



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ
GALLO**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA-
PARASITOLOGÍA**

TESIS

Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Hibiscus
sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y
Streptococcus pyogenes

Presentada para optar el Título Profesional de Licenciada en Ciencias
Biológicas - Microbiología- Parasitología

Autor:

Bach. Chávez Cabrejos Ofelia Dayahana

Asesor:

Mg. Moreno Mantilla Mario Cecilio

Lambayeque, Perú

13 mayo, 2026



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ
GALLO**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA-
PARASITOLOGÍA**

TESIS

Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Hibiscus
sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y
Streptococcus pyogenes

Bach. Ofelia Dayahana Chávez Cabrejos

Autor(a)

Presentada para optar el Título Profesional de Licenciada en Ciencias Biológicas -
Microbiología- Parasitología

Aprobado por:

Dr. Luis Edmundo Chicoma Chaqui

Presidente

Dr. Marco Antonio Guzmán Tello

Secretario

Lic. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca

Vocal

Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla

Asesor

ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 36-2026 / FCCBB-UI

Siendo las 10:00 horas del día 13 de mayo de 2026, en la Sala de Lectura - Sustentaciones de la Facultad de Ciencias Biológicas se reunieron los miembros del Jurado designado mediante Resolución N° 441-2024-VIRTUAL-FCCBB/D de fecha 12 de noviembre de 2024 y aprobado mediante Resolución N° 108-2025-FCCBB/D, de fecha 12 de marzo de 2025, conformado por:

Dr. Luis Edmundo Chicoma Chaqui-Presidente
Dr. Marco Antonio Guzmán Tello-Secretario
Lic. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca-Vocal
Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla-Asesor

con la finalidad de evaluar la sustentación de tesis titulada: **Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes***, presentada por la Bachiller OFELIA DAYAHANA CHÁVEZ CABREJOS.

Sustentación autorizada mediante RESOLUCIÓN N°168-2026-FCCBB-D, de fecha 12 de mayo de 2026 la misma que tuvo una duración de 30 minutos y luego de absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurado; se procedió a la calificación respectiva, obteniendo 19 puntos que equivale al calificativo de MUY BUENO.

Por lo que la sustentante queda **APTA** para obtener el Título Profesional de **Licenciada en Ciencias Biológicas - Microbiología - Parasitología** de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 11:00 horas se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.

Dr. Luis Edmundo Chicoma Chaqui
Presidente

Dr. Marco Antonio Guzmán Tello
Secretario

Lic. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca
Vocal

Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla
Asesor

CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD

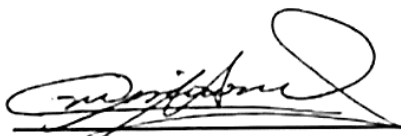
Yo, Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla; usuario revisor del informe de tesis titulado: Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*.

Cuyo autor es, Bach. Ofelia Dayahana Chávez Cabrejos con DNI: 75860224; declaro que la evaluación realizada por el Programa informático, ha arrojado un porcentaje de similitud de 12 %, verificable en el Resumen de Reporte automatizado de similitudes que se acompaña.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas dentro del porcentaje de similitud permitido no constituyen plagio y que el documento cumple con la integridad científica y con las normas para el uso de citas y referencias establecida en los protocolos respectivos.

Se cumple con adjuntar el Recibo Digital a efectos de la trazabilidad respectiva del proceso.

Lambayeque, 08 de Febrero del 2026



FIRMA

Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla

DNI:16505740

ASESOR

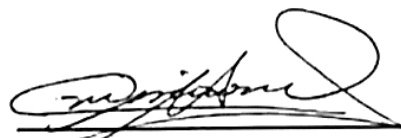
Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de Hibiscus sabdariffa (flor de Jamaica) frente a Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%	10%	5%	2%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	ojs2.utp.edu.co Fuente de Internet	<1%
2	diposit.ub.edu Fuente de Internet	<1%
3	Submitted to Adamson University Trabajo del estudiante	<1%
4	homolog-ve.scielo.org Fuente de Internet	<1%
5	repositorio.upeu.edu.pe Fuente de Internet	<1%
6	repositorio.usmp.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	repositorio.upse.edu.ec Fuente de Internet	<1%
8	Livia da Silva Freitas, Carolina da Silva Canielles Caprara, Lisiane Martins Volcão,	<1%



FIRMA

Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla

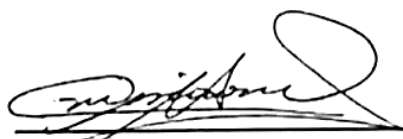
DNI:16505740

ASESOR

Rodrigo de Lima Brum et al. " Usnic Acid (+)
Enantiomer in Alternative Control of and
Allelopathic Effect ", Applied In Vitro
Toxicology, 2022

Publicación

9	Tatiana Camacho-Suntaxi, Santiago Sánchez-Loja. "Antibacterial activity of the Agaricus pampeanus (Agaricaceae) ethanol extract against Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa.", Actualidades Biológicas, 2020	<1 %
Publicación		
10	buscador.una.edu.ni	<1 %
Fuente de Internet		
11	cendoc.chirapaq.org.pe	<1 %
Fuente de Internet		
12	cienciasagricolas.inifap.gob.mx	<1 %
Fuente de Internet		
13	jppres.com	<1 %
Fuente de Internet		
14	riuc.bc.uc.edu.ve	<1 %
Fuente de Internet		
15	www.nursinghero.com	<1 %
Fuente de Internet		
16	www.repositorio.usac.edu.gt	<1 %
Fuente de Internet		



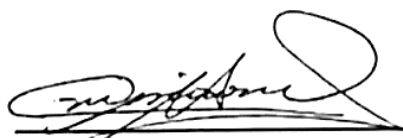
FIRMA

Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla

DNI:16505740

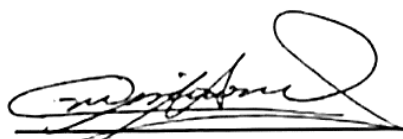
ASESOR

17	www.revistaespirales.com Fuente de Internet	<1 %
18	repositorio.cualtos.udg.mx:8080 Fuente de Internet	<1 %
19	repositorio.unajma.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
20	verso.mat.uam.es Fuente de Internet	<1 %
21	Janaina Sánchez García. "Desarrollo y caracterización de nuevas harinas de lenteja y quinoa fermentadas con <i>Pleurotus ostreatus</i> ", Universitat Politecnica de Valencia, 2023 Publicación	<1 %
22	Submitted to Universidad de Burgos UBUCEV Trabajo del estudiante	<1 %
23	www.dspace.uce.edu.ec:8080 Fuente de Internet	<1 %
24	www.e-intras.com Fuente de Internet	<1 %
25	Submitted to Consorcio CIXUG Trabajo del estudiante	<1 %
26	Submitted to Universidad Pública de Navarra Trabajo del estudiante	<1 %



FIRMA
Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla
DNI:16505740
ASESOR

27	moam.info Fuente de Internet	<1 %
28	ninive.uaslp.mx Fuente de Internet	<1 %
29	repositorio.ucsg.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
30	Submitted to Universidad Católica San Pablo Trabajo del estudiante	<1 %
31	repositorio.ues.edu.sv Fuente de Internet	<1 %
32	www.semanticscholar.org Fuente de Internet	<1 %
33	www.spanishdict.com Fuente de Internet	<1 %
34	Submitted to Universidad Andina del Cusco Trabajo del estudiante	<1 %
35	Submitted to Universidad Nacional de Trujillo Trabajo del estudiante	<1 %
36	bcsdjournals.com Fuente de Internet	<1 %
37	www.oftalmo.com Fuente de Internet	<1 %
38	Jimmy Alvarado, Hilda Vásquez, Guillermo E. Delgado, Dalva Trevisan, Oscar Horna,	<1 %



FIRMA

Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla

DNI:16505740

ASESOR



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Ofelia Dayahana Chávez Cabrejos
Título del ejercicio: Quick Submit
Título de la entrega: Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de Hibi...
Nombre del archivo: Tesis_final_de_Ofelia_Chavez_ORIGINAL_1.docx
Tamaño del archivo: 6.33M
Total páginas: 66
Total de palabras: 11,442
Total de caracteres: 63,136
Fecha de entrega: 03-feb-2026 05:54p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 2870526161



Derechos de autor 2026 Turnitin. Todos los derechos reservados.

FIRMA

Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla

DNI:16505740

ASESOR

DEDICATORIA

A Dios por brindarme vida, fortaleza y sabiduría para poder culminar esta etapa importante en mi vida.

A mis padres quienes han sido el pilar de toda mi educación, ellos me han brindado su apoyo incondicional, los pequeños empujoncitos cuando me daba por vencida, cada uno de sus consejos para hacer de mí una persona de bien y especialmente todo su amor.

A mis hermanos quienes me han inspirado para ser mejor y ser su ejemplo a seguir, y a todas las personas que han sido parte de mi vida y me han alentado para seguir adelante sobre todo a mis familiares, amigos y a mi personita especial, quienes siempre han creído en mí y han estado presentes en parte de mi etapa universitaria.

AGRADECIMIENTO

Agradezco enormemente al Mg. Mario Cecilio Moreno Mantilla, quien fue mi guía en esta investigación, me brindó su apoyo incondicional desde el primer momento en que lo elegí como asesor, fue siempre quien me dio todas las facilidades y la confianza para hacer realidad lo que parecía imposible. Gracias maestro por todas sus enseñanzas, por su paciencia, por sus consejos, por su amistad y por todas las anécdotas compartidas durante gran parte de mi experiencia universitaria.

Expreso toda mi gratitud a mis maestros por su excelente formación académica la cual ha sido parte fundamental para poder alcanzar este logro, nada hubiera sido posible sin su dedicación para dictarnos cada una de las clases, las cuales me enseñaron a amar mi carrera profesional e inspiraron a seguir adelante hasta culminar.

Por último, agradezco a mis padres, quienes han sido los que siempre me han alentado a seguir adelante, quienes nunca me han dejado sola y siempre han creído en que yo puedo lograr todo lo que me proponga, gracias padres por todo su apoyo, amor y fé. A mis hermanos y a mi personita especial quienes siempre me han dado palabras de aliento para poder seguir firme y poder lograr culminar con éxito esta etapa importante de mi vida

ÍNDICE GENERAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN	iii
CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD.....	iv
DEDICATORIA	x
AGRADECIMIENTO	xi
ÍNDICE GENERAL	xii
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. DISEÑO TEORICO	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Bases teóricas	7
1.3 Operacionalización o categorización de variables	8
CAPITULO II. DISEÑO METODOLÓGICO	9
2.1 Tipo de investigación	9
2.2 Diseño de contrastación de hipótesis ó Procedimiento a seguir en la investigación...9	
2.3 Población, muestra	9
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	9
a. Reactivación de las Cepas Bacterianas	9
b. Obtención del extracto etanólico de las flores de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	10
c. Concentraciones del extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	10
d. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las flores de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	10
e. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las flores de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	11
f. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto etanólico de las flores de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	11
CAPITULO III. RESULTADOS.....	13
3.1 Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> del extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> (flor de Jamaica) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i>	13
3.2 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i>	14

3.3 Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i>	15
Análisis estadístico.....	16
CAPITULO IV. DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	28
RECOMENDACIONES.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Promedios de los diámetros (mm) de los halos de inhibición obtenidos por las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i> frente al extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	13
Tabla 2 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i>	14
Tabla 3 Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i>	15
Tabla 4 Prueba ANOVA para evaluar las diferencias según concentración del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i> y la variabilidad entre las cepas de <i>S. aureus</i> según los halos de inhibición.....	17
Tabla 5 Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de <i>S. aureus</i> según la concentración del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	18
Tabla 6 Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas de <i>S. aureus</i> y concentraciones del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	19
Tabla 7 Prueba ANOVA para evaluar las diferencias según concentración del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i> y la variabilidad entre las cepas de <i>S. pyogenes</i> según los halos de inhibición.....	22
Tabla 8 Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de <i>S. pyogenes</i> según la concentración del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	23
Tabla 9 Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas <i>S. pyogenes</i> y concentraciones del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de <i>S. aureus</i> según la concentración del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	18
Figura 2 Comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas de <i>S. aureus</i> y concentraciones del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	20
Figura 3 Comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de <i>S. pyogenes</i> según la concentración del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	23
Figura 4 Comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas <i>S. pyogenes</i> y concentraciones del extracto etanólico de <i>H. sabdariffa</i>	25

RESUMEN

Las infecciones de las vías respiratorias superiores son ocasionadas por ciertos microorganismos, destacando entre ellos a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, los que están presentando resistencia a ciertos antibióticos por la automedicación de las personas, es por ello que para combatir estos microorganismos se buscan nuevas propuestas fitoterapéuticas. En esta investigación el objetivo es determinar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. El trabajo de investigación es de tipo experimental con un diseño factorial de estímulo creciente. Se trabajó con 3 cepas bacterianas por cada especie, las cuales fueron enfrentadas a 5 concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 400 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml) del extracto etanólico de *H. sabdariffa*. Se utilizó el método modificado de difusión en disco de Kirby Bauer para la formación de halos de inhibición y el método de macrodilución en tubos según el Manual de procedimientos para pruebas de Susceptibilidad del INS (2002) además de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Se encontró que *H. sabdariffa* tuvo mayor efecto en *S. aureus* con promedio del halo de inhibición de 16,57 y una CMI y CMB de 25 mg/mL. Mientras que *S. pyogenes* presentó un promedio de halo de inhibición de 15,97 y la CMI y CMB para la cepa 1 y 2 fue de 12,5 y para la cepa 3 de 6,25 mg/mL. Se concluyó que el extracto etanólico de *H. sabdariffa* presentó efecto antibacteriano para ambas especies, siendo ligeramente mayor frente a *S. aureus*.

Palabras Clave: *Hibiscus sabdariffa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Mínima Bactericida.

ABSTRACT

Upper respiratory tract infections are caused by certain microorganisms, notably *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*, which are showing resistance to certain antibiotics due to self-medication. Therefore, new phytotherapeutic approaches are being sought to combat these microorganisms. This research aims to determine the in vitro antimicrobial activity of the ethanolic extract of *Hibiscus sabdariffa* (hibiscus flower) against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. The research is experimental, with a factorial design of increasing stimulus. Three bacterial strains of each species were tested against five concentrations (100 mg/ml, 200 mg/ml, 400 mg/ml, 600 mg/ml, and 800 mg/ml) of the *H. sabdariffa* ethanolic extract. The modified Kirby-Bauer disk diffusion method was used to determine inhibition zones, and the macrodilution method in tubes was used according to the INS (2002) Susceptibility Testing Procedures Manual, in addition to the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). *H. sabdariffa* was found to have the greatest effect on *S. aureus*, with an average inhibition zone of 16.57 and an MIC and MBC of 25 mg/mL. *S. pyogenes*, on the other hand, showed an average inhibition zone of 15.97, and the MIC and MBC for strains 1 and 2 was 12.5 mg/mL, and for strain 3, 6.25 mg/mL. It was concluded that the ethanolic extract of *H. sabdariffa* exhibited an antibacterial effect against both species, with a slightly greater effect against *S. aureus*.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de las vías respiratorias superiores, habitualmente en la población infantil y juvenil, son ocasionadas por ciertos microorganismos, destacando entre ellos a *Staphylococcus aureus* como una de los más peligrosos por su virulencia y potencial patogénico, causante de una variedad de enfermedades (Nina, 2019). También se ha identificado dentro de este grupo a *Streptococcus* β -hemolítico del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) responsables de producir la faringoamigdalitis o amigdalitis (Guevara et al., 2008). Siendo estas dos especies las causantes más comunes de estos procesos infecciosos, también es importante mencionar que pueden causar infecciones como adenoiditis, sinusitis y otitis media (Córdova et al., 2020).

Dado las circunstancias, muchos pacientes optan por automedicarse, dando lugar a la resistencia a los antibióticos, generando un grave problema. Según la investigación realizada por Martínez (2017), en el Perú, en un estudio sobre resistencia de *S. aureus* a diferentes antibióticos, se encontraron a los de primera línea utilizados en los diferentes tratamientos, así como a la meticilina, ciprofloxacino, eritromicina, azitromicina y gentamicina. Por otro lado, se ha reportado la resistencia de *S. pyogenes* a los macrólidos, lincosamidas, estreptograminas B (Bisso, 2018). Resultando más difícil tratar las enfermedades debido a la resistencia que adquieren estas bacterias, disminuyendo la eficacia de los antibióticos y reduciendo constantemente el uso de medicamentos para posibles tratamientos.

En la búsqueda de tratamientos alternativos, la fitoterapia viene siendo habitual en el manejo de infecciones respiratorias. Las plantas medicinales han sido utilizadas durante siglos por sus propiedades curativas, y en la actualidad, *H. sabdariffa*, se presenta como opción por sus atributos terapéuticos y funcionales dado a su concentración de minerales, vitaminas y compuestos bioactivos llamados fitoquímicos, los que se encuentran concentrados en las flores (Cruz et al., 2020), con efectos antibacterianos frente *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otras bacterias (Al., 2018).

Teniendo como base investigaciones internacionales, nacionales y tomando en cuenta que no hay investigaciones con esta planta frente a *S. pyogenes*, se quiere ser un aporte y dar a conocer sobre las propiedades y su actividad antimicrobiana en el Perú, especialmente en el departamento de Lambayeque, por lo cual, se planteó la siguiente interrogante: ¿Tiene

actividad antimicrobiana *in vitro* el extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*?, con el objetivo de determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, utilizando la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida. Con la finalidad de convertirse en una nueva alternativa fitoterapéutica para el uso en el ámbito medicinal natural.

CAPÍTULO I. DISEÑO TEORICO

1.1 Antecedentes

Abdel et al. (2019), determinaron el contenido de fenólicos totales, flavonoides totales y evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos crudos ricos en fenólicos (CPRE) de *Hibiscus sabdariffa*, *Brassica oleracea* var. capitata f. rubra y *Beta vulgaris* frente a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Aspergillus ochraceus*. Los estudios mostraron que los extractos ricos en fenoles presentaban actividad antibacteriana y antifúngica. Los estudios fitoquímicos indicaron la presencia de 4.2 mg/100 de antocianinas; 2000 mg/100 de fenoles y 430 mg/100 de flavonoides. Estos compuestos provocaron deformaciones celulares y pérdida de contenido celular tanto en bacterias como en hongos. Se concluyó que el CPRE de *H. sabdariffa* fue el más potente.

Cruz et al. (2020), en su investigación evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos de la Flor de Jamaica obtenidos de etanol, agua, acetona, ácido acético e hipoclorito de sodio (4%) frente a bacterias Gram negativas y Gram positivas aisladas de alimentos, mediante distintas concentraciones de la flor de *H. sadariffa*. Se realizó, el método de difusión en pozos contra los microorganismos, los que fueron incubados en Caldo Soya Trypticaseína (CST), en un rango de temperatura de 28-37°C a 180 rpm/24h. Se demostró que los extractos de esta flor al 10% con los diferentes solventes tuvieron actividad antibacteriana contra *Streptococcus* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* y *Staphylococcus* sp.

Olowo et al. (2021), evaluaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos etanólicos de hojas de *Hibiscus asper* e *H. sabdariffa* frente a *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella aerogenes*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Moraxella catarrhalis* y *Salmonella typhi*, se utilizó un ensayo de difusión en pozo de agar con un rango de concentración de 3,13 a 100 mg/ml. Los diámetros de la zona de inhibición para *H. asper* fueron para *B. cereus* (15,00 ± 1,00a), *E. coli* (11,67 ± 0,58b), *S. aureus* (7,67 ± 0,58c), *P. aeruginosa* (6,67 ± 0,58d) y *S. typhi* (5,67 ± 0,58e). En cambio *H. sabdariffa* para *B. cereus* (15,33 ± 1,15a), *M. catarrhalis* (11,33 ± 1,15b), *S. aureus* (11,00 ± 1,00bc), *K. aerogenes* (9,67 ± 0,58c), *P. aeruginosa* (8,00 ± 1,00d) y *P. vulgaris* (7,67 ± 0,57e). Solo *S. typhi* fue resistente al extracto de *H. sabdariffa*. Sin embargo, mostró una mayor actividad antimicrobiana con los demás microorganismos.

Padilla et al. (2022) determinaron el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* L. sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Mediante la técnica de difusión

en disco de Kirby Bauer en pozos, a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Posteriormente, se realizó la medición de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas. Resultando que a las 24 horas la concentración de 100% obtuvo mayor efecto antibacterial con halo de inhibición de 13.77 mm, al igual que a las 48 horas con halo de inhibición de 14.23mm. Concluyendo que el extracto etanólico si presenta actividad antibacterial sobre las cepas de *S. mutans*.

De La Rosa, et al (2022), evaluaron las propiedades funcionales y aplicaciones terapéuticas de las antocianinas de la flor de Jamaica; describen que la antocianina contiene principalmente cianidina-3-sambubiósido, la delphinidina-3-glucósido, la cianidina-3-glucósido y la delphinidina-3-sambubiósido, estos compuestos le confieren el color rojo característico de la flor de Jamaica y de sus potentes propiedades antiinflamatorias y antioxidantes; también presentan ácidos orgánicos como el cítrico, málico y tartárico; polisacáridos, flavonoides, vitaminas A y C y minerales como el calcio, hierro, potasio, fósforo y magnesio, que le confiere propiedades antiinflamatorias, diuréticas y antihipertensivas. Las antocianinas combaten al *Streptococcus* beta hemolítico mediante la destrucción de su pared celular y la alteración de su membrana celular. Estos compuestos polifenólicos dañan la estructura bacteriana, interfieren con su metabolismo y pueden generar estrés oxidativo. Esto puede llevar a debilitar la integridad de la bacteria y puede llevar a su lisis y muerte celular.

Fitri et al. (2023), investigaron las actividades antibacterianas de extractos acuosos de zumos de manzana (*Pyrus Malus* L.) y de decocción de cáliz de *H. Sabdariffa* L. contra *S. aureus*. Se realizó mediante un método de microdilución. Se comparó la potencia antibacteriana mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI). El contenido total de metabolitos antibacterianos se extrajo mediante un método de maceración. *H. sabdariffa* mostró una actividad antibacteriana significativa con una susceptibilidad CMI en el rango de 3,9- 7,81 µg/mL y en el ensayo fitoquímico se encontraron alcaloides, flavonoides, polifenoles, taninos y quinonas. Se concluyó que las infecciones causadas por *S. aureus* pueden desarrollarse como fórmulas herbales alternativas en compuestos bioactivos procedentes de *H. sabdariffa*.

Harum y Suswati, (2023), compararon el efecto inhibidor entre la combinación del extracto de la flor de *H. sabdariffa* L. y hoja de té verde (*Camellia sinensis*) con el antibiótico vancomicina frente a *S. aureus* resistente a los antibióticos meticilina (MRSA). Se aplicó el método de difusión en disco de Kirby Bauer con concentraciones de 100%, 50%, 25% y 12.5%

y se determinó el contenido mínimo inhibitorio (CMI). La combinación CMI de *H. sabdariffa* y el extracto de té verde contra el crecimiento de la bacteria fue del 12,5%. y hubo diferencias significativas a concentraciones de 100%, 50 %, y 25% contra el crecimiento de bacteria MRSA y vancomicina 30 mg. Se concluyó que el extracto tiene una mayor sensibilidad que el antibiótico vancomicina a las bacterias MRSA.

Salah et al. (2023), investigaron los efectos antibacterianos *in vitro* de tres tipos de extractos de los cálices secos (agua ácida, etanol y acuoso) de *H. sabdariffa*, se aplicó la técnica de difusión en pozo a diferentes concentraciones 0,0, 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL. Como control positivo se utilizó alrededor del 0,2% de clorhexidina (CHX) y el análisis fitoquímico se realizó utilizando métodos estándar. La actividad antibacteriana mostró que los extractos ácidos de agua y etanol mostraron la tasa de inhibición de 91,2 % y 92 % en *Streptococcus mitis*, y el 91,34 % y 94,53 % en *Streptococcus oralis*. Los análisis fitoquímicos revelaron flavonoides, glucósidos, fenoles y alcaloides. Se concluyó que el extracto de etanol al 70% y el extracto acuoso acidificado tuvieron mayor actividad antimicrobiana.

Sehim et al. (2023), investigaron la eficacia antibacteriana de los extractos de plantas medicinales de *Salvia officinalis* L.(hojas), *Ziziphus spina-christi* L.(hojas) e *Hibiscus sabdariffa* L.(flores) contra *Enterobacter cloacae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus*. Se utilizó el método de difusión en pozos de agar. El resultado reveló que *H. sabdariffa*, mostró inhibición del crecimiento de $39,6 \pm 0,20$ mm contra *E. coli*. El 50% eran sensibles a piperacilina/tazobactam (TZP) según la zona de inhibición, pero menos que el extracto. El ensayo sinérgico demostró el papel prometedor del uso de una combinación de *H. sabdariffa* L. y (TZP), en un examen microscópico de *E. coli*, se reveló una muerte celular. Se concluyó que el extracto metanólico de *H. sabdariffa* L. fue el más eficaz, candidato prometedor para desarrollar terapias naturales alternativas para tratar infecciones.

Abdaldafi et al. (2024), investigaron las actividades antimicrobianas, antioxidantes y los contenidos fitoquímicos de *H. sabdariffa* (frutos) y *Acacia nilotica* (vainas). Los ensayos antimicrobianos de los extractos etanólicos contra *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *Klebsiella* y *Candida albicans*, mostraron una zona de inhibición de 16 a 20 mm. En el análisis fitoquímico del extracto de *H. sabdariffa* fue rico en fenoles, flavonoides y alcaloides, pero no se detectaron taninos, triterpenos ni saponinas y la actividad antioxidante del extracto de *H. sabdariffa* fue débil. Se concluyó que todos los extractos mostraron inhibición y que estos hallazgos

proporcionaron evidencia científica que ampara los usos tradicionales medicinales de los extractos y muestran el potencial prometedor de estas plantas con fines medicinales.

Bagus et al. (2024), investigaron la concentración mínima de compuestos en el extracto de *H. Sabdariffa* L. para inhibir la actividad metabólica y matar *S. mutans in vitro*. Se realizó la extracción de la flor de *H. Sabdariffa* L. con ayuda de agua destilada, y se realizaron diluciones para obtener concentraciones del extracto, se expusieron varios cultivos de *S. mutans* a diversas concentraciones de la flor y luego se realizó un recuento de colonias en cada cultivo para identificar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y la Concentración Mínima Bactericida (MBC). Se encontró que *S. mutans* tuvo un crecimiento del 0% a una concentración entre el 25% y el 100%, y tuvo un crecimiento del 7,1%/92,9% de inhibición del crecimiento a una concentración del 12,5%. La MBC del extracto de la flor contra *S. mutans* fue del 25 % y la MIC del extracto de flor contra *S. mutans* fue del 12,5 %.

Venkatesan et al. (2024), evaluaron la actividad antibacteriana y antimicótica del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* L. contra *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, y *Candida albicans*. Mediante ensayo de difusión en pocillos, empleando agar Müller-Hinton y para *C. albicans* usando caldo Mueller Hinton estéril (MHB y para la Concentración Mínima Inhibitoria se determinó mediante el método de microdilución. Se mostró un halo de inhibición de 13 mm para *S. aureus* y 11mm para *E. coli*. La CMI mostró inhibición para *S. aureus* en una concentración de 128 mg/ml y para *E. coli* fue 512 mg/ml. Se concluyó que el extracto presentó actividad contra *S. aureus* y *E. coli*, pero no para el resto de microorganismos en estudio.

1.2 Bases teóricas

S. aureus, es uno de los importantes patógenos oportunistas responsables de causar infecciones del tracto respiratorio superior. Se encuentra en el microbiota nasofaríngea de los niños en edad preescolar y pacientes con enfermedad pulmonar subyacente, pero también existe población que es portadora asintomática de *S. aureus* en la nasofaringe. Además, puede aislarse en muestras respiratorias de pacientes con enfermedad respiratoria crónica, estas infecciones pueden presentar un curso benigno, pero en algunos casos pueden provocar complicaciones como otitis, mastoiditis, sinusitis, o patologías más graves como los abscesos retrofaríngeos o epiglotitis (Gomes, 2018).

S. pyogenes, es una bacteria que frecuentemente causa infecciones en niños, adolescentes y adultos. Son residentes de la boca y provocan invasión, provocando enfermedades de distinta índole, es un patógeno humano capaz de desencadenar una amplia variedad de enfermedades, desde infecciones faríngeas (Castro et al., 2014). La faringoamigdalitis es una infección respiratoria alta que afecta la faringe y amígdalas palatinas, que puede afectar también los alrededores de la faringe, los signos que pueden encontrarse pueden ser inflamación faringoamigdalina con o sin exudados, petequias en el paladar y adenitis cervical submandibular (Delfino et al., 2023). *S. pyogenes* se puede propagar fácilmente por contacto directo o transmisión de gotas a través de la tos y estornudos. (I Bru, 2017).

H. sabdariffa es una planta medicinal perteneciente al género *Hibiscus* dentro de la familia Malvaceae. Es un arbusto corto tropical anual, herbáceo originario de África tropical, su cultivo se ha extendido en México, Sudeste Asiático, América Central y del Sur, gracias a que puede crecer en suelos de baja fertilidad y escasa humedad (Padilla, et al., 2022). Presenta compuestos médicos con propiedades nutricionales y medicinales utilizándose para el tratamiento de enfermedades (Abdaldafi, 2023). Sus constituyentes fitoquímicos, actividad antimicrobiana y citotoxicidad, es gracias a los compuestos más comunes como: Ácido hibisco, ácido hidroxycítrico, ácido clorogénico entre otros compuestos fenólicos. Asimismo, componentes como glucósidos cardíacos, flavonoides, saponinas y alcaloides, los cuales exhiben actividades antibacterianas *in vitro* contra *S. aureus*, *Serratia marcescens*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Pseudomonas fluorescencia*, entre otras (Abdel et al., 2019).

Los principios activos con respecto a la capacidad antimicrobiana de flor de Jamaica en estudios *in vitro* se ha vinculado a los flavonoides, los cuales pueden formar complejos con las paredes celulares de las bacterias, facilitando así la penetración del extracto, lo que implica

diversas etapas metabólicas, como la inhibición de la translocación de proteínas involucradas en el transporte de electrones, procesos de fosforilación y otras reacciones enzimáticas, resultando en un incremento de la permeabilidad de la membrana y la consiguiente liberación de componentes celulares bacterianos (Abdel et al., 2019).

También se ha sugerido que la eficacia de los compuestos fenólicos como agentes antimicrobianos varía con la concentración; a concentraciones bajas, estos compuestos inhiben las funciones enzimáticas de los microbios, mientras que a concentraciones más altas pueden provocar la desnaturalización proteica. Su estructura juega un papel importante en su actividad antimicrobiana, en particular, los grupos funcionales como los hidroxilos, que facilitan la deslocalización de electrones y pueden funcionar como donadores de protones, alterando el gradiente de pH a través de la membrana citoplasmática bacteriana. Esto lleva a una reducción en la fuerza motriz de los protones y el agotamiento de la reserva energética, culminando en la muerte celular (López et al., 2020).

1.3 Operacionalización o categorización de variables

Operacionalización de variables

Variable	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Tipos de variable	Escala de medición
Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i> .	Inhibición o destrucción de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i> , por el extracto etanólico	Presencia y ausencia de halo de inhibición	Diámetro del halo de inhibición (mm)	Dependiente	Razón (mm)
Extracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> (flor de Jamaica)	Capacidad del extracto etanólico de la flor de <i>H. sabdariffa</i> para la inhibición y destrucción del microorganismo	Actividad antimicrobiana frente a microorganismos	Concentraciones de los extractos (800, 600, 400, 200, 100 mg/mL)	Independiente	Razón (mg/mL)

CAPITULO II. DISEÑO METODOLÓGICO

2.1 Tipo de investigación

Tipo de investigación: La investigación es de tipo aplicada; por su enfoque, es experimental y cuantitativa (Paragua et al., 2022).

2.2 Diseño de contrastación de hipótesis ó Procedimiento a seguir en la investigación

Diseño de investigación: En la investigación se utilizó el diseño experimental de estímulo creciente, los grupos experimentales seleccionados fueron 3 cepas de *S. aureus* y *S. pyogenes* respectivamente, a las que se les expuso a las concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*: 100, 200, 400, 600 y 800 mg/mL, conforme a este diseño se trabajó con dos variables, la independiente, el extracto etanólico de *H. sabdariffa* y la dependiente, el crecimiento de las cepas *S. aureus* y *S. pyogenes*.

2.3 Población, muestra

Población

La población estuvo conformada por las cepas de *S. aureus* y *S. pyogenes* pertenecientes al cepario del Laboratorio de investigación de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNPRG y los cálices de *H. sabdariffa* obtenidos del mercado modelo – Chiclayo.

Muestra

La muestra estuvo representada por 2 especies, 3 cepas que fueron enfrentadas a 5 concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 400 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml) del extracto etanólico de las flores de *H. sabdariffa*, (2 especies x 3 cepas x 5 concentraciones = 30). Por lo tanto, 30 muestra x 5 repeticiones resultó un total de 150 unidades experimentales.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Procedimiento

a. Reactivación de las Cepas Bacterianas

Para la reactivación de las cepas se utilizó un tubo con caldo Caldo Tripticasa Soja, al cual se le inoculó una asada de la cepa bacteriana y se incubó a 37° por un lapso de 24h, luego se sembró una asada de la cepa reactivada en placas de agar sangre se determinó la producción de hemólisis y las características de colonia de *S. aureus* y *S. pyogenes* (Anexo 1). Luego las

cepas fueron sometidas a la prueba de la coagulasa, bacitracina y catalasa (Anexo 2 y 3) respectivamente para verificar la especie (Bagatolli, 2017).

b. Obtención del extracto etanólico de las flores de *Hibiscus sabdariffa*

Las flores se compraron en los centros naturistas de la ciudad de Chiclayo, departamento de Lambayeque en horas de la mañana, se trasladaron al Laboratorio de investigación de Microbiología de la Universidad Nacional “Pedro Ruiz Gallo”, y se procesaron según la metodología de Gonzales (2004), se lavaron las flores con abundante agua, luego se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% por un espacio de 5 minutos. Se enjuagaron con agua destilada estéril. Luego se colocaron en una fuente de vidrio grande estéril y se dejaron secar en una estufa a 45°C durante 24 a 48 horas. Las flores secas se trituraron en un mortero estéril y se colocaron en un frasco de boca ancha. Se le agregó alcohol de 96° para su maceración en una proporción de 1:2 por 7 días (Anexo 4). Después de la maceración se realizó el filtrado, el cual se colocó en un crisol estéril y se llevó a estufa a 37°C para su evaporación (Anexo 5). El extracto que se obtuvo se colocó en frasco de color ámbar debidamente pesado hasta su utilización (Anexo 6).

c. Concentraciones del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa*

Se realizará según la metodología de Bagus et al. (2024), la solución madre se preparó a partir de 10 gramos de extracto etanólico de los cuales fueron diluidos y llevados a 10 mL de alcohol al 40 %, obteniéndose una concentración de 1000 mg/mL. A partir de esta solución madre se procedió a realizar las respectivas diluciones sucesivas hasta que se obtuvieron las concentraciones de 100 mg/mL, 200 mg/mL, 400 mg/mL, 600 mg/mL, 800 mg/mL (Anexo 7 y 10).

d. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las flores de *Hibiscus sabdariffa*

Para la preparación del inóculo bacteriano se utilizó el Manual de procedimientos para pruebas de susceptibilidad del Instituto Nacional de Salud [INS] (2002), se realizó mediante el método modificado de difusión en disco de Kirby Bauer, se empleó solución salina fisiológica esterilizada como diluyente para 1 o 2 colonias del cultivo bacteriano puro del que se realizó la estandarización hasta obtener una densidad poblacional semejante al tubo N° 0.5 del Nefelómetro de Mc Farland equivalente a 1.5×10^8 UFC/ ml (Anexo 8).

Se preparó placas de Petri, con Agar Müller-Hinton (de 20 ml a 25 ml por placa) para cada uno de los microorganismos empleados en la investigación. Las placas de agar M-H, se sembraron con un hisopo estéril por diseminación sobre la superficie del medio, de tal manera que el crecimiento bacteriano cubrió la superficie del agar, se dejó secar durante cinco minutos, posteriormente se colocaron los discos con 10 ul de cada una de las concentraciones de los extractos etanólicos y en el centro se colocó el disco de control con de etanol al 40% (Anexo 9). Luego se llevaron las placas a incubación a 37 °C por 24 horas. Trascurrido el tiempo se midieron los halos de inhibición (mm) y se registró la medida de cada una de las cepas.

e. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de las flores de *Hibiscus sabdariffa*

Se adecuó la técnica según el Manual de procedimientos para pruebas de susceptibilidad del INS (2002), donde se diluyó a partir de la concentración que tuvo menos efecto inhibitorio realizada en la prueba de Susceptibilidad bacteriana por el método de difusión en disco de Kirby Bauer, así es como se realizaron diluciones hasta obtener concentraciones decrecientes del extracto en tubos con Caldo Tripticasa Soja. A un tubo con Caldo Tripticasa Soja no se le inoculó y se tomó como control de esterilidad y otro con el microorganismo sin que se le añada el extracto como control del inóculo. Después de un período de 18 a 24 horas de incubación a 37 °C se observó si hubo crecimiento o no en base a la turbidez de los tubos, lo que indicó el desarrollo bacteriano, el tubo que contuvo la menor concentración del agente antimicrobiano que inhibió completamente el crecimiento pudo definir la MIC.

f. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto etanólico de las flores de *Hibiscus sabdariffa*

Los tubos en los cuales no se observó crecimiento durante la prueba del CIM se sembraron en placas de Agar Tripticasa Soja con un asa calibrada y se incubaron a 37 °C durante 48 horas y luego se observó si hubo crecimiento en dichas placas. La CMB se determinó en la concentración más baja del agente antimicrobiano necesaria para matar el 99% del inóculo inicial después de incubación bajo condiciones estandarizadas (Ramírez y Marín, 2009).

Técnica

La técnica utilizada fue la observación, se realizó un registro visual del halo de inhibición, así como la presencia de turbidez y crecimiento bacteriano (Paragua et al., 2022).

Instrumentos

Se utilizaron fichas de recolección de datos, mediante tablas para los resultados del método de difusión en disco de Kirby Bauer, las medidas de los halos de inhibición (Anexo D), para los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida (Anexo E). Además, se utilizó celular, laptop con conexión a internet para la búsqueda, recolección de información y para registrar la información.

Análisis Estadístico de los Datos

Para el análisis estadístico de los datos, se aplicó el ANOVA con arreglo factorial de $2 \times 3 \times 1 \times 5 \times 5$, siendo el primer factor las especies bacterianas, el segundo factor número de cepas utilizadas de cada especie; el tercer factor es de los extractos de plantas utilizadas y el cuarto factor son las concentraciones de los extractos etanólicos y el quinto las repeticiones. Además, se aplicó la Prueba de Tukey (0.05) como complemento de la ANOVA. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el software estadístico: Statistics versión y Microsoft Excel.

CAPITULO III. RESULTADOS

3.1 Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica) frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*

Las cepas *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* fueron sometidas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa* observándose inhibición en las dos especies bacterianas estudiadas (Anexo 11 y 12); así mismo se puede observar en la presente tabla que existe una mejor actividad antibacteriana en las cepas de *S. aureus* (Tabla 1; Anexo 17 y 18).

Tabla 1

Promedios de los diámetros (mm) de los halos de inhibición obtenidos por las cepas de Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes frente al extracto etanólico de Hibiscus sabdariffa.

Extracto etanólico	Especie	Cepa	Concentraciones (mg/mL)					\bar{X}
			100	200	400	600	800	
<i>H. sabdariffa</i>	<i>S. aureus</i>	Cepa 1	10,2	12,2	17,4	18,6	20,2	15,72
		Cepa 2	12,4	14,8	19,4	21,4	23,2	18,24
		Cepa 3	10,2	12,6	17	18,6	20,4	15,76
		Media	10,93	13,2	17,93	19,53	21,26	16,57
	<i>S. pyogenes</i>	Cepa 1	11	14,6	18	19,4	21,2	16,84
		Cepa 2	9,6	13	15,8	19,4	22,2	16,00
		Cepa 3	8,6	13	16,2	18,2	20	15,20
Media		9,67	13,4	16,67	19	21,13	15,97	

3.2 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*

Con respecto a la concentración mínima inhibitoria se realizó a partir de la concentración de 100 mg/mL realizando diluciones dobles para obtener las concentraciones de 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL y 6,25 mg/mL más el control negativo y control positivo para todas las cepas de *S. aureus* y *S. pyogenes*. Para las cepas *S. aureus* la CMI fue de 25 mg/mL con respecto a las tres cepas (Anexo 13), mientras que para las cepas de *S. pyogenes* reportó la CMI de 12,5 mg/mL para la cepa 1 y 2, y con respecto a la cepa 3 fue de 6,25 mg/mL (Tabla 2; Anexo 14).

Tabla 2

*Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes**

Cepas bacterianas	Concentraciones (mg/mL)					Control (+)	Control (-)
	100	50	25	12,5	6,25		
<i>Staphylococcus aureus</i>							
Cepa 1	-	-	-	+	+	+	-
Cepa 2	-	-	-	+	+	+	-
Cepa 3	-	-	-	+	+	+	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>							
Cepa 1	-	-	-	-	+	+	-
Cepa 2	-	-	-	-	+	+	-
Cepa 3	-	-	-	-	-	+	-

3.3 Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*

En la tabla 3 se presentan los resultados de la CMB para las cepas de *S. aureus* en la que se puede observar que el extracto etanólico de *H. sabdariffa* tiene efecto bactericida a concentración de 25 mg/mL. Mientras que para *S. pyogenes* la CMB para la cepa 1 y 2 fue de 12,5 mg/mL (Anexo 15) y para la cepa 3 fue de 6,25 mg/mL. (Anexo 16).

Tabla 3

Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto etanólico de Hibiscus sabdariffa frente a Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes

Cepas bacterianas	Concentraciones (mg/mL)					Control (+)	Control (-)
	100	50	25	12,5	6,25		
<i>Staphylococcus aureus</i>							
Cepa 1	-	-	-	+	+	+	-
Cepa 2	-	-	-	+	+	+	-
Cepa 3	-	-	-	+	+	+	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>							
Cepa 1	-	-	-	-	+	+	-
Cepa 2	-	-	-	-	+	+	-
Cepa 3	-	-	-	-	-	+	-

Análisis estadístico

Teniendo en cuenta las variables de estudio, estas fueron sometidas al análisis estadístico inferencial (ANOVA) con el objetivo de contrastar las hipótesis planteadas que nos permitan determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *H. sabdariffa* frente a las cepas de *S. aureus* y *S. pyogenes*; asimismo según los resultados obtenidos se aplicará la prueba de significancia de Tukey para poder determinar si existe o no diferencia significativa entre las variables de estudio.

Hipótesis

Primera hipótesis:

H₀: No existen diferencias significativas entre la susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

H₁: Sí existen diferencias significativas entre la susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Segunda hipótesis:

H₀: No existen diferencias significativas entre las concentraciones del extracto etanólico en relación con su capacidad de inhibición bacteriana.

H₁: Sí existen diferencias significativas entre las concentraciones del extracto etanólico en relación con su capacidad de inhibición bacteriana.

Tercera hipótesis:

H₀: No existen diferencias significativas entre las medidas de los halos de inhibición de las cepas bacterianas generadas por cada concentración del extracto.

H₁: Sí existen diferencias significativas entre las medidas de los halos de inhibición de las cepas bacterianas generadas por cada concentración del extracto.

En la tabla 4 se puede observar los resultados de análisis de varianza aplicados a las variables de estudio con respecto a las cepas de *S. aureus* y a las concentraciones empleadas, observándose de que no existe diferencias significativas entre las cepas de *S. aureus*, pero si se observa diferencias significativas entre las concentraciones aplicadas y entre la interacción cepa – concentración.

Tabla 4

Prueba ANOVA para evaluar las diferencias según concentración del extracto etanólico de H. sabdariffa y la variabilidad entre las cepas de S. aureus según los halos de inhibición.

Análisis de varianza de los promedios de los halos de inhibición (mm)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	p - valor	Decisión
Cepa	104,187	2	52,093	3,094	0,051	Aceptar H ₀
Concentraciones	1137,413	4	284,353	111,24	0,000	Rechazar H ₀
Cepa * Concentración	1243,947	14	88,853	73,635	0,000	Rechazar H ₀

Nota. gl: grados de libertad; F: estadístico F de Fisher. Sig.: valor de significancia: $\alpha = 0,05$.

Se rechaza H₀ cuando $p < 0,05$.

Prueba de Tukey (post hoc)

En la siguiente tabla se aprecia la prueba de significancia de Tukey aplicada a las concentraciones en la cual se demuestra que existen diferencias en cada una de las concentraciones utilizadas cuya influencia nos permite determinar que a medida que aumenta la concentración aumentan los promedios de los halos de inhibición (Tabla 5; Figura 1).

Tabla 5

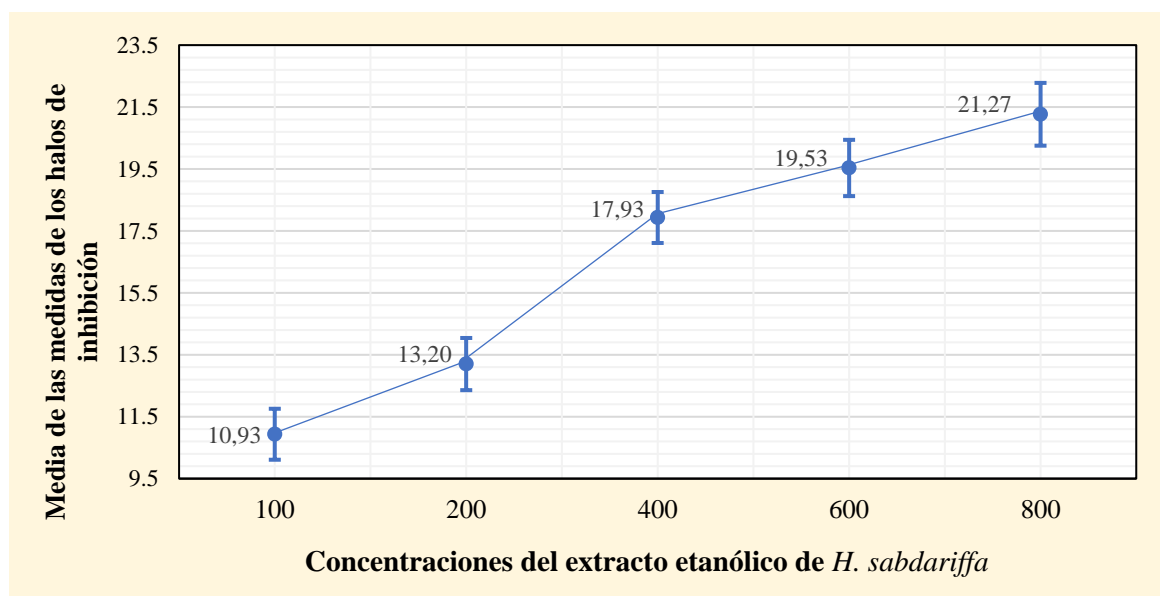
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de S. aureus según la concentración del extracto etanólico de H. sabdariffa.

Concentraciones (mg/mL)	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
100	10,93	a			
200	13,20		b		
400	17,93			c	
600	19,53			c	
800	21,27				d
Significancia bilateral (p –valor)		1,000	1,000	0,058	1,000

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa.

Figura 1

Comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de S. aureus según la concentración del extracto etanólico de H. sabdariffa.



En la Tabla 6 se evidencia que existe variabilidad en el comportamiento de las cepas de *S. aureus* frente a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa* como se aprecia en la figura 2.

Tabla 6

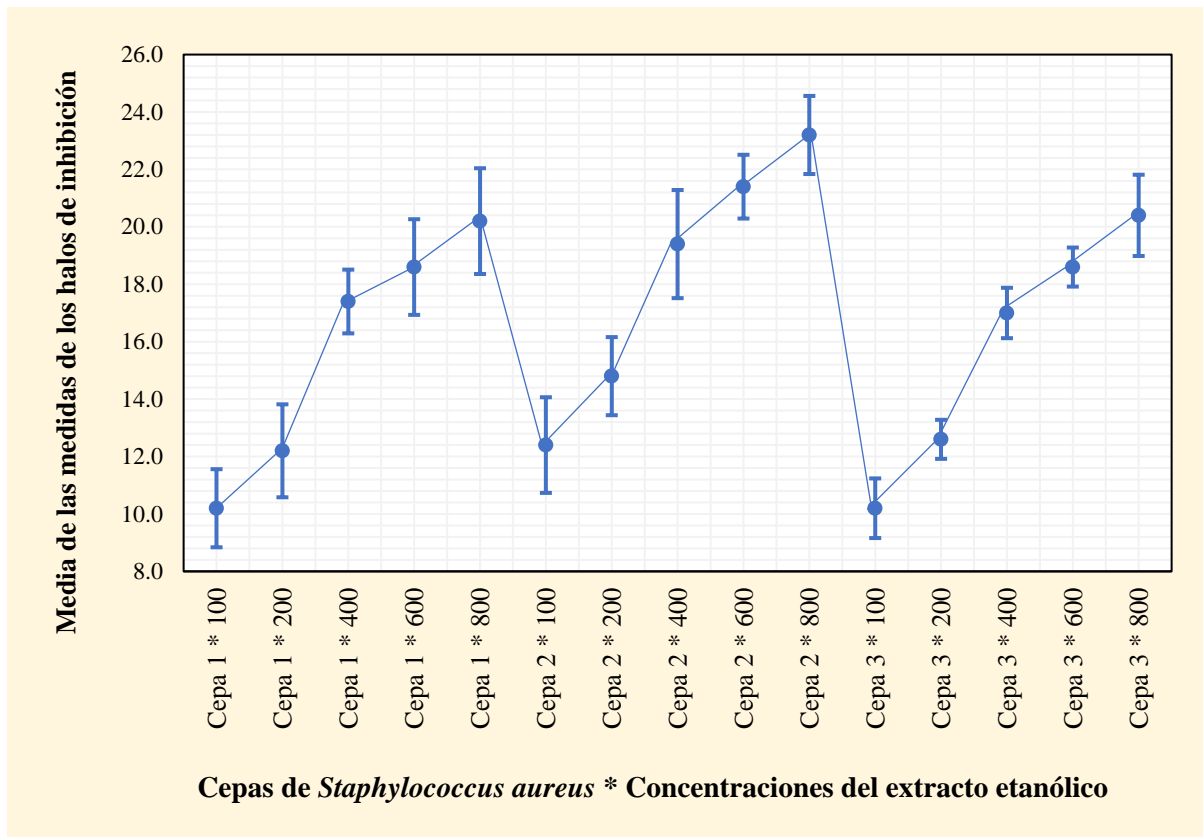
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas de S. aureus y concentraciones del extracto etanólico de H. sabdariffa.

Cepa * CC	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Cepa 1 * 100	10,20	a						
Cepa 3 * 100	10,20	a						
Cepa 1 * 200	12,20	a						
Cepa 2 * 100	12,40	a	b					
Cepa 3 * 200	12,60	a	b					
Cepa 2 * 200	14,80		b	c				
Cepa 3 * 400	17,00			c	d			
Cepa 1 * 400	17,40				d			
Cepa 1 * 600	18,60				d	e		
Cepa 3 * 600	18,60				d	e		
Cepa 2 * 400	19,40				d	e	f	
Cepa 1 * 800	20,20					e	f	
Cepa 3 * 800	20,40					e	f	
Cepa 2 * 600	21,40						f	g
Cepa 2 * 800	23,20							g
Significancia bilateral (p –valor)		0,062	0,062	0,127	0,062	0,396	0,236	0,396

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa. CC: concentración.

Figura 2

Comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas de *S. aureus* y concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.



Hipótesis

Primera hipótesis:

H₀: No existen diferencias significativas entre la susceptibilidad de las cepas de *Streptococcus pyogenes*.

H₁: Sí existen diferencias significativas entre la susceptibilidad de las cepas de *Streptococcus pyogenes*.

Segunda hipótesis:

H₀: No existen diferencias significativas entre las concentraciones del extracto etanólico en relación con su capacidad de inhibición bacteriana.

H₁: Sí existen diferencias significativas entre las concentraciones del extracto etanólico en relación con su capacidad de inhibición bacteriana.

Tercera hipótesis:

H₀: No existen diferencias significativas entre las medidas de los halos de inhibición de las cepas bacterianas generadas por cada concentración del extracto.

H₁: Sí existen diferencias significativas entre las medidas de los halos de inhibición de las cepas bacterianas generadas por cada concentración del extracto.

En la presente tabla se evidencia el análisis estadístico de varianza de las variables en estudio. En la variable cepas con respecto a *S. pyogenes* existe un número mayor comparado con el valor de significancia (0,05) por ende, no existe diferencia significativa entre las tres cepas. Por el contrario, en el caso de las variables concentración y la interacción cepa – concentración se refleja diferencia significativa ya que el valor de significancia es menor que 0,05 (Tabla 7).

Tabla 7

Prueba ANOVA para evaluar las diferencias según concentración del extracto etanólico de H. sabdariffa y la variabilidad entre las cepas de S. pyogenes según los halos de inhibición.

Análisis de varianza de los promedios de los halos de inhibición (mm)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	p - valor	Decisión
Cepa	33,627	2	16,813	0,91	0,408	Aceptar H ₀
Concentraciones	1217,253	4	304,313	142,27	0,000	Rechazar H ₀
Cepa * Concentración	1270,987	14	90,740	56,74	0,000	Rechazar H ₀

Nota. gl: grados de libertad; F: estadístico F de Fisher. Sig.: valor de significancia: $\alpha = 0,05$.

Se rechaza H₀ cuando $p < 0,05$.

Prueba de Tukey (post hoc)

La prueba de Tukey aplicada a las concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa* frente a las cepas de *S. pyogenes*, demostró que mientras mayor sea la concentración mayor es el halo de inhibición (Figura 3). Así mismo se evidencia la diferencia significativa entre cada una de las concentraciones (Tabla 8).

Tabla 8

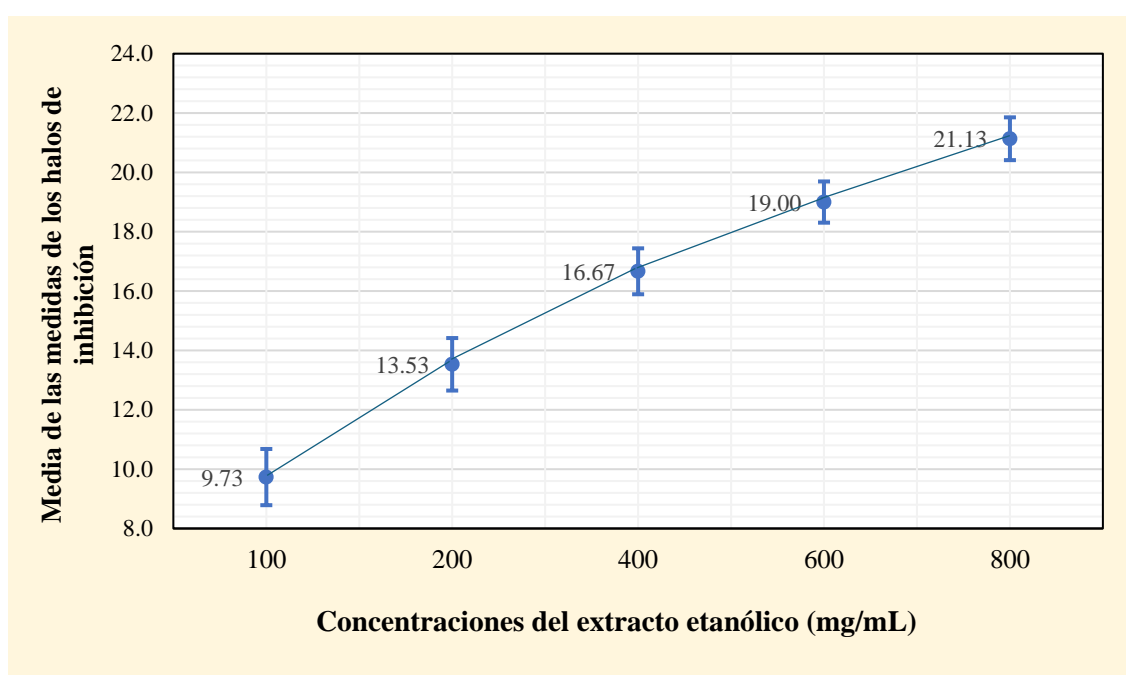
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de S. pyogenes según la concentración del extracto H. sabdariffa.

Concentraciones (mg/mL)	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
100	9,73	a				
200	13,53		b			
400	16,67			c		
600	19,00				d	
800	21,13					e
Significancia bilateral (p –valor)		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa.

Figura 3

Comparación de los promedios de las medidas de los halos de inhibición de S. pyogenes según la concentración del extracto etanólico de H. sabdariffa.



En la Tabla 9 se muestra la variabilidad que existe en el comportamiento de las cepas de *S. pyogenes* frente a la actividad antibacteriana a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa* como se aprecia en la Figura 4.

Tabla 9

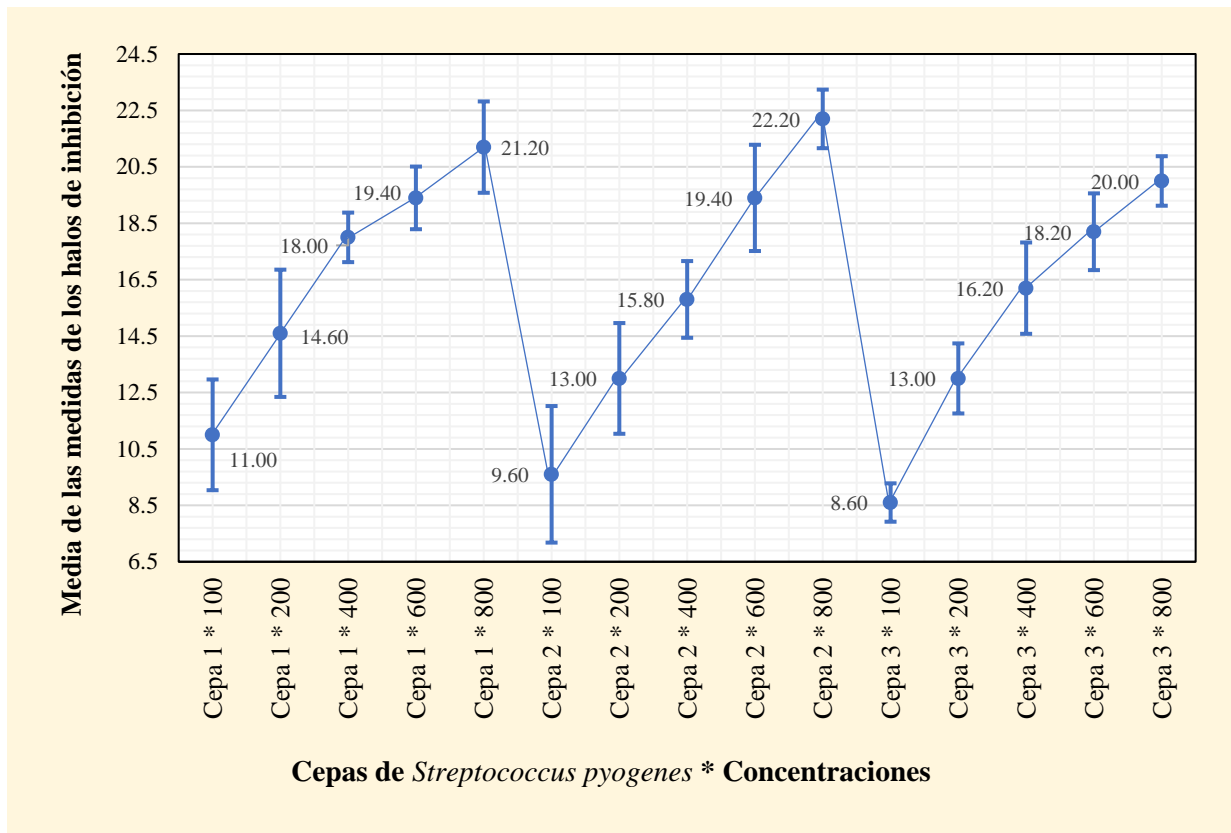
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas S. pyogenes y concentraciones del extracto etanólico de H. sabdariffa.

Cepa * CC	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Cepa 3 * 100	8,60	a						
Cepa 2 * 100	9,60	a						
Cepa 1 * 100	11,00	a	b					
Cepa 2 * 200	13,00		b	c				
Cepa 3 * 200	13,00		b	c				
Cepa 1 * 200	14,60			c	d			
Cepa 2 * 400	15,80			c	d	e		
Cepa 3 * 400	16,20				d	e		
Cepa 1 * 400	18,00					e	f	
Cepa 3 * 600	18,20					e	f	
Cepa 1 * 600	19,40						f	g
Cepa 2 * 600	19,40						f	g
Cepa 3 * 800	20,00						f	g
Cepa 1 * 800	21,00							g
Cepa 2 * 800	22,20							g
Significancia bilateral (p –valor)		0,184	0,456	0,55	0,790	0,184	0,456	0,055

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa. CC: concentración.

Figura 4

Comparación de los promedios de los halos de inhibición según la interacción entre cepas bacterianas *S. pyogenes* y concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.



CAPITULO IV. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se tuvo como objetivo demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *H. sabdariffa* frente a *S. aureus* y *S. pyogenes*, los resultados demostraron que el extracto etanólico de *H. sabdariffa* inhibe el crecimiento de *S. aureus* y *S. pyogenes* a concentraciones de 100 a 800 mg/ml con halos de inhibición de 10,2 mm hasta 23,2 mm para las diferentes cepas de *S. aureus* y de 8,4 mm a 22,2 mm para las cepas de *S. pyogenes*. Resultados semejantes reportados por otros investigadores como Abdel et al., (2019) demostraron que el extracto crudo de *H. sabdariffa* causaba la muerte celular de *S. aureus*. Así mismo, Cruz et al., (2020) en su investigación demostró que los extractos de *H. sabdariffa* al 10%, utilizando solventes como etanol, agua, acetona, ácido acético e hipoclorito de sodio al 4%, inhibían el crecimiento de *Staphylococcus* sp. y *Streptococcus* sp. Por otro lado, Padilla et al., (2022) obtuvo halos de inhibición de 14,23 mm frente a *S. mutans* con el extracto etanólico de *H. sabdariffa*. De la misma manera Abaldafi et al., (2024) demostró que el extracto etanólico de *H. sabdariffa* inhibió el crecimiento de *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, *Klebsiella* y *C. albicans* con halos de inhibición de 16 a 20 mm; resultados semejantes a los encontrados en nuestro trabajo.

Los autores Fitri et al., (2023) y Sehim et al., (2023) mencionan que esta actividad antibacteriana del extracto etanólico de *H. sabdariffa* está relacionado con la elevada concentración de antocianinas (4.2 mg/100), 2000 mg/100 de fenoles y 4.3 m/100 de flavonoides que presentan sus cálices y que le confieren el color rojo característico y especialmente sus principios activos como los polifenoles, flavonoides y alcaloides, taninos y quinonas, que tienen propiedades antiinflamatorias y antibacterianas, actuando sobre la membrana citoplasmática de *S. aureus* y *S. pyogenes* causando deformaciones en la estructura celular a nivel de su pared y membrana citoplasmática provocando pérdida de sustancias al exterior causando lisis y muerte celular. Por su parte, De La Rosa et al., 2022 afirman que las antocianinas son un tipo de flavonoides que tienen propiedades antioxidantes ideales para la prevención de enfermedades de las vías respiratorias, enfermedades gastroentéricas, así como en diferentes tipos de cáncer.

Teniendo en cuenta que en el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *H. sabdariffa* frente a especies de *S. aureus* y *S. pyogenes*, los resultados obtenidos nos demuestran que la especie que presentó una mayor sensibilidad correspondió a *S. aureus* cuyas cepas presentaron promedios de halos de inhibición de 15,72; 15,76 y 18,24 mm respectivamente, mientras que en *S. pyogenes* se evidenció una

menor sensibilidad donde las cepas presentaron promedios de halos de inhibición de 15,16; 16,0; 16,76 mm de diámetro.

Esta pequeña diferencia puede estar relacionada con la estructura de la pared celular de *S. pyogenes* que presenta diferentes proteínas como la proteína M de aspecto fimbrial, proteína F, proteína T, etc., que podrían interferir en el pasaje del extracto al interior de la célula y actuar sobre la membrana citoplasmática, por otro lado, la diferencia entre estas especies puede estar ligada a la procedencia de las cepas, por lo que las cepas de *S. aureus*, procedieron de heridas superficiales siendo probable que hayan estado expuestas a la acción de antibióticos lo que ha permitido una mayor sensibilidad y las cepas de *S. pyogenes* se aislaron de pacientes portadores asintomáticos con faringoamigdalitis, por lo que es probable que estas cepas no hayan estado expuestas a la actividad de antibióticos. Es importante mencionar que ambas especies presentan mecanismos de resistencia a los antibióticos similares, aunque es necesario tener en cuenta la variabilidad genética que puedan exhibir ambas especies.

Realizado el Análisis de Varianza (ANAVA) para evaluar las variables en estudio, se pudo observar que no se acepta la hipótesis nula (H_0) por lo que se determinó de que no existen diferencias significativas entre las diferentes cepas de *S. aureus* y *S. pyogenes*., pero sí con la variable concentración, rechazando la hipótesis nula (H_0) por lo que se puede decir de que existen diferencias significativas entre las diferentes concentraciones, en donde a medida de que las concentraciones se van incrementando también los halos de inhibición se van incrementando, como lo confirma la prueba de significación de Tukey, pudiendo decir que a medida que va aumentando la concentración también se incrementan los diámetros de los halos de inhibición.

Con respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) para las cepas de *Staphylococcus aureus* fue de 25 mg/ml y la CMI y CMB para *Streptococcus pyogenes* fue de 12,5 mg/ml para la cepa 1 y 2 y de 6,25 mg/ml para la cepa 3; nuestros resultados presentan cierta similitud con los de Harum y Suswati (2023), quién determinó el CMI para cepas de SAMR en 12.5%, pero difiere con Venkatezan et al., (2024) cuyo CMI para *S. aureus* fue de 128 mg/ml, está diferencia puede estar relacionado con la genética de las cepas en estudio; por otro lado Bagus et al., (2024), a partir del extracto de *H. sabdariffa* utilizando agua destilada como solvente, determinó el CMI y CMB para cepas de *Streptococcus mutans* en 12, 5 y 25%.

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *H. sabdariffa* si tiene efecto inhibitorio sobre las dos especies bacterianas de *S. aureus* y *S. pyogenes*. La concentración que tuvo mejor actividad inhibitoria frente a las cepas de *S. aureus* y *S. pyogenes* fue de 800 mg/ml, demostrando que sus principios activos presentan un prometedor uso en la medicina natural.

La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *H. sabdariffa* frente a las cepas de *S. aureus* fue de 25 mg/mL y para *S. pyogenes* fue de 6,25 mg/mL en la cepa 3 y 12,5 mg/mL para la cepa 1 y 2, indicando que en pocas concentraciones tiene un alto poder antibacteriano.

La concentración mínima bactericida del extracto etanólico de *H. sabdariffa* para *S. aureus* fue de 25 mg/mL y para *S. pyogenes* fue de 6,25 mg/mL en la cepa 3 y 12,5 mg/mL para la cepa 1 y 2, evidenciando su alto poder bactericida y su posible uso en las infecciones causadas por estas bacterias.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda probar otros tipos de extractos de *H. sabdariffa* como los metanólicos, hexánico, acuosos e incluso en extractos etanólicos liofilizados para evaluar si existe variación en su actividad antimicrobiana.
- Para futuras investigaciones se sugiere ampliar la investigación utilizando otras especies bacterianas, además de hongos y parásitos, expuestos a diferentes concentraciones para que de esta manera se pueda conocer el gran potencial fitoterapéutico que presenta la flor de *H. sabdariffa*.
- Se recomienda formular preparados de uso tópico y/ o de vía oral para el tratamiento de diferentes cuadros infecciosos causados por estos microorganismos de importancia clínica.
- Realizar estudios adicionales para identificar los mecanismos de acción específicos de los compuestos activos en *H. sabdariffa* como los ácidos fenólicos, flavonoides, entre otros, además de realizar investigaciones sobre el nivel de toxicidad que pueden presentar los principios activos de la flor de *H. sabdariffa* en los diferentes extractos aplicando *in vivo* en animales y humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdaldafi, S., Ahamed, E., Isbah, A., Abaas, H., Ismaiel M., Jibin, Z., y Omer, O. (2024). Actividades antimicrobianas, antioxidantes y caracterización fitoquímica de *Acacia nilotica* e *Hibiscus sabdariffa*. *Int J Agric Sc Food Technol* 10(1): 001-005. DOI: [10.17352/2455-815X.000201](https://doi.org/10.17352/2455-815X.000201)
- Abdel, S., Al, A., Sitohy, M., Mosa, B., Ismaiel, A. A., Enan, G., y Osman, A. (2019). Antimicrobial Activity and Chemical Constitution of the Crude, Phenolic-Rich Extracts of *Hibiscus sabdariffa*, *Brassica oleracea* and *Beta vulgaris*. *Molecules*, 24(23), 4280. <https://doi.org/10.3390/molecules24234280>
- Aguilar, F., Niño, J., y Moreno, M. (2015). Portadores Nasofaríngeos de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en personal de Salud del Hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque. *REV EXP MED*, 1(2), 47-51. <https://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/17/15>
- Al, A. (2018). Pharmacological and therapeutic importance of hibiscus sabdariffa- a review. *International Journal Of Pharmaceutical Research*, 10(03). <https://doi.org/10.31838/ijpr/2018.10.03.001>
- Bagus, I., Fulan, M., Liani, S., Dwi, I., Pramita, P., Restiwulan, E., Patera, A., y Ahmad, T. (2024). *Hibiscus sabdariffa* L. Flower Distilled Water Extract Antibacterial Activity towards *Streptococcus mutans*: An in vitro Study. *Research Journal Of Pharmacy And Technology*, 25-30. <https://doi.org/10.52711/0974-360x.2024.00005>
- Bisso, A. (2018). Resistance to antimicrobials. *Rev Soc Peru Med Interna*, 31(2), 50-59. https://www.medicinainterna.net.pe/sites/default/files/revista_vol_23_2/SPMI%202018-2%20Resistencia%20a%20los%20antimicrobianos.pdf
- Calvo, J., y Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1), 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
- Castro, C., Arzola, L., & Kogan, R. (2014). Neumonía grave por *Streptococcus pyogenes*: Presentación de un caso y revisión de la literatura. *Neumol Pediat*, 9(3), 108-111. <https://www.neumologia-pediatrica.cl/index.php/NP/article/view/378/342>

- Cereceres, A., Rodrigo, J., Álvarez, E., y Rodríguez, A. (2019). Ingestión de compuestos fenólicos en la población adulta mayor. *Nutrición Hospitalaria*, 36 (2), 470-478. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.2171>
- Córdova, D., Chávez, C., Bermejo, E., Jara, X., y Santa María, F. (2020). Prevalencia de infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años en un centro materno infantil de Lima. *Horizonte Médico (Lima)*, 20 (1), 54-60. <https://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2020.v20n1.08>
- Cruz, N., Cisneros, M., y Arroyo, V. (2020). Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de *Hibiscus sabdariffa* L. (flor de jamaica) contra bacterias patógenas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5, 64-67. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume5/5/2/13.pdf>
- De La Rosa, X., García, I., Hernández, J., Morales, J., y Quiroz, J. (2022). Antocianinas, propiedades funcionales y potenciales aplicaciones terapéuticas. *Revista Boliviana de Química*, 39 (5), 155-163. <https://www.redalyc.org/journal/4263/426374726001/html/>
- Delfino, M., Moreira, C., Saavedra, M., Urgoiti, M., Aguirre, D., Más, M., Dall'Orso, P., Algorta, G., y Pérez, C. (2023). Detección rápida de antígenos de *Streptococcus pyogenes* en pacientes de 0 a 14 años atendidos en dos servicios de urgencias pediátricas (14/2/2018-13/4/2018). *Archivo de Pediatría del Uruguay*, 94 (1), <https://doi.org/10.31134/ap.94.1.2>
- Fitri, S., Ramdhani, D., Nurrahman, A., y Indrayati, A. (2023). In-vitro anti-Staphylococcal comparison activity of apple (*Pyrus malus* L.) Fruit juices and red roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Calyx decoction. *World Journal Of Pharmaceutical Research*, 12(10). https://wjpr.s3.ap-south-1.amazonaws.com/article_issue/ac79da963d8030c6dee07438aad9f448.pdf
- Galvez, I., Lobos, J., y Peralta, J. (2013). *Plantas medicinales, Principios básicos de Fitoterapia*. Ministerio de Salud.
- Giono, S., Santos, J., Morfín, M., Torres, F., y Alcántar, M. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos para contenerlo. *Gaceta Médica de México*, 156 (2), 172-180. <https://doi.org/10.24875/gmm.20005624>

- Gomes, M. G. (2018). Infecciones respiratorias por *Staphylococcus aureus*: implicación clínica de factores de virulencia y persistencia [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma]. *Dialnet*. <https://ddd.uab.cat/record/201510>
- Gómez, L., Núñez, D., Perozo, A., Bermúdez, J., y Marín, M. (2016). *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple a antibióticos (MDR) en un Hospital de Maracaibo - Venezuela. *Casmera* , 44 (1), 53-65. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222016000100008&lng=es&tlng=es.
- Gonzales, A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Guevara, J., Aguirre, J., Valencia, E., Guevara, J., Williams, F., Cuéllar, E., Barboza, M., y Agurto, W. (2008). Prevalencia de *Streptococcus* beta hemolítico en pacientes con faringoamigdalitis aguda, en un hospital de la ciudad de Chachapoyas, Amazonas. *An Fac med.*, 69(2). <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v69n2/pdf/a04v69n2.pdf>
- Harum, M., y Suswati, I. (2023). Effectiveness Test Combination of roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) and green tea (*Camellia sinensis*) extract with vancomycin antibiotic against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteria in vitro. *Apisio Medika*, 1(1). <https://ejournal.umm.ac.id/index.php/apisio/article/view/26457>
- Herrera, M. (2004). Interpretación de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 39 (1), 61-65. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462004000100007&lng=en&tlng=es.
- I Brú, J. (2018). Infecciones de vías respiratorias altas-1: faringitis aguda y recurrente. *Pediatría integral*, 21(6), 377-398. <https://www.pediatriaintegral.es/publicacion-2017-09/infecciones-de-vias-respiratorias-altas-1-faringitis-aguda-y-recurrente/>
- Instituto Nacional de Salud. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*.

<https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/417394/439893732843877347520191106-32001-1v6txak.pdf>

- López, G., Sumaya, M., Jiménez, E., Sánchez, L., Bautista, P., Medina, R., y Guzmán, J. (2020). En prensa actividad hemolítica, antimicrobiana y antioxidante de extractos acuosos de cálices de jamaica en prensa. *Revista Bio Ciencias*, 7. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e995>
- Martínez, A., Montes, M., Alemañy, J., Marrero, I., Reyna, R., y Cedeño, R. (2017). Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el Hospital Dr. Gustavo Aldereguía Lima. *MediSur*, 15(2), 210-216. <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v15n2/ms10215.pdf>
- Nina, W. (2019). *Presencia de portadores nasales de staphylococcus aureus y su patrón de sensibilidad, en personal asistencial de uci, hospitalización y laboratorio de la "clínica arequipa" noviembre 2018*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/417c2b4d-2b43-4ee5-b220-b6bc075aad6c/content>
- Olowo, J., Bolanle, O., y Omotere, F. (2021). In vitro Antimicrobial Activity of Ethanolic Leaf Extracts of *Hibiscus Asper* Hook. F. and *Hibiscus Sabdariffa* L. on some Pathogenic Bacteria. *Journal Of Scientific Research In Medical And Biological Sciences*, 2(3), 1-12. <https://doi.org/10.47631/jsrmb.v2i3.304>
- Padilla, L., Neyra, K., Huacasi, V., y Macedo, S. (2022b). Efecto antibacterial in vitro del extracto etanolico de *Hibiscus Sabdariffa* L. sobre cepas de *Streptococcus mutans* (1.a ed.).
- Paragua, M., Norberto, L., Paragua, C., Bustamante, N., y Paragua, M. (2022). *Investigación científica Formulación de proyectos de investigación y tesis* (1.a ed.). <https://www.unheval.edu.pe/portal/wp-content/uploads/2022/05/LIBRO-INVESTIGACION-CIENTIFICA.pdf>
- Ramírez, D., Pinto, I., Peraza, M., Orosco, C., y Pacheco, F. (2018). *Hibiscus sabdariffa* L. Una Comparación de compuestos fenólicos totales y flavonoides en cálices y hoja. *Vitae: Academia Biomédica Digital*, 76, 1-5. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7309701>

- Ramírez, L. y Marín, D. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Revista Scientia Et Technica*, 15(42), 263-268. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916714049>
- Salah, R., Haleem, A. M., y Mazin, H. (2023b). Potential effect of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) ethanol extract against *Streptococcus mitis* and *Streptococcus oralis*. *Journal Of Herbal Medicine*, 41. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2023.100710>
- Sehim, A., Amin, B., Yosri, M., Salama, H., Alkhalifah, D., Alwaili, M., y Elghaffar, R. (2023). GC-MS Analysis, Antibacterial, and Anticancer Activities of *Hibiscus sabdariffa* L. Methanolic Extract: In Vitro and In Silico Studies. *Microorganisms*, 11(6), 1601. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061601>
- Valdez, V., Moncayo, S., Cornejo, X., y Del Castillo, J. B. (2019). Actividad Antibacteriana y Antioxidante de los extractos de *Hibiscus escobariae* Fryxell, *Loxopterygium huasango* R. Spruce y *Croton ferrugineus* Kunth. *Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales*, 13(1), 31-38. <https://doi.org/10.53591/cna.v13i1.350>
- Venkatesan, K., Venkatesan, S., & Manivannan, N. (2024). Antibacterial Activity of Hibiscus sabdariffa (Rosella) Using Methanolic Extract. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 16(2). https://journals.lww.com/jpbs/fulltext/2024/16002/antibacterial_activity_of_hibiscus_sabdariffa.36.aspx?context=latestarticles

ANEXOS

Anexo 1

Cepas de *Streptococcus pyogenes* mostrando beta hemolisis



Anexo 2

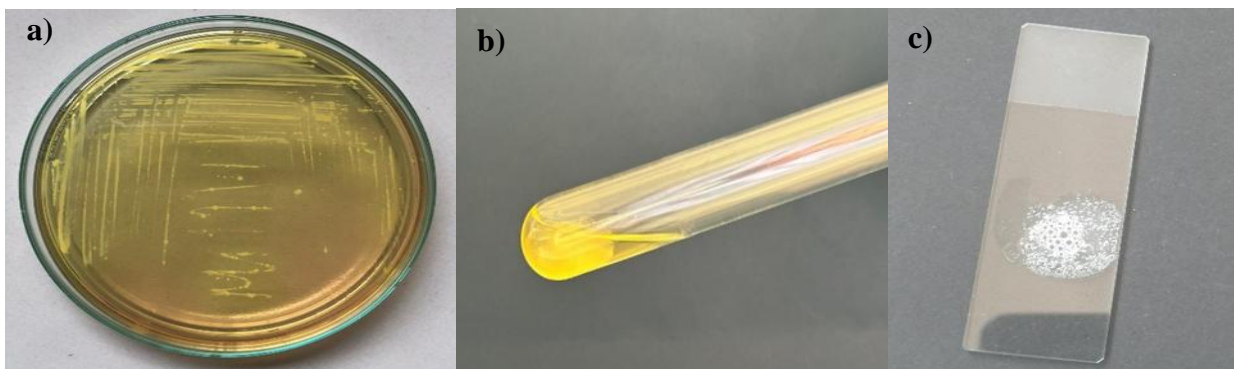
Pruebas de identificación de cepas de *Streptococcus pyogenes*



a) Colonias típicas de *S. pyogenes*; b) Cepas de *S. pyogenes* mostrando crecimiento en medio líquido; c) Prueba de bacitracina

Anexo 3

Pruebas de identificación de cepas de *Staphylococcus aureus*



a) Prueba de fermentación de manitol; b) Prueba de coagulasa; c) Prueba de catalasa

Anexo 4

Maceración de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)



Anexo 5

Obtención del extracto etanólico de *H. sabdariffa*



Anexo 6

Pesado del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa*



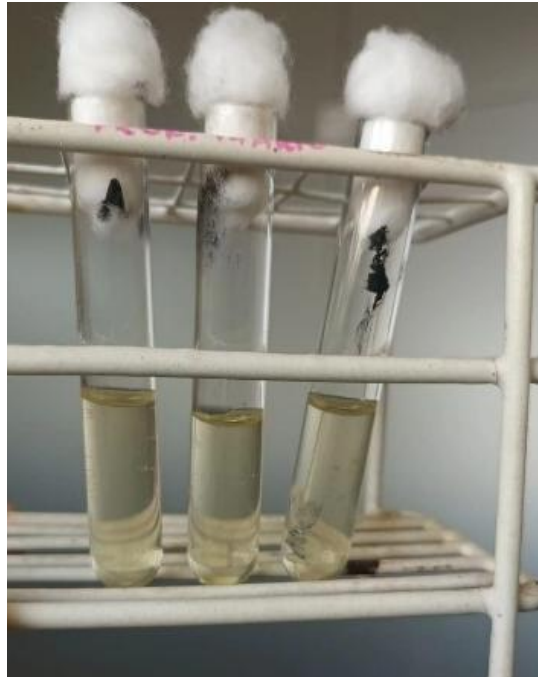
Anexo 7

Concentraciones del extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa*



Anexo 8

Inóculo bacteriano de las cepas en estudio



Anexo 9

Actividad antibacteriana en placa



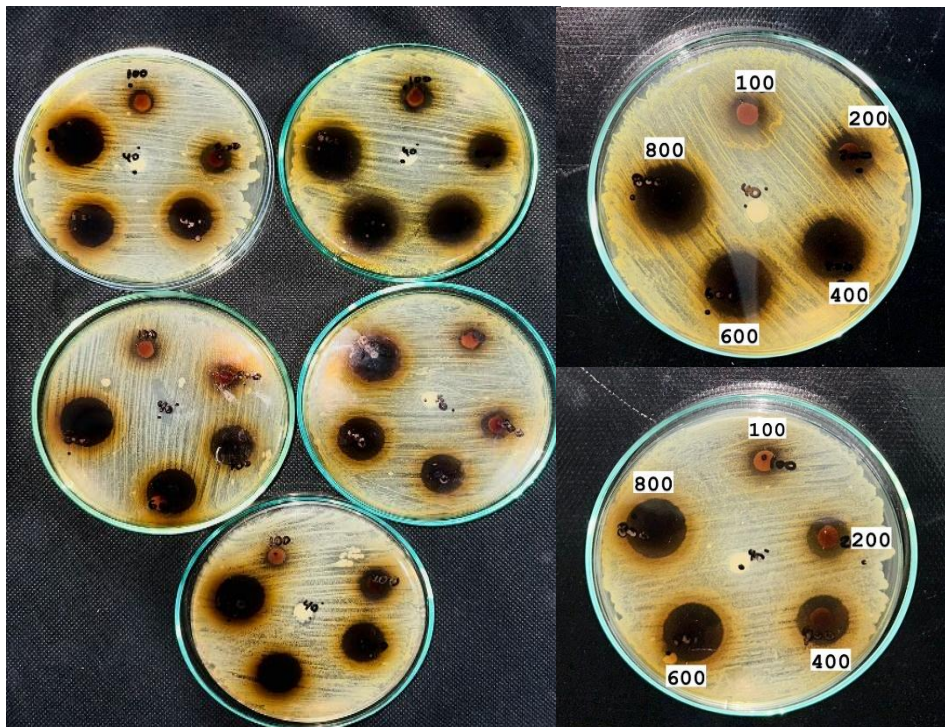
Anexo 10

Preparación de las concentraciones de 800, 600, 400, 200, 100 mg/mL del extracto etanólico de *H. sabdariffa*

Concentraciones	Extracto	Alcohol 40°
800	0.8	0.2
600	0.6	0.4
400	0.4	0.6
200	0.2	0.8
100	0.1	0.9

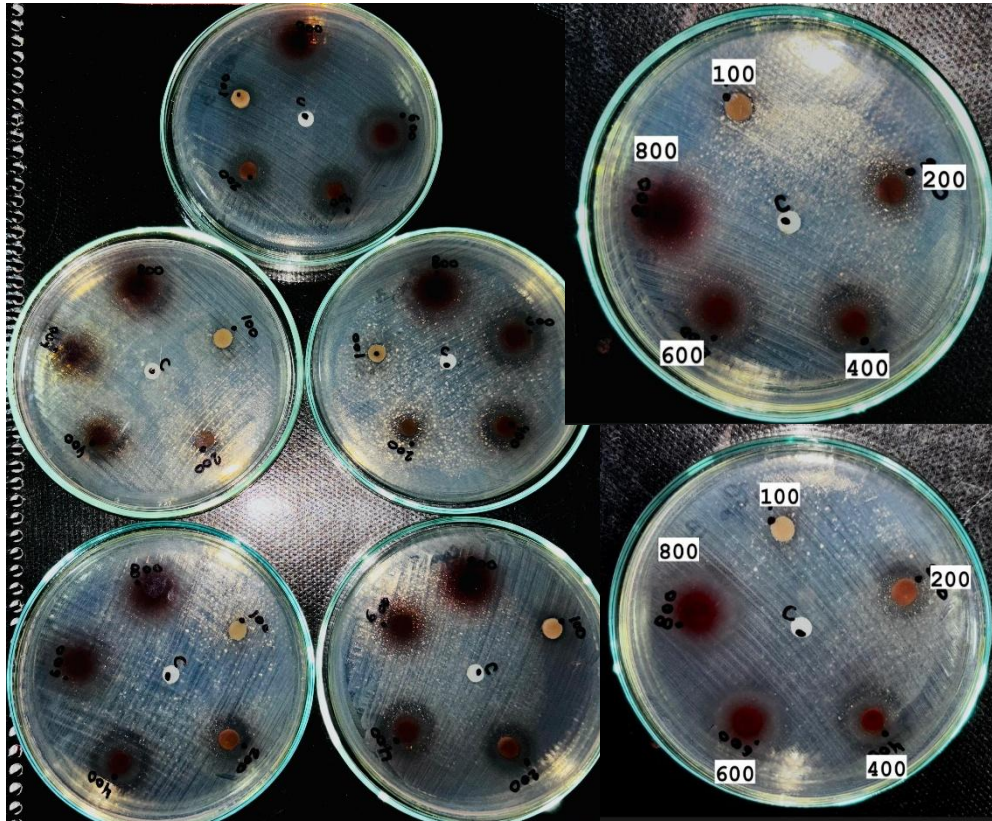
Anexo 11

Halos de inhibición en placa de las cepas de *Staphylococcus aureus*



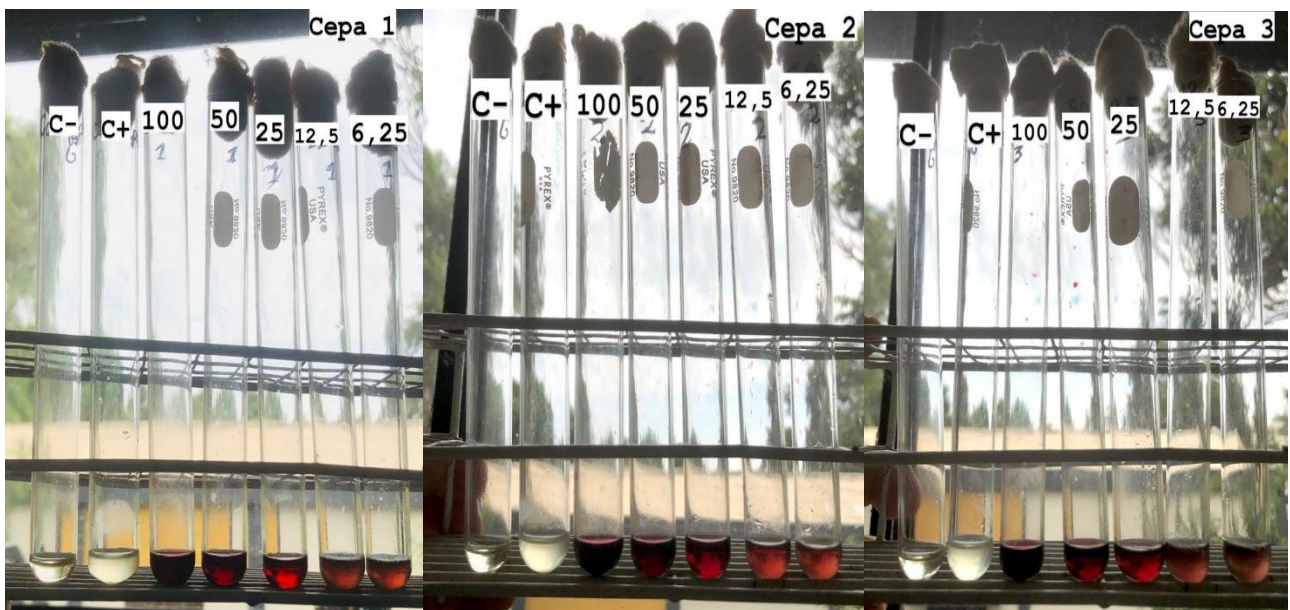
Anexo 12

Halos de inhibición de las cepas de *Streptococcus pyogenes*



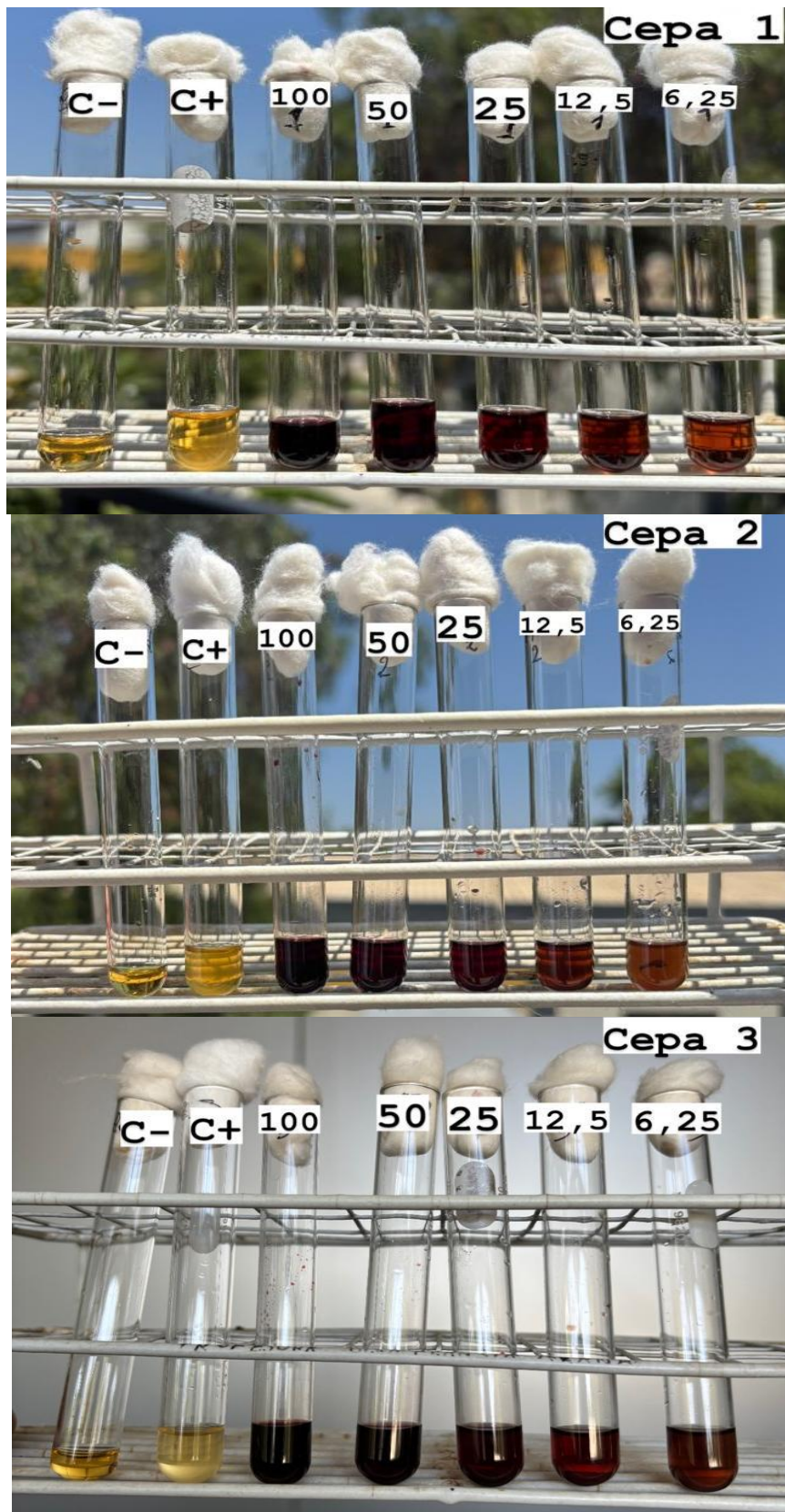
Anexo 13

Concentración Mínima Inhibitoria de las tres cepas de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa*



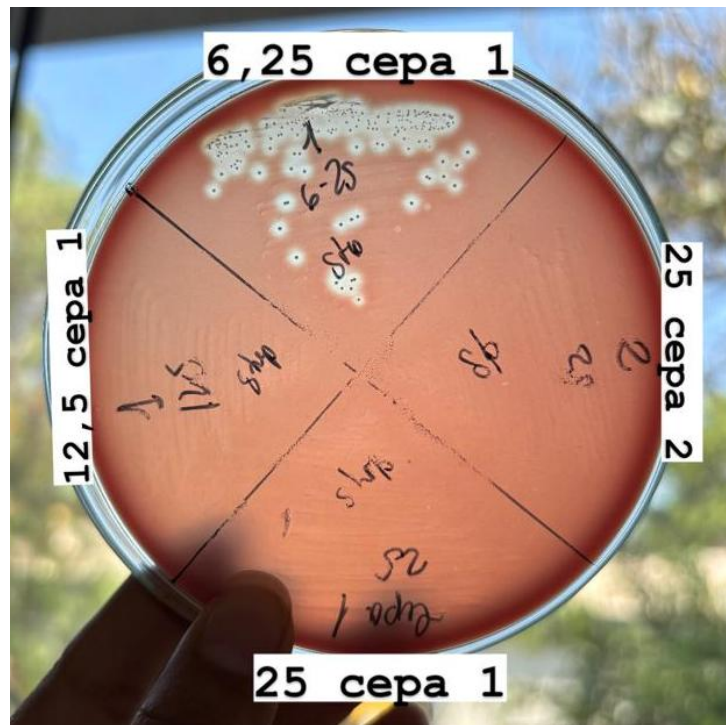
Anexo 14

Concentración Mínima Inhibitoria de las tres cepas de *Streptococcus pyogenes* frente al extracto etanólico de *H. sabdariffa*



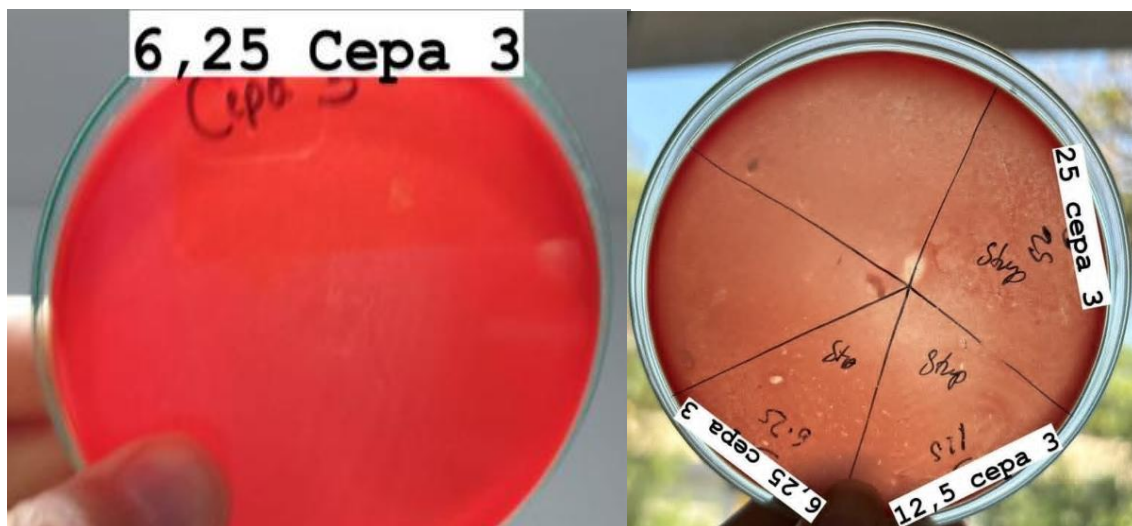
Anexo 15

Concentración Mínima Bactericida de la cepa 2 y 1 de *Streptococcus pyogenes*



Anexo 16

Concentración Mínima Bactericida de la cepa 3 de *Streptococcus pyogenes*



Anexo 17

Medidas de los halos de inhibición y promedio de los diámetros (mm) de cepas de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa*.

CEPAS	CONC. (mg/mL)	REPETICIONES (mm)					MEDIA	TOTAL
		1	2	3	4	5		
<i>Staphylococcus aureus</i> 01	100	9	10	10	12	10	10,2	15,72
	200	11	14	12	13	11	12,2	
	400	17	19	17	17	17	17,4	
	600	17	20	18	20	18	18,6	
	800	20	21	20	22	18	20,2	
<i>Staphylococcus aureus</i> 02	100	11	11	13	14	13	12,4	18,24
	200	14	14	16	16	14	14,8	
	400	19	18	21	21	18	19,4	
	600	21	22	22	22	20	21,4	
	800	23	23	23	25	22	23,2	
<i>Staphylococcus aureus</i> 03	100	10	11	11	10	9	10,2	15,76
	200	13	13	13	12	12	12,6	
	400	16	18	17	17	17	17	
	600	18	19	19	19	18	18,6	
	800	19	22	21	20	20	20,4	

Anexo 18

Medidas de los halos de inhibición y promedio de los diámetros (mm) de cepas de *Streptococcus pyogenes* frente al extracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa*.

CEPAS	CONC. (mg/ml)	REPETICIONES (mm)					MEDIA	TOTAL
		1	2	3	4	5		
<i>Streptococcus pyogenes</i> 01	100	10	11	13	12	9	11	16,84
	200	14	15	17	15	12	14,6	
	400	17	19	18	18	18	18	
	600	18	20	20	19	20	19,4	
	800	19	21	22	22	22	21,2	
<i>Streptococcus pyogenes</i> 02	100	13	9	9	9	8	9,6	16
	200	15	11	12	14	13	13	
	400	17	15	17	15	15	15,8	
	600	19	19	18	22	19	19,4	
	800	23	22	22	23	21	22,2	
<i>Streptococcus pyogenes</i> 03	100	8	9	8	9	9	8,6	15,20
	200	12	14	14	12	13	13	
	400	16	15	18	15	17	16,2	
	600	17	18	20	18	18	18,2	
	800	20	20	21	20	19	20	

Otras pruebas estadísticas

Anexo 19

Prueba ANOVA para evaluar las diferencias según concentración del extracto etanólico de *H. sabdariffa* y la variabilidad entre las cepas de *S. aureus* según los halos de inhibición.

Análisis de varianza de los promedios de los halos de inhibición (mm)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	p - valor	Decisión
Cepa	104,187	2	52,093	3,094	0,051	Aceptar H_0
Concentraciones	1137,413	4	284,353	111,24	0,000	Rechazar H_0
Cepa * Concentración	1243,947	14	88,853	73,635	0,000	Rechazar H_0
Cepa 1 * Concentración	370,240	4	92,560	60,104	0,000	Rechazar H_0
Cepa 2 * Concentración	409,360	4	102,340	70,096	0,000	Rechazar H_0
Cepa 3 * Concentración	360,160	4	90,040	145,22	0,000	Rechazar H_0

Nota. gl: grados de libertad; F: estadístico F de Fisher. Sig.: valor de significancia: $\alpha = 0,05$.
Se rechaza H_0 cuando $p < 0,05$.

Anexo 20

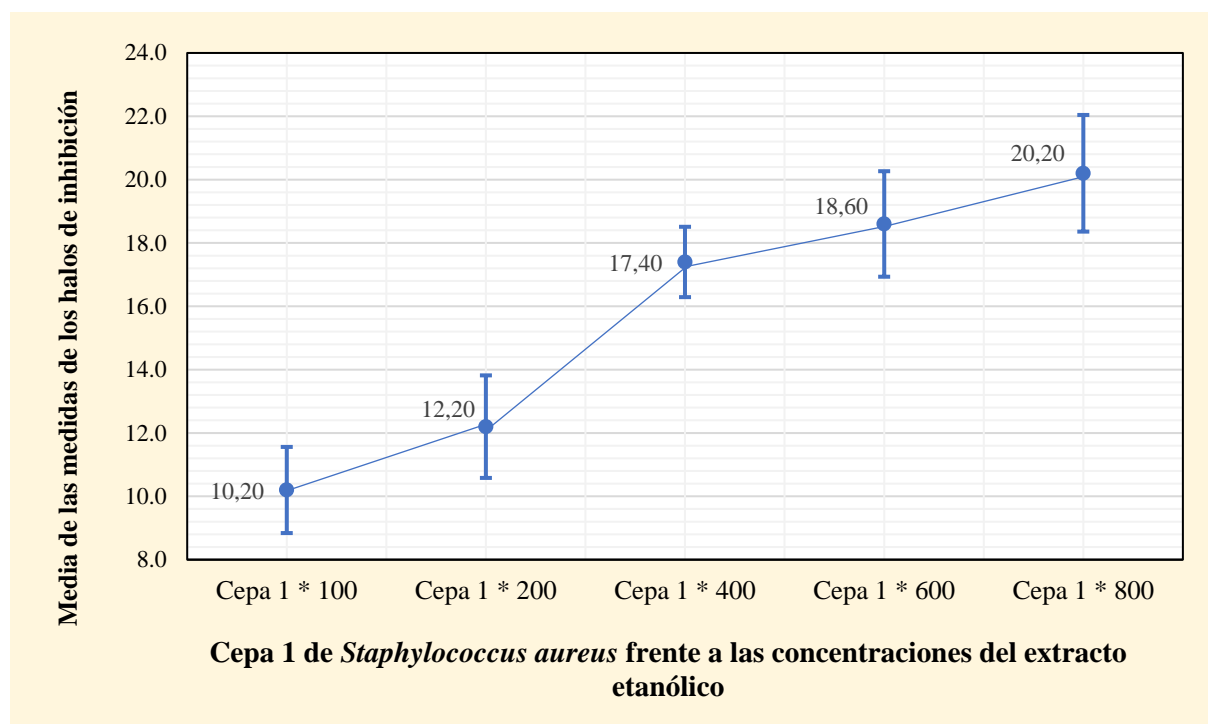
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 1 de *S. aureus* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.

Cepa 1 * concentración	Promedio de los halos de inhibición	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Cepa 1 * 100	10,20	a		
Cepa 1 * 200	12,20	a		
Cepa 1 * 400	17,40		b	
Cepa 1 * 600	18,60		b	c
Cepa 1 * 800	20,20			c
Significancia bilateral (p -valor)		0,119	0,557	0,284

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa.

Anexo 21

Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 1 de *S. aureus* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.



Anexo 22

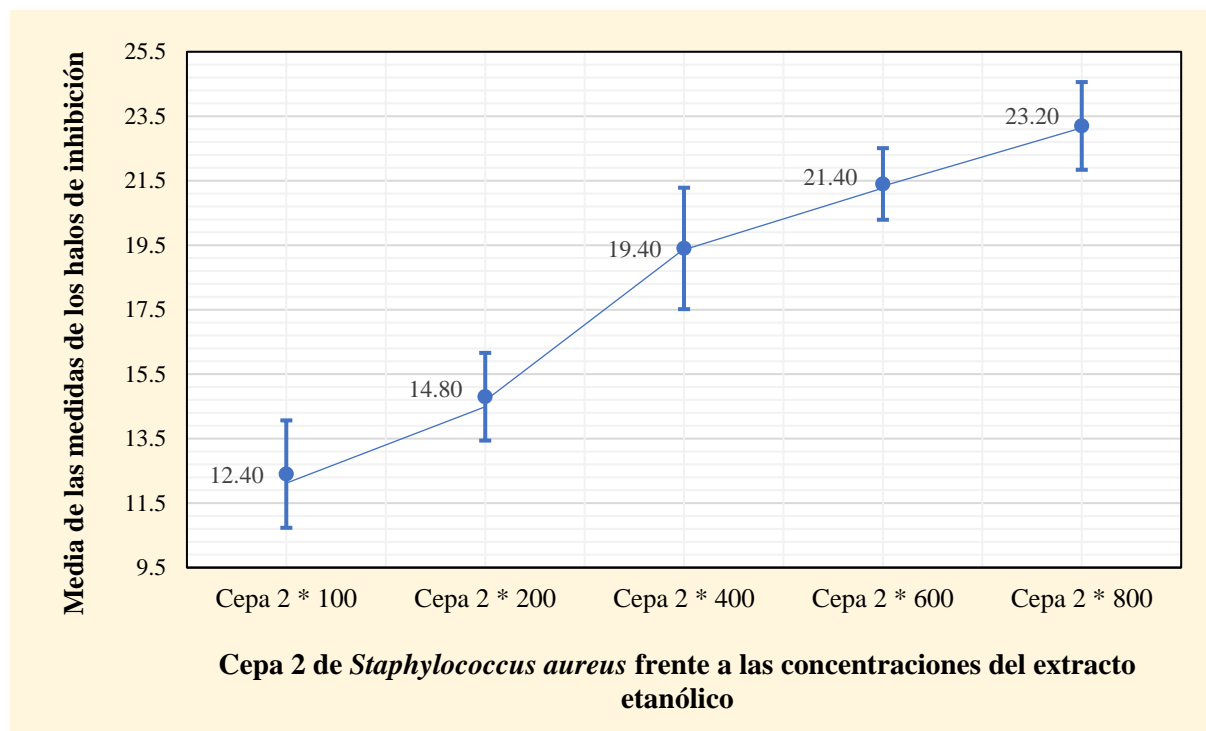
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 2 de *S. aureus* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.

Cepa * CC	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Cepa 2 * 100	12,40	a			
Cepa 2 * 200	14,80		b		
Cepa 2 * 400	19,40			c	
Cepa 2 * 600	21,40			c	d
Cepa 2 * 800	23,20				d
Significancia bilateral (p-valor)		1,000	1,000	0,105	0,169

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa. CC: concentración

Anexo 23

Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 2 de *S. aureus* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.



Anexo 24

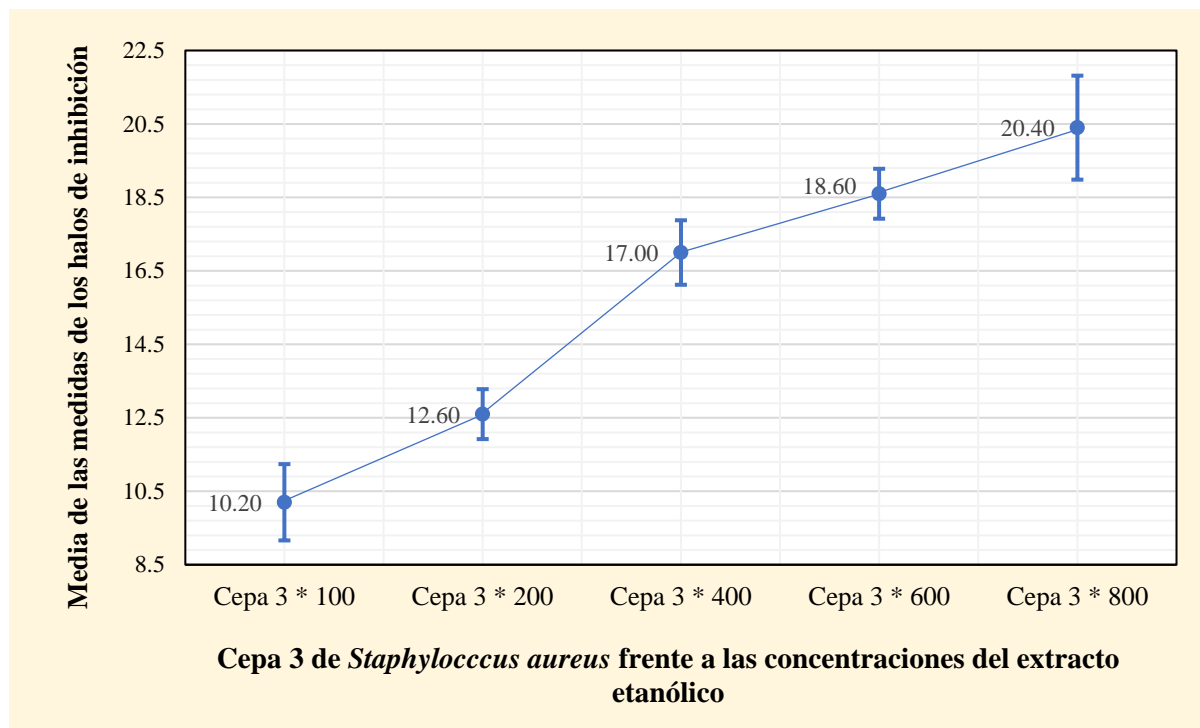
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 3 de *S. aureus* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.

Cepa * CC	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Cepa 3 * 100	10,20	a				
Cepa 3 * 200	12,60		b			
Cepa 3 * 400	17,00			c		
Cepa 3 * 600	18,60				d	
Cepa 3 * 800	20,40					e
Significancia bilateral (p –valor)		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa. CC: concentración.

Anexo 25

Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 3 de *S. aureus* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.



Anexo 26

Prueba ANOVA para evaluar las diferencias según concentración del extracto etanólico de *H. sabdariffa* y la variabilidad entre las cepas de *S. pyogenes* según los halos de inhibición.

Análisis de varianza de los promedios de los halos de inhibición (mm)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	p - valor	Decisión
Cepa	33,627	2	16,813	0,91	0,408	Aceptar H_0
Concentraciones	1217,253	4	304,313	142,27	0,000	Rechazar H_0
Cepa * Concentración	1270,987	14	90,740	56,74	0,000	Rechazar H_0
Cepa 1 * Concentración	330,160	4	82,540	46,90	0,000	Rechazar H_0
Cepa 2 * Concentración	500,000	4	125,000	59,52	0,000	Rechazar H_0
Cepa 3 * Concentración	407,200	4	101,800	108,30	0,000	Rechazar H_0

Nota. gl: grados de libertad; F: estadístico F de Fisher. Sig.: valor de significancia: $\alpha = 0,05$.

Se rechaza H_0 cuando $p < 0,05$.

Anexo 27

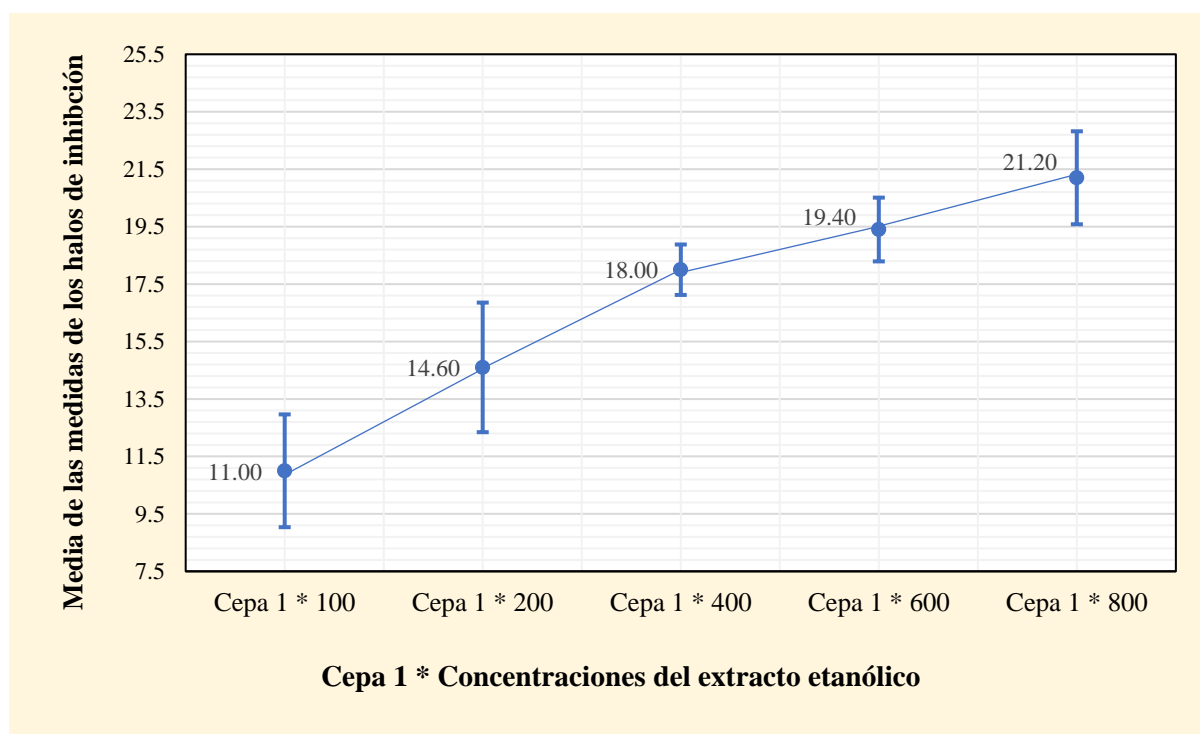
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 1 de *S. pyogenes* de frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.

Cepa * CC	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Cepa 1 * 100	11,00	a			
Cepa 1 * 200	14,60		b		
Cepa 1 * 400	18,00			c	
Cepa 1 * 600	19,40			c	d
Cepa 1 * 800	21,20				d
Significancia bilateral (p –valor)		1,000	1,000	0,474	0,241

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa.

Anexo 28

Comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 1 de *S. pyogenes* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.



Anexo 29

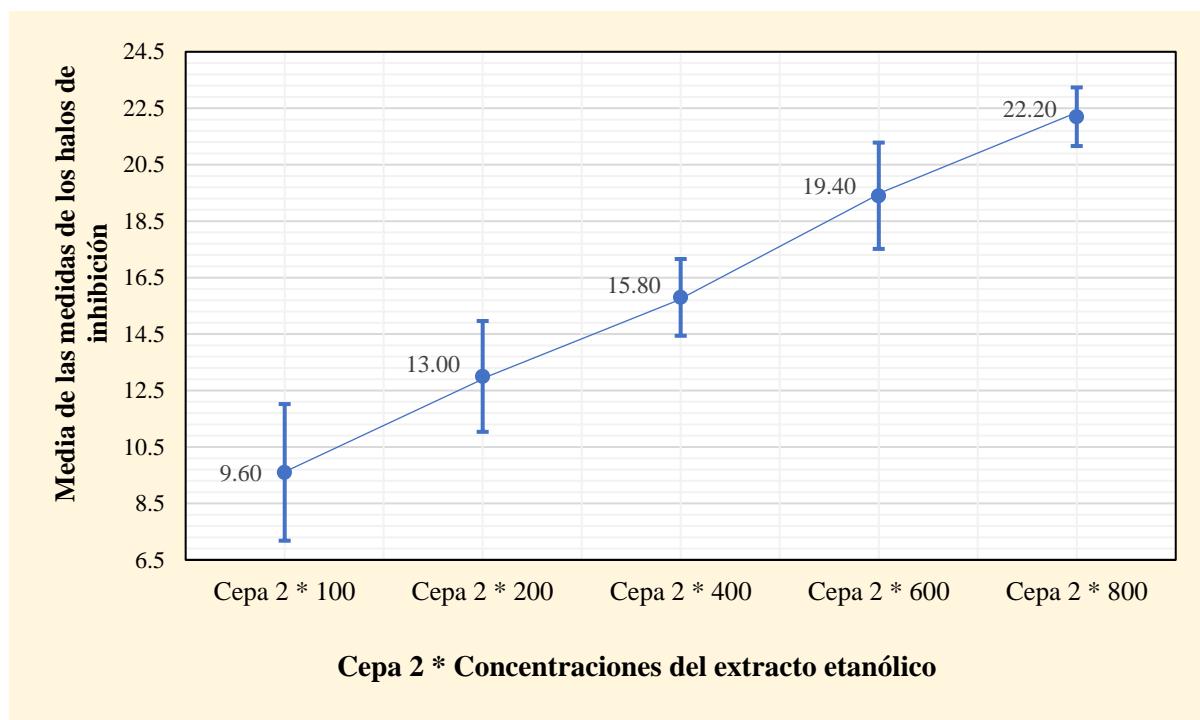
Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 2 de *S. pyogenes* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.

Cepa * CC	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Cepa 2 * 100	9,60	a				
Cepa 2 * 200	13,00		b			
Cepa 2 * 400	15,80			c		
Cepa 2 * 600	19,40				d	
Cepa 2 * 800	22,20					e
Significancia bilateral (p –valor)		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa. CC: concentración.

Anexo 30

Comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 2 de *S. pyogenes* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.



Anexo 31

Prueba de Tukey para la comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 3 de *S. pyogenes* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.

Cepa * CC	Promedio de los halos de inhibición (mm)	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Cepa 3 * 100	8,60	a			
Cepa 3 * 200	13,00		b		
Cepa 3 * 400	16,20			c	
Cepa 3 * 600	18,20			c	d
Cepa 3 * 800	20,00				d
Significancia bilateral (p –valor)		1,000	1,000	1,000	0,056

Nota. Letras diferentes = Diferencia significativa; Letras iguales = No existe diferencia significativa. CC: concentración.

Anexo 32

Comparación de los promedios de los halos de inhibición de la cepa 3 de *S. pyogenes* frente a las distintas concentraciones del extracto etanólico de *H. sabdariffa*.

