



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL
EXTRACTO ETANÓLICO OBTENIDO DE *Ganoderma Lucidum*
FRENTE A *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis***

Trabajo de titulación presentado para optar el grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: LISSETTE ALEJANDRA SEGOVIA TELLO

TUTOR: DR. CARLOS EDUARDO ESPINOZA CHÁVEZ

Riobamba - Ecuador

2017

©2017, LISSETTE ALEJANDRA SEGOVIA TELLO

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO OBTENIDO DE *Ganoderma Lucidum* FRENTE A *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis***, de responsabilidad de la señorita Egresada: Lissette Alejandra Segovia Tello, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Carlos Espinoza

**DIRECTOR DE TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dra. Sandra Escóbar

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo, Lissette Alejandra Segovia Tello soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo experimental y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

LISSETTE ALEJANDRA SEGOVIA TELLO

C.I. 060408149-7

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la oportunidad de vivir y alcanzar mis sueños y mis metas, por protegerme especialmente cuando en mí latían dos corazones, por darme esperanzas y la inmensa alegría de demostrarme a mí misma que sí puedo. A mi adorado hijo Matías Enrique, por su gran amor, por saberme esperar largas horas, por ser la fuente de mi motivación y energía para terminar este proyecto de forma exitosa, así también como a su padre quien me acompañó durante este viaje con su amor, paciencia, comprensión, por sus palabras de aliento y ánimos para alcanzar juntos metas personales y profesionales. A mis padres por su apoyo incondicional, por estar junto a mí, por no desampararnos, por guiarme con sus consejos y su entrega total. A mis familiares, y amigos por su apoyo, cariño y por todos los momentos compartidos.

Lisette Alejandra

AGRADECIMIENTO

A Dios por iluminar mi mente y poner en mi camino ángeles que me acompañen durante mi vida estudiantil y personal. Gracias infinitas Ingeniera Anita Cunachi e Ingeniero Rigoberto Mancheno por su amistad, sus conocimientos, su tiempo, paciencia, por ser una guía fundamental en la realización práctica-teórica del presente trabajo de titulación, por creer en mí y aprender juntos nuevas cosas. A mis padres Jorge Segovia y Elsa Tello por ser ejemplo de perseverancia, lucha, por su persistencia, por darme el mejor regalo del mundo que es la educación, por ser fuente de amor. A los Miembros del Tribunal por su conocimiento científico y calidad humana, por sus directrices para obtener un trabajo de calidad. A mis amigos y compañeros, por hacer de esta etapa universitaria una experiencia inolvidable.

Lisette Alejandra

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
μL	Microlitros
ATCC	American Type Culture Collection
B	Blanco
CICAD	Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMB	Concentración mínima bactericida
CFI	Concentración mínima inhibitoria
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E	Etanol
EMB	Eosina Azul de Metileno
ESPOCH	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
g	Gramos
h	Horas
I	Intermedio
INEC	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
ITU	Infección de tracto urinario
LEISHPAREC	(Acrónimo de “Leishmaniosis y otras parasitosis en Ecuador”).
MIES	Ministerio de Inclusión Económica y Social
mL	Mililitros
mm	Milímetros
NCLLS	National Health Interview Survey
PABA	Ácido paraaminobenzóico
∅	Diámetro
OMS	Organización Mundial de la Salud
R	Resistente
RAMS	Reacción adversa de medicamento
S	Sensible
SXT	Sulfametoxazol/ Trimetoprim
SCOPE	Comité Permanente de intercambios clínicos
UV	Ultravioleta

UFC	Unidades formadoras de colonias
µg	Microgramos
Mm	Micrómetros

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	vii
TABLA DE CONTENIDO.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE ANEXOS	xxi
RESUMEN.....	xxiii
SUMMARY	xxiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEORICO REFRENCIAL	4
1.1. Infección.....	4
1.1.1. <i>Infecciones en Ecuador</i>	4
1.2. <i>Bacterias</i>	5
1.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	5
1.2.2. <i>Escherichia coli</i>	6
1.2.3. <i>Proteus mirabilis</i>	7
1.3. Antibióticos.....	7
1.3.1. <i>Mecanismo de acción de los antibióticos</i>	8
1.3.2. <i>Mecanismo de resistencia a antimicrobianos</i>	9
1.3.3. <i>Penicilina G</i>	10
1.3.4. <i>Estreptomicina</i>	11
1.3.5. <i>Eritromicina</i>	11
1.3.6. <i>Tetraciclina</i>	12
1.3.7. <i>Trimetoprim y sulfametoxazol</i>	12
1.4. Prueba de sensibilidad antimicrobiana.....	13
1.5. Tinción Gram	13
1.6. Medicina tradicional o Ancestral.....	14

1.7.	Medicina tradicional china	15
1.8.	Medicina herbolaria	15
1.9.	Fitoterapia	16
1.10.	Medicamentos fitoterápicos	16
1.11.	Fitocomplejo	16
1.12.	Hongo medicinal	17
1.12.1.	<i>Hongos Basidomicetos</i>	17
1.12.2.	<i>Ganoderma lucidum</i>	18
1.12.2.1.	<i>Composición nutricional</i>	19
1.12.2.2.	<i>Usos terapéuticos Tradicionales</i>	19
1.12.2.3.	<i>Importancia farmacológica Ganoderma</i>	20
1.12.2.4.	<i>Mecanismo de acción compuestos activos</i>	22
1.12.2.5.	<i>Actividades biológicas demostradas de los extractos de Ganoderma lucidum</i>	23
1.13.	Extractos de productos naturales	24
1.13.1.	<i>Tipos de Extracción:</i>	24
1.13.1.1.	<i>Extractos Fluidos</i>	24
1.13.1.2.	<i>Extractos semisólidos o Blandos</i>	24
1.13.1.3.	<i>Extractos Secos</i>	25
1.13.2.	<i>Métodos de extracción de principios activos</i>	25
1.13.2.1.	<i>Extracción discontinua- Maceración</i>	25
1.13.3.	<i>Concentración de extractos</i>	26
1.14.	Tamizaje Fitoquímico	26
1.14.1.	<i>Terpenos</i>	26
1.14.2.	<i>Flavonoides</i>	27
1.14.3.	<i>Cumarinas</i>	27
1.14.4.	<i>Saponinas</i>	27
1.14.5.	<i>Compuestos fenólicos</i>	27
1.14.6.	<i>Taninos</i>	28
1.14.7.	<i>Quinonas</i>	28

1.14.8.	<i>Resinas</i>	28
1.14.9.	<i>Antiocianidinas</i>	28
1.14.10.	<i>Glucósidos</i>	28
1.14.11.	<i>Mucílagos</i>	29
1.14.12.	<i>Alcaloides</i>	29

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	30
2.1.	Localización de la experimentación	30
2.2.	Materiales, Equipos y Reactivos	30
2.2.1.	<i>Material Vegetal</i>	30
2.2.2.	<i>Material biológico (Bacterias ATCC)</i>	30
2.2.3.	<i>Material de laboratorio</i>	30
2.2.4.	<i>Equipos de laboratorio</i>	31
2.2.5.	<i>Reactivos</i>	32
2.2.6.	<i>Medios de cultivo</i>	33
2.3.	Obtención de extractos del hongo <i>Ganoderma lucidum</i>-Método de maceración 33	
2.4.	Control de calidad de los extractos a través de métodos físico-químicos	33
2.4.1.	<i>Determinación de los requisitos organolépticos</i>	33
2.4.2.	<i>Determinación de la densidad relativa</i>	34
2.4.3.	<i>Determinación del pH</i>	34
2.4.4.	<i>Índice de refracción</i>	34
2.4.5.	<i>Sólidos totales</i>	35
2.5.	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	35
2.6.	<i>Evaluación de la actividad antimicrobiana</i>	37
2.6.1.	<i>Obtención de cultivos</i>	37
2.6.2.	<i>Descripción morfológica de los cultivos bacterianos</i>	37
2.6.2.1.	<i>Descripción de las colonias</i>	37
2.6.2.2.	<i>Tinción Gram</i>	37
2.6.3.	<i>Determinación de las UFC de Bacterias</i>	38

2.6.3.1.	<i>Preparación de estándar Mcfarland 0,5</i>	38
2.6.3.2.	<i>Preparación de suspensión bacteriana</i>	38
2.6.4.	<i>Prueba de actividad</i>	38
2.6.5.	<i>Preparación de los extractos para determinar la actividad bacteriana</i>	39
2.6.5.1.	<i>Esterilidad de los extractos</i>	39
2.6.6.	<i>Evaluación de halos de inhibición</i>	39
2.7.	Análisis estadísticos de datos	40

CAPÍTULO III

3.	ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
3.1.	Obtención de extractos del hongo <i>Ganoderma lucidum</i>	41
3.2.	Tamizaje fitoquímico cualitativo de <i>Ganoderma lucidum</i>	43
3.3.	Descripción morfológica de los cultivos	44
3.3.1.	<i>Caracterización macroscópica y Tinción Gram</i>	44
3.3.1.1.	<i>Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>	45
3.3.1.2.	<i>Escherichia coli ATCC 9637</i>	46
3.3.1.3.	<i>Proteus mirabilis ATCC 25933</i>	48
3.4.	Prueba de actividad antibióticos controles	49
3.5.	Esterilidad de los extractos	50
3.6.	Evaluación de los halos de inhibición	51
3.7.	Resultados estadísticos con SPSS v22 para Windows	70
3.7.1.	<i>Influencia de los antibióticos y concentraciones de extractos sobre Escherichia coli ATCC9637, Staphylococcus aureus ATCC25923 y Proteus mirabilis ATCC25933</i> 70	
3.7.1.1.	<i>Influencia de los antibióticos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas. Pruebas no paramétricas</i>	70
3.7.1.2.	<i>Influencia de los antibióticos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas. Pruebas Paramétricas</i>	77
3.7.1.3.	<i>Influencias de las concentraciones de extractos etanólicos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas</i>	80
3.7.1.4.	<i>Influencias de las concentraciones de extractos acuosos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas</i>	86

3.7.2.	<i>Comparación y Selección del mejor antibiótico y la mejor concentración de extracto sobre Escherichia coli ATCC 9637, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Proteus mirabilis ATCC 25933.</i>	91
3.7.2.1.	<i>Selección del mejor extracto, en general, con mayor actividad antimicrobiana sobre las bacterias patógenas.</i>	91
3.7.2.2.	<i>Comparación de las bacterias con cada una de las concentraciones de los extractos tanto acuoso como etanólico de Ganoderma lucidum, y selección del extracto con mayor actividad antimicrobiana.</i>	92
3.7.2.3.	<i>Comparación de las bacterias con cada uno de los antibióticos y selección del antibiótico con mayor actividad antimicrobiana.</i>	98
3.7.3.	<i>Determinar qué bacteria es la más sensible frente a las concentraciones de los extractos</i>	103
3.7.3.1.	<i>Comparación y selección de la bacteria más sensible frente a los extractos de Ganoderma lucidum en general</i>	103
3.7.3.2.	<i>Comparación y selección de la bacteria más sensible frente al extracto etanólico de Ganoderma lucidum.</i>	104
3.7.3.3.	<i>Comparación y selección de la bacteria más sensible frente al extracto acuoso de Ganoderma lucidum</i>	105
3.7.3.4.	<i>Comparación y selección del microorganismo más sensible frente a cada una de las concentraciones del extracto etanólico de Ganoderma lucidum.</i>	106
3.7.3.5.	<i>Comparación y selección del microorganismo más sensible frente a cada una de las concentraciones del extracto acuoso de Ganoderma lucidum</i>	107
	CONCLUSIONES	111
	RECOMENDACIONES	113
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS Y APÉNDICES	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Hongo <i>Ganoderma lucidum</i>	18
Figura 2-1: Estructura básica de los principales triterpenos de tipo lanostano de <i>Ganoderma lucidum</i>	21
Figura 3-1: Estructura química de lanosterol.....	22
Figura 4-1: Principales triterpenos de tipo lanostano presentes en los extractos etanólicos del cuerpo fructífero de <i>Ganoderma lucidum</i>	24
Figura 1-2: Distribución de los discos en el medio de cultivo.....	40
Figura 1-3: Vista macroscópica <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en Agar cerebro corazón y Agar Mueller Hinton	45
Figura 2-3: Vista macroscópica <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en Agar Manitol Salado	46
Figura 3-3: Vista microscópica <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Tinción Gram	46
Figura 4-3: Vista macroscópica <i>Escherichia coli</i> ATCC 9637 Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton.....	47
Figura 5-3: Vista macroscópica <i>Escherichia coli</i> ATCC 9637 en Agar Eosina Azul de Metileno	47
Figura 6-3: Vista microscópica <i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	47
Figura 7-3: Vista macroscópica <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933 Agar cerebro corazón y Agar Mueller Hinton.....	48
Figura 8-3: Vista macroscópica <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933 Agar Eosina Azul de metileno	48
Figura 9-3: Vista microscópica <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	49
Figura 10-3: Extracto etanólico en Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton.....	50
Figura 11-3: Extracto acuoso en Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Clasificación de los antibióticos según su efecto antibacteriano	8
Tabla 2-1: Selección de antibióticos para pruebas de sensibilidad o antibiogramas con discos	9
Tabla 3-1: Principios de la Tinción Gram	14
Tabla 4-1: Tipos de hongo Reishi y sus usos	20
Tabla 1-2: Procedimientos Tamizaje fitoquímico.	35
Tabla 2-2: Preparación suspensiones bacterianas.....	38
Tabla 3-2: Preparación prueba de actividad con antibióticos	38
Tabla 1-3: Resultados de la obtención de extractos de <i>Ganoderma Lucidum</i>	41
Tabla 2-3: Resultados obtenidos del control de calidad de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i>	42
Tabla 3-3: Resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico cualitativo de <i>Ganoderma lucidum</i>	43
Tabla 4-3: Resultados de actividad antibióticos c esterilidad de los extractos acuoso controles	49
Tabla 5-3: Resultados de la esterilidad de los extractos acuoso y etanólico de <i>Ganoderma lucidum</i>	50
Tabla 6-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Ganoderma lucidum</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC9637 a las 24- 48 y 72 horas.	51
Tabla 7-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto acuoso de <i>Ganoderma lucidum</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC9637 a las 24- 48 y 72 horas.	54
Tabla 8-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Ganoderma lucidum</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 a las 24- 48 y 72 horas.	58
Tabla 9-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto acuoso de <i>Ganoderma lucidum</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 a las 24- 48 y 72 horas.	60
Tabla 10-3: Evaluación de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Ganoderma lucidum</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933 a las 24- 48 y 72 horas.....	63
Tabla 11-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto acuoso de <i>Ganoderma lucidum</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933 a las 24- 48 y 72 horas.	66

