



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO**

**HIDROALCÓHOLICO DE LAS HOJAS DE *Lobelia  
decurrens* (contoya) SOBRE CULTIVOS DE *Escherichia coli***

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL  
GRADO ACADEMICO DE BACHILLER EN FARMACIA Y  
BIOQUIMICA

AUTORA:

**ALDUI MONTALVO JHON GUSTAVO**

**CODIGO ORCID: 0000-0002-9534-8311**

ASESOR:

**Mgtr. CESAR ALFREDO LEAL VERA**

**ORCID ID: 0000-0003-4125-3381**

**TRUJILLO – PERU**

**2019**

# **JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

**Docente Tutor Investigador**

## **AGRADECIMIENTO**

### ***A Dios:***

*Por bendecir mi vida, por guiarme y acompañarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad, por brindarme paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.*

### ***A mis padres:***

*Por ser los principales promotores de mis sueños y haberme apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado y por haberme dado la oportunidad de formarme en esta prestigiosa universidad.*

### ***A mis docentes:***

*Por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión y que me han visto crecer como persona, y gracias a sus enseñanzas hoy puedo sentirme dichoso y contento. Agradezco de manera especial a mi tutor de mi proyecto de investigación quien me ha guiado con su paciencia y su rectitud como docente y gracias a sus consejos y correcciones hoy puedo terminar este trabajo.*

## **DEDICATORIA**

### ***A mi madre:***

*Por haberme dado la vida, por su amor y por permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, por ser la inspiradora y darme la fuerza necesaria para continuar con este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.*

### ***A mi padre:***

*Por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias por haberme permitido llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Es un orgullo y privilegio de ser tu hijo, eres un buen padre.*

### ***A la universidad:***

*Dedico este trabajo de investigación a la facultad de ciencias de la salud, escuela de farmacia y bioquímica, a todos los profesores por ayudarme en mi formación académica.*

## ***EQUIPO DE TRABAJO***

### **AUTOR**

Aldui Montalvo Jhon Gustavo

ORCID: 0000-0002-9534-8311

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado Trujillo.  
Perú.

### **ASESOR**

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Facultad de ciencias de la salud.  
Escuela profesional de farmacia y bioquímica. Trujillo. Perú.

### **JURADO**

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

## **RESUMEN**

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (Contoya) sobre cultivos de *Escherichia coli*. El trabajo es de tipo experimental aplicado, nivel cuantitativo – transversal y observacional. Se trabajó con 100 g de materia prima (Contoya) en un litro de solución hidroalcohólica. El método de extracción utilizado será la maceración en etanol/agua (7:3) durante 7 días. Para lo cual es necesario 100 g de materia prima *Lobelia decurrens* (Contoya), 700 ml de etanol y 300 ml de agua. La concentración del extracto se realizó por eliminación del disolvente a presión reducida en rotavapor a una temperatura de 60° C y a una presión de 690 mm Hg por un tiempo de 3 horas aproximadamente, luego se dejó secar a temperatura ambiente por un lapso de 3 a 5 días. Se trabajó con un grupo estándar y tres experimentales con diferentes concentraciones de 10%, 20% y 30%. Los resultados fueron sometidos a pruebas de Anova y T- Student. Se obtuvo resultados positivos, pero con una acción bastante menor en comparación con el medicamento referencial que es la amikacina. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) tiene efecto antibacteriano en los cultivos de *Escherichia coli*.

**Palabras claves:** *Lobelia decurrens*, contoya, antibacteriano.

## **ABSTRACT**

The objective of this research work is to determine the in vitro effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Lobelia decurrens* (Contoya) on cultures of *Escherichia coli*. The work is of applied experimental type, quantitative level - transversal and observational. We worked with 100 g of raw material (Contoya) in one liter of hydroalcoholic solution. The extraction method used will be maceration in ethanol / water (7: 3) for 7 days. For which it is necessary 100 g of raw material *Lobelia decurrens* (Contoya), 700 ml of ethanol and 300 ml of water. The concentration of the extract will be carried out by eliminating the solvent under reduced pressure in a rotary evaporator at a temperature of 60 ° C and a pressure of 690 mm Hg for a period of approximately 3 hours, then let it dry at room temperature for 3 to 5 days. . We worked with a standard group and three experimental groups with different concentrations of 10%, 20% and 30%. The results were tested by Anova and T- Student. Positive results were obtained but with a much lower action compared to referal medication that is amikacin. Concluding that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Lobelia decurrens* (contoya) has an antibacterial effect in the cultures of *Escherichia coli*.

**Keywords:** *Lobelia decurrens*, contoya, antibacterial.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTO.....	i
DEDICATORIA.....	ii
EQUIPO DE TRABAJO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	vi
I. INTRODUCCIÓN: .....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	5
2.1 ANTECEDENTES: .....	5
2.2 BASES TEORICAS.....	8
III.HIPÓTESIS.....	12
IV.METODOLOGÍA.....	13
4.1 Diseño de investigación.....	13
4.2 Población y muestra.....	14
4.3 Definición y Operacionalización de variables e indicadores.....	16
4.4 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos.....	17
4.5 Plan de análisis.....	20
4.6 Matriz de consistencia.....	21
4.7 Principios éticos.....	22
V. RESULTADOS: .....	23
5.1 Resultados: .....	23
5.2 Análisis de resultados.....	24
VI. CONCLUSIONES.....	25
Referencias bibliograficas.....	26
Anexos.....	30



## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 01:** Efecto in vitro del extracto hidro-alcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) sobre cultivos de *Escherichia coli* a 24 horas.....1

**TABLA 02:** Comparación del efecto in vitro del extracto hidro-alcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) a concentraciones de 10%, 20% y 30% sobre cultivos de *Escherichia coli*.....2

## I. INTRODUCCIÓN

Las principales enfermedades causadas por bacterias son una preocupación de salud pública en países de desarrollo, se contagian, de manera oral fecal y también con el uso de alimentos y agua infestados, causan especialmente a los habitantes pueriles, y al acontecimiento como su predominio acaten del grado social y económico de los pobladores. Entre los agentes perjudiciales comprometidos tenemos a las bacterias, virus y parásitos. La investigación, identifica a varios de éstos y se concentran principalmente en infecciones tradicionales como; *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia* y *Vibrio*. También hay otros géneros que están comprometidos en afecciones, como los *Aeromonas*, que en otros países ha sido identificado como agente causal de infecciones intestinales y generador de contagio de heces en el agua <sup>(1)</sup>.

Las afecciones contagiosas en el Perú son un serio dilema de salud nacional debido a la permuta demográfica, a la diversidad geográfico climática, ecológica, socioeconómica y alimentación existentes que entorpecen un mejor control y otorgar a un número mayor de muertes. “La organización Mundial de la Salud difundió una relación porcentual causales de muerte donde las enfermedades infecciosas ocupan el primer lugar con el trece por ciento de defunciones, le siguen las enfermedades cardiovasculares con el veintinueve por ciento y el cáncer con el doce por ciento” <sup>(2)</sup>.

Los problemas que más aqueja a las poblaciones son aquellas infecciones microbianas; siendo la causa más común de la etiología de muchas patologías, pero esta situación ha ido mejorando con la aparición de los antibacterianos.

Estos han colaborado salvaguardando la salud y han contribuido con la medicina y las intervenciones quirúrgicas aumentando las probabilidades de supervivencia frente a esta patología <sup>(3,4)</sup>.

No obstante, desde hace pocos tiempos, una amenaza progresiva destroza la eficacia de dichos medicamentos: la resistencia bacteriana a los antibióticos, a la cual se podía definir como la destreza del microbio de soportar los efectos de los antibacterianos destinados a inhibirlos <sup>(4)</sup>.

La penicilina fue uno de los primeros tratamientos que erradico las infecciones producidas por bacterias. No obstante, en 1946 en Inglaterra se realizó la primera separación de bacterias, donde se dio como resultado que la aparición de resistencia a penicilina.

La resistencia antibacteriana es una maravilla biológica innata debido a las mutaciones y a la gran extensión de las bacterias de ceder horizontalmente su material genético, encontrarse una clara relación entre la utilización de antibióticos la resistencia bacteriana. Se establece así en una cuestión a nivel mundial que crece mayor sufrimiento humano, olvido en la productividad y mortalidad <sup>(5,6)</sup>.

La relación antibiótico – bacteria se ve dañado por múltiples complicaciones como “la farmacocinética de la droga, la dosis, la permanencia del tratamiento, el tamaño de inóculo bacteriano, entre otros, por lo que para que se optimice la utilización de estos fármacos”, se desarrollan supervisiones habituales de la resistencia como parte del régimen de control de la resistencia antibiótica <sup>(6)</sup>.

Una de las alternativas para aliviar muchas enfermedades es la aplicación de plantas medicinales una de ellas es la utilizada en el presente estudio *Lobelia decurrens* (Contoya) químicamente consta de alcoholes, ácidos orgánicos y aceites esenciales. Las hojas contienen L-carvona (50-70%), falandreno, alfa y beta-pineno (2-5%), d-pineno, acetato de dihidrocarveol y cineol (2-4%) <sup>(7)</sup>.

Los sesquiterpenos tienen actividad inhibitoria contra algunos organismos, debido a su relación estructura actividad biológica. La actividad antimicrobiana no tiene un mecanismo específico; pero se precisa ciertos lugares de acción en la célula en donde pueden ocurrir los siguientes efectos: daños a la membrana citosol, daño a las proteínas, filtración del contenido celular, coagulación del citoplasma y la eliminación de las fuentes de energía erradicando así a los microorganismos <sup>(7)</sup>.

Las plantas medicinales son especies vegetales que poseen sustancias que pueden ser utilizadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos.

Es una planta herbácea y vivaz, con estolones y tallos ramificados, cuadrangulares, pubescentes y erectos, que alcanzan hasta 70 cm de altura. Sus hojas poseen una superficie áspera, de pigmento verde relumbrante, son sésiles, ovado-lanceoladas, con un ápice puntiagudo y borde desigualmente dentado, midiendo entre 4 a 6 cm de largo y entre 3 a 5 cm de ancho, tallos purpúreos. Las inflorescencias tienen la apariencia de púas terminales de un tono blanco-violeta, cilíndricas y poco densas <sup>(14,15)</sup>.

Esta planta se usa para tratar trastornos digestivos (dispepsia, diarrea, náuseas, flatulencias, vómitos) tiene cualidades tónicas y estimulantes antiespasmódico, antiparasitario, antisépticos, carminativo, antiinflamatorias, antihipocondriaca y antihistamínica. Se usa también en neuralgias.

La resistencia bacteriana es una preocupación tradicional, pero de mucha actividad, puesto que en el entorno de “austeridad” en cuanto a la cantidad de nuevas partículas de antibiótico utilizables en el mercado, la existencia de microorganismos resistentes es cada vez más habitual <sup>(2,4)</sup>.

La primordial consecuencia clínica de las betalactamasas al parecer es la de mayor reiteración con las que estas personas con infestaciones graves obtienen una medicación empírica inapropiada, de ahí la importancia de reconocer que causas pronostican la existencia de una cepa con betalactamasas a fin de poder entregar una medicación apropiada lo antes posible <sup>(5)</sup>.

Tanto el invento de infecciones producidas por *Escherichia coli* y los diferentes tratamientos antibacterianos y las consecuencias adversas que manifiestan, generan al investigador la necesidad de aportar nuevos conocimientos y alternativas antibacterianas que eviten la resistencia y por ende permita que los tiempos de internamiento por estas infecciones sean menores y menos costosas.

¿Presenta efecto in vitro el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) sobre cultivos de *Escherichia coli*?

### **OBJETIVO GENERAL**

- ❖ Determinar el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) sobre cultivos de *Escherichia coli*.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ❖ Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* de las diferentes concentraciones en los cultivos de crecimiento antibacteriana.
- ❖ Medir los halos de inhibición formado por el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* a diversas concentraciones.
- ❖ Comparar el mayor tamaño de halos de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens*.

## II. REVISION DE LA LITERATURA

### 2.1 ANTECEDENTES:

Pérez F. (Perú, 2016), evaluó la eficacia del pulverizado de *Lobelia decurrens cav.* (Contoya) en el control de *Eimeria sp.* En 18 terneras de 3 a 6 meses de edad, raza Holtstein criados en sistema semi intensivo, en el cual se aplicó diseño experimental con dos tratamientos y un control de seis unidades experimentales cada uno, distribuidos homogéneamente de acuerdo a la carga parasitaria. Los resultados mostraron eficacia de 38,04 %, 68,32 % y 80,8 % para 1g/kg pv. Por lo tanto, se concluye que la contoya a 2g/kg pv, a los 21 días pos dosificación alcanza la eficacia de un anticoccidiano eficaz <sup>(7)</sup>.

Binitha RV, Shajahan MA, Sudhakaran MV, eat al. (India, 2018); realizaron un estudio farmacognóstico de *Lobelia alsinoides Lam.* La microscopía y las características histológicas revelaron una planta dicotiledónea, con haces vasculares circulares, idioblastos con cristales prismáticos de oxalato cálcico, cámaras llenas de aire en el tallo y estomas anomocíticos en las hojas fueron características de diagnóstico de *Lobelia alsinoides Lam.* La presencia de venación reticulada con pequeña proporción de empalizada, granos de almidón e idioblastos también son los caracteres de diagnóstico de la hoja. Los caracteres distintivos del tallo triangular fueron la presencia de idioblastos con depósito adverso de cristales de oxalato cálcico, granos simples de almidón, cloroquina y corteza parenquimatososa, las raíces mostraron una corteza circular con prominentes cavidades aéreas, vasos anulares de xilema con fibras de cristal y granos simples de almidón <sup>(8)</sup>.

Sit N, Chanl Y, Chuahl Bee, eat al. (Tailandia, 2016); analizaron las actividades antivirales, antifungales y antibacterianas de las plantas medicinales chinas, *houத்துயνια cordata*, *lobelia chinensis* y *selaginella uncinata*. Las preparaciones de los extractos se examinaron para determinar el efecto de la inhibición citopática en células epiteliales de riñón de mono africano coinfectadas con el virus Chikungunya. Un ensayo de microdilución en caldo colorimétrico reveló que el extracto de hexano de *H. cordata* era el único extracto con actividad fungistática de amplio espectro con valores mínimos de concentración inhibitoria (CMI) de 0,08 a 1,25 mg / ml. En cuanto a la actividad antibacteriana, los extractos de cloroformo y acetato de etilo de *S. uncinata* exhibieron una actividad bacteriostática de amplio espectro con intervalos medios de MIC de 0,63-1,25 y 0,63-2,50 mg / ml. Las actividades antimicrobianas de los extractos dependen de la especie de microorganismos, la concentración de prueba y el agente de extracción utilizado. Los extractos foliares de *H. cordata* y *S. uncinata* son fuentes potenciales de nuevos agentes antifúngicos o antibacterianos con actividad de amplio espectro <sup>(9)</sup>.

Siviwe A, Oyemitan R, Opeoluwa O, Oluwafemi, B. Nkeh-Chungag S. Songa, Adebo A eat al. (Sudáfrica, 2016); realizaron estudios químicos y biológicos de *Lobelia fláccida* para detectar la presencia de metabolitos secundarios de plantas. El extracto se analizó para determinar su actividad antiinflamatoria sobre el edema de la pata de rata inducido por carragenina a dosis de 250 y 500 mg / kg, po, solución salina normal y aspirina (100 mg / kg, po). y controles positivos respectivamente. Finalmente, el extracto a 500 y 1000 mg / kg, po se probó para actividad anticonvulsiva en pentilentetrazol (85 mg / kg, intraperitonealmente) modelo de convulsión inducida en ratones, solución salina normal y diazepam (1 mg / kg, ip) sirvió como grupos de control negativo y positivo respectivamente.

Los dos principales compuestos identificados fueron acetofenona (26.37%) y cariofileno (17.35%). La detección fotoquímica presentó un alto porcentaje de alcaloides, saponinas y flavonoides entre otros componentes. LD 50 del extracto acuoso fue  $\geq 5000$  mg / kg por vía oral, mientras que el extracto acuoso exhibió la actividad anti-inflamatoria en rata edema de la pata inducido por carragenina comparable a la aspirina, pero la actividad anticonvulsiva insignificante sobre pentileno convulsión tetrazol inducida cuando en comparación con diazepam<sup>(11)</sup>.

Won C, Lee A. (China, 2016); analizaron la actividad antituberculosa de *Melia azedarach* L. y *Lobelia chinensis* Lour. y su potencial como agentes candidatos eficaces anti- *Mycobacterium tuberculosis*. Los extractos de *M. azedarach* y *L. chinensis* mostraron su actividad anti- *M. tuberculosis* al inhibir fuertemente el crecimiento de *M. tuberculosis* de una manera dependiente de la concentración en el REMA y el ensayo del sistema MGIT 960. Particularmente, el extracto de metanol de *M. azedarach* y el extracto de n- hexano de *L. chinensis* exhibieron consistentemente sus efectos al inhibir eficazmente el crecimiento de *M. tuberculosis* en el sistema MGIT 960 durante 4 semanas con un único tratamiento, lo que indica mayor actividad de la tuberculosis que otros extractos, y sus concentraciones inhibitorias mínimas se midieron como 400  $\mu\text{g}$  / ml y 800  $\mu\text{g}$  / ml, respectivamente<sup>(12)</sup>.

Kunchari K, Muthu G, Manjula K. et al. (India, 2015); investigaron acerca de la actividad antibacteriana de *lobelia nicotianifolia* contra varias cepas bacterianas. Se extrajeron secuencialmente usando metanol, acetato de etilo, acetona, cloroformo, éter de petróleo y agua. La actividad antibacteriana in vitro de estos extractos se estudió mediante el método de difusión en pocillo de agar contra *Staphylococcus aureus* gram positivo y *Pseudomonasa aeruginosa* gram negativa, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.



Discos de antibióticos Ciproflaxin, Cephotoxime y Amoxycillin se usaron como estándar. Este estudio demostró que el extracto de metanol tiene una mayor actividad antibacteriana contra los patógenos bacterianos aislados clínicos que otros extractos. Todos estos extractos fueron capaces de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureos*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*, excepto el extracto de éter de peteroleum y el extracto de acetato de etilo. El presente estudio concluyó que *Lobelia nicotianifolia* tiene una fuerte actividad antibacteriana contra microorganismos clínicos <sup>(13)</sup>.

## **2.2. BASES TEORICAS.**

### ***Escherichia coli***

Es un tipo de bacteria anaerobio facultativo Gram-negativo en forma de bastón. La mayor parte de las cepas de *E. coli* no son perjudiciales. Aunque *E. coli* vive en el intestino humano como un organismo comensal, ciertas cepas patógenas pueden salir del intestino humano y causar enfermedad en otros sitios anatómicos. Un ejemplo de este fenómeno es la uropatogenia <sup>(6)</sup>.

*E. coli*, causa el 70% de las infecciones urinarias. Se cree que estas cepas de *E. coli* que originan estas infestaciones se originan en la flora fecal del paciente y se diseminan a través de la contaminación fecal al área periuretral. La bacteria puede ascender la uretra hacia la vejiga y causar una infección urinaria <sup>(12,13)</sup>.

Expresan una variedad de factores de virulencia que incluyen apéndices adhesivos, conocidos como pili, y toxinas que les permiten infectar la vejiga.

*Escherichia coli* presenta una gran variedad de subtipos genéticos definidos por el antígeno somático (O) y flagelar (H). La mayoría de los subtipos son inofensivos, mientras que otros pueden causar diarrea severa <sup>(6,7)</sup>.

## **Fitoterapia**

Ciencia que se ocupa del tratamiento y la prevención de enfermedades humanas por medio de las diversas plantas curativas y los productos herbarios. Se estudia la capacidad de curación de las plantas o drogas vegetales, indicaciones, contraindicaciones, dosis y tratamiento oportuno de administración <sup>(14)</sup>.

## **Plantas medicinales**

Son todas las plantas que en uno o sus diversos órganos abarcan sustancias que pueden ser empleadas con la finalidad curativa o que son indicadores para la semisíntesis químico-farmacéutica. <sup>(15)</sup>.

## **Droga Vegetal**

Es una fracción de la planta que se emplea con el objetivo terapéutico, ya que contiene compuestos químicos capaces de desempeñar una actividad farmacológica. Por supuesto, esta definición no excluye que la droga puede ser compuesta de toda la planta; representa la parte de la planta (seca o fresca) que contiene el mayor número de principios activo <sup>(15)</sup>.

## **Principio Activo**

Es aquel constituyente o aleación de constituyentes de diferente cimiento ya sea animal, vegetal, humano, mineral, químico, microbiológico o análogos, que contiene acción farmacológica determinada o aún, sin contenerla la obtenga cuando sea distribuida en el cuerpo <sup>(14,15)</sup>.

## ***Lobelia decurrens* (contoya)**

### **Definición**

Es una planta perdurable, rastrera y las ramas aristadas, lampiñas o levemente pubescentes, hojas incompatibles, ovaladas, superficie áspera y borde dentado y peciolada <sup>(15)</sup>.

### **Hábitat**

Planta nativa del Viejo Mundo y especialmente de la zona mediterránea, ampliamente naturalizada de zonas cálidas, necesita un ambiente medio recóndito, húmido, ambiente templado oscilando los 1500 - 2700 m.s.n.m <sup>(14)</sup>.

### **Descripción Botánica**

Es una planta herbácea y vivaz, con estolones y tallos ramificados, cuadrangulares, pubescentes y erectos, que alcanzan hasta 70 cm de altura. Sus hojas poseen una superficie áspera, de pigmento verde relumbrante, son sésiles, ovado-lanceoladas, con un ápice puntiagudo y borde desigualmente dentado, midiendo entre 4 a 6 cm de largo y entre 3 a 5 cm de ancho, tallos purpúreos. Las inflorescencias tienen la apariencia de púas terminales de un tono blanco-violeta, cilíndricas y poco densas <sup>(14,15)</sup>.

### **Composición Química**

Presenta un aceite esencial que contiene mentol (50-86%), mentona, felandreno y limoneno, carvona (67-80%), cineol, linalol, limoneno (13-20%), óxido de piperitona y óxido de piperitenona, acetato de metilo, pulegona (1,18%), monoterpenos (camfeno, alcanfor, carvacrol, carveol, dihidrocarvona), sesquiterpenos (cariofileno, copaeno, franeseno), esteroides, azúcares reductores, aminas, flavonoides, leucoantocianidinas, quinonas, taninos, principios amargos.

Hojas: el análisis proximal de 100 g de hoja fresca contiene: agua (83 g), proteína (4,8 g.), grasa (0,6 g.), carbohidratos (10 g.), fibra (2,0), ceniza (1,6 g.), calcio (200 mg.), fósforo (80 mg.), hierro (15,6), caroteno (1620 µg), tiamina (0,05 mg), riboflavina (0,08 mg), niacina (0,4 mg) <sup>(13.14)</sup>.

### **Propiedades Terapéuticas**

Esta planta se usa para tratar trastornos digestivos (dispepsia, diarrea, náuseas, flatulencias, vómitos) tiene cualidades tónicas y estimulantes antiespasmódico, antiparasitario, antisépticos, carminativo, antiinflamatorias, antihipocondriaca y antihistamínica. Se usa también en neuralgias.

### **Extracto hidroalcohólico**

Es un extracto líquido concentrado, obtenido de la extracción de una planta o parte de esta, utilizando como solvente alcohol y agua. Presenta sedimento, color y aroma característico de la planta de la cual se obtiene. En el extracto la función del alcohol es de extraer las sustancias o las propiedades de la planta.

### **III. HIPÓTESIS.**

#### **3.1. Hipótesis nula ( $h_0$ )**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) no presenta efecto in vitro sobre cultivos de *Escherichia coli*.

#### **3.2. Hipótesis alternativa ( $h_1$ )**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) presenta efecto in vitro sobre cultivos de *Escherichia coli*.

## **IV. METODOLOGÍA.**

### **4.1.DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.**

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental aplicado, de enfoque cuantitativo y corte trasversal observacional.

Los grupos de tratamiento que se trabajaron fueron divididos de la siguiente manera:

#### **Grupo Control Blanco**

Dicho grupo se encuentra formado por 5 placas Petri conteniendo Agar Müeller Hinton (25 ul) y el sembrado de bacteria *E.coli* (1X108 UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel filtro grueso con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó un solvente (25 ml de solución suero fisiológico) <sup>(7)</sup>

#### **Grupo Experimental 1**

Dicho grupo se encuentra formado por 5 placas Petri conteniendo Agar Müeller Hinton (25 ul) y el sembrado de bacteria *E.coli* (1X108 UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel filtro grueso con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó el extracto de *Lobelia decurrens* (Contoya) al 10%.

#### **Grupo Experimental 2**

Dicho grupo se encuentra formado por 5 placas Petri conteniendo Agar Müeller Hinton (25 ul) y el sembrado de bacteria *E. coli* (1X8 UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos

hechos con papel filtro grueso con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó el extracto de *Lobelia decurrens* (Contoya) al 20%.

### **Grupo Experimental 3**

Dicho grupo se encuentra formado por 5 placas Petri conteniendo Agar Müeller Hinton (25 ul) y el sembrado de bacteria *E.coli* (1X8 UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel filtro grueso con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó el extracto de *Lobelia decurrens* (Contoya) al 30%.

## **4.2.POBLACIÓN Y MUESTRA.**

### **POBLACIÓN:**

Estuvo formada por plantas de *Lobelia decurrens* (Contoya) que se encuentran en el Caserío El Guineo, Distrito de Tocmoche, Provincia de Chota, Departamento de Cajamarca.

### **Criterios de inclusión:**

Se utilizaron plantas de buen aspecto y color entre los 15 a 40 cm de altura, tallos leñosos, asiduamente ramificada en su base y de puntas escarpadas con hojas de márgenes dentados o acerrados y peciolos cortos, de inflorescencias de 1 a 1.5 cm de diámetro y flores liguladas de 3 a 6 mm. La cual tiene por tiempo de cosecha o de floración entre los meses de noviembre a marzo.

**Criterios de exclusión:**

Se rechazaron aquellas plantas demasiado jóvenes (pequeñas) o envejecidas, y también aquellas que hubieran estado expuestas a pesticidas u otros factores que pudieron afectar la composición química de la misma y así puedan afectar su poder antibacteriano.

**MUESTRA:**

Se utilizaron partes aéreas (hojas) de *Lobelia decurrens* (Contoya) recolectadas en el Caserío El Guineo, Distrito de Tocmoche, Provincia de Chota Departamento de Cajamarca.

La muestra consta de las hojas jóvenes, sanas, frescas, completas recién recolectadas en horas de la mañana de un día caluroso después del rocío en canastos limpios, las cuales se secaron bajo la luz solar y se trituraron en un molino a mano. Se rechazaron aquellas hojas demasiado jóvenes (pequeñas) o envejecidas, secas o enmohecidas, así mismo se evitó recoger flores o tallos u otras partes de la planta que presentaban algún daño, deformadas, parasitadas; evitando la manipulación excesiva de la muestra.

**MATERIAL BIOLÓGICO:**

El material biológico estuvo constituido por cultivos de la bacteria *Escherichia coli* la cual fue expuesta a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico obtenido de *Lobelia decurrens* (Contoya).

Se utilizaron bacterias morfológicamente iguales y jóvenes. No se utilizaron bacterias que no sean morfológicamente iguales, tampoco se utilizaron cepas con contaminantes.



#### 4.3.DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

<b>Variables</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Escalas de medición</b>
<b>Independiente</b> Concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Lobelia decurrens</i> (contoya)	Es un extracto líquido concentrado, obtenido de la extracción de una planta o parte de esta, utilizando como solvente alcohol y agua.	Se obtiene por maceración con etanol de 96° por un periodo de una semana.	%P/V del extracto disuelto en solución salina.	10% 20% 30%
<b>Dependiente:</b> Efecto Antibacteriano	Es el efecto logrado al inhibir el crecimiento de una determinada colonia de bacterias por inhibición o por destrucción de las mismas.	Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos conteniendo el extracto, teniendo como patrón referencial a la amikacina.	RESISTENTE SENSIBLE	<18mm 18 – 24 mm

#### **4.4.TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS.**

##### **Recolección de hojas de *Lobelia decurrens*:**

Las Hojas de *Lobelia decurrens* (Contoya), fueron recolectadas de las plantaciones del el Caserío El Guineo distrito de Tocmoche, provincia de Chota departamento de Cajamarca teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión (14).

##### **Técnicas de preparación de extracto hidroalcohólico:**

La preparación del extracto hidroalcohólico de *Lobelia decurrens* (Contoya) se realizará con etanol de 96° el cual tendrá como función extraer las sustancias y/o propiedades del material presentes en la muestra. El método de extracción utilizado será la maceración en etanol/agua (7:3) durante 7 días. Para lo cual es necesario 100 g de materia prima *Lobelia decurrens* (Contoya), 700 ml de etanol y 300 ml de agua. La concentración del extracto se realizó por eliminación del disolvente a presión reducida en rotavapor a una temperatura de 60° C y a una presión de 690mmHg por un tiempo de 3 horas aproximadamente, luego se dejó secar a temperatura ambiente por un lapso de 3 a 5 días <sup>(15)</sup>.

##### **Método de difusión de discos**

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Los discos empleados son impregnados del extracto hidroalcohólico de *Lobelia decurrens* (Contoya) en diferentes concentraciones para colocarlas en cada placa a una distancia establecida. Al ser sometidos a un grado de incubación de 37°C en 24 h. Para la bacteria *E. coli*, el extracto difunde radialmente desde el disco a través del agar, la cual la concentración disminuye al extenderse y alejarse desde el punto de disco <sup>(17)</sup>.

Llega a un punto en que el extracto con actividad antibacteriana no ejerce dicho efecto frente a la cepa. Al medir el diámetro del área de inhibición alrededor del disco, este puede clasificarse en diferentes categorías de sensible o resistente (S o R)<sup>(17)</sup>

#### **Preparación del medio de cultivo:**

Para el cultivo de bacterias, el medio adecuado para su crecimiento es el agar Mueller Hinton. La composición del medio de cultivo, es Agar 2.0 g de extracto de carne, 17.5 g de hidrolizado de caseína, 1.5 g de almidón, 17.0 g de agar disueltos en 1 litro de agua destilada con un pH ajustado a  $7.3 \pm 0.1$  a 25°C.<sup>(13)</sup>

#### **Preparación del inóculo para *E. coli*:**

Se prepara transfiriendo colonias, tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica en el cultivo se toca 4 - 5 colonias  $\geq 1$ mm con un tiempo de incubación de 24 h. No se puede utilizar cultivos de más de 24h. Para el rejuvenecimiento de la bacteria se realizó en un medio de cultivo de agar Tripticasa Soya (Agar TSA). Incubar este cultivo de 35°C - 37°C. Se diluye el cultivo al suspender en un tubo con solución salina estéril o caldo estéril, para obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland. Se agita, y se ajusta a una densidad óptica de 0,5 McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de la solución salina. En la cual esta solución tiene una concentración de  $1 \times 10^8 - 5 \times 10^8$  UFC/ml.<sup>(17)</sup>

## **Siembra de la muestra**

1. Utilizamos un asa bacteriológica o un hisopo estéril, luego sumergimos en la solución preparada para tomar la bacteria.
2. Colocamos el aplicador por encima del nivel del contenido o la muestra del tubo y se gira por las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.
3. En la superficie de la placa con el medio de cultivo, se siembra el inóculo de manera uniforme. La siembra se hace en 3 direcciones evitando el exceso.
4. Dejar la placa tapada entre 5 a 10 minutos para que la superficie del medio se seque.
5. Después del sembrado de la bacteria en estudio, se coloca los discos en la superficie del agar dentro de la placa usando pinzas estériles, presionar los discos suavemente sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y el contacto sea uniforme.
6. En la superficie de la placa se coloca 4 discos en la periferia y 1 en el centro, con una medida de 2cm de distancia entre disco y disco, para evitar que el halo de inhibición quede sobrepuesto.
7. Incubación de las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura 35°C – 37°C.
8. Se realizó la lectura de los halos de inhibición después de 24horas.

## **Materiales e Instrumentos:**

### **Materiales:**

- ❖ Agar Mueller Hinton
- ❖ Placas Petri estériles
- ❖ Hisopos Estériles
- ❖ Nefelómetro de Mc Farland turbidez 0.5
- ❖ Disco de papel filtro estériles.
- ❖ Jeringas de 1, 3, 5 y 10 ml
- ❖ Asa Bacteriológica
- ❖ Mecheros
- ❖ Puntas para micropipeta

### **Instrumentos:**

- ❖ Vernier electrónico
- ❖ Estufa
- ❖ Incubadora
- ❖ Micropipeta regulable

## **4.5.PLAN DE ANALISIS.**

Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizó el programa Excel 2013 los cuales fueron procesados a través del paquete estadístico IBM-SPSS- versión22.0 Microsoft Excel. Donde se encuentran las pruebas estadísticas T-Student para dos grupos y el análisis de varianza Anova para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95% -  $\alpha \leq 0.5$ ). Los resultados que se obtuvieron de los grupos de estudios están presentados en tablas,

#### 4.6. MATRIZ DE CONSISTENCIA.

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo y Diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lobelia decurrens</i> (contoya) sobre las cepas de <i>Escherichia coli</i>	Presenta efecto in vitro el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lobelia decurrens</i> (contoya) sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i> ?	<p><b>Objetivo general</b> Determinar el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lobelia decurrens</i> (contoya) sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos</b> Evaluar el efecto del extracto de las hojas de lobelia decurrens de las diferentes concentraciones en los cultivos de crecimiento antibacteriano.</p> <p>Medir los halos de inhibición formado por el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lobelia decurrens</i> a diversas concentraciones.</p> <p>Comparar el mayor tamaño de halos de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lobelia decurrens</i>.</p>	<p><b>Hipótesis alternativa (h<sub>1</sub>)</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lobelia decurrens</i> (contoya) presenta efecto in vitro sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Hipótesis nula (h<sub>0</sub>)</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lobelia decurrens</i> (contoya) no presenta efecto in vitro sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i>.</p>	El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental aplicado, de enfoque cuantitativo y corte transversal observacional .	<p><b>Dependiente</b> Efecto Antibacteriano</p> <p><b>Independiente</b> Concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Lobelia decurrens</i> (contoya)</p>	Se obtiene por maceración con etanol de 96° por un periodo de una semana. Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos conteniendo el extracto, teniendo como patrón referencial a la amikacina.	%P/V del extracto disuelto en solución salina. RESISTENTE SENSIBLE Grupo experimental 1 10% Grupo experimental 2 20% Grupo experimental 3 30% <18mm 18 – 24 mm	Pruebas paramétricas de ANOVA para el análisis de resultados.

#### **4.7. PRINCIPIOS ÉTICOS.**

Para el desarrollo de la investigación se tomó en cuenta los cuidados para evitar la contaminación biológica del medio externo con la bacteria, tanto el investigador como la zona donde se desarrolle el proyecto deben cumplir con los criterios de bioseguridad descritos por el Instituto Nacional de Salud <sup>(17)</sup>.

## V. RESULTADOS DE LA INVESTIGACION

### 5.1. RESULTADOS.

**Tabla 01:** Efecto in vitro del extracto hidro-alcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) sobre cultivos de *Escherichia coli* a 24 horas.

Grupos	Halos de Inhibición en mm X±DS	Significancia P ANOVA
<b>BLANCO (solución salina fisiológica)</b>	6.0 ± 0.0	0.000
<b>E.H.L. <i>decurrens</i> 10%</b>	7.8 ± 0.70	
<b>E.H.L. <i>decurrens</i> 20%</b>	10.76 ± 0.72	
<b>E.H.L. <i>decurrens</i> 30%</b>	14.88 ± 0.73	

\*(P < 0.05) Son estadísticamente significativos, se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.

**FUENTE:** Paquete Estadístico SPSS 22.0, datos en la investigación.

**TABLA 02:** Comparación del efecto in vitro del extracto hidro-alcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) a concentraciones de 10%, 20% y 30% sobre cultivos de *Escherichia coli*.

Grupos	Significancia Valor T Student*
<b>BLANCO (solución salina fisiológica) vs E.H.L. <i>decurrens</i> 10%</b>	0.000
<b>E.H.L. <i>decurrens</i> 10% vs E.H.L. <i>decurrens</i> 20%</b>	0.000
<b>E.H.L. <i>decurrens</i> 10% vs E.H.L. <i>decurrens</i> 30%</b>	0.000
<b>E.H.L. <i>decurrens</i> 20% vs E.H.L. <i>decurrens</i> 30%</b>	0.000

\*(P < 0.05) Son estadísticamente significativos, se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.

**FUENTE:** Paquete Estadístico SPSS 22.0, datos en la investigación.



## 5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

En la tabla N° 01, se elaboró el Análisis de Varianza (ANOVA) para la comparación de los grupos de trabajo en la que observó que presenta alta diferencia de significancia ( $p < 0,05$ ) demostrando que presenta una diferencia estadística altamente significativa, entre los Grupos de experimentación en los que se dispuso el extracto hidro-alcohólico de *Lobelia decurrens* (contoya) en las concentraciones de 10%, 20% y 30%; es decir, se acepta la Hipótesis Alternativa: El extracto hidro-alcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) tiene efecto in vitro sobre cultivos de *Escherichia coli*.

En la tabla N° 02, se utilizó la prueba estadística de T – STUDENT, donde se comparó el efecto in vitro de las hojas de *Lobelia decurrens* a concentraciones de 10%, 20% y 30%, la cual presentó una significancia de 0.0000, es decir, se acepta la Hipótesis Alternativa: El extracto hidro-alcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) tiene efecto in vitro sobre cultivos de *Escherichia coli*.

Las hojas de *Lobelia decurrens* (contoya) contiene flavonoides y dentro de estos se encuentran las chalconas, que es el metabolito activo que está relacionada con la actividad antibacteriana ya que en evaluaciones in vitro, se relaciona a la chalcona 1,3 diarilpropano chalconas, que sustituidas por grupos metoxi e hidroxilo en diferentes posiciones de los anillos A y B, se puede determinar que las hojas de *Lobelia decurrens* presenta actividad antimicrobiana en cultivos de *Escherichia coli*, aunque todavía no se tiene claro de manera concisa el mecanismo de acción, la relación entre la estructura de la chalcona se relaciona con la actividad biológica.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES:

- ❖ Se evaluó el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* sobre las cepas de *Escherichia coli* a concentraciones de 10%, 20% y 30%, en la cual los resultados nos afirman que dicho extracto si posee efecto antibacteriano.
  
- ❖ Se midieron los halos de inhibición formados por el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens* sobre las cepas de *Escherichia coli* de las 3 concentraciones, donde se pudo observar lo siguiente: el 10% presentó un halo de inhibición promedio de 1.8mm, el 20% presentó un promedio de 4.76mm y la concentración al 30% presentó un promedio de 8.88mm de halo de inhibición.
  
- ❖ Se comparó el mayor tamaño de halos de inhibición que presentaron las 3 concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lobelia decurrens*, donde se pudo observar que el mayor halo de inhibición al 10% fue de 3mm, por otro lado el mayor halo de inhibición al 20% fue de 6mm y por último el mayor halo de inhibición al 30% fue de 10mm. Por lo tanto se concluye que mientras mayor es la concentración, mayor fue el efecto antibacteriano que presentó dicho extracto.

## RECOMENDACIONES:

- ❖ Se recomienda emplear concentraciones con porcentajes de 50%, 75% y 100% de *Lobelia decurrens* ya que mientras más elevado es el porcentaje de concentración, mayor será el efecto antibacteriano.
  
- ❖ Se recomienda utilizar otros medios de extracción para evaluar el efecto de las hojas de *Lobelia decurrens* sobre las cepas de *Escherichia coli*.
  
- ❖ Se recomienda realizar estudios in vivo con la finalidad de valorar la efectividad y toxicidad que podrían producir los componentes activos de las hojas de *Lobelia decurrens*.
  
- ❖ Se recomienda trabajar con otro tipo de bacterias Gram negativas y Gram positivas.