mediante la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC). El análisis por cromatografía de capa fina mostró que todos los extractos presentaron flavonoides y taninos, considerados compuestos antimicrobianos importantes. Los resultados muestran que la CIM de *L. ferrea* y *P. guajava* se estableció en 3,9 a 1000,0 µg/mL frente a *C. albicans*. Concluyeron que los extractos crudos de las plantas evaluadas presentan potencial antifúngico y dicha propiedad puede estar relacionada con el contenido de polifenoles.

Rajan, et al²⁶ (2019) en India, evaluaron la actividad antimicrobiana de dos extractos etanólico y un extracto acuoso de hoja *Psidium Guajava*. Fue una investigación experimental. La actividad antibacteriana y antifúngica fue determinada por el método de difusión en disco. Comunicaron que el extracto alcohólico al 70% mostro mayor actividad antimicrobiana que el extracto alcohólico y acuoso al 100%. Se reportaron halos de inhibición de 13 mm y 14 mm con los extractos alcohólico de 100% y 70% respectivamente. El extracto acuoso no mostró actividad antifúngica. Establecieron que a la concentración de 1024 µg/mL del extracto etanólico se expresa un halo de inhibición de 17 mm. Concluyeron que los hallazgos de este estudio muestran las propiedades antimicrobianas del extracto de hoja de *Psidium guajava*.

Da Cruz, et al²⁷ (2019) en Brasil, evaluaron la actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides, potencial antifúngico y antibacteriano de extractos de hojas de *Peumus boldus*, *Psidium guajava*, *Vernonia polysphaera*, *Persea americana*, *Eucalyptus citriodora* y *Jatropha multifida*. Fue una investigación experimental. La actividad antioxidante se determinó mediante los ensayos de DPPH, ABTS y fosfomolibdeno y el potencial antimicrobiano mediante el método de microdilución y de difusión en disco. Reportaron que todos los extractos evaluados excepto los de *V. polysphaera* fueron efectivos contra *Staphylococcus aureus*, con halos de inhibición que

variaron de entre 13 a 20 mm. La CMI de las seis plantas medicinales reveló actividad inhibitoria de *S. aureus* a concentraciones que varían de 3.12-12.5 mg/mL. Concluyeron que el extracto crudo de guayaba contenía el mejor rendimiento de compuestos fenólicos y flavonoides totales, así como mayor actividad antioxidante. Demostraron que las plantas evaluadas presentaron potencial actividad antimicrobiana pero deben ser investigadas más a fondo.

Abbas, et al²⁸ (2018) en Pakistan, evaluaron el potencial antibacteriano y antifúngico de *Cymbopogon citratus* y *Psidium guayaba* de origen Sialkot. Fue una investigación experimental. Los extractos fueron obtenidos por maceración. La capacidad antimicrobiana fue determinada por el método de microdilución y dilución en tubo sobre *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Trichophyton longifusus*, *Aspergillus flavus*, *Microsporum canis* y *Fusarium solani*. Reportaron que el extracto de *P. guayaba* mostró actividad antibacteriana contra *B. subtilis* y *S. aureus* con un porcentaje de inhibición del 66,01% y 64,29% respectivamente. Además fue el único extracto que mostró potencial antifúngico contra *Candida albicans* y *Microsporum canis* con un porcentaje de inhibición del 40% y 25% respectivamente. Concluyeron que el extracto de *P. guayaba* tiene potencial antimicrobiano relevante sobre bacterias grampositivas y hongos importantes.

Sangalli, et al²⁹ (2018) en Brasil, evaluaron la actividad antimicrobiana in vitro de *Psidium cattleianum* combinado con hidróxido de calcio contra *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Fue un estudio experimental. Las muestras de dentina obtenidas de incisivos bovinos extraídos se contaminaron durante 14 días con *E. faecalis* ATCC 29212 y *C. albicans* ATCC 10231. Las muestras se rellenaron con pastas de hidróxido de calcio preparadas con extracto etanólico y extracto propileno glicólico de *Psidium cattleianum*, agua destilada y solución salina como controles negativos. Los resultados mostraron que los extractos etanólicos y propilenglicólicos mostraron una actividad antimicrobiana significativamente mayor contra *E. faecalis* ($p < 0.01$) en comparación con los controles negativos. Ambos extractos fueron efectivos en la reducción de la UFC de *C. albicans*. Concluyeron que el extracto etanólico de *P. cattleianum* presentó

actividad antimicrobiana más rápida y potente sobre *E. faecalis* y todos los extractos mostraron actividad antifúngica contra *C. albicans*.

de Macêdo, et al³⁰ (2018) en Brasil, investigaron la influencia de la variabilidad estacional en la composición química del aceite esencial de *Psidium salutare*, su potencial antifúngico y su efecto sobre la morfología de *Candida albicans*. Fue una investigación experimental. Los aceites esenciales se recolectaron en tres períodos estacionales diferentes y se aislaron mediante el proceso de hidrodestilación. Los ensayos antifúngicos se realizaron contra cepas de *Candida* mediante el método de microdilución en caldo para determinar la concentración mínima de fungicida (MFC). Reportaron que el perfil químico de los aceites esenciales identificó 40 sustancias en los diferentes períodos de recolección, siendo el γ -terpineno el constituyente predominante. La actividad antifúngica reveló que la CFM contra la *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis* fue mayor a 1,024 g/mL. El efecto del aceite esencial de *P. salutare* se incrementó sinérgicamente en combinación con el fluconazol. Los resultados muestran que el aceite de *P. salutare* afectó la capacidad de transición dimórfica, reduciendo significativamente la formación de hifas y pseudohifas en concentraciones crecientes además exhibió una importante actividad antifúngica contra tres especies de *Candida*. Concluyeron que los aceites esenciales de *P. salutare* tienen potencial antifúngico sobre especies de *Candida* y ese efecto se potencia con combinación con fluconazol apoyando la idea de que esta planta puede tener un uso potencial en productos farmacéuticos y conservantes.

Bezerra, et al³¹ (2018) en Brasil, evaluaron las fracciones de flavonoides y tánicos de *Psidium guajava* para investigar su composición química y potencial antifúngico in vitro. Fue una investigación experimental. Los ensayos antifúngicos se realizaron contra *Candida albicans*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* por microdilución para determinar el IC 50 y la curva de viabilidad celular, la concentración mínima fungicida (MFC) y los efectos inhibidores de la asociación de las fracciones con Fluconazol. Reportaron que el IC 50 de las fracciones aisladas y las fracciones asociadas entre sí fueron calculadas, variando de 69.29 a 3444.62 $\mu\text{g/mL}$ y las fracciones asociadas a fluconazol variaron de 925.56 a 1.57 $\mu\text{g/mL}$, mostrando que esta asociación era de tipo

sinérgica potenciándose el efecto antifúngico. Concluyeron que las fracciones afectaron la capacidad de pleomorfismo de *Candida*, tienen potencial antifúngico y potencian la acción del Fluconazol, reduciendo la virulencia de las diferentes especies del género.

Morais-Braga, et al³² (2015) en Brasil, evaluaron la composición química y el potencial antifúngico del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de *Psidium guajava*. Fue una investigación experimental. Los ensayos microbiológicos se realizaron mediante microdilución en caldo para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima fungicida (MFC). Se obtuvo una curva de viabilidad celular para demostrar la inhibición del crecimiento fúngico de cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*. Los extractos analizados por cromatografía líquida de alta resolución demostraron la presencia de flavonoides y ácidos fenólicos. Los extractos mostraron efecto fungistático con una MIC > 8192 µg/mL y MFC por encima de 8192 µg/mL. Concluyeron que los de *P. guajava* afectan la capacidad de transición morfológica, evitando la formación de pseudohifas e hifas en *C. albicans* además tienen el potencial antifúngico para inhibir la multiplicación fúngica y su factor de virulencia, el dimorfismo celular, evitando la invasión tisular.

Massunari, et al³³ (2017) en Brasil, evaluaron la actividad antimicrobiana y biocompatibilidad de extractos acuosos (EAPC) e hidroetanólicos (EHPC) de hojas de *Psidium cattleianum*. Fue un estudio experimental. El efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinomyces israelii* y *Candida albicans* se obtuvo mediante la determinación de las concentraciones mínima inhibitoria (CMI) y mínima letal (CLM) por el método de microdilución en caldo. Los resultados mostraron que la MIC y CLM variaron entre 0.25 y 4 mg/mL. Los CLM determinados por el EHPC inhibieron el 100% del crecimiento de todas las cepas analizadas, excepto *Candida albicans*. Los controles positivos inhibieron el crecimiento de todos los microorganismos probados en los ensayos MIC y CLM. Concluyeron que el extracto hidroetanólico fue biocompatible y mostró un mejor efecto antimicrobiano contra patógenos importantes asociados con infecciones endodónticas persistentes.

Visveswaraiah, et al³⁴ (2015) en India, evaluaron la actividad antimicrobiana in vitro de *Punica granatum* y *Psidium guajaba* sobre *Candida albicans* ATCC 2091 y *Enterococcus faecalis* ATCC 35550. Fue una investigación experimental. La actividad antimicrobiana se evaluó por el método de difusión en pozos de agar y mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los resultados indicaron que la CIM para *P. guajava* y *P. granatum* fue de 50 µg/mL y de 100 µg/mL para *E. faecalis* y de 1,6 µg/mL y 6.25 µg/mL para *C. albicans* respectivamente. La mayor inhibición se observó a 75 µg/mL tanto del extracto de *P. guajava* como de *P. granatum* con halos de 16 mm y 20 mm en *E. faecalis* y de 21 mm y 30 mm en *C. albicans*. Concluyeron que *P. guajava* y *P. granatum* mostraron actividad antimicrobiana estadísticamente significativa contra *E. faecalis* y *C. albicans* y podrían utilizarse como posibles agentes antimicrobianos contra estos agentes infecciosos.

Mehta, et al³⁵ (2014) en India, evaluaron la eficacia antimicrobiana in vitro de *Punica Granatum* mesocarp, hoja de *Nelumbo nucifera*, extracto de hoja de *Psidium Guajava* y *Coffea Canephora* sobre sobre microorganismos orales. Fue una investigación experimental. Se evaluó la efectividad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco de las concentraciones de 1%, 5%, 10%, 15% y 20% de cada uno de los extractos sobre *Streptococcus mutans*, *S. mitis*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans*. Reportaron que los cuatro extractos fueron efectivos contra *S. mutans* y *S. mitis*. Mientras que la granada y el café mostraron mayor capacidad antifúngica. La guayaba, el loto y el café fueron efectivos contra *P. intermedia*, pero solo el café resultó ser efectivo contra *P. gingivalis*. Hubo diferencia estadísticamente significativa en todos los tratamientos realizados. Concluyeron que la granada, la guayaba, el loto y el café mostraron un efecto anticariógeno significativo, mientras que se descubrió que el café era más eficaz contra los patógenos periodontales y *C. albicans*.

La candidiasis es una enfermedad caracterizada hace miles de años. Se le conoce como la "enfermedad de los enfermos", denominación que hace referencia a la naturaleza oportunista de la patología y alguna deficiencia inmunológica en el paciente.³⁶ *Candida albicans* es una levadura encontrada en

un 35% y 80% de frecuencia en la cavidad oral de personas sanas por lo que es considerado un miembro del microbioma oral normal.³⁷

La candidiasis oral no es una sola patología infecciosa. Clínicamente se han descrito cuatro formas distintas. Sin embargo se ha indicado que es probable que todas las formas clínicas de candidiasis oral primaria son causadas por las mismas especies de hongos.³⁸ Debido a esto, su causalidad se le atribuye a una combinación de factores del huésped y factores microbianos de *Candida albicans*, que al ser una especie extremadamente heterogénea es la causa más frecuente de candidiasis oral.³⁹

El principio básico del tratamiento de la candidiasis es identificar y eliminar cualquier factor predisponente en el huésped. Sin embargo, en muchos casos, también es necesaria la terapia antimicótica al inicio del tratamiento.⁴⁰ La candidalísina se considera el primer factor de virulencia clásico y verdadero de *C. albicans*, es una toxina peptídica citolítica secretada por la forma invasiva del hongo patógeno humano. La candidalísina es fundamental para las infecciones sistémicas y de las mucosas y es un factor clave de la activación de la célula huésped, el reclutamiento de neutrófilos y la inmunidad.⁴¹

Se ha postulado que *Candida albicans* en su forma comensal coloniza de forma natural la mucosa oral, normalmente es inofensivo en individuos sanos ya que se mantiene en niveles bajos por mecanismos de defensa específicos e inespecíficos, así como por inhibición competitiva con el resto del microbioma oral.⁴² En su forma patológica se le ha asociado con la debilitación del sistema inmunológico. La candidiasis oral se caracteriza por la aparición de placas blancas en la mucosa inflamada y roja y por dolor al comer o tragar. *Candida albicans* a nivel oral puede encontrarse en otros cuadros clínicos como la candidiasis pseudomembranosa, eritematosa, hiperplásica, queilitis angular, glositis romboidal media, estomatitis protésica y lineal y eritema gingival.⁴³

Se ha propuesto la importancia de considerar la patogenia de la candidiasis oral en relación a la fisiología de las comunidades microbianas residentes en la boca y del comportamiento de *Candida albicans* como comensal o patógeno. Se piensa que la microbiota oral podría modular la virulencia de *Candida albicans*

de forma directa mediante la alteración de la expresión de sus genes de virulencia o indirectamente modulando la respuesta del hospedador.⁴⁴

Las infecciones micóticas se han convertido en un problema de salud pública a nivel mundial.⁴⁵ La resistencia de los patógenos fúngicos a los principales fármacos antimicóticos se ha convertido en la principal barrera para los pacientes que padecen estas infecciones en el mundo.⁴⁶ Debido al incremento de cepas resistentes de *Candida albicans* que ponen en riesgo la salud de las personas con deficiencias inmunológicas es que la Organización Mundial de la Salud recomienda a los estados y a la comunidad científica buscar alternativas de control microbiano seguras y eficientes para contrarrestar a los agentes infecciosos que han desarrollado resistencia a los fármacos.⁴⁷

En ese sentido, *Psidium Guajava* es un árbol de copa abierta y de apariencia irregular. Llega a crecer entre 3 a 10 metros de altura, el tallo puede alcanzar un diámetro de 10 a 18 cm y la porción terminal de sus ramas son cuadrangulares, la corteza del árbol generalmente es pardo-rojizo oscuro, liso y se puede desprender fácilmente en escamas o costras. Sus hojas son simples, carentes de estípulas, pueden ser ovadas, elípticas u oblongas con longitudes que oscilan entre los 3 a los 18 cm y el ancho va entre los 2.5 y 6.5 cm. Presentan en el envés nervaduras bastante prominentes y además son pubescentes. Sus flores crecen formando racimos axilares y con una a tres pubescencias. El fruto es globoso o piriforme, amarillo con diámetros variables entre 3 y 6 cm.^{48,49}

Esta especie vegetal es considerada una planta nativa de Sudamérica. En el Perú se cultiva desde la época pre-inca en zonas cálidas de 0 a 1500 metros sobre el nivel del mar. Se le encuentra en zonas de Amazonas, Cusco, Huánuco, Junín, Lima, Arequipa, Loreto, San Martín, Ucayali y en algunas regiones de la costa.⁵⁰ Entre los componentes fitoquímicos de las hojas se encuentran los taninos, aceite esencial, triterpenos, esteroides, compuestos fenólicos, Lactonas, Cumarinas, Saponinas, Resinas, Antraquinonas.⁵¹

Dentro de las propiedades medicinales de *Psidium guajava* se ha destacado su efecto sedante o calmante en el dolor de dientes, se le ha otorgado potencial emenagogo y se le emplea en lavados vaginales en presencia de leucorrea. También se han demostrado sus propiedades antiinflamatorias cuando se utiliza

como enjuagatorios en boca y garganta. Se le ha destacado propiedades hipoglucémicas y gracias a la gran cantidad de metabolitos secundarios como flavonoides, taninos, terpenos, alcaloides y otros se ha corroborado su potencial antimicrobiano sobre diversos tipos de microorganismos interés clínico y estomatológico.⁵²

El potencial farmacológico del material vegetal depende de su origen, las variaciones en la técnica de extracción, el tiempo, la temperatura de extracción, la concentración y polaridad del disolvente, la cantidad y la composición del fitoquímico de un extracto. Los fitoquímicos son sustancias químicas producidas por las plantas para su propia protección, pero se ha descubierto que su uso controlado tiene efectos beneficiosos para la salud de las personas. Los científicos han identificado miles de metabolitos secundarios, sin embargo, solo se han estudiado pequeñas fracciones de ellos observándose que cada uno presenta un funcionamiento distinto.^{53,54}

También se ha comunicado el mecanismo de inhibición antimicrobiana de los fitoquímicos provenientes de diversas partes de la planta *Psidium guajava*. Se ha mencionado que los extractos y aceites esenciales tienen la capacidad de atravesar la membrana celular del agente microbiano incrementando su permeabilidad y ocasionando la fuga de contenidos celulares vitales que conllevan a la inhibición temporal o permanente de los microorganismos.⁵⁵

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Investigación de tipo básica. También llamada investigación pura, viene a ser aquel tipo de investigación que busca extender el conocimiento científico sobre una realidad, sin embargo dicho conocimiento no tiene aplicación práctica inmediata.⁵⁶

Esta investigación tiene diseño experimental puro. Se denominan investigaciones experimentales a aquellas en las que el investigador interviene de manera consiente sobre el objeto o realidad de estudio. Busca conocer los efectos de la manipulación del investigador de una de las variables denominada independiente sobre otra variable denominada dependiente con la finalidad de probar su hipótesis.⁵⁷

3.2. Variables y operacionalización

Variable dependiente: Efecto antifúngico *in vitro* sobre *Candida albicans* ATCC 90028. Es una variable de tipo cuantitativa. Su definición conceptual incluye que es la capacidad de un agente de inhibir la propagación de *Candida albicans* al matar o destruir sus células o impedir su crecimiento. Puede ser de tipo fungicida o fungistático⁵⁸ (Anexo 1).

Variable Independiente: Extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba). Es una variable de tipo cuantitativa. Su definición conceptual hace referencia a que es un producto sólido obtenido por extracción de los principios activos vegetales de *Psidium guajava* (guayaba) solubles en etanol y agua seguido de evaporación del solvente⁵⁹ (Anexo 1).

3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis

La población estuvo conformada por la cepa fúngica de *Candida albicans* ATCC 90028. La muestra fue la concentración del inóculo de *Candida albicans* ATCC 90028 equivalente a $1-5 \times 10^3$ UFC/mL.⁶⁰

El muestreo correspondió a la determinación del total de unidades de experimentación o de muestra (Anexo 2). Para ello se desarrolló la fórmula

para la determinación de las repeticiones estableciéndose que las unidades de muestra por cada experimento deberían ser 9, pero se decidió trabajar con 10 unidades de ensayo (Anexo 2).⁶¹

Los experimentos estuvieron conformados por las concentraciones del extracto y los dos grupos controles, lo que hacen un total de 7 experimentos de la siguiente manera: control negativo (Dimetilsulfóxido 1%); control positivo (Nistatina 100.000 UI); concentración 1 (600 µg/mL); concentración 2 (700 µg/mL); concentración 3 (800 µg/mL); concentración 4 (900 µg/mL) y concentración 5 (1000 µg/mL). Lo que hizo un total de 70 unidades de muestra.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizaron métodos y técnicas estandarizados por el *Clinical and Laboratory standard institute* (CLSI).⁶⁰ El inóculo fúngico de *Candida albicans* ATCC 90028 fue estandarizado espectrofotométricamente. La inoculación microbiana se realizó por el método estandarizado de dispersión en superficie. El extracto fue obtenido por el método de maceración hidroetanólica. El efecto antifúngico se estableció por el método de difusión en disco. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) se determinaron por el método estandarizado de microdilución. La evaluación microbiológica fue efectuada por un microbiólogo especialista (Anexo 3-4).

3.5. Procedimientos

Obtención del material vegetal y certificación de planta

El material vegetal utilizado consistió en hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) el cuál fue colectado a una elevación de 2160 msnm en el distrito de Omate, provincia de General Sánchez Cerro, departamento de Moquegua. La especie vegetal fue identificada taxonómicamente como *Psidium guajava* L. en las instalaciones del Herbario del Instituto Científico Michael Owen Dillon, “Herbario Sur Peruano” (HSP) (Anexo 5).

Obtención de extracto hidroetanólico y preparación de concentraciones

El extracto hidroetanólico fue obtenido a partir de hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) las cuales fueron trituradas y pulverizadas en mortero con pilón. La cantidad de 30 g de material pulverizado se empaquetó en papel de filtro y fue colocado el sistema Soxhlet con 200 mL de etanol a 80%. Una vez obtenido el extracto hidroetanólico total fue llevado a evaporación en estufa microbiológica a 40 °C. Obtenido el extracto seco, se prepararon concentraciones de 600 µg/mL, 700 µg/mL, 800 µg/mL, 900 µg/mL y 1000 µg/mL utilizando como solvente DMSO 1%. Las concentraciones fueron preparadas el mismo día de la experimentación.

Obtención de *Candida albicans* ATCC 90028

La cepa fúngica liofilizada y certificada de *Candida albicans* ATCC 90028, fue adquirida de la empresa de GenLab del Perú S.A.C (Anexo 6).

Preparación de medios de cultivo y condiciones microbiológicas

La cepa de *Candida albicans* ATCC 90028 fue reactivada en caldo glucosado (Merck®) y repicada en agar sabouraud dextrosa (Merck®). Se incubó en aerobiosis a 37 °C por 24 h. El agar sabouraud dextrosa fue el medio de cultivo utilizado para la determinación del efecto antifúngico (Anexo 6).^{60,62-64}

Obtención y estandarización del inóculo

El inóculo fúngico fue preparado a partir del cultivo de *C. albicans* en agar sabouraud. Fue estandarizado en espectrofotómetro de luz visible marca Kytel® modelo KV-1200. La concentración del inóculo se estableció en 5×10^3 UFC/mL a una longitud de onda de 530 nm (Anexo 6).^{60, 62-64}

Determinación del efecto antifúngico y obtención de la CMI y CMF

Método Difusión en Disco

La inoculación de *Candida albicans* ATCC 90028 en placas petri con agar sabouraud se realizó por el método de dispersión en superficie. Inoculadas las placas se mantuvieron en reposo por 15 minutos y luego se colocaron los discos de sensibilidad con las concentraciones del extracto y los controles.

Las placas sembradas fueron incubadas en estufa microbiológica marca Kyntel modelo HHA-12 a 37 °C durante 24 h (Anexo 6).^{60, 62-64}

Método de Microdilución

Este método fue empleado para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF). Se empleó una microplaca de 96 pocillos con tapa. Utilizando una micropipeta se incorporó a cada pocillo 50 µL de las concentraciones de los extractos y 50 µL del inóculo fúngico. El volumen final en cada pocillo fue de 100 µL. Las microplacas se incubaron a 37°C °C por 24 horas. Después del periodo de incubación se tomó una alícuota de cada uno de los pocillos donde no se observó crecimiento fúngico y se inocularon placas con Agar Sabouraud Dextrosa (Merck®) para la corroboración de la CMI y CMF (Anexo 6).^{60, 62-64}

Lectura de resultados.

El método de difusión en disco permitió obtener los resultados respecto al efecto antifúngico de las diferentes concentraciones de los extractos y los controles evaluados. Estos datos fueron expresados en mm de diámetro de halo de inhibición más desviación estándar. La medición de las zonas de inhibición se realizó con un vernier mecánico marca Starrett®. La CMI y la CMF fueron determinadas mediante la presencia o ausencia de UFC de *Candida albicans* después de la siembra en agar sabouraud a partir de las alícuotas en el método de microdilución en los pocillos donde no se observó crecimiento fúngico. Todos los resultados se registraron en una ficha diseñada para tal fin (Anexo 6).^{60, 62-64}

3.6. Método de análisis de datos

Los resultados obtenidos fueron tabulados en el programa Excel 2019. El análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico SPSS v.26. Se utilizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para establecer la distribución de los datos. Para comparar las medias de los tratamientos se aplicó ANOVA unidireccional y la significancia estadística fue establecida por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de confianza del 95% (Anexo 7).⁶¹

3.7. Aspectos éticos

Los aspectos éticos en este estudio de diseño experimental se garantizaron mediante el cumplimiento de las normas de bioseguridad, gestión, disposición y eliminación de residuos biocontaminados establecidas en el Manual de Bioseguridad y Gestión de residuos comunes y biocontaminados del laboratorio Science Experiment E.I.R.L.; del Ministerio de Salud (MINSA)⁶⁵ y de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁶⁶ para no poner en riesgo a todo aquel que entre en contacto con el microorganismo utilizado en la presente investigación.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Evaluación del efecto antifúngico *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico hidroalcohólico de *Psidium guajava* (guayaba) y de un control Nistatina sobre *Candida albicans* ATCC 90028.

Hongo	Concentración	Halo de inhibición en mm		
		Media	D.E*	P**
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	600 µg/mL	12,65	0,414	0,000
	700 µg/mL	13,77	0,380	
	800 µg/mL	15,94	0,316	
	900 µg/mL	17,94	0,309	
	1000 µg/mL	19,25	0,529	
	DMSO 1%	0,00	0,000	
	Nistatina 100000 UI	13,26	0,573	

Fuente: Base de datos

*D. E= Desviación estándar.

** $p = \text{Sig.} = \text{Significancia (HSD Tukey}^a\text{)}$.

DMSO= Dimetilsulfóxido

En la tabla 1 se reportan las medias de halos de inhibición formados por las 5 concentraciones del extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba), del control positivo Nistatina 100000 UI y del negativo dimetilsulfóxido (DMSO) 1%. La concentración de 600 µg/mL del extracto formó un halo de inhibición promedio de $12,65 \pm 0,414$ mm; la concentración de 700 µg/mL formó un halo de $13,77 \pm 0,380$ mm; la concentración de 800 µg/mL un halo de $15,94 \pm 0,316$ mm; la concentración de 900 µg/mL un halo de $17,94 \pm 0,309$ mm y la concentración de 1000 µg/mL un halo de inhibición promedio de $19,25 \pm 0,529$ mm. La nistatina formó un halo de inhibición promedio de $13,26 \pm 0,573$ mm. Existe diferencia altamente significativa ($p < 0,05$) entre la mayoría de tratamientos evaluados a excepción de la concentración de 700 µg/mL que estadísticamente es igual al control (HSD Tukey^a).

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028.

HONGO	CONCENTRACIÓN µg/mL / UI						
	600	700	800	900	1000	C-*	C+**
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	-	-	-	-	-	+++	-
CMI							

Fuente: Base de datos

(+) = Presencia de crecimiento Fúngico.

(-) = Ausencia de Crecimiento Fúngico.

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

La tabla 2 muestra la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028. No se observó crecimiento fúngico en ninguna de las concentraciones evaluadas. Estableciéndose como CMI la concentración de 600 µg/mL que viene a ser la mínima concentración de la sustancia antimicrobiana donde no se observa crecimiento fúngico.

Tabla 3. Concentración mínima fungicida (CMF) de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028.

HONGO	CONCENTRACIÓN µg/mL / UI						
	600	700	800	900	1000	C-*	C+**
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	-	-	-	-	-	+++	-
CMF							

Fuente: Base de datos

(+) = Presencia de crecimiento Fúngico.

(-) = Ausencia de Crecimiento Fúngico.

CMF: Concentración Mínima Fungicida.

En la tabla 3 se muestra la concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028. No se observó crecimiento fúngico en ninguna de las concentraciones evaluadas. La CMF fue establecida mediante inoculación de una placa petri con agar sabouraud dextrosa a partir de una alícuota de cada uno de los pocillos donde no se observa crecimiento. Después de esta evaluación no se observó crecimiento fúngico en la concentración de 700 µg/mL, estableciéndose esta como la CMF.

V. DISCUSIÓN

La evaluación del efecto antifúngico *in vitro* de cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028 dio como resultado halos de inhibición que fluctuaron desde $12,65 \pm 0,414$ mm para la menor concentración evaluada (600 $\mu\text{g/mL}$) hasta $19,25 \pm 0,529$ mm en la máxima concentración evaluada (1000 $\mu\text{g/mL}$). A partir de la concentración de 800 $\mu\text{g/mL}$ el efecto antifúngico fue superior al del control positivo Nistatina 100000 UI ($p < 0,05$). Así mismo, se estableció que la concentración mínima inhibitoria (CMI) para el presente estudio fue de 600 $\mu\text{g/mL}$, es decir esta concentración presenta un efecto fungistático sobre *Candida albicans* y la concentración mínima fungicida (CMF) fue de 700 $\mu\text{g/mL}$ la cuál es equivalente a un efecto fungicida sobre el hongo evaluado.

Estos resultados se relacionan con los obtenidos por Ferreira, et al²⁵ quienes, evaluaron la actividad antifúngica *in vitro* de extractos crudos de *Eugenia uniflora*, *Libidibia ferrea* y *Psidium guajava* estableciendo que concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de guayaba fue cercana a 1000 $\mu\text{g/mL}$ frente a *C. albicans*. Se puede observar que en la investigación realizada la CMI fue calcula en 700 $\mu\text{g/mL}$ lo que es muy cercano a lo reportado por Ferreira, et al²⁵. Como se sabe la planta *Psidium guajava* presenta diversos principios activos que se han demostrado tienen capacidad antimicrobiana. Estos compuestos están agrupados dentro de los denominados metabolitos secundarios con naturaleza fenólica como los polifenoles y los terpenos. Estas sustancias presentes no solo en *P. guajava* sino también en otras plantas denominadas medicinales son las responsables de la inhibición microbiana.

Por su parte Rajan, et al²⁶, evaluaron la actividad antimicrobiana de dos extractos etanólico y un extracto acuoso de hoja *Psidium Guajava*. Ellos comunicaron que a la concentración de 1024 $\mu\text{g/mL}$ del extracto etanólico se formó un halo de inhibición de 17 mm. Como se puede apreciar, estos resultados son similares a los reportados en la presente investigación, pues con la máxima concentración evaluada se formaron halos de inhibición promedio de $19,25 \pm 0,529$ mm. Estos hallazgos reafirman el potencial antifúngico del extracto hidroalcohólico de *P. guajava* sobre *C. albicans*.

Similares resultados fueron reportados por Da Cruz, et al²⁷, quienes evaluaron la actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides, potencial antifúngico y antibacteriano de extractos de hojas de varias plantas medicinales incluida *Psidium guajava*. Ellos reportaron halos de inhibición de entre 13 y 20 mm de diámetro y la CMI fue establecida en entre 3.12 y 12.5 mg/mL. Se puede observar una similitud respecto a los rangos de diámetros de halos de inhibición. Estos resultados permiten comprobar que muchas especies vegetales independientemente del área geográfica donde ha sido cultivada, puede preservar la concentración y efectividad de sus principios activos. Además se puede apreciar que los extractos de guayaba tendrían un efecto antimicrobiano de amplio espectro ya que es efectivo no solo contra hongos como *Candida albicans* sino también contra procariontes como *Staphylococcus aureus*.

Al respecto, Abbas, et al²⁸, evaluaron el potencial antibacteriano y antifúngico de *Cymbopogon citratus* y *Psidium guajava*. Ellos establecieron que el extracto de guayaba además de mostrar buena actividad fue el único extracto que mostró potencial antifúngico contra *Candida albicans* y *Microsporum canis* con una inhibición del 40% en el caso del primero. De igual manera, Sangalli, et al²⁹, evaluaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de *Psidium cattleianum* combinado con hidróxido de calcio contra *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Ellos comunicaron que los extractos etanólicos y propilenglicólicos fueron más efectivos sobre *E. faecalis* y redujeron significativamente las UFC de *C. albicans*. Diversos investigadores han demostrado que el efecto fungicida de los extractos orgánicos derivados de plantas puede diferir según el solvente orgánico utilizado en la extracción. En ese sentido, se ha establecido que los extractos obtenidos con solventes polares como el etanol son ricos en flavonoides glicosilados y saponinas sin embargo, si se usa una mezcla hidroalcohólica también se pueden recuperar compuestos no polares como los terpenoides y todos estos compuestos mencionados serían los responsables de manera general de la fuerte actividad antimicrobiana y específicamente del potencial antifúngico de *Psidium guajava* reportado en las investigaciones precedentes.

Del mismo modo, de Macêdo, et al³⁰, investigaron la influencia de la variabilidad estacional en la composición química del aceite esencial de *Psidium salutare*, su potencial antifúngico y su efecto sobre la morfología de *Candida albicans*. Ellos reportaron que la actividad antifúngica relacionada a la CMF contra la *C. albicans* fue superior a 1,024 g/mL. Además establecieron que el aceite esencial de *P. salutare* afectó la capacidad de transición dimórfica, reduciendo significativamente la formación de hifas y pseudohifas en concentraciones crecientes. Estos resultados son relevantes para la presente investigación pues, aun cuando la especie vegetal utilizada por Macêdo, et al³⁰, no es la misma especie utilizada en la presente investigación, pertenece al mismo género botánico y por tanto comparten su naturaleza fitoquímica. Este estudio, resalta el potencial antifúngico de especies del género *Psidium* no solo como un antifúngico efectivo sino como inhibidor de la virulencia de especies de *Candida* y eso es relevante para su aplicación clínica a corto plazo.

Hemos analizado la importancia que tienen algunos principios activos con potencial antimicrobiano de *Psidium guajava*, al respecto, Bezerra, et al³¹, evaluaron las fracciones de flavonoides y taninos de *Psidium guajava* para investigar su potencial antifúngico in vitro. Establecieron que tanto las fracciones aisladas como las fracciones asociadas presentan efecto antifúngico variable a concentraciones de entre 69.29 a 3444.62 µg/mL. En ese sentido, comprobado el efecto antifúngico de los extractos de *Psidium guajava*, aún no existe uniformidad en la información reportada por diversos investigadores. Este es el caso de lo reportado por Morais-Braga, et al³², quienes evaluaron la composición química y el potencial antifúngico del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de *Psidium guajava*. Comunicaron que la CMI y la CMF fueron superiores a 8192 µg/mL. Resultados que difieren con los reportados en esta investigación, pues las concentraciones son muy elevadas y superan en más de 8 veces la CMF reportada. Esta variabilidad puede presentarse por diversos factores que incluyen el método de extracción y las características del material vegetal utilizado, además que las condiciones ambientales donde se cultivó la planta.

Por su parte, Massunari, et al³³, evaluaron la actividad antimicrobiana y biocompatibilidad de extractos acuosos e hidroetanólicos de hojas de *Psidium cattleianum*. Establecieron que el extracto hidroetanólico mostró un mejor efecto antimicrobiano contra patógenos importantes asociados con infecciones endodónticas persistentes dentro de los que se encontraba *Candida albicans*. Símbiles resultados fueron reportados por Visveswaraiah, et al³⁴, quienes evaluaron la actividad antimicrobiana in vitro de *Punica granatum* y *Psidium guajava* sobre *Candida albicans* ATCC 2091 y *Enterococcus faecalis* ATCC 35550. Los resultados indicaron que la CIM de *P. guajava* contra *C. albicans* fue de 1,6 µg/mL pero la mayor inhibición se observó a 75 µg/mL con halos de 30 mm en *C. albicans*. Finalmente, Mehta, et al³⁵, evaluaron la eficacia antimicrobiana in vitro de diversas plantas medicinales y del extracto de hoja de *Psidium Guajava* sobre sobre microorganismos orales. Reportaron que todos los extractos analizados fueron efectivos contra microorganismos de interés estomatológico. Estos resultados permiten afirmar que los extractos provenientes de hojas de *Psidium guajava* concentrarían diversos principios activos con potencial antifúngico de tipo fungistático y fungicida contra *Candida albicans* lo que alienta su potencial en un futuro cercano como adyuvante en las terapias para el control de microorganismos patógenos orales.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba) presenta efecto antifúngico sobre *Candida albicans* ATCC 90028 en todas las concentraciones evaluadas y es directamente proporcional a la concentración.
2. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028 fue 600 µg/mL.
3. La concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroetanólico de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028 fue 700 µg/mL.

VII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el efecto antifúngico de extractos provenientes de otras partes del planta de *Psidium guajava* (guayaba).
2. Establecer el grado de toxicidad de las concentraciones del extracto de *Psidium guajava* (guayaba) que tuvieron mayor efecto antifúngico.
3. Determinar si el efecto antifúngico de las diferentes concentraciones del extracto de *Psidium guajava* (guayaba) persiste en condiciones recreadas de la cavidad oral.

REFERENCIAS

1. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. *J Fungi (Basel)* [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 3(4):57. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof3040057>.
2. Low CY, Rotstein C. Emerging fungal infections in immunocompromised patients. *F1000 Med Rep* [Internet]. 2011 [Citado 09 Ago 2021]; 3:14. Disponible en: <https://doi.org/10.3410/M3-14>.
3. Firacative C. Invasive fungal disease in humans: ¿are we aware of the real impact? *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2020 [Citado 09 Ago 2021]; 115: e200430. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0074-02760200430>.
4. Pfavayi L, Denning D, Baker S, Sibanda E, Mutapi F. Determining the burden of fungal infections in Zimbabwe. *Sci Rep* [Internet]. 2021 [Citado 09 Ago 2021]; 11:13240. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92605-1>.
5. Heidrich D, Stopiglia CD, Magagnin CM, Daboit TC, Vettorato G, Amaro TG, et al. Sixteen years of dermatomycosis caused by *Candida* spp. in the metropolitan area of porto alegre, southern brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* [Internet]. 2016 [Citado 09 Ago 2021]; 58:14. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201658014>.
6. Mello V, Escudeiro H, Weckwerth A, Andrade M, Fusaro A, de Moraes E, et al. Virulence Factors and Antifungal Susceptibility in *Candida* Species Isolated from Dermatomycosis Patients. *Mycopathologia* [Internet]. 2021 [Citado 09 Ago 2021]; 186(1):71-80. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11046-020-00509-x>.
7. Wickes B, Wiederhold N. Molecular diagnostics in medical mycology. *Nat Commun* [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 9:5135. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07556-5>.
8. da Silva Dantas A, Lee K, Raziunaite I, Schaefer K, Wagener J, Yadav B, et al. Cell biology of *Candida albicans*-host interactions. *Curr Opin Microbiol*. [Internet]. 2016 [Citado 09 Ago 2021]; 34:111-118. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.08.006>.
9. Zida A, Bamba S, Yacouba A, Ouedraogo-Traore R, Guiguemdé RT. Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. *J*

- Mycol Med [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 27(1):1-19. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.10.002>.
10. Tanwar J, Das S, Fatima Z, Hameed S. Multidrug Resistance: An Emerging Crisis. Interdiscip Perspect Infect Dis [Internet]. 2014 [Citado 09 Ago 2021]; 541340. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2014/541340>.
 11. Schuster JE, Fisher BT. 26 – Candidiasis. En: Steinbach WJ, Green MD, Michaels MG, Danziger-Isakov LA, Fisher BT. Elsevier; 2021. 195-205.e3 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-64198-2.00035-X>.
 12. Singh A, Verma R, Murari A, Agrawal A. Oral candidiasis: An overview. J Oral Maxillofac Pathol [Internet]. 2014 [Citado 09 Ago 2021]; 18(1): S81-5. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0973-029X.141325>.
 13. Patil S, Rao RS, Majumdar B, Anil S. Clinical Appearance of Oral Candida Infection and Therapeutic Strategies. Front Microbiol [Internet]. 2015 [Citado 09 Ago 2021]; 6:1391. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01391>.
 14. Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K. Candida albicans - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control - An update. Microb Pathog [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 117:128-138. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.02.028>.
 15. Sikora A, Zahra F. Candida Auris. [Actualizado 10 Ago 2021]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [Citado 09 Ago 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563297/>.
 16. Lewis M, Williams D. Diagnosis and management of oral candidosis. Br Dent J [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 223(9):675-681. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.886>.
 17. Vila T, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk MA. Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. J Fungi (Basel) [Internet]. 2020 [Citado 09 Ago 2021]; 6(1):15. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof6010015>.
 18. Costa-de-Oliveira S, Rodrigues AG. Candida albicans Antifungal Resistance and Tolerance in Bloodstream Infections: The Triad Yeast-Host-Antifungal. Microorganisms [Internet]. 2020 [Citado 09 Ago 2021]. 8(2):154. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020154>.

19. Dixon DM, Walsh TJ. Antifungal Agents. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 76. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8263/>.
20. Arendrup MC, Patterson TF, Multidrug-Resistant Candida: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment, The Journal of Infectious Diseases [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 216(3): S445–S451. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/infdis/jix131>.
21. Anibal PC, Orlandi J, Alves I, de Carvalho J, Höfling JF. Conventional and alternative antifungal therapies to oral candidiasis. Review Braz J Microbiol [Internet]. 2010 [Citado 09 Ago 2021]; 41 (4): 824-831. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400001>.
22. Paluch E, Szperlik J, Lamch Ł, Kazimiera A, Oblak E. Biofilm eradication and antifungal mechanism of action against *Candida albicans* of cationic dicephalic surfactants with a labile linker. Sci Rep [Internet]. 2021 [Citado 09 Ago 2021]; 1:8896. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88244-1>.
23. Suwunnakorn S, Wakabayashi H, Kordalewska M, Perlin DS, Rustchenko E. *FKS2* and *FKS3* Genes of Opportunistic Human Pathogen *Candida albicans* Influence Echinocandin Susceptibility. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 62(4): e02299-17. Disponible en: doi: 10.1128/AAC.02299-17.
24. Afonso M, Mestre AR, Silva G, Almeida AC, Cunha RA, Meyer-Fernandes JR, Gonçalves T, et al. *Candida* Extracellular Nucleotide Metabolism Promotes Neutrophils Extracellular Traps Escape. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 2021 [Citado 09 Ago 2021]; 11:678568. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.678568>.
25. Ferreira M, Santiago R, Silva-Rocha W, De Souza L, Faria M, De Mello J, et al. In vitro antifungal activity and phytochemical characterization of *Eugenia uniflora*, *libidibia ferrea* and *Psidium guajava*. Brazilian J Pharm Sci [Internet]. 2020 [Citado 09 Ago 2021]; 56: e18456. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S2175-97902020000118456>.
26. Rajan ST, Malathi N, Chamundeeswari D, Rose C. Anti-microbial activity of *Psidium Guajava* leaf extract. Indian J Public Health Res Dev [Internet]. 2019

- [Citado 09 Ago 2021]; 10(6): 257-262. Disponible en: <https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.01278.6>.
27. da Cruz J, da Costa J, de Souza M, Freitas G, Morais E. Phytochemical Analysis and Evaluation of Antimicrobial Activity of *Peumus boldus*, *Psidium guajava*, *Vernonia polysphaera*, *Persea Americana*, *Eucalyptus citriodora* Leaf Extracts and *Jatropha multifida* Raw Sap. *Curr Pharm Biotechnol*. [Internet]. 2019 [Citado 09 Ago 2021]; 20(5): 433-444. Disponible en: <https://doi.org/10.2174/1389201020666190409104910>.
28. Abbas M, Tayyab M, Abbas M, Fatima T. Evaluation of antibacterial and antifungal activities of *Cymbopogon citratus* & *Psidium guajava* from Sialkot origin. *Pharmacologyonline* [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 1:155-163. Disponible en: https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2018/vol1/PhOL_2018_1_A018_Abbas.pdf
29. Sangalli J, Júnior E, Bueno C, Jacinto R, Sivieri-Araújo G, Filho J, et al. Antimicrobial activity of *Psidium cattleianum* associated with calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: an in vitro study. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 22(6):2273-2279. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2326-5>.
30. de Macêdo D, Souza M, Morais-Braga M, Coutinho H, Dos Santos A, da Cruz R, et al. Effect of seasonality on chemical profile and antifungal activity of essential oil isolated from leaves *Psidium salutare* (Kunth) O. Berg *PeerJ* [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 6:e5476. Disponible en: <https://doi.org/10.7717/peerj.5476>.
31. Bezerra C, Rocha J, Nascimento Silva M, de Freitas T, de Sousa A, Dos Santos A, et al. Analysis by UPLC-MS-QTOF and antifungal activity of guava (*Psidium guajava* L.). *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 119: 122-132. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.021>.
32. Morais-Braga MF, Carneiro JN, Machado AJ, Sales DL, Dos Santos AT, Boligon AA, et al. Phenolic composition and medicinal usage of *Psidium guajava* Linn.: Antifungal activity or inhibition of virulence? *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 24(2): 302-313. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.028>.

33. Massunari L, Zoccal R, Teixeira M, Valentim D, Dezan E, Duque C. Antimicrobial Activity and Biocompatibility of the *Psidium cattleianum* Extracts for Endodontic Purposes. *Braz Dent J* [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 28(3): 372-379. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201601409>.
34. Visveswaraiah P, Manjunath K, Vijayashekar S. Antimicrobial activity of *Punica granatum* and *Psidium guajava* on *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*: An In-Vitro Study. *Res J Pharm Biol Chem Sci* [Internet]. 2015 [Citado 09 Ago 2021]; 6(4): 584-588. Disponible en: [https://www.rjpbcs.com/pdf/2015_6\(4\)/\[87\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2015_6(4)/[87].pdf)
35. Mehta VV, Rajesh G, Rao A, Shenoy R, Mithun Pai BH. Antimicrobial efficacy of *Punica Granatum* mesocarp, *Nelumbo nucifera* leaf, *Psidium Guajava* leaf and *Coffea Canephora* extract on common oral pathogens: An in-vitro Study. *J Clin Diagnostic Res* [Internet]. 2014 [Citado 09 Ago 2021]; 8(7): 65-68. Disponible en: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9122.4629>.
36. Lewis M, Williams D. Diagnosis and management of oral candidosis. *Br Dent J* [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 223(9):675-681. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.886>.
37. Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, et al. *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *J Fungi (Basel)* [Internet]. 2021 [Citado 09 Ago 2021]; 7(2): 79. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof7020079>.
38. Patil S, Rao R, Majumdar B, Anil S. Clinical Appearance of Oral *Candida* Infection and Therapeutic Strategies. *Front Microbiol* [Internet]. 2015 [Citado 09 Ago 2021]; 6: 391. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01391>.
39. Taylor M, Raja A. Oral Candidiasis. [Actualizado el 25 Jul 2021]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545282/>.
40. de Oliveira Santos G, Vasconcelos C, Lopes A, de Sousa Cartágenes M, Filho A, do Nascimento F, et al. *Candida* Infections and Therapeutic Strategies: Mechanisms of Action for Traditional and Alternative Agents. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 9: 1351. Disponible en: <https://doi.org/10.10389/fmicb.2018.01351>.

41. Naglik J, Gaffen S, Hube B. Candidalysin: discovery and function in *Candida albicans* infections. *Curr Opin Microbiol* [Internet]. 2019 [Citado 09 Ago 2021]; 52:100-109. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.06.002>.
42. Radaic A, Kapila Y. The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Comput Struct Biotechnol J* [Internet]. 2021 [Citado 09 Ago 2021]; 19: 1335-1360. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.02.010>.
43. Vila T, Sultan A, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk M. Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. *J Fungi (Basel)* [Internet]. 2020 [Citado 09 Ago 2021]; 6(1): 15. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof6010015>.
44. Tsui C, Kong E, Jabra-Rizk M. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathog Dis* [Internet]. 2016 [Citado 09 Ago 2021]; 74(4):ftw018. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw018>.
45. Rodrigues M, Nosanchuk J. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020 [Citado 09 Ago 2021]; 14(2): e0007964. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007964>.
46. Scorzoni L, de Paula A, Marcos C, Assato P, de Melo W, de Oliveira H, et al. Antifungal Therapy: New Advances in the Understanding and Treatment of Mycosis. *Front Microbiol* [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 8:36. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00036>.
47. Ksiezopolska E, Gabaldón T. Evolutionary Emergence of Drug Resistance in *Candida* Opportunistic Pathogens. *Genes (Basel)* [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 9(9): 461. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/genes9090461>.
48. Carballosa A, Gaskins B, Leonard E, López E, González-Cueto O. Fructification Pruning in Guava Crop (*Psidium guajava* L.) and its Influence on Yield. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* [Internet]. 2019 [Citado 09 Ago 2021]; 28(4): 1-6. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/932/93261708008/html/>.
49. Pereira F, Usman M, Mayer N, Nachtigal J, Maphanga O, Willemse S. Advances in guava propagation. *Rev Bras Frutic* [Internet]. 2017 [Citado 09 Ago 2021]; 39(4): (e-358). Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017358>.

50. Cázares-Sánchez E, Núñez-Colín C, Domínguez-Álvarez J, Luna-Morales C, Rojas-Martínez R, Segura-Ledesma S. Potential biogeographic distribution of guava (*Psidium guajava* L.) in Mexico. *Acta Horti* [Internet]. 2010 [Citado 09 Ago 2021]; 849: 55-62. Disponible en: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.849.5>.
51. Mujeeb F, Bajpai P, Pathak N. Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of *Aegle marmelos*. *Biomed Res Int* [Internet]. 2014 [Citado 09 Ago 2021]; 2014:497606. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2014/497606>.
52. Kumar M, Tomar M, Amarowicz R, Saurabh V, Nair MS, Maheshwari C, et al. Guava (*Psidium guajava* L.) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. *Foods* [Internet]. 2021 [Citado 09 Ago 2021]; 10(4):752. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods10040752>.
53. Biswas B, Rogers K, McLaughlin F, Daniels D, Yadav A. Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Int J Microbiol* [Internet]. 2013 [Citado 09 Ago 2021]; 746165. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2013/746165>.
54. Ravi K, Divyashree P. *Psidium guajava*: A review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease. *Pharmacogn Rev* [Internet]. 2014 [Citado 09 Ago 2021]; 8(16):96-100. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.134233>.
55. Dhiman A, Nanda A, Ahmad S, Narasimhan B. In vitro antimicrobial activity of methanolic leaf extract of *Psidium guajava* L. *J Pharm Bioallied Sci* [Internet]. 2011 [Citado 09 Ago 2021]; 3(2):226-9. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0975-7406.80776>.
56. Ceroni M. ¿Investigación básica, aplicada o sólo investigación?. *Rev Soc Quím Perú* [Internet]. 2010 [Citado 09 Ago 2021]; 76(1):5-6. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2010000100001.
57. Niño V. Metodología de la investigación. 1era. Ed. Bogotá: Ediciones de la U; 2011.
58. Liu W, Sun B, Yang M, Zhang Z, Zhang X, Pang T, et al. Antifungal Activity of Crude Extract from the Rhizome and Root of *Smilacina japonica* A. Gray. *Evid*

- Based Complement Alternat Med [Internet]. 2019 [Citado 09 Ago 2021]; ID 5320203. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2019/5320203>.
59. Garmus T, Kopf S, Paula J, Aguiar A, Duarte G, Eberlin M, et al. Ethanollic and hydroalcoholic extracts of *pitanga* leaves (*Eugenia uniflora* L.) and their fractionation by supercritical technology. Braz J Chem Eng [Internet]. 2019 [Citado 09 Ago 2021]; 36(2):1041-1051. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190362s20180159>.
60. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 4th ed. CLSI standard M27. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2017. Disponible en: https://clsi.org/media/1897/m27ed4_sample.pdf.
61. Steel RG, Torrie JH. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2da. Ed. Bogotá: Editorial Mcgraw-Hill; 1988. 622 p.
62. Vidal B, Machado T, Fantacini I, Bento P, da Silva I, de Oliveira E, et al. Antifungal Activity of a Hydroethanolic Extract From *Astronium urundeuva* Leaves Against *Candida albicans* and *Candida glabrata*. Front Microbiol [Internet]. 2019 [Citado 09 Ago 2021]; 10:2642. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02642>.
63. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión (Serie de Normas Técnicas; 30). Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. 68 p. Disponible en: https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/30.pdf
64. Humphries R, Kircher S, Ferrell A, Krause K, Malherbe R, Hsiung A, et al. The Continued Value of Disk Diffusion for Assessing Antimicrobial Susceptibility in Clinical Laboratories: Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. J Clin Microbiol [Internet]. 2018 [Citado 09 Ago 2021]; 56(8): e00437. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.00437-18>.
65. Ministerio de Salud. Manual de Procedimientos Bioseguridad en Laboratorios de Ensayo, Biomédicos y Clínicos. Perú: Instituto Nacional de Salud [Internet]. 2005 [Citado 09 Ago 2021]; 109 p. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>

66. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Ginebra [Internet]. 2005 [Citado 09 Ago 2021]; 223 p. Disponible en: https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Escala
Extracto hidroalcohólico de <i>Psidium guajava</i> (guayaba)	Es un producto sólido obtenido por extracción de los principios activos vegetales de <i>Psidium guajava</i> (guayaba) solubles en etanol y agua seguido de evaporación del solvente. ⁵⁹	Cantidad en µg del extracto hidroetanólico seco <i>Psidium guajava</i> (guayaba) diluido en de DMSO 1%.	Concentración µg /mL	600 µg/mL 700 µg/mL 800 µg/mL 900 µg/mL 1000 µg/mL	De Razón
Efecto antifúngico <i>in vitro</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Es la capacidad de un agente de inhibir la propagación de <i>Candida albicans</i> al matar o destruir sus células o impedir su crecimiento. Puede ser de tipo fungicida o fungistático. ⁵⁸	Formación o ausencia de halo de inhibición y de UFC de <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 post exposición a 5 concentraciones del Extracto hidroetanólico de <i>Psidium guajava</i> (guayaba).	Sin efecto Efecto Fungistático Efecto Fungicida	Halos de Inhibición ⁶⁰ 0 mm 10-12 mm ≥ 15 mm	De Razón

ANEXO 2

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

El total de repeticiones se determinó desarrollando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{W - W^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{W^2}$$

Dónde:

n: Número mínimo de repeticiones.

Z α : Nivel de confianza.

Z β : Valor estadístico.

W: Eficiencia mínima observable.

$$n = \frac{W - W^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{W^2}$$
$$n = \frac{0,8 - (0,8)^2 \cdot (0,842) + 1,4 (1,96)^2}{(0,8)^2}$$
$$n = \frac{0,8 - (0,64) \cdot (0,842) + 1,4 (3,842)}{0,64}$$
$$n = 9$$

Reemplazando los valores en la fórmula se obtiene que el número de repeticiones necesarias son 9. Entonces cada grupo experimental estuvo conformado por 10 unidades de ensayo (1 ensayo original + 9 repeticiones). Debido a que fueron 7 grupos (5 concentraciones y 2 controles) el total de unidades de ensayo fueron 70.

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN MICROBIÓLOGO



SCIENCE EXPERIMENT

Research Laboratory

CONSTANCIA

El que suscribe, **Miguel Angel Ruiz Barrueto**, identificado con **DNI N° 42814146**, Biólogo Microbiólogo, Maestro en Microbiología Clínica y Doctor en Ciencias Biomédicas, con CBP N° 8256, Código Renacyt: P0015210; hace constar que ha colaborado como microbiólogo especialista en la ejecución de la investigación titulada: "**Efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcohólico de Psidium guajava (guayaba) sobre Candida albicans ATCC 90028**", de los Sres. **Moscoso Paz Allyson Mercedes**, identificada con **DNI N° 72310058** y **Osnayo Cañihua Ronald Sergio** identificado con **DNI N° 70278927**, bachilleres en Estomatología y estudiantes del Taller de Titulación para Universidades No Licenciadas de la Universidad César Vallejo. La ejecución de la investigación se realizó entre el 20 de julio y el 20 de agosto del 2021 en el Laboratorio de investigación *Science Experiment E.I.R.L.*, de la Ciudad de Trujillo.

Se expide la presente a solicitud de los interesados, para los fines que estimen conveniente.

Trujillo, 25 de agosto de 2021.

Dr. Miguel Angel Ruiz Barrueto

Biólogo Microbiólogo
CBP n.º 8256



FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



SCIENCE EXPERIMENT

Research Laboratory

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Título de Tesis: Efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava* (guayaba) sobre *Candida albicans* ATCC 90028.

Autores:

Bach. Moscoso Paz Allyson Mercedes

Bach. Osnayo Cañihua Ronald Sergio

Microbiólogo Especialista:

Dr. Miguel Angel Ruiz Barrueto

MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN EN mm						
	600 µg/mL	700 µg/mL	800 µg/mL	900 µg/mL	1000 µg/mL	Nistatina 100000 UI*	DMSO** 1%
1	12,9	13,5	15,5	17,7	19	13,5	0,0
2	12,0	14,0	16,0	17,5	19,8	14,1	0,0
3	13,5	13	15,9	18,1	20,1	12,9	0,0
4	12,5	14,2	16,2	18,5	20,7	13,5	0,0
5	13,0	13,8	16,5	18	19,9	13,5	0,0
6	12,4	13,6	15,9	18	20,5	13,7	0,0
7	12,5	14,2	15,5	17,9	20,5	12,5	0,0
8	12,8	13,5	16	18,2	19,5	13,2	0,0
9	12,5	13,8	16,2	17,5	20	12,2	0,0
10	12,4	14,1	15,7	18	19,5	13,5	0,0

*UI= Unidades Internacionales.

** DMSO= Dimetilsulfóxido.

Trujillo, 20 de agosto de 2021.

Dr. Miguel Angel Ruiz Barrueto

Biólogo Microbiólogo
CBP n.º 8256SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

Av. La Marina # 1326 Int. 2 Urb. La Perla Trujillo. Telf. 949388950

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE PLANTA



INSTITUTO CIENTIFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)

Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos
Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPFFS



"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN DE MUESTRAS
N° 001-2021

El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).

HACE CONSTAR:

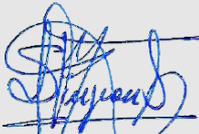
Que la muestra presentada por los Sres. **Allyson Mercedes Moscoso Paz** y **Ronald Sergio Osnayo Cañihua**, proveniente del distrito de Omate, provincia de General Sánchez Cerro, departamento de Moquegua, recolectada a una elevación de 2160 m, para la realización de la tesis: "**Efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava* sobre *Candida albicans* ATCC 90028**", presentada en la Universidad César Vallejo sede Piura; fue determinada taxonómicamente en las instalaciones del Herbario del Instituto Científico Michael Owen Dillon, "Herbario Sur Peruano" (HSP), y corresponde a:

Clase: Equisetopsida C. Agardh
Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
Orden: Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia: Myrtaceae Juss.
Género: *Psidium* L.
Especie: *Psidium guajava* L.

La clasificación se ha realizado según la propuesta por: *Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV* en "*An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*" (2016).

Se expide la presente, a solicitud de los interesados, para los fines que estimen convenientes.

Herbario Sur Peruano
Arequipa, 12 de enero del 2021




 Dr. Blgo. Víctor Quipuscoa Silvestre
 C. B. P. N° 2484
 Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)
 Herbario Sur Peruano (HSP)
 vqupuscoas@hotmail.com
 vqupuscoa@imod.org.pe

ANEXO 6

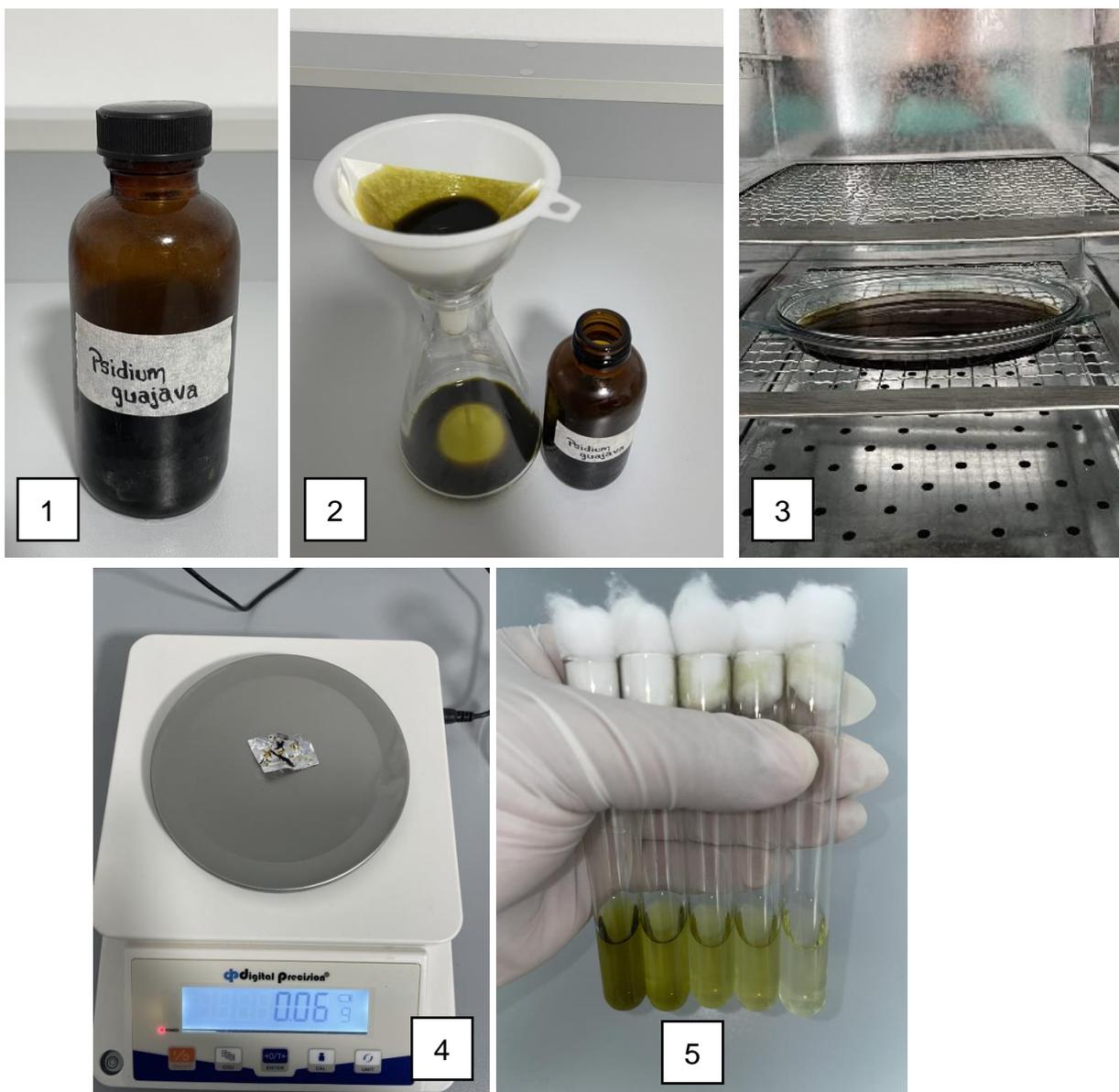
GALERÍA FOTOGRÁFICA PROCEDIMIENTO

MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS



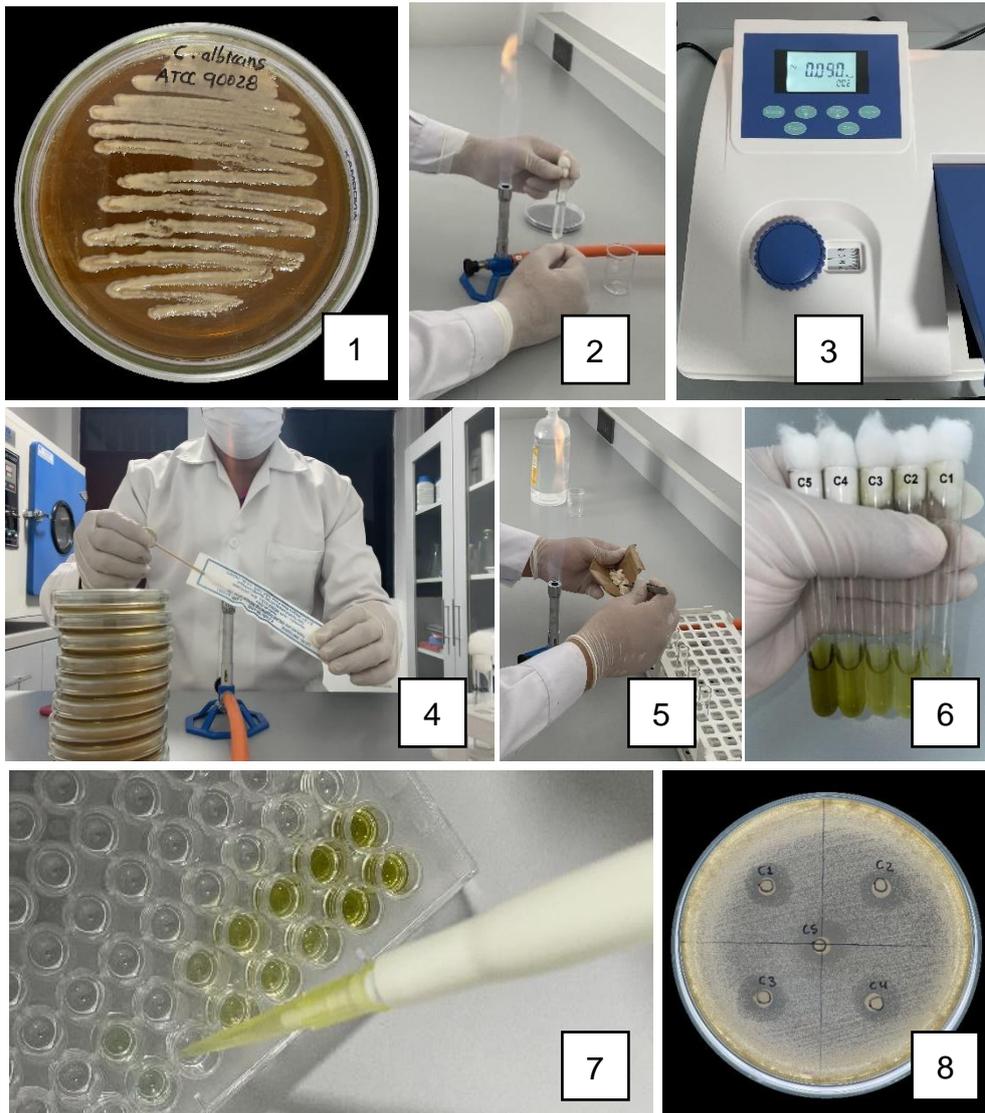
1	Incubadora microbiológica	6	Agua destilada
2	Espectrofotómetro VIS	7	Agar sabouraud dextrosa
3	Autoclave	8	Hisopos
4	Micropipeta rango variable	9	Placas Petri
5	Balanza analítica y vernier mecánico		

OBTENCIÓN DE EXTRACTO



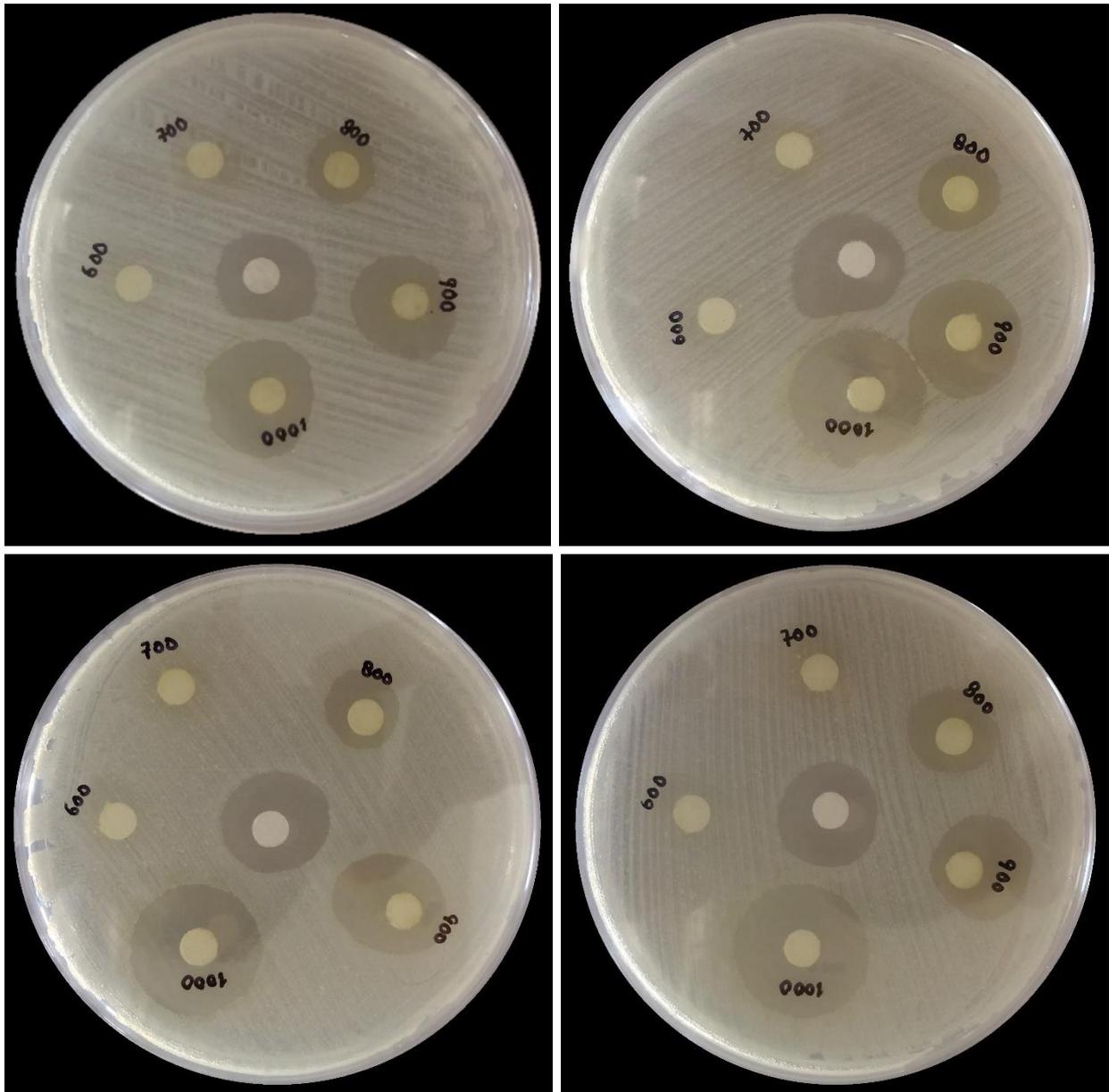
1	Extracto total de hojas de guayaba.	3	Secado del extracto total.
2	Filtrado del extracto total.	4	Pesado de extracto seco.
		5	Preparación de concentraciones.

ESTANDARIZACIÓN DEL INÓCULO Y EVALUACIÓN



1	Cultivo de <i>C. albicans</i> .	5	Colocación de discos de sensibilidad.
2	Preparación de inóculo.	6	Concentraciones de extracto.
3	Estandarización del inóculo.	7	Inoculación en microplacas.
4	Inoculación en placas.	8	Halos de inhibición.

LECTURA DE RESULTADOS



Halos de inhibición de crecimiento

ANEXO 7

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Concentración extracto P. guajava / Control+/-

Resumen de procesamiento de casos							
	Concentración extracto P. guajava / Control+/-	Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Diámetro de halo de inhibición Candida albicans	600 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	700 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	800 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	900 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	1000 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	DMSO 1%	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
	Nistatina 100000 UI	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%

Descriptivos					
	Concentración extracto P. guajava / Control+/-		Estadístico	Error estándar	
Diámetro de halo de inhibición Candida albicans	600 µg/mL	Media		12,6500	,13102
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12,3536	
			Límite superior	12,9464	
		Media recortada al 5%		12,6389	
		Mediana		12,5000	
		Varianza		,172	
		Desviación estándar		,41433	
		Mínimo		12,00	
		Máximo		13,50	
		Rango		1,50	
		Rango intercuartil		,53	
		Asimetría		,703	,687
		Curtosis		1,062	1,334
		700 µg/mL	Media		13,7700
	95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	13,4980	
			Límite superior	14,0420	
	Media recortada al 5%		13,7889		
	Mediana		13,8000		
	Varianza		,145		
	Desviación estándar		,38020		
	Mínimo		13,00		
	Máximo		14,20		
	Rango		1,20		
	Rango intercuartil		,63		
	Asimetría		-,742	,687	
	Curtosis		,319	1,334	
	800 µg/mL		Media		15,9400
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	15,7133	
			Límite superior	16,1667	
		Media recortada al 5%		15,9333	
Mediana		15,9500			

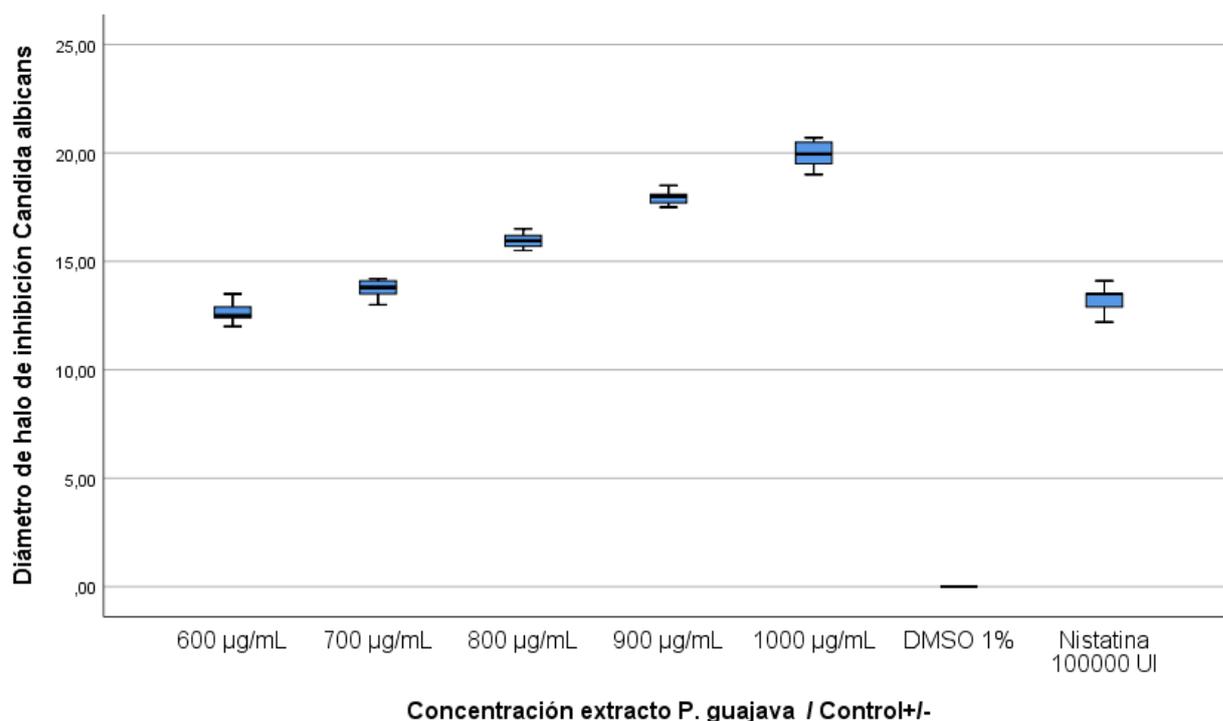
		Varianza		,100		
		Desviación estándar		,31693		
		Mínimo		15,50		
		Máximo		16,50		
		Rango		1,00		
		Rango intercuartil		,55		
		Asimetría		,117	,687	
		Curtosis		-,320	1,334	
	900 µg/mL	Media		17,9400	,09798	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	17,7184		
			Límite superior	18,1616		
		Media recortada al 5%		17,9333		
		Mediana		18,0000		
		Varianza		,096		
		Desviación estándar		,30984		
		Mínimo		17,50		
		Máximo		18,50		
		Rango		1,00		
		Rango intercuartil		,48		
		Asimetría		,064	,687	
		Curtosis		-,032	1,334	
		1000 µg/mL	Media		19,9500	,16750
			95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,5711	
	Límite superior			20,3289		
	Media recortada al 5%			19,9611		
	Mediana			19,9500		
	Varianza			,281		
	Desviación estándar			,52967		
	Mínimo			19,00		
	Máximo			20,70		
	Rango			1,70		
	Rango intercuartil			1,00		
	Asimetría			-,266	,687	
Curtosis			-,466	1,334		
DMSO 1%	Media			,0000	,00000	
	95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	,0000		
		Límite superior	,0000			
	Media recortada al 5%		,0000			
	Mediana		,0000			
	Varianza		,000			
	Desviación estándar		,00000			
	Mínimo		,00			
	Máximo		,00			
	Rango		,00			
	Rango intercuartil		,00			
	Asimetría		.	.		
	Curtosis		.	.		
	Nistatina 100000 UI	Media		13,2600	,18148	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12,8495		
Límite superior			13,6705			

		Media recortada al 5%	13,2722	
		Mediana	13,5000	
		Varianza	,329	
		Desviación estándar	,57388	
		Mínimo	12,20	
		Máximo	14,10	
		Rango	1,90	
		Rango intercuartil	,75	
		Asimetría	-,693	,687
		Curtosis	,010	1,334

Pruebas de normalidad							
	Concentración extracto P. guajava / Control+/-	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diámetro de halo de inhibición Candida albicans	600 µg/mL	,241	10	,102	,935	10	,500
	700 µg/mL	,139	10	,200*	,924	10	,392
	800 µg/mL	,150	10	,200*	,952	10	,687
	900 µg/mL	,177	10	,200*	,942	10	,572
	1000 µg/mL	,150	10	,200*	,963	10	,821
	DMSO 1%	.	10	.	.	10	.
	Nistatina 100000 UI	,262	10	,050	,919	10	,347

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.
a. Corrección de significación de Lilliefors

Diámetro de halo de inhibición Candida albicans



Unidireccional

Descriptivos								
Diámetro de halo de inhibición Candida albicans								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
600 µg/mL	10	12,6500	,41433	,13102	12,3536	12,9464	12,00	13,50
700 µg/mL	10	13,7700	,38020	,12023	13,4980	14,0420	13,00	14,20
800 µg/mL	10	15,9400	,31693	,10022	15,7133	16,1667	15,50	16,50
900 µg/mL	10	17,9400	,30984	,09798	17,7184	18,1616	17,50	18,50
1000 µg/mL	10	19,9500	,52967	,16750	19,5711	20,3289	19,00	20,70
DMSO 1%	10	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Nistatina 100000 UI	10	13,2600	,57388	,18148	12,8495	13,6705	12,20	14,10
Total	70	13,3586	6,03424	,72123	11,9198	14,7974	,00	20,70

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Diámetro de halo de inhibición Candida albicans	Se basa en la media	3,991	6	63	,002
	Se basa en la mediana	2,416	6	63	,036
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,416	6	37,409	,045
	Se basa en la media recortada	3,883	6	63	,002

ANOVA					
Diámetro de halo de inhibición Candida albicans					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2502,327	6	417,054	2600,656	,000
Dentro de grupos	10,103	63	,160		
Total	2512,430	69			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Diámetro de halo de inhibición Candida albicans						
HSD Tukey						
(I) Concentración extracto P. guajava / Control+/-	(J) Concentración extracto P. guajava / Control+/-	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
600 µg/mL	700 µg/mL	-1,12000 [*]	,17909	,000	-1,6654	-,5746
	800 µg/mL	-3,29000 [*]	,17909	,000	-3,8354	-2,7446
	900 µg/mL	-5,29000 [*]	,17909	,000	-5,8354	-4,7446
	1000 µg/mL	-7,30000 [*]	,17909	,000	-7,8454	-6,7546
	DMSO 1%	12,65000 [*]	,17909	,000	12,1046	13,1954
	Nistatina 100000 UI	-,61000 [*]	,17909	,019	-1,1554	-,0646
700 µg/mL	600 µg/mL	1,12000 [*]	,17909	,000	,5746	1,6654
	800 µg/mL	-2,17000 [*]	,17909	,000	-2,7154	-1,6246
	900 µg/mL	-4,17000 [*]	,17909	,000	-4,7154	-3,6246
	1000 µg/mL	-6,18000 [*]	,17909	,000	-6,7254	-5,6346
	DMSO 1%	13,77000 [*]	,17909	,000	13,2246	14,3154
	Nistatina 100000 UI	,51000	,17909	,082	-,0354	1,0554
800 µg/mL	600 µg/mL	3,29000 [*]	,17909	,000	2,7446	3,8354

	700 µg/mL	2,17000 [*]	,17909	,000	1,6246	2,7154
	900 µg/mL	-2,00000 [*]	,17909	,000	-2,5454	-1,4546
	1000 µg/mL	-4,01000 [*]	,17909	,000	-4,5554	-3,4646
	DMSO 1%	15,94000 [*]	,17909	,000	15,3946	16,4854
	Nistatina 100000 UI	2,68000 [*]	,17909	,000	2,1346	3,2254
900 µg/mL	600 µg/mL	5,29000 [*]	,17909	,000	4,7446	5,8354
	700 µg/mL	4,17000 [*]	,17909	,000	3,6246	4,7154
	800 µg/mL	2,00000 [*]	,17909	,000	1,4546	2,5454
	1000 µg/mL	-2,01000 [*]	,17909	,000	-2,5554	-1,4646
	DMSO 1%	17,94000 [*]	,17909	,000	17,3946	18,4854
	Nistatina 100000 UI	4,68000 [*]	,17909	,000	4,1346	5,2254
1000 µg/mL	600 µg/mL	7,30000 [*]	,17909	,000	6,7546	7,8454
	700 µg/mL	6,18000 [*]	,17909	,000	5,6346	6,7254
	800 µg/mL	4,01000 [*]	,17909	,000	3,4646	4,5554
	900 µg/mL	2,01000 [*]	,17909	,000	1,4646	2,5554
	DMSO 1%	19,95000 [*]	,17909	,000	19,4046	20,4954
	Nistatina 100000 UI	6,69000 [*]	,17909	,000	6,1446	7,2354
DMSO 1%	600 µg/mL	-12,65000 [*]	,17909	,000	-	-12,1046
	700 µg/mL	-13,77000 [*]	,17909	,000	13,1954	-13,2246
	800 µg/mL	-15,94000 [*]	,17909	,000	14,3154	-15,3946
	900 µg/mL	-17,94000 [*]	,17909	,000	16,4854	-17,3946
	1000 µg/mL	-19,95000 [*]	,17909	,000	18,4854	-19,4046
	Nistatina 100000 UI	-13,26000 [*]	,17909	,000	20,4954	-12,7146
					13,8054	
Nistatina 100000 UI	600 µg/mL	,61000 [*]	,17909	,019	,0646	1,1554
	700 µg/mL	-,51000	,17909	,082	-1,0554	,0354
	800 µg/mL	-2,68000 [*]	,17909	,000	-3,2254	-2,1346
	900 µg/mL	-4,68000 [*]	,17909	,000	-5,2254	-4,1346
	1000 µg/mL	-6,69000 [*]	,17909	,000	-7,2354	-6,1446
	DMSO 1%	13,26000 [*]	,17909	,000	12,7146	13,8054

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Diámetro de halo de inhibición <i>Candida albicans</i>							
HSD Tukey ^a							
Concentración extracto <i>P. guajava</i> / Control+/-	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
DMSO 1%	10	,0000					
600 µg/mL	10		12,6500				
Nistatina 100000 UI	10			13,2600			
700 µg/mL	10			13,7700			
800 µg/mL	10				15,9400		
900 µg/mL	10					17,9400	
1000 µg/mL	10						19,9500
Sig.		1,000	1,000	,082	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Gráficos de medias