Tabla 12-3: Evaluación de la sensibilidad de penicilina G 10µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 h en Agar Cerebro Corazón (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)	70
Tabla 13-3: Prueba de Kruskal Wallis. Penicilina G 10µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas.	70
Tabla 14-3: Evaluación de la sensibilidad de eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 h en Agar Cerebro Corazón (Prueba Kruskal Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)....	71
Tabla 15-3: Prueba de Kruskal Wallis. Eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	71
Tabla 16-3: Evaluación de la sensibilidad de sulfametoxazol /trimetoprim frente a bacterias, 24, 48, 72 h, Agar Cerebro Corazón (Prueba Wallis /Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)	72
Tabla 17-3: Prueba Kruskal Wallis .Sulfametoxazol- trimetoprim frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	72
Tabla 18-3: Evaluación de la Sensibilidad de penicilina G 10 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)	73
Tabla 19-3: Prueba Kruskal Wallis. Penicilina G 10 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	73
Tabla 20-3: Evaluación de la sensibilidad de eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney / $p < 0.05$ $n = 5$).....	74
Tabla 21-3: Prueba Kruskal Wallis. Eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	74
Tabla 22-3: Evaluación de la sensibilidad de tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 24 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)	74
Tabla 23-3: Prueba Wallis. Tetraciclina frente bacterias 24h.....	75
Tabla 24-3: Evaluación de la Sensibilidad de estreptomina 300 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney / $p < 0.05$ $n = 5$)..	75
Tabla 25-3: Prueba Kruskal Wallis. Estreptomina 300 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	76
Tabla 26-3: Evaluación de la Sensibilidad de Sulfametoxazol -trimetoprim frente a bacterias, 24, 48, 72 h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis /Whitney/ $p < 0.05$ $n = 5$).....	76
Tabla 27-3: Prueba Kruskal Wallis. Sulfametoxazol- trimetoprim frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	76
Tabla 28-3: Evaluación de la Sensibilidad de tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA / Prueba Dunnet C).....	77
Tabla 29-3: Prueba ANOVA. Tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Cerebro Corazón.....	77

Tabla 30-3: Evaluación de la sensibilidad de estreptomycin 300 µg frente a bacterias, 24, 48, 72 h , Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA/Bonferroni/Scheffe/Tuckey/Dunnet C).....	78
Tabla 31-3: Prueba ANOVA. Estreptomycin 300 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Cerebro Corazón.....	79
Tabla 32-3: Evaluación de la Sensibilidad de Tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 48, 72 h , Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA/Bonferroni/Scheffe/Tuckey/Dunnet C)	79
Tabla 33-3: Evaluación de la Sensibilidad de Tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 48, 72 h , Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA/Bonferroni/Scheffe/Tuckey/Dunnet C)	80
Tabla 34-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 100 % extracto etanólico frente a bacterias, 24,48,72 h ,Agar Mueller Hinton (Prueba K.Wallis/Whitney, p <0.05, n= 10).....	80
Tabla 35-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico 100% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	81
Tabla 36-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 75% extracto etanólico frente a bacterias, 24,48,72 h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis/Whitney p <0.05, n= 10).....	81
Tabla 37-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico 75% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	81
Tabla 38-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 50% extracto etanólico frente a bacterias, 24, 48, 72 h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney, p <0.05, n= 10).....	82
Tabla 39-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico 50% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	82
Tabla 40-3: Evaluación de la sensibilidad de etanol absoluto frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney, p <0.05, n= 10).....	83
Tabla 41-3: Prueba Kruskal Wallis. Etanol Absoluto frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	83
Tabla 42-3: Evaluación de la sensibilidad extracto etanólico 100% frente a bacterias,24, 48, 72 h , Agar Cerebro Corazón (Prueba Wallis / p < 0.05 n = 10)	84
Tabla 43-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 75% de extracto etanólico frente a bacterias 24, 48, 72h, Agar Cerebro corazón (Prueba Kruskal Wallis p<0.05 n=10)	84

Tabla 44-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 50 % extracto etanólico frente a bacterias, 24, 48,72 h , Agar Cerebro corazón (Prueba Wallis/Whitney $p < 0.05$ $n = 10$)	84
Tabla 45-3: Prueba Kruskal Wallis. Concentración 50 % extracto etanólico frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	85
Tabla 46-3: Evaluación de la sensibilidad del etanol absoluto frente a bacterias,24, 48,72 horas, Agar Cerebro corazón (Prueba Wallis / Mann Whitney / $p < 0.05$ $n = 10$)	85
Tabla 47-3: Prueba Kruskal Wallis. Etanol Absoluto frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	86
Tabla 48-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 100 % extracto acuoso frente a bacterias, 24, 48, 72 h ,Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis/Whitney $p < 0.05$ $n = 10$)	86
Tabla 49-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 75% extracto acuoso frente a bacterias 24, 48,72h, Agar Mueller Hinton (Prueba Kruskal Wallis/Whitney $p < 0.05$ $n = 10$)	87
Tabla 50-3: Prueba Kruskal Wallis .Extracto acuoso 75% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	87
Tabla 51-3: Evaluación de la sensibilidad de la concentración 50% extracto acuoso frente a bacterias, 24, 48,72h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n = 10$)	88
Tabla 52-3: Prueba Kruskal Wallis .Concentración 50 % extracto acuoso etanólico frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton	88
Tabla 53-3: Evaluación de la sensibilidad de la concentración 100% extracto acuoso frente a bacterias,24, 48,72h, Agar Cerebro(Prueba Wallis / Whitney / $p < 0.05$ $n = 10$)	88
Tabla 54-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto acuoso 100% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	89
Tabla 55-3: Evaluación de la sensibilidad de la concentración 75 % extracto acuoso frente a bacterias, 24 h, Agar corazón (Prueba Wallis /Whitney / $p < 0.05$ $n = 10$)	89
Tabla 56-3: Prueba Kruskal/Wallis. Extracto acuoso 75% frente a bacterias las 24, 48 y 72 horas	90
Tabla 57-3: Evaluación de la Sensibilidad de la concentración 50% extracto acuoso frente a bacterias, 24, 48,72 h, Agar corazón (Prueba Wallis / Whitney/ $p < 0.05$ $n = 10$)	90
Tabla 58-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto acuoso 50% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas	91
Tabla 59-3: Selección del mejor extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> con actividad antibiótica frente a bacterias 24, 48 y 72 h (Prueba Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n = 180$)	91
Tabla 60-3: Prueba Kruskal Wallis. Mejor extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> con actividad antibiótica frente a bacterias a las 24- 48 y 72h	92

Tabla 61-3: Evaluación de la sensibilidad concentraciones extractos <i>Ganoderma</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC963, 24,48 y 72 (Prueba Wallis / Whitney para $p < 0.05$ n = 10).....	92
Tabla 62-3: Prueba Wallis .Concentraciones extractos <i>Ganoderma</i> a las 24, 48 y 72 horas frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC9637.....	94
Tabla 63-3: Evaluación de la sensibilidad concentraciones extractos <i>Ganoderma</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923,24,48 y72 h (Prueba Wallis /Whitney $p < 0.05$ n =10)	94
Tabla 64-3: Prueba Kruskal Wallis. Concentraciones extractos <i>Ganoderma</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 a las 24, 48 y 72 horas.	95
Tabla 65-3: Evaluación de la sensibilidad concentraciones extractos <i>Ganoderma</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933,24, 48 y72 h (Prueba Wallis /Whitney / $p < 0.05$ n=10)	96
Tabla 66-3: Prueba Kruskal Wallis. Concentraciones extractos <i>Ganoderma</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933, 24, 48 y 72 horas	97
Tabla 67-3: Evaluación de la sensibilidad de antibióticos frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC9637 (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ n = 5).....	98
Tabla 68-3: Prueba Kruskal Wallis .Antibióticos frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC9637 a las 24, 48 y 72 horas.	99
Tabla 69-3: Evaluación de la sensibilidad de antibióticos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC9637 a las 24, 48, 72 h (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ n = 5).....	100
Tabla 70-3: Prueba Kruskal Wallis .Antibióticos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC9637 a las 24, 48, 72 horas	101
Tabla 71-3: Evaluación de la sensibilidad de antibióticos frente a <i>Proteus mirabilis</i> 25933 a las 24, 48, 72 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ n = 5).....	101
Tabla 72-3: Prueba Kruskal Wallis .Antibióticos frente a <i>Proteus mirabilis</i> 25933 a las 24, 48, 72 horas	102
Tabla 73-3: Selección de la bacteria más sensible a los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ n = 120).....	103
Tabla 74-3: Prueba Kruskal Wallis .Bacteria más sensible a los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i>	104
Tabla 75-3: Selección de la bacteria más sensible al extracto etanólico a las 24 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ n = 60)	104
Tabla 76-3: Prueba Kruskal Wallis. Bacteria más sensible al extracto etanólico a las 24 horas, 48 y 72 horas	104

Tabla 77-3: Selección de la bacteria más sensible al extracto acuoso a las 24 horas, 48 y 72 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 60$).....	105
Tabla 78-3: Prueba Kruskal Wallis .Bacteria más sensible al extracto acuoso a las 24, 48 y 72 horas	105
Tabla 79-3: Evaluación de la sensibilidad del extracto etanólico frente a bacterias a las 24 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ $n = 30$).....	106
Tabla 80-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico frente a bacterias a las 24, 48 y 72 horas	106
Tabla 81-3: Evaluación de la sensibilidad del extracto acuoso frente bacterias las 24, 48 y 72 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 30$).....	107
Tabla 82-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto acuoso frente a bacterias a las 24, 48 y 72 horas.	108
Tabla 83-3: Promedios generales de los halos de inhibición de las bacterias frente a los antibióticos con mayor efecto antimicrobiano.....	108
Tabla 84-3: Promedios generales de los halos de inhibición de las bacterias frente a los extractos con mayor efecto antimicrobiano	109

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** Diámetros de los halos de inhibición de las concentraciones de los extractos de *Ganoderma lucidum* frente a las bacterias patógenas
- ANEXO B:** Diámetros de los halos de inhibición de diferentes antibióticos frente a las bacterias patógenas
- ANEXO C:** Antibióticos y diámetros críticos para *Staphylococcus spp*
- ANEXO D:** Antibióticos y diámetros críticos para *Enterobacterias*
- ANEXO E:** Diámetro de las zonas patrón y su equivalencia con los puntos de ruptura de las CMI's
- ANEXO F:** Control de Calidad y obtención de extractos
- ANEXO G:** Tamizaje fitoquímico
- ANEXO H:** Mcfarland
- ANEXO I:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Penicilina G 10 µg y etanol absoluto 24 horas
- ANEXO J:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Penicilina G 10 µg y Agua destilada estéril 24 horas
- ANEXO K:** *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Sulfametoxazol- Trimetoprim y etanol absoluto 24 horas
- ANEXO L:** *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Sulfametoxazol- Trimetoprim y agua destilada estéril 24 h
- ANEXO M:** *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Estreptomicina y Etanol Absoluto 24 horas
- ANEXO N:** *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Estreptomicina y agua destilada estéril 24 horas
- ANEXO O:** *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Penicilina G 10 µg y etanol absoluto 24 horas
- ANEXO P:** *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Penicilina G 10 µg y agua destilada estéril 24 horas
- ANEXO Q:** *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Tetraciclina 30 µg y etanol absoluto 24 horas
- ANEXO R:** *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control estreptomicina y etanol absoluto 24 horas
- ANEXO S:** *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control estreptomicina y agua destilada estéril 24 horas
- ANEXO T:** *Escherichia coli* CC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Sulfametoxazol / Trimetoprim y agua destilada estéril 24 horas

ANEXO U: *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón

Extracto etanólico control Sulfametoxazol / Trimetoprim y etanol absoluto 24 h

ANEXO V: *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón

Extracto etanólico control Penicilina G y etanol absoluto estéril 24 horas

ANEXO W: Ensayos actividad antimicrobiana – Método difusión de discos

ANEXO X: Análisis sistema antiplagio- Urkund

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo principal evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos del hongo *Ganoderma lucidum*, y cualificar la presencia de triterpenos responsables de dicha actividad, sobre bacterias ATCC de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis*. En el estudio se trabajó con dos extractos: acuoso y etanólico, empleando discos de difusión humedecidos con soluciones al 50%, 75% y 100% se realizó antibiogramas en Agar Infusión Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton. Esta actividad se comparó con antibióticos estándares: penicilina G 10µg, eritromicina 15µg, estreptomina 300µg, tetraciclina 30µg, trimetoprim/sulfametoxazol 1.5/23.75µg; y como solventes etanol absoluto y agua destilada estéril. La actividad antimicrobiana se determinó a través de los diámetros de los halos de inhibición (mm) y la presencia de triterpenos se cualificó a través del tamizaje fitoquímico. El antibiótico con mayor efecto antimicrobiano para *Escherichia coli* ATCC9637 es estreptomina 300µg (34,5mm); para *Proteus mirabilis* ATCC25933 son estreptomina 300µg (28,1mm), penicilina G 10µg (21,93mm) y para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 es trimetoprim/sulfametoxazol 1,5/23,75µg (28,53mm) en Agar Mueller Hinton. El extracto etanólico de *Ganoderma lucidum*, presentó mayor actividad antimicrobiana que el extracto acuoso. Las concentraciones con mayor efecto antimicrobiano para *Escherichia coli* ATCC9637 fue extracto etanólico 50% (16,76mm); para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 etanol absoluto (9,95mm) y para *Proteus mirabilis* ATCC25933 extracto etanólico 50% (15,15mm) y extracto acuoso 100% (7,43mm), dichos halos no llegan a la media de los comerciales. Se recomienda fraccionar e identificar los compuestos triterpénicos de los extractos de *Ganoderma lucidum*

Palabras clave: <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA> <MICROBIOLOGÍA> <HONGO (*Ganoderma lucidum*)> <ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA> <MÉTODO DE DIFUSIÓN DE DISCOS> <HALOS DE INHIBICIÓN>

SUMMARY

The present investigation aimed to evaluate the *in vitro* antimicrobial activity in extracts of the fungus *Ganoderma lucidum* and qualifying the presence of triterpenes responsible for such an activity on bacteria ATCC of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Proteus mirabilis*. In the study two extracts were involved: aqueous and ethanolic, using diffusion disks moisted with solutions at 50%, 75% and 100%. Antibiograms were carried out in Agar Infusion Brain Heart and Agar Mueller Hinton. This activity was compared to the standard antibiotics: penicillin G 10µg, erythromycin 15µg, streptomycin 300µg, tetracycline 30µg, trimethoprim/sulfametoxazol 1.5/23.75µg; and as solvents absolute ethanol and sterile stiller water. The antimicrobial activity was determined through the inhibition halos (mm) and the presence of triterpenes was qualified through the phytochemical sieving. The antibiotic with the highest antimicrobial effect for *Escherichia coli* ATCC9637 is the streptomycin 300µg (34,5mm); for *Proteus mirabilis* ATCC25933, the streptomycin 300µg (28.1mm), penicillin G 10µg (21,93mm) and for *Staphylococcus aureus* ATCC25923 the trimethoprim/sulfametoxazol 1.5/23.75µg (28,53mm) in Agar Mueller Hinton. The ethanolic extract of *Ganoderma lucidum* presented a higher antimicrobial activity than the aqueous extract. The concentrations with the highest antimicrobial effect for *Escherichia coli* ATCC9637 were with the ethanolic extract 50% (16,76 mm); for *Staphylococcus aureus* ATCC25923 absolute ethanol (9,95mm) and for *Proteus mirabilis* ATCC25933 ethanolic extract 50% (15,15mm) and aqueous extract 100% (7,43mm); such halos do not reach the mean of the commercial ones. It is recommended to fracture and identify the triterpenic compound of the extracts of the *Ganoderma lucidum*.

Key Word: <TECHNOLOGY AND ENGINEERING SCIENCES > <MICROBIOLOGY>
<FUNGUS (*Ganoderma lucidum*)> <ANTIMICROBIAL ACTIVITY > <DISK DIFUSION
METHOD> <INHIBITION HALOS>

INTRODUCCIÓN

La calidad de vida de las personas ha progresado por el uso de antimicrobianos los cuales han disminuido la morbi-mortalidad por enfermedades de tipo infeccioso. (Livermore, 2003, p.1). Los antimicrobianos son los más consumidos en el mundo, de tal manera que los países desarrollados dirigen un 35 % de su presupuesto al gasto sanitario. (Valenzuela, et al, 2003, p.119). Sin embargo, el uso masivo de estos fármacos ha provocado que sus prescripciones sean incorrectas o innecesarias en un 10- 50 %. (Jensen, et al, 2009, p.5.)

Esta condición genera resultados negativos directos sobre el paciente, su entorno, sobre la estructura de salud pública dando lugar al desarrollo de resistencias bacterianas, fallas terapéuticas, RAMs, interacciones entre medicamentos y a su vez afecta a la economía por los elevados costos de salud. (McGowan, 2001, p.282)

El problema más importante es la aparición de resistencia bacteriana en los microorganismos responsables de enfermedades infecciosas comunes como : infecciones de las vías respiratorias principalmente neumonía, infecciones del tracto urinario, diarrea e infecciones gastrointestinales (World Health Organization ,2014, p.32) Entre las bacterias que se destacan están : Gram positivas, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, , *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus epidermitis*; bacilos Gram negativos no fermentadores *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, también *Enterobacterias* (*Proteus mirabilis* ,*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*), y finalmente *Enterococcus*. (Valenzuela, et al, 2003, p.119); dichas infecciones causan una mortalidad de más del 85% a nivel mundial (World Health Organization ,2001, p.6)

Los principales mecanismos de resistencia bacteriana tanto adquirida como transmisible se basa en la síntesis de enzimas que inactivan al fármaco, otro mecanismo consiste en la dificultad de la llegada del antibiótico al órgano diana por la aparición de modificaciones o la modificación de la propia diana (Pérez, 1998,57).

En América latina según SCOPE (Comité permanente de intercambios clínicos) las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Enterococcus*, son los microorganismos causantes del 60 % las bacteriemias nosocomiales (Casellas, 2011, p.44)

En Ecuador las dos enfermedades infecciosas que se han mantenido durante diez años consecutivos , según datos de morbilidad del Ministerio de Salud Pública del año 2014 , son diarreas y gastroenteritis de posible origen infeccioso con una tasa media 18.89, enfermedades

respiratorias y neumonía con una tasa media del 18.71, cifras que son consideradas altas (INEC,2014,<http://www.ecuadorencifras.gob.ec/vdatos/>).

Actualmente se está prestando atención a las infecciones de vías urinarias que afecta a la población femenina en una tasa media de 10.72 (INEC,2014,<http://www.ecuadorencifras.gob.ec/vdatos/>), con mayor relevancia en mujeres embarazadas debido que el 27% de partos pretérmino tienen una asociación clínica con IVU (Macejko, 2007, p.32).

Esta condición a la que se enfrenta el área de la salud ha impulsado la investigación de productos naturales que sean fuentes de principios activos que actúen como nuevos antimicrobianos, con menor probabilidad de desarrollo de resistencia bacteriana, mayor espectro de acción y toxicidad baja. (Niño, 2010, p.9). Los metabolitos secundarios que producen las diferentes especies pertenecientes al reino fungi poseen actividad biológica, característica que los hace idóneos para ser usados en la elaboración de fitofármacos de uso clínico. (Berovic, 2003, p.77).

Las culturas orientales ancestrales especialmente China, Japón y Corea han usado *Ganoderma lucidum* por sus bondades medicinales desde hace más de 2000 a.C, su origen es en el continente asiático y han sido reconocidas seis variedades de las cuales el *Ganoderma* rojo es el que genera mayor número de actividades, su crecimiento es saprófito y en climas cálidos y húmedos y se lo puede cultivar in vitro con ayuda de sustratos como arroz, soja, aserrín. (Ríos, 2014, http://www.hostelvending.com/img/bdd_productos/178_dossier.pdf) Por sus diversos beneficios a la salud es conocido como el hongo de la inmortalidad para el tratamiento de afecciones como: bronquitis, problemas cardiacos, migraña, diabetes, artritis, hipercolesterolemia e hipertensión. (Khan & Abourashed,2010, p. 303).

Actualmente se conoce que *Ganoderma lucidum* posee actividades antimicrobianas, anticancerígenas, antitumorales, antioxidantes, estrogénicas entre sus compuestos bioactivos se encuentran triterpenos y polisacáridos. (Paduch et al. 2007, p. 321). Metabolitos bioactivos que son producidos naturalmente como mecanismos de defensa contra insectos, plagas, virus, bacterias y hongos, actúan matándolos o inhibiéndolos. Los hongos por sus mínimos requerimientos de nutrientes y por su alta afinidad a los sustratos permiten una obtención de metabolitos secundarios más rápida en comparación a las plantas (Jaramillo, 2009, p.13)

El hongo *Ganoderma* es comestible pero posee un sabor amargo y textura dura leñosa, por lo que el consumo de forma directa del basidiocarpo es mínima lo que causa que sus compuestos bioactivos no sean aprovechados, por tal razón para gozar de sus beneficios se debe obtener un extracto etanólico (Quiriz, 2011, p.1)

En nuestro país el MIES ha reconocido la validez de formas de medicina ancestral y alternativa y tratamientos basados en la fitoterapia , así el estado ecuatoriano está impulsando a la investigación mediante la política 10 , para asegurar la salud y calidad de vida de la población, de tal manera el presente trabajo responde a la política 3.2 del Plan Nacional del Buen Vivir que consiste en fortalecer la prevención, control y vigilancia de las enfermedades y desarrollo de capacidades para describir, prevenir y controlar la morbilidad (SENPLADES, 2013, p.326)

Bajo este contexto y en la necesidad de conocer y aprovechar las propiedades que presentan los principios activos de *Ganoderma* , se planteó evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico obtenido de *Ganoderma lucidum* frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis* para determinar la influencia de los antibióticos y las concentraciones de los extractos frente a las bacterias en mención, seleccionar el antibiótico y concentración de extracto con mayor actividad antimicrobiana e identificar la bacteria más sensible.

La evaluación de la actividad antimicrobiana del hongo comestible *Ganoderma lucidum* contribuirá al ámbito de la investigación para la posterior formulación de fitofármacos antibióticos que disminuyan la morbi-mortalidad de la población por resistencia a cepas bacterianas que ocasionan enfermedades comunes como infecciones gastrointestinales, respiratorias y urinarias.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO REFERENCIAL

1.1. Infección

La infección es una multiplicación excesiva y anormal de microorganismos (bacterias, hongos, virus, protozoos, helmintos) sobre el tejido de un organismo huésped, el cual puede o no presentar sintomatología de afección o enfermedad (Mandel, 1994, p.4)

1.1.1. Infecciones en Ecuador

A nivel mundial la mortalidad por enfermedades infecciosas afecta al 26 % de la población, es decir que provoca la muerte a alrededor de 13,3 millones, siendo las principales enfermedades en países desarrollados las infecciones del aparato respiratorio, y en los países en desarrollo principalmente infecciones nosocomiales, de vías respiratorias, neumonías y diarreas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015, http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2015/en/).

En el año 2015, alrededor de la mitad de 5,9 millones de muertes de menores de 5 años fueron resultados de enfermedades de tipo infeccioso como neumonía, diarrea, sepsis, tétanos, paludismo, sarampión, meningitis, sida. De las cuales las que causan mayor mortalidad son la neumonía y diarrea, presentes en mayor porcentaje en los sectores más desfavorecidos (UNICEF, 2010, p.10)

En Ecuador, las enfermedades infecciosas y de tipo parasitarios causan una mortalidad en niños en un porcentaje del 1,20 al 1, 28. (INEC, 2012, <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas/>). De acuerdo al INEC 2009, se conoce que la octava causa de mortalidad infantil es la diarrea y gastroenteritis de tipo infeccioso con un porcentaje del 2.5 %, y estas enfermedades ocupan el tercer lugar de causa de morbilidad infantil con un porcentaje de 172. 6 %. (INEC, 2009, <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas/>)

Según datos del Distrito Metropolitano de Quito las causas principales de morbilidad infantil son la neumonía (organismo no específico) y afecciones que se presentan durante el período neonatal como diarreas, sepsis bacteriana, dificultad respiratoria entre otras. Este comportamiento se observa a nivel nacional y en niños menores a 5 años (INEC, 2014, p. 33)

En las provincias de Chimborazo y Cotopaxi, las causas principales de muerte que han afectado a la población en el año 2010 son la influenza y la neumonía de tipo bacteriano, e infecciones mal definidas (SENPLADES; 2015, p.32)

En el cantón Riobamba según datos del Área Distrital Riobamba Chambo, 2003, el grupo de riesgo infantil de 1-14 años, presentan un 35.4 % infecciones respiratorias y diarreas en un 8 % (CICAD,2011,http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/savia/PDF/Cant%C3%B3n%20de%20Riobamba.pdf)

Las infecciones de vías urinarias están presentes en las mujeres de edad reproductiva y en embarazadas, este es un grupo de riesgo y mayor predisposición según un estudio realizado en el Subcentro de Salud del Cantón Libertad en donde el 87,3% de las mujeres tienen infección urinaria. (Tumbaco, 2013, p. 57)

El 80 y 90% de las infecciones urinarias ambulatorias es causada por *Escherichia coli*, *Proteus*, *Mirabilis*, *Klebsiella* y *Enterobacter*. (Florentin, et al, 2011, p.9)

1.2. Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares cuya reproducción es por fisión binaria, poseen mecanismos propios de producción de energía y el material genético para su crecimiento y desarrollo, por lo general son de vida libre, pero algunas cepas requiere estar intracelularmente obligadamente para poder vivir como por ejemplo: Rickettsias (Pérez & Mota, 2008, p. 23)

1.2.1. *Staphylococcus aureus*

Son cocos Gram positivos, que miden entre 0.5 a 1.5µm, se pueden encontrar como células únicas o agrupados en pares, tétradas, formando cadenas cortas o racimos de uvas. Las colonias de *S. aureus* son cremosas con bordes enteros y lisos, pueden presentar un color amarillo o dorado pues genera carotenoides, la β hemólisis que presentan algunas cepas alrededor de las colonias se aprecian en agar sangre (Cervantes, et al, 2014, pp.30-31)

Entre las infecciones que produce *Staphylococcus aureus* se encuentran, a nivel de la piel infecciones piógenas, infecciones profundas, neumonía, meningitis, intoxicación alimentaria, empiema, artritis séptica, abscesos, endocarditis, osteomielitis, piel escaldada, pericarditis y síndrome de choque tóxico (Todd, 2005, p.43)

Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM) y bacterias multirresistentes Gram negativas causan un alto porcentaje de infecciones nosocomiales. (Organización Mundial de la Salud, 2015,p.12) Es el microorganismo responsable de un alto índice de morbilidad y mortalidad por bacteriemia, así provoca alrededor del 11% a 33% de las bacteriemias hospitalarias y una cantidad significativa de bacteriemias en la comunidad, lo que desencadena complicaciones en un 50 % . (Tibavizco et al, 2007, p.1)

Las diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* han desarrollado resistencia a una gran variedad de medicamentos que se usan a nivel comunitario y hospitalario, entre los cuales se encuentran: aminoglucósidos, meticilina, cetólidos, penicilina, azálidos, tetraciclinas clásicas, fluoroquinolonas y clindamicina. Dicha resistencia se produce por modificaciones a nivel de expresión de genes. (Casellas, 2012, p.15)

Tiene un óptimo crecimiento en medios de enriquecimiento no selectivos como agar cerebro corazón, agar sangre, agar chocolate. (Cervantes, et al, 2014, pp.30-31)

Crecen durante las 18- 24 horas y tiene un amplio rango de temperaturas (7 a 40°C) con un óptimo de 35 a 37° C. (Baeza, et al, 2010, p. 2; Cervantes, et al, 2014, pp.30-31)

1.2.2. *Escherichia coli*

Es un bacilo Gram negativo, perteneciente a la familia, anaerobio facultativo (Rodríguez-Ángeles, 2002).

Las colonias de *E. coli* en agar sangre son de color blanco opaco, convexas, circulares con un tamaño de 2- 4 mm (Gonzales, 2013, p- 25)

Escherichia coli se encuentra naturalmente en los intestinos de animales, es un organismo ubicuo por lo que puede estar en todos lados especialmente en aguas negras. (Castro, 2012, p.27).

Es considerado un microorganismo de la flora normal del hombre, sin embargo existen seis grupos que producen diarrea y se los clasifica según su patogenicidad, virulencia, toxicidad y clínica: enteroagregativa, enterohemorrágica, enteropatógena, adherencia difusa y enterotoxigénica (Rodríguez-Ángeles, 2002, p. 464).

Entre las principales, infecciones intra y extraintestinales graves, que provoca *Escherichia coli* se encuentran, cistitis, mastitis, meningitis, infecciones del aparato excretor, neumonía, peritonitis y septicemia. Principalmente causan diarreas hemorrágicas, que afectan a niños de entre 1 a 8 años.

Provoca infecciones de vías urinarias en un 80%, se han encontrado en un 90% de las ITUS adquiridas en la comunidad, la entidad clínica más grave es las bacteriemias por E coli con betalactamasa de espectro extendido (García et al., 2011, p.11)

Presenta un 32,5% de multirresistencia a los antibióticos especialmente a sulfatrimetoprim, penicilinas + IBL, cefalosporinas. (García et al., 2011, p.11) Incubar a 37 ° C por 18-24 horas.

1.2.3. *Proteus mirabilis*

Es un bacilo Gram negativo, con amplia motilidad, aerobio facultativo propio de la microbiota fecal, que produce fenómeno de swarming, caracterizado por generar una ola alrededor de las colonias ,la cual se desplaza en forma radial (Lenette, et al, 2008, p. 156)

Las colonias bacterianas son blanquecinas traslúcidas, redondeados, circulares, convexas y medianos (Lenette, et al, 2008, p. 156)

Proteus mirabilis es el agente principal causante de infecciones del trato urinario, neumonías, infección en heridas, bacteriemias, septicemias. (Murray, 2008, p.18; Lima,et al, 2007, p. 7)

A nivel hospitalario y clínico *Proteus* presenta multirresistencia a antibióticos en un 16 %, especialmente a cefalosporinas de tercera generación y cuarta también a sulfatrimetoprim.. (Acosta, 2014, p.15) La resistencia se produce principalmente por la adquisición de las betalactamasas plasmídicas. (Rodriguez, et al, 2005, p.251)

El crecimiento óptimo se puede observar en agar nutritivo, agar sangre, agar cerebro corazón. (Lenette, et al, 2008, p. 156) Incubar a 37 ° C por 18-24 horas

1.3. Antibióticos

Los antibióticos son sustancias químicas que se producen a partir de diversos microorganismos (hongos, bacterias, actinomicetos) o son sintetizados químicamente en un laboratorio, su función es suprimir el crecimiento de los microorganismos y pueden inhibirlos o destruirlos. (Jawetz , 1989, p.110) Estas sustancias se diferencian entre sí por sus propiedades fisicoquímicas y efectos farmacológicos, también difieren en su mecanismo de acción y el espectro antimicrobiano (Madigan, et al, 2001, p.200)

Los antimicrobianos se clasifican según su efecto antimicrobiano en bactericidas, provocan una acción letal sobre la bacteria, interfieren en el metabolismo del DNA, alterando la síntesis de la pared celular y la membrana plasmática; y bacteriostáticos, inhiben de forma transitoria el crecimiento de las bacterias, es decir se suspende el antibiótico y reinicia su crecimiento, interfieren en la síntesis proteica.(Martínez, 2008, p.4; Jawetz , 1989, p.113;Carvo & Martínez, 2009, p.47)

Tabla 1-1: Clasificación de los antibióticos según su efecto antibacteriano

Bactericidas	Bacteriostáticos
Penicilinas	Tetraciclinas
Cefalosporinas	Eritromicina
Aminoglucósidos	Sulfonamida
Rifampicina	Novobiocina
Quinolonas	Cloranfenicol
Monobactámicos	
Polimixinas	

Fuente: (Cordiés, et al, p.21)

1.3.1. Mecanismo de acción de los antibióticos

Los antibióticos están formados por varios compuestos, actúan a través de diversos mecanismos y sus blancos de acción están en diferentes partes de la célula de la bacteria que se busca eliminar, los antibióticos impiden su reproducción, disminuyendo la concentración bacteriana (Cuadros, 2010, p. 4)

Los antibióticos de uso clínico desempeñan su actividad sobre funciones bacterianas o estructuras:

- a) Inhiben la síntesis de la pared bacteriana, actúan alterando la integridad de la membrana citoplásmica afectando su permeabilidad,
- b) Inhiben la la traducción y transcripción del material genético, actúan impidiendo la ssíntesis proteica,
- c) Bloquean la síntesis o las funciones de ácidos nucleicos,
- d) Otros antimicrobianos como los inhibidores de β -lactamasas protegen compuestos de la acción de enzimas hidrolíticas bacterianas (Cordiés-Jackson et al., 1998; Pascual, et al, p.39)

1.3.2. Mecanismo de resistencia a antimicrobianos

La resistencia a antimicrobianos es la condición adquirida de un microorganismo para soportar los efectos del antibiótico al que es sensible en forma habitual. Esta condición es causada por genes de resistencia productos de intercambios genéticos. (Madigan et al., 2006, p. 330).

Las bacterias Gram negativas muestran mayor resistencia que las bacterias Gram positivas al ingreso de antimicrobianos (Nikaido, 2003, p.596)

La resistencia antimicrobiana se determina en forma clínica por medio de antibiogramas, en donde se determina cuantitativamente la actividad antibiótica in vitro denominado como CMI

Tabla 2-1: Selección de antibióticos para pruebas de sensibilidad o antibiogramas con discos

Opción	Gram positivos			
Primera	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>	Otros	
	Penicilina G	Ampicilina	Ampicilina	
	Oxacilina	Cloranfenicol	Penicilina G	
	Eritromicina	Tetraciclina	Oxacilina	
	Cloranfenicol	Eritromicina	Clindamicina	
	Clindamicina	Penicilina G	Eritromicina	
			Tetraciclina	
Segunda	Gentamicina		Gentamicina	
	Netilmicina		Trimetroprim-sulfametoxazol	
	Vancomicina		Cloranfenicol	
Opción	Gram negativos			
Primera	Intestinal	Urinaria	Sangre Tejidos	Ps. Aeruginosa
	Ampicilina	Ácido oxolínico	Amikacina	Carbencilina
	Gentamicina	Ácido nalidíxico	Ampicilina	Amikacina
	Cloranfenicol	Norfloxacin	Gentamicina	Gentamicina
	Trimetroprim-sulfametoxazol	Nitrofurantoína	Cloranfenicol	Tobramicina

	Tetraciclina	Sulfisoxazole	Trimetroprim-sulfametoxazol	Polimixina B
		Trimetroprim-sulfametoxazol	Cefamandole	
			Tobramicina	
Segunda		Ampicilina	Cefoxitina	Colistina
		Cloranfenicol	Cefotaxima	
		Gentamicina	Kanamicina	

Fuente: (World Health Organization, 1979, p.979)

Existen dos tipos de resistencias, resistencia natural o intrínseca que se produce cuando las bacterias no poseen de un órgano diana para un antimicrobiano y se genera la selección de mutantes de naturaleza resistente. La resistencia adquirida se produce por la modificación del material genético de la bacteria y surge por mutaciones en nivel cromosómico y alteraciones en los mecanismos de transferencia de genética mediada por intregones, plásmidos y transpones que se comunican de una bacteria a otra. (García, et al, 1997, p.40; Martínez, 1997, 193)

Se reconocen tres tipos de mecanismos de resistencia: a) Hidrólisis enzimática, en donde se inactiva al antibiótico, b) Trastornos de permeabilidad, causados por modificaciones en la bacteria que evitan que el antibiótico llegue a la diana , c) Alteraciones del punto diana de acción por parte de la bacteria evitando y obstaculizando la actividad del antimicrobiano (Quintana, 2002, p.12)

1.3.3. *Penicilina G*

La penicilina G o Bencilpenicilina, es un betalactámico, de origen natural y de primera generación, su mecanismo de acción antibiótica consiste en inhibir las enzimas encargadas de la transpeptidación de cadenas polisacáridas de peptidoglicano para la conformación de la pared bacteriana. (Prescott, et al, p. 521)

Este antibiótico tiene efecto bactericida y presenta un espectro de acción reducido frente a la mayoría de Gram positivos y a pocos Gram negativos. Gérmenes Gram positivos como y *Bacillus anthracis*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Actinomyces bovis*, *Corynebacterium pyogenes*. Tiene mayor actividad sobre bacterias jóvenes, en fase de multiplicación y crecimiento. (Pérez R, 2010, p.417) Su resistencia antimicrobiana es por inhibición enzimática (Koneman et al., 2004, p.599).

1.3.4. Estreptomicina

Es un antibiótico del grupo de aminoglucósidos, que se deriva de *Streptomyces griseus*, es un antimicrobiano de primera generación, es de uso restringido. Es un fármaco con efecto bactericida pues causa la inhibición de la síntesis proteica bacteriana en la subunidad 30S ribosomal. (Vademecum, 2016, p. 1)

En la clínica se lo usa para erradicar la tuberculosis y eliminar las bacterias Gram-negativas sensibles., especialmente bacilos tiene una potencia baja, también tiene actividad sobre pocos Gram positivos (World Health Organization, 1992, p.36). Gérmenes Gram negativos sensibles *Escherichia coli*, *Yersinia pestis*, *M. tuberculosis*, *Shigella*, *enterococcus*, *Klebsiella*; Gram positivos: *S. aureus*. (Tripathi, 2005, p. 430)

Las bacterias Gram positivas y negativas generan resistencia a este antibiótico por la inactivación de enzimas que modifican aminoglucósidos (Koneman et al., 2004, p.599).

1.3.5. Eritromicina

Es un antibiótico del grupo de los macrólidos, se deriva de *Streptomyces erythraeus*, antimicrobiano de primera generación, inhibe la síntesis de proteínas pues actúan a nivel de la subunidad 50S ribosomal. (IQB, 2016, p. 1)

Este fármaco tiene efecto bacteriostático en altas concentraciones y efecto bactericida en bajas concentraciones, actúa frente a cocos aerobios y anaerobios Gram positivos, tiene mínima actividad sobre cocos gramnegativos aerobios y anaerobios. Sensibilidad a Gram positivos: *Streptococcus A, B, C, viridans, peptoestreptococcus, neumoniae, peptococcus* (Brystkier, et al, 1993, p.46) Poca utilidad frente a *Neisseria meningitidis, Neisseria gonorrhoeae*, activos frente a *Branhanella catharralis, Mycoplasma neumoniae, Campylobacter fetus, Bordetella pertusis* y *Legionella*.

Se los usa para el tratamiento de *Treponema pallidum, Bacillus anthracis, Clostridium tetani, Corinebacterium difteriae* y *Actinomices israeli peptococcus*. (Brystkier, et al, 1993, p. 46) La resistencia a estos antibióticos es por modificación del sitio diana de acción y por un fenómeno de eflujo del fármaco (Tafur, et al, 2008, p.2019)

1.3.6. Tetraciclina

Son antibióticos naturales o semisintéticos, de primera generación, se derivan de *Streptomyces* spp, dentro de este grupo tenemos clortetraciclina, demeclociclina, minociclina, metaciclina, doxicilina. Su actividad consiste en inhibir la síntesis de proteínas de las bacterias a través de enlaces a la subunidad 30 S ribosomal. Tienen efecto bacteriostático y son de amplio espectro frente a Gram positivos y negativos. (Chopra & Roberts, 2001, p. 62)

Microorganismos sensibles a tetraciclina: *Brucella*, *Mycoplasma*, *Legionella pneumophyla*, *H. influenzae*, *Helicobacter pilory*, *Chlamydia*, *Borrelia recurrentis*. Baja actividad por aumento de resistencias antimicrobianas frente a *Escherichia coli*, *Proteus*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *staphylococcus*, neumococos, vibriones. (Calvo & Martínez, 2008, p.9; UAM, 2009, p.3) La resistencia a tetraciclina es a través de plásmidos, y consiste en que la bacteria evita la penetración del fármaco y es una característica transferible y se puede inducir, las bacterias generan resistencia después de tener contacto con la droga. (Rodríguez, et al, 1998, p. 3)

1.3.7. Trimetoprim y sulfametoxazol

Es un fármaco constituido por dos compuestos que causan sinergismo trimetoprim y sulfametoxazol en una cantidad de 1:5, por lo que tienen efecto bactericida. (Lombardia & Fernández, 2009, p.155)

Este antibiótico actúa en las dos etapas de la síntesis de ácido fólico bacteriano, lo cual sucede de la siguiente forma Sulfametoxazol inhibe el uso del ácido para-aminobenzoico (PABA) durante la formación de dihidrofolato por lo que produce bacteriostasis, luego trimetoprim inhibe la dihidrofolato reductasa en forma reversible por lo que no se produce la conversión de dihidrofolato en tetrahidrofolato (Lombardia & Fernandez, 2009, p.155)

Tiene actividad frente a Gram positivos y negativos como: *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella granulomatis*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Shigella*, *Legionella*. (AEMPS, 2015, pp.13-14)

La resistencia bacteriana a este antibiótico es baja pues están presentes compuestos de diferentes naturaleza, entre sus mecanismo de resistencia se destaca una mutación bacteriana que incrementa los niveles de PABA y aleja a sulfametoxazol haciendo que se aumente la enzima

dihidropteroato sintetasa, el mecanismo con plásmidos consiste en la síntesis de enzima alteradas de dihidropteroato sintetasa, con poca afinidad por Sulfametoxazol. (AEMPS, 2015, pp.13)

1.4. Prueba de sensibilidad antimicrobiana

La sensibilidad de los antimicrobianos se determinan a través de discos de papel filtro, es una técnica modificada del procedimiento descrito por Bauer y Kirby, este es el método aprobado y recomendado por National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para determinar la sensibilidad que poseen las bacterias hacia fármacos. (Bauer, et al, 1966, p.6)

El método consiste en colocar una concentración determinada de antibiótico sobre discos, posteriormente se los coloca sobre la superficie de un medio de cultivo previamente sembrado con microorganismo. (Valgasl, et al, 2007, p. 3), cuando se produce este contacto el disco empieza a difundir el fármaco y absorbe agua hasta formar un gradiente de concentraciones, y halos de inhibición los cuales son susceptibles a ser medidos determinando los CMI (Taroco, et al, 2008, p. 665). De esta manera se sabe si el microorganismo es Sensible, Intermedio o Resistente a cada uno de los antibióticos. (Valgasl, et al, 2007, 3)

Esta metodología esta estandarizada para el análisis de *Streptococcus spp*, *Staphylococcus spp* *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosas*, Enterobacteriaceas. (Aguilar, 2000, p. 2).

1.5. Tinción Gram

Es un método usado para la diferenciación entre las bacterias, en donde se utiliza varios colorantes que permiten reconocer entre Gram positivas y Gram negativas. (Beveridge, 2001, p. 111)

Los colorantes usados son cristal violeta que se une al peptidoglicano que constituye a la pared celular; lugol que actúa como mordiente evitando que el cristal violeta salga de la pared celular porque forma complejos, alcohol-cetona que en las bacterias Gram negativas disuelve y destruye la membrana a su vez cierra los poros y provoca que la pared celular se deshidrate.

En sí el peptidoglicano juega un papel importante para la diferenciación así las bacterias que poseen mayora cantidad como son las bacterias Gram positivas retienen los complejos formados por los colorantes y las bacterias Gram negativas lo retienen en mínima cantidad pues poseen poca cantidad de peptidoglicano. Finalmente se usa safranina que actúa como un colorante de contratinción de tal forma que colorea a todas las bacterias que no retuvieron los complejos de yodo y cristal violeta. (Popescu & Doyle, 1996, 145)

Tabla 3-1: Principios de la Tinción Gram

Pasos	Métodos	Resultados	
		Gram Positivas	Gram Negativas
Colorante básico	Cristal violeta	Se tiñe de violeta	Se tiñe de violeta
Mordiente	Lugol	Se mantiene violeta	Se mantiene violeta
Decoloración	Alcohol- cetona	Se mantiene violeta	Se decolora
Contraste	Safranina	Se mantiene violeta	Se tiñe de rosa

Fuente: (Pumarola, et al, 1999, p.33)

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

1.6. Medicina tradicional o Ancestral

La OMS define la medicina tradicional o ancestral como: *“el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales”*. Dentro de esta definición se encuentran la medicina tradicional china, la naturopatía o medicina de Occidente, entre otras. (World Health Organization, 2014, p.1)

En la medicina tradicional se encuentran las terapias con medicación a base a hierbas, partes de animales y/o minerales. (World Health Organization, 2002, p.58)

La medicina tradicional se utiliza a lo largo del mundo, tanto en países desarrollados y subdesarrollados. Según la OMS cerca del 80% de la población de los países en desarrollo acude a la medicina tradicional como forma de atención primaria. En Latinoamérica se utiliza debido a circunstancias históricas y creencias culturales. (World Health Organization, 2002, p.58)

En países como Ecuador, Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Chile, Nicaragua y Perú, se ha reconocido la necesidad de la implementación de sistemas en el cual se enfoque y se de tratamientos de salud intercultural, en la que se estudie y rescate no solo las medicinas ancestrales, sino aquellas medicinas alternativas que han sido de utilidad para los pacientes como la homeopatía. (Secretaría del Buen vivir, 2016, <http://www.secretariabuenvivir.gob.ec/medicina-ancestral-y-terapias-complementarias-avanzando-hacia-una-mirada-integral/>).

1.7. Medicina tradicional china

Se basa en la combinación de varias hierbas medicinales para la preparación de fórmulas tradicionales con el fin de restablecer el equilibrio del organismo partiendo de un diagnóstico energético preciso, el cual es realizado por parte del terapeuta experto en Medicina China. (Luengo, 2003, pp.101-102)

Son remedios que tienen una elevada eficacia, utilizados para todo tipo de enfermedades, estos han sido utilizados por más de 3000 años. También es conocida como Herbología o Farmacopea China; es una herramienta en donde se describe la fuente o las sustancias que han sido utilizadas, los métodos para su preparación, como identificarlos, como extraer, los efectos y las indicaciones, también sus usos, dosificación y precauciones que se debe tener. (Luengo, 2003, pp.101-102)

Para las preparaciones son utilizadas todas las partes de la planta: hoja, tallo, flor, raíz. Además se utilizan ciertas sustancias minerales, como por ejemplo, el talco y el yeso. Su eficacia se ha visto en ciertas patologías como es el caso de trastornos agudos y crónicos que cursan con dolor, insomnio, ansiedad, infertilidad, trastornos digestivos o menstruales, entre otros. (Instituto Meridians, 2016, p.1)

1.8. Medicina herbolaria

Son también conocidas como terapias botánicas o fitoterapias, se encuentran conformadas de distintos productos naturales. En el caso de que sean productos derivados de hongos se conoce como micoterapia, de aceites esenciales la aromaterapia y terapias con vitaminas, minerales y nutrimentos son conocidas como nutraceúticos. (Snyder & Linqvist, 2011, p.422)

El uso de productos naturales, con propósito medicinales es del 17.7 % de la población estadounidense según la National Health Interview Survey (NHIS) (Barnes, Bloom y Nahin, 2008)

En la actualidad, además del ácido acetilsalicílico, la digoxina y ciertos antibióticos, hay muchos medicamentos que provienen de derivados de plantas, como es el caso de anticolinérgicos, anticoagulantes, antineoplásicos y antihipertensivos. En el año 1995 de 150 fármacos, alrededor de 86 fármacos tenían un compuesto activo derivado de fuentes naturales. (Grifo, 1997, p. 421)

En los medicamentos herbolarios se presume la existencia de una posible sinergia entre los componentes biactivos múltiples presentes en la planta de tal manera que los estudios científicos sobre estos son difíciles de llevar a cabo. (Plotnikoff, 2010, p. 421)

1.9. Fitoterapia

Etimológicamente se refiere a la "Terapéutica con las plantas", es decir, es la ciencia que se encarga del estudio de la utilización de productos de origen vegetal que tienen como objetivo prevenir, atenuar o curar una patología. (Cañigueral, 2000, p. 103)

En los países subdesarrollados, que corresponde al 75% de la población mundial, se consume menos del 15% del total de medicamentos. Quedando como único recurso terapéutico disponible las plantas medicinales, por lo cual se le ha dado una mayor importancia y mejores usos medicinales. (Cañigueral & Vila, 1998, p.11)

1.10. Medicamentos fitoterápicos

Son aquellos medicamentos que sus componentes activos provienen de productos de origen vegetal, a los cuales se le da una determinada forma farmacéutica para que el paciente tenga una administración más adecuada. (Cañigueral, 2000, p. 103)

Para elaborar medicamentos fitoterápicos se puede emplear:

- Drogas vegetales.
- Productos obtenidos por extracción.
- Principios activos purificados. (Cañigueral & Vila, 1998, p.11)

1.11. Fitocomplejo

Es una mezcla de sustancias activas y otros acompañantes, los cuales van actuar conjuntamente para conseguir un efecto terapéutico, que no sería el mismo si se administran por separado. (Muñoz, et al, 1999, p.9)

A estas sustancias activas se les denomina metabolitos secundarios, que corresponden a las sustancias que se forman como producto secundario de la fotosíntesis, las cuales son responsables de intervenir en procesos vegetales como es el caso de defensa contra patógenos, protección frente a la radiación UV, etc. (Vivanco, et al, 2005, p. 69)

La presencia de metabolitos secundarios dependen de cada especie, ya que su biosíntesis se rige principalmente por su genética vegetal, también se ve influida por su fisiología, el estrés, su procedencia, el modo de recolección del vegetal, entre otros. (Trease, 2006, p. 42)

Los metabolitos secundarios según la ruta metabólica que siga pueden ser compuestos de la familia fenólica como flavonoides; terpénica como saponinas y aceites esenciales; alcaloides como la cafeína; esteroidea como cardiotónicos y fitohormonas, y polímeros heterogéneos como las gomas y mucílagos. (Brutenon, 2000, p.4)

1.12. Hongo medicinal

Micoterapia, proviene del griego “Mikes” que significa hongo y “Theiros”, terapia. Por lo cual se establece que la Micoterapia consiste en el uso y aplicación de hongos con sus subproductos con fines terapéuticos. (Pedraza, 2013, p.1)

Los hongos considerados medicinales pertenecen al Phylum Basidiomycota, y generan beneficios a la salud en cualquier presentación que se las consuma ya sea en polvo, cocido, fresco, extractos o infusión (Smith, et al, 2002, p.256)

Desde la antigüedad han sido usados en países como China y Japón con el fin de tratar enfermedades. En occidente recientemente se le ha dado importancia a los hongos en el campo de la medicina .Por lo cual el consumo de ciertos hongos ha ido aumentando. (López, 2016, p.1)

Los hongos han aportado a la industria farmacéutica amplia información sobre sus beneficios a través de la micoterapia, por lo cual científicos han apostado a que van a ser considerados como las drogas del futuro. (López, 2016, p.1)

1.12.1. Hongos Basidomicetos

Los basidiomicetos son macrohongos pues poseen una morfología compleja presenta sobrero, pie y basidios (encargados de la producción de esporas), son alrededor de 30000 especies, de los cuales la mayoría son comestibles como es el caso del hongo ostra. (Kirk, et al,2001, p.655)

Los Basidiomicetos tienen la capacidad de generar metabolitos secundarios con actividades biológicas de tipo antitumoral, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, citostática, (Brizuela et al., 1998, p. 70). Principalmente producen terpenoides, muchas de estas estructuras solo están presentes

en este tipo de organismos, mientras otras tienen características similares a metabolitos de plantas. En los hongos también se encuentran compuestos fenólicos, quinonas, glucanos, polisacáridos, alcaloides, entre otros. (Brizuela et al., 1998, p. 72).

1.12.2. *Ganoderma lucidum*

Ganoderma lucidum (Ling Zhi) es un macrohongo de la podredumbre blanca, ha sido usado desde hace 2000 años por países asiáticos como China, Japón y Corea y por sus diversas propiedades terapéuticas se lo conoce como el Hongo de la Inmortalidad. *Ganoderma lucidum* no solo tiene propiedades nutricionales sino también medicinales. Su uso a nivel medicinal es más alto que a nivel alimentario por su sabor amargo. Se ha encontrado la presencia de compuestos que le dan actividad antimicrobiana, como enzimas, ganomicina y triterpenos. (Sanodiya, et al, 2009, 727). Con fines medicinales se aprovechan los cuerpos fructíferos o carpóforos. (Cebrián. 2002, p. 312)

Es un hongo frágil, crece en bosques cálidos de todo el planeta, este hongo se encuentra en su mayoría en climas subtropicales que en templados. Su crecimiento es anual sobre los troncos de los árboles dañados o muertos, como es el caso del: roble, arce, olmo, ciruelo y sauce (Santafé & Zuluaga, 2007; Sandava, et al, 2009, p. 185)

Se encuentra conformado por dos zonas: el sombrero reniforme o circular de 3- 20 cm de diámetro, de coloración castaño rojizo brillante por la cara superior, blanco en la cara inferior con presencia de poros; el pie excéntrico tiene la misma coloración que el sombrero, de forma cilíndrica, con dimensiones de 4-10 x 2-3 cm. Las esporas son ovoides, verrugosas, con dimensiones de 8-14 x 6-8 micrómetros. (Calonge, 2011, p. 76; Stamets, 1993, p.552)

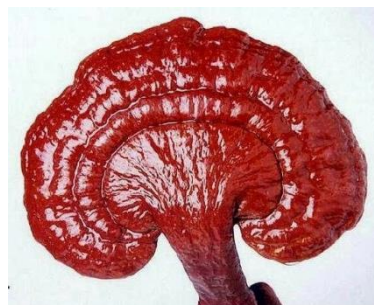


Figura 1-1: Hongo *Ganoderma lucidum*

Fuente: (Kirk et al., 2001)

Clasificación Taxonómica

Reino: Fungi

División: Basidiomycota,

Subdivisión: Agaricomycotina,

Clase: Agaricomycetes

Orden: Polyporales

Familia: Ganodermataceae

Género: *Ganoderma*

Especie: *lucidum* (Hibbet et al., 2007)

El cuerpo fructífero de Reishi tiene un sabor extremadamente amargo, característica que no se presenta en ningún otro tipo de hongo. Esta amargura varía de acuerdo a varios aspectos como lugar donde se produce, condiciones del cultivo, tipo de cepa. La amargura tiene relación con los efectos farmacológicos y sirve para clasificar *Ganoderma sp.* (Mizuno, 1997, p. 32)

Los componentes amargos y compuestos relacionados son los triterpenoides lanostanos altamente oxidados, a los cuales después de ser aislados se los evaluó y comprobó su amargura a través de métodos cromatográficos de los extractos de Reishi (Mizuno, 1997, p. 32)

1.12.2.1. *Composición nutricional*

El carpóforo de *Ganoderma* está formado por alrededor del 90 % de agua por peso. En el 10 % están presentes 26-28% carbohidratos como polisacáridos, azúcares reductores, y aminoácidos como triterpenos, alcaloides, iones inorgánicos, aceites volátiles, 7-8% proteínas, 3-5% lípidos, ácido ascórbico y riboflavina, 59% fibra, 1,8% cenizas. En el sombrero de *Ganoderma* existe principalmente enzimas como proteasa ácida, ergosterol y la presencia de iones inorgánicos como zinc, magnesio, hierro, calcio, selenio, cobre y manganeso (Hobbs, 1996, p.252; Borchers et al., 1999, p. 231; Mau, et al, 2001, p. 522)

1.12.2.2. *Usos terapéuticos Tradicionales*

Los usos medicinales tradicionales incluyen tratamiento de la debilidad general, tos, asma, indigestión, insomnio, bronquitis crónica, rinitis, se utiliza para tonificar la sangre y el Qui del corazón, calma la mente, se lo usa para las deficiencias de pulmón, riñones, hígado, facilita el movimiento articular, ayuda a la salud de huesos y tendones, tratamiento de pesadillas, falta de apetito, hepatitis, neurastenia, envenenamiento. (Khan & Abourashed, 2010, p. 303; Zhong, 2004, p. 84)

Tabla 4-1: Tipos de hongo Reishi y sus usos

Color	Sabor	Uso
Azul	Agrio	Mejora la vista y la función del hígado, calma los nervios
Rojo	Amargo	Ayuda a los órganos internos, mejora la memoria, incrementa la vitalidad
Amarillo	Dulce	Fortalece la función del bazo, calma el espíritu
Blanco	Acre	Mejora la función del pulmón, aumenta la voluntad
Negro	Salado	Protege los riñones
Violeta	Dulce	Mejora la función de los oídos, articulaciones , músculos, mejor la complexión

Fuente: (Mizuno, 1995, p. 154)

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

El *Ganoderma lucidum* rojo es el tipo de hongo con propiedades medicinales más potentes (Hongyen, et al, 1996, p. 641)

1.12.2.3. Importancia farmacológica *Ganoderma*

Los más de 400 componentes bioactivos de *Ganoderma lucidum* como triterpenos, polisacáridos, esteroides, proteínas, lípidos, alcaloides, componentes inorgánicos, entre otros (Boh, et al., 2007, p. 265; Li et al., 2013, p.17) son los responsables de diferentes actividades farmacológicas como antiviral, analgésica, hipolipidémica, antibacteriana, antidiabética, antiinflamatoria, estrogénica, antitumoral, antioxidante, inmunomodulación, antienvjecimiento, para el sueño, quimiopreventiva, protección del hígado, herpes, evita la arterosclerosis, antifibrótica, entre otras. (Sanodiya, et al, 2009, 727; Ha et al, 2000; p.682)

El hongo *Ganoderma lucidum* es conocido en China como “ *hongo 487 de la inmortalidad*”, y es la única fuente de triterpenos con estructura química y molecular similar a hormonas esteroidales, llamados ácidos ganodéricos (Hladki, 2009, p. 487), estos componentes triterpénicos son el mayor constituyente del cuerpo fructífero de Reishi (Cheng, et al, 2012, p. 2307), y son los responsables de la actividad antimicrobiana (Li, et al, 1999, 67; Ko, et al., 2008,p. 69).

Los triterpenos están presentes en el reino vegetal y fungi, en forma libre, de glicósidos y ésteres. Estructuralmente están formados por cadenas de carbono de 30 átomos y se forman a partir del escualeno a través de diferentes modificaciones. (Silva, et al, 1992,p.353). Físicoquímicamente son compuestos sólidos, activos ópticamente, un punto de fusión alto mayor de 200 °C. (Lock, 1988, p.172)



Figura 2-1: Estructura básica de los principales triterpenos de tipo lanostano de *Ganoderma lucidum*

Fuente: (Baby, et al, 2015, p. 66)

Los ácidos triterpénicos son los principales compuestos responsables de la actividad antimicrobiana del hongo, son triterpenoides derivados del lanosterol altamente oxigenados y se diferencian entre sí por sus estados de oxidación, dentro de éstos se encuentran los lucidones, ácidos ganolúcídicos, ganoderioles, ácidos lucidénicos y ácidos ganodéricos. Estos compuestos se sintetizan por la vía de mevalonato / isopreno a partir del acetil CoA (Trigos & Suárez, 2011, p. 71; Cole et al., 2003, p. 8).

En sí su mecanismo bioquímico de formación es el siguiente, el esqueleto de lanosterol es tetracíclico (C₃₀H₅₄) y actúa como molécula intermedia para la biosíntesis de la vasta diversidad de triterpenoides de tipo lanostano, para su formación se produce una ciclación de escualeno-2,3-epóxido dando lugar a protosterol, y posteriormente se da una reordenación de la columna química dando lugar al lanosterol, a partir de este compuesto evolucionan todas las estructuras triterpénicas, (Hill & Connolly, 2013, p. 1030; Ríos, et al., 2012, p. 2016).

Entre las estructuras triterpénicas se conoce 240 aisladas e identificadas de extractos etanólicos de *Ganoderma lucidum* según un estudio realizado por (Baby, et al, 2015, p. 66), en donde se las agrupa en los siguientes grupos a) 112 ácidos ganodéricos, b) 55 C₃₀ lanostanos (aldehídos, ésteres, alcoholes, lactonas, glicósidos), c) 27 C₂₇ ácidos lucidénicos d) 18 Otros tipos de C₂₇ lanostanos (ésteres, lactonas, alcoholes), e) 3 C₂₄ lanostanos, f) 1 meroterpenoide, g) 23 esteroides, h) 1 benzofurano. (Baby, et al, 2015, p. 66; Boh et al., 2007, p. 265; Kim and Kim, 1999, p. 49; Ríos et al., 2012, p. 2017 and Shiao, 2003, p. 173)

En extractos etanólicos de cuerpos fructíferos de *Ganoderma lucidum* se encuentran específicamente triterpenos tipo lanostanos llamados ácido lucidénico A y C, ácido ganodérico epsilon, ganoderitriol M, estos compuestos según análisis espectral poseen cumbres como (24S)-

lanosta-7-oxo-8-en-3beta, 24, 25-triol ; 3 beta,7 beta-dihydroxy-4,4,14 alpha-trimethyl-11,15-dioxo-5 alpha-chol-8-en-24-oic acid.(Chen, et al, 2009, 768)

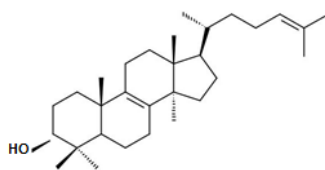


Figura 3-1: Estructura química de lanosterol

Fuente: (Gao et al, 2005,21)

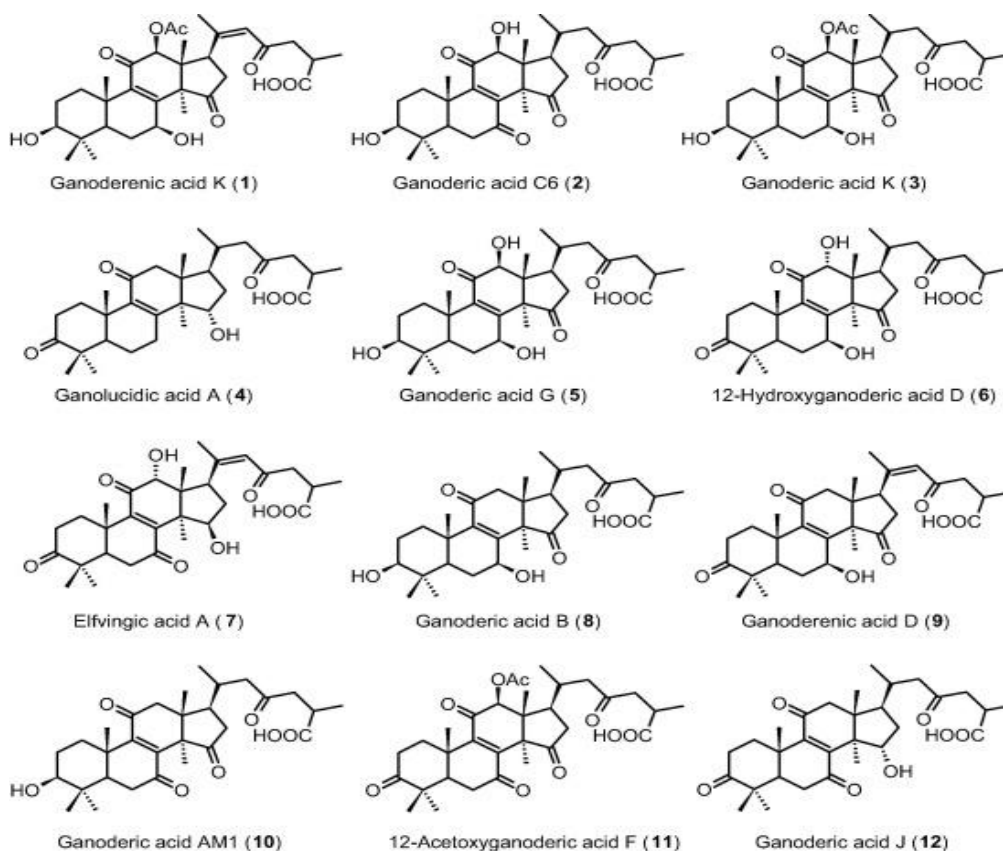


Figura 4-1: Principales triterpenos de tipo lanostano presentes en los extractos etanólicos del cuerpo fructífero de *Ganoderma lucidum*

Fuente: (Hennike, et al, 2016, p. 31)

1.12.2.4. Mecanismo de acción compuestos activos

El mecanismo de acción de los triterpenos depende del grupo funcional de la molécula, solubilidad en agua y su capacidad para a travesar la membrana celular. (Maguna et al, 2005, p. 31). Los metabolitos secundarios de *Ganoderma lucidum* tienen varios mecanismos para realizar su

actividad antimicrobiana, se ha comprobado que el sitio de acción de los triterpenos es la membrana plasmática bacteriana en donde aumenta la permeabilidad y por ende irrumpe la fluidez provocando efecto antimicrobiano, también altera la integridad de la pared celular, esto se debe a su naturaleza hidrofóbica, la bacteria ante este ataque va a alterar sus respuestas fisiológicas y por ende va a morir. (Zhong y Xiao, 2009, p.113; Maguna et al, 2005, p. 31). Los componentes de *Ganoderma lucidum* van a actuar a nivel de las enzimas y proteínas de las bacterias evitando que se repliquen y que se desnaturalicen (Nychas, 1995, p. 65). También siguen otros mecanismos para llevar a cabo la actividad antimicrobiana, los compuestos activos pueden activar los macrófagos dando lugar a la liberación de citoquinas y otros mediadores. Esta actividad biológica generada por los extractos de *Ganoderma* en combinación con antibióticos produce sinergismo (Wasser, 2012, p. 606)

El uso de extractos complejos de hongos activos permite un efecto sinérgico o complementario entre los diferentes componentes, provocando una disminución en su toxicidad. En el caso de *Ganoderma lucidum*, la actividad antimicrobiana de los triterpenos tiene un sinergismo por los polisacáridos pues se encargan de estimular el sistema inmune, dando como resultado un incremento en la producción de citosinas y actividad. (Quereshi, et al, 2010, p.10)

1.12.2.5. Actividades biológicas demostradas de los extractos de *Ganoderma lucidum*

La actividad antimicrobiana de *Ganoderma lucidum* ha sido comprobada por varios estudios en donde se ratifica la presencia de componentes antibacterianos los cuales inhiben bacterias Gram positivas y Gram negativas. (Quereshi et al., 2010, p 11; Shikongo, 2013, p. 11; Jonathan & Awotona,2010)

Dentro de los compuestos con actividad antimicrobiana se encuentran enzimas, ganomicina y triterpenos, por lo que los extractos acuoso y alcohólico se encargan de inhibir 15 tipos de bacterias Gram (+) y Gram (-). (Sanodiya et al., 2009, p. 717; Klaus & Miomir, 2007, p. 113)

Los estudios realizados con extractos de *Ganoderma* tanto *in vitro* como *in vivo* , demuestran que la actividad antimicrobiana es de amplio espectro incluso antiviral, esta actividad se le atribuye al ácido ganodérico considerado principal constituyente, en el estudio realizado por (Yoon, et al, 1994, p.435) utilizando extracto acuoso se observó efectividad contra: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* y *Salmonella typhi*.

En un estudio químico de actividad bactericida del hongo *Ganoderma lucidum* se determinó que el extracto etanólico presenta una mejor actividad bactericida a una concentración de 150 mg/mL frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*. (Guzmán, et al, 2013, p. 88)

En un estudio sobre la evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de dos especies del hongo medicinal de *Ganoderma* nativo de México y su contribución al desarrollo regional, se determinó que los mejores solventes para inhibir y eliminar el crecimiento bacteriano fueron el tequila blanco y el etanol los cuales se obtuvieron a través de maceración. (Quiriz, 2012, p.4)

Los estudios realizados con varios tipos de extractos han demostrado que el extracto etanólico tiene una efectividad mayor frente a las bacterias, que los acuosos. (Quereshi, et al, 2010, p. 9)

Los extractos miceliales de *Ganoderma lucidum* exhiben actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonellasp.*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* (Coletto, et al, 1994, p. 79)

1.13. Extractos de productos naturales

Son preparaciones de consistencia líquida, sólida o semisólida que se forman al añadir algún tipo de solvente (etanol, agua, acetato de etilo) sobre el hongo o sus partes, obteniendo un medicamento poderoso por las propiedades de los principios activos que se encuentran en el hongo (Bagué & Álvarez, 200, p. 145)

1.13.1. Tipos de Extracción:

1.13.1.1. Extractos Fluidos

Es una preparación de consistencia líquida, en donde 1 g de droga equivale a 1 g de extracto de la droga en estado seco. Para obtener este preparado se usa como solvente etanol o agua, se lo puede filtrar y se debe almacenar en frascos de vidrio ámbar, bien cerrados, sin contacto directo con la luz y en lugar seco para que su conservación sea la adecuada. (Bagué & Álvarez, 200, p. 145).

1.13.1.2. Extractos semisólidos o Blandos

Es una preparación de consistencia semisólida, que se obtiene al evaporar el solvente en forma parcial o total usado en la extracción de los componentes bioactivos. Se usa como solvente etanol o agua, en donde este último debe estar en un 60 %, así el extracto posee una concentración de componentes activos mayor a la droga usada. Este tipo de extracto está en de uso pues su manipulación y conservación es difícil. (Bagué & Álvarez, 2000, p. 145).

1.13.1.3. *Extractos Secos*

Es una preparación de consistencia seca, que se la obtiene al evaporar totalmente el solvente usado y posteriormente se lo coloca en la estufa para obtener un residuo con una humedad no mayor al 5%. (Voigt, 1982). La concentración de principios activos es mayor a la droga usada, este extracto es muy pulverulento, el más estable de todos los extractos pero su desventaja es que es higroscópico. (Bagué & Álvarez, 2000, p. 145).

Los extractos obtenidos se pueden dividir de la siguiente forma:

- En el extracto alcohólico van a estar presentes: glucósidos triterpénicos, azúcares simples y compuestos fenólicos como flavonoides taninos. (Ringuelet & Viña, 2013, pp. 14-15)
- En el extracto acuoso van a estar presentes compuestos hidrosolubles: sales de alcaloides, glucósidos, glúcidos simples y vitaminas hidrosolubles (Ringuelet & Viña, 2013, pp. 14-15)

1.13.2. *Métodos de extracción de principios activos*

Dentro de los principales métodos de extracción para aislar principios activos tenemos:

- a) Extracción mecánica, ayuda a la obtención de compuestos activos disueltos en los fluidos que son propios del producto natural analizado, el extracto obtenido es tipo Jugo, los procesos mecánicos que se usan son: someter a calor el material vegetal, exprimirlo o realizar incisiones. (Kuklinski, 2003, p.171)
- b) Destilación, basándose en la distinta polaridad de los compuestos será los componentes volátiles de los no volátiles (Kuklinski, 2003, p.171)
- c) Extracción con solventes, sirve para separar componentes activos a través de solventes (alcohol, acetona, agua, éter), pues poseen la habilidad de difundir componentes activos, de tal forma que los principios activos deben solubilizarse y estar presentes en el solvente, dando un residuo. Se clasifica en dos tipos: continua usando Soxhlet y discontinua a través de maceración. (Kuklinski, 2003, p.171)

1.13.2.1. *Extracción discontinua- Maceración*

Es un tipo de extracción sólido- líquido, en donde el material vegetal es cubierto totalmente por el solvente en el cual varios principios activos son solubles, de tal manera que se produce una difusión de los mismos hasta alcanzar un equilibrio entre la concentración del extracto líquido y

el residuo. Este proceso se lo realiza por varios días y no requiere de equipos sofisticados, por este proceso se obtienen la mayoría de los principios activos presentes en la droga. (Kuklinski, 2003, p.171).

1.13.3. Concentración de extractos

La concentración de un extracto mediante rotavapor consiste en evaporar el solvente con ayuda de un equipo llamado rotavapor por acción de temperatura, movimiento y presión. La velocidad de rotación y la presión aceleran el proceso de eliminación del solvente y evitan la ebullición, (Kuklinski, 2003, p.182)

1.14. Tamizaje Fitoquímico

También llamado screening fitoquímico, es un análisis de tipo cualitativo que permite determinar la presencia de los principales metabolitos secundarios en el material biológico, sirve para identificar a la droga, conocer las actividades biológicas que puede poseer y ayudar a determinar que compuestos deben ser aislados y fraccionados. Entre los metabolitos están; triterpenos esteroides, alcaloides, saponinas, taninos, cumarinas, quinonas, glucósidos cardiotónicos y flavonoides. (Palacios, 2008, <http://farmacognosia-farmacauladech.blogspot.com/>; Villanueva, et al, p.4)

Los metabolitos secundarios encontrados en *Ganoderma lucidum* son los triterpenoides, lactonas, aminoácidos libres, alcaloides y azúcares reductores, además se pudo determinar que se encontraban distribuidos tanto en la parte vegetativa como en la germinativa. (Velásquez & Zaravia, 2014, p.9)

1.14.1. Terpenos

Los terpenoides son compuestos formados por la unión de varias unidades de isopreno C₅. Se clasifican en monoterpenos 10 C, sesquiterpenos 15 C, diterpenos 20 C, triterpenos 30 C, tetraterpenos 40 C y politerpenos (García & Carril, 2009, pp.122-123)

Están presentes en el reino vegetal y las estructuras básicas para la síntesis de diferentes terpenos son el isopentenil pirofosfato y el isómero dimetilalil pirofosfato. Su síntesis se lleva a cabo a través de dos vías, la primera es la ruta de mevalonato que tiene lugar en el citoplasma y es en el citosol y retículo endoplásmico donde se forman los triterpenos, politerpenos y sesquiterpenos y la segunda se lleva a cabo en los plástidos y es desligado de la ruta del mevalonato, aquí se forman los mono, di y tetraterpenos, también quinonas preniladas. (Eisenreich et al., 2001, p. 78).

Estos compuestos tienen diversas propiedades biológicas como antimicrobianas, antiulcerosas, anticarcinógenas, antimalaricas entre otros por lo que son usadas a nivel medicinal. (Eisenreich et al., 2001, p. 78).

1.14.2. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos polifenólicos de peso molecular bajo que poseen una estructura benzo- γ -pirano, se encuentran distribuidos en el reino vegetal en forma de glicósidos (Cartaya & Reynaldo, 2001, p.5); poseen propiedades de quelación de metales de transición como el hierro, lo cual explica su actividad antioxidante, dentro de este grupo están las Catequinas. (Havsteen, 1993, p.1142)

1.14.3. Cumarinas

Son compuestos fenólicos que están presentes en plantas medicinales, tienen estructura básica benzo - α - pironas en donde se disponen sustituyentes de diferente naturaleza química que permiten clasificar a este grupo de metabolitos en sencillas y complejas. A nivel terapéutico tienen propiedades como fotosensibilizantes tónico, vasodilatador, y anticogulante. (UPM, 2010, p.60).

1.14.4. Saponinas

Las saponinas son glucósidos esteroides o terpenos policíclicos, por lo que son compuestos anfifílicos es decir tienen una parte lipófila (triterpenos o esteroide) y una fracción hidrófila (carbohidrato). Esta propiedad provoca la acción detergente y emulsionante porque reduce la tensión superficial (SchenkeL et al., 2001, p.27)

1.14.5. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos abarcan a todos los metabolitos secundarios que tienen en su estructura fenol, en donde se disponen varias estructuras alifáticas y aromáticas. Existen polifenoles y monofenoles, los cuales actúan como mecanismos de defensa o fitoalexinas frente a bacterias, insectos, también son los encargados de dar color a las plantas. (Gimeno, 2004, p.81)

1.14.6. Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles, que poseen en su estructura hidroxilos y grupos funcionales lo que les permite formar complejos con otras moléculas como proteínas. (Martínez, et al, 2000, p.2)

Se clasifican en taninos hidrolizables y no hidrolizables, tienen importancia estos últimos pues al poseer en su estructura un alcohol polihídrico (glucosa) y grupos hidroxilos (esterificaciones con ácido gálico y hexahidroxidifenico) da lugar a la formación de galotaninos y los elagitaninos. (Chung, et al, 1998,421)

1.14.7. Quinonas

Las antraquinonas son metabolitos secundarios caracterizados por un p- quinoide enlazado en el núcleo antracénico, entre sus propiedades biológicas se conoce que son purgantes, colagogos y laxantes. (Martínez, 2012, p.2)

1.14.8. Resinas

Las resinas están presentes en la corteza de plantas de tipo coníferas o que crecen a nivel tropical, son polímeros que poseen propiedades filmógenas. (Mateini & Moles, 2008, p.201)

1.14.9. Antiocianidinas

Son pigmentos naturales derivados del ion flavilio, producto de metoxilaciones y oxhidrilaciones. (Yúfera, 2007, p. 922)

1.14.10. Glucósidos

Los glucósidos son compuestos formados por una fracción azucarada, que esta enlazada a una fracción no azucarada (aglucon) a través de un enlace éster, sus constituyentes son de diferente naturaleza y de estos depende su grado de toxicidad, cuando son de tipo esteroideal poseen propiedades cardiotónicas. (Ropana, 2016, http://www.ropana.cl/plantas_toxicas/glucos.htm)

1.14.11. Mucílagos

Los mucílagos se encuentran en plantas y están formados por polisacáridos heterogéneos, formados principalmente por distintos azúcares y ácidos urónicos. Poseen la capacidad de formar geles en contacto con el agua y disoluciones de consistencia viscosa, cuando sufren hidrólisis se pierde en mayor cantidad monosacáridos pero para destruir el núcleo se requiere de enzimas. Sus propiedades biológicas son antiinflamatorias, demulcentes y emolientes. (UPM, 2010, p.65)

1.14.12. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos químicos orgánicos nitrogenados, presentes principalmente en los vegetales y poseen actividades venenosas o medicinales fisiológicas, pertenece a este grupo la morfina. (Natureduca,2014,http://www.natureduca.com/med_sustanc_alcaloides.php)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización de la experimentación

- Laboratorio de Química- Facultad de Recursos Naturales- ESPOCH
- Laboratorio de Ciencias Biológicas-Facultad de Recursos Naturales- ESPOCH
- Laboratorio de Productos Naturales – Escuela Bioquímica y Farmacia-ESPOCH
- Laboratorio de Microbiología – Escuela Bioquímica y Farmacia-ESPOCH

2.2. Materiales, Equipos y Reactivos

2.2.1. *Material Vegetal*

Ganoderma Lucidum: la materia prima fue adquirida en el mes de Agosto del 2016, en The Fungus Garden , granja productora de hongos comestibles y medicinales, ubicado en Quito, Vía Calacalí-Rayocucho a 2km .Para el análisis se emplearon los cuerpos fructíferos.

2.2.2. *Material biológico (Bacterias ATCC)*

Staphylococcus aureus ATCC25923

Escherichia coli ATCC 9637

Proteus mirabilis ATCC25933

2.2.3. *Material de laboratorio*

- Vasos de precipitación
- Erlenmeyer
- Pipetas
- Varillas de agitación
- Tubos de ensayo
- Picnómetro
- Gradilla

- Embudo de vidrio
- Trípode
- Papel filtro
- Balón esmerilado de 500 mL
- Cajas Petri de vidrio
- Capsulas de porcelana
- Pinzas para cápsulas
- Micropipetas automática
- Puntas amarillas y azules para micropipetas
- Guantes
- Mascarilla
- Mandil
- Frascos de vidrio ámbar
- Papel aluminio
- Asa de platino
- Pinzas metálicas
- Hisopos
- Palillos
- Cajas Petri
- Botellas Pirex
- Reverbero
- Lámpara de alcohol
- Frascos de vidrio 30 mL
- Placas portaobjetos
- Viales
- Marcador
- Masquin

2.2.4. Equipos de laboratorio

- Rotavapor
- Bomba de vacío Cámara
- Autoclave
- Molino
- Balanza analítica

- Peachímetro
- Refractómetro
- Cámara de reflujo laminar
- Cámara UV
- Incubadora
- Refrigeradora
- Estufa
- Microscopio
- Computadora

2.2.5. *Reactivos*

- Etanol Absoluto
- Agua destilada
- Reactivo de Sudan III 0.2%
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Borntrager
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Liebermann-Burchard
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de Shinoda
- Tricloruro férrico 5 %
- Alcohol amílico
- Magnesio metálico
- Cl_2Ba 1 %
- H_2SO_4 1%
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol cetona
- Safranina
- Discos de antibiótico
- Glicerina
- Aceite de inmersión

2.2.6. Medios de cultivo

- Infusión Agar Cerebro Corazón
- Bacto Agar
- Agar Mueller Hinton
- Agar Eosina Azul de Metileno
- Agar Manitol Salado

2.3. Obtención de extractos del hongo *Ganoderma lucidum* -Método de maceración

Los hongos frescos fueron lavados con agua destilada y luego molidos; inmediatamente se sumergió 500 g en 1.5 L de etanol absoluto, proceso llevado a cabo en un frasco ámbar de vidrio. Los hongos secos fueron directamente molidos y se sumergió 500 g en 3.5 L de etanol absoluto, proceso llevado a cabo en un frasco ámbar de vidrio.

La maceración se realizó durante 30 días, agitación continua bajo sombra

Al término del tiempo de maceración se filtró cada uno de los extractos con ayuda de un embudo y papel filtro

Los extractos fueron concentrados con rotavapor a 78 ° obteniéndose dos tipos de extractos:

- Extracto etanólico – Hongo seco
- Extracto Acuoso- Hongo fresco

El extracto acuoso se almacenó en refrigeración a 4 °C en un frasco ámbar de vidrio, mientras que el extracto etanólico se colocó en la estufa a 80 °C para eliminar completamente el solvente para posteriormente volver a reconstituirlo y obtener una concentración conocida del 10 %

El extracto etanólico fue almacenado a 4 °C en un frasco ámbar de vidrio.

2.4. Control de calidad de los extractos a través de métodos físico-químicos

2.4.1. Determinación de los requisitos organolépticos.

Olor: Una tira de papel filtro de 10 cm x 1 cm se sumergió en el extracto, y se percibió si el olor es el característico del producto (Miranda, 2002, p.51 -55)

Color: En el tubo de ensayo se colocó tres cuartas partes de extracto y se determinó el color, capas, partículas y transparencia. (Miranda, 2002, p.51 -55)

2.4.2. Determinación de la densidad relativa.

El picnómetro vacío y seco se pesó; luego se colocó el extracto hasta el límite, se tapó y se eliminó los excesos con papel filtro, y se dejó reposar por 15 min, finalmente se pesó y con ayuda de la fórmula se determinó la densidad relativa. . (Miranda, 2002, p.51 -55)

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} \times 100$$

M₁: peso del picnómetro con muestra (g)

M₂: peso del picnómetro con agua (g)

M: peso picnómetro vacío (g).

2.4.3. Determinación del pH

El pH-metro fue ajustado con la solución tapón pH 7, posteriormente el electrodo se sumergió en una porción del extracto y se procedió a la lectura. (Miranda, 2002, p.51 -55)

2.4.4. Índice de refracción

En el refractómetro se colocó una gota de agua destilada para calibrar el equipo con ayuda de la zona de espectro visible y el límite del campo visual claro y oscuro. Luego se añade sobre el prisma una gota del extracto, se ajusta y procede a la lectura. (Miranda, 2002, p.51 -55)

$$N_d^{25} = N_d^t + 0.00044 (t-25)$$

N_d²⁵ = Índice de refracción a 25 °C

N_d^t = valor leído a la temperatura del instrumento

t = temperatura a la que se realiza la medición (°C)

0.00044 = factor de corrección de °C

2.4.5. Sólidos totales

La capsula tarada a 105 ° se pesó , luego se colocó 5 mL de extracto y se evaporó el solvente en baño maría , posteriormente se dejó secar en la estufa hasta peso constante durante tres horas , finalmente se puso a desecar y una vez fría la muestra se volvió a pesar. (Miranda, 2002, p.51 -55)

$$St = \frac{Pr-P}{V} \times 100$$

P_r= masa cápsula y residuo seco (g)

P= masa cápsula vacía (g)

V= volumen total del extracto ensayado

2.5. Tamizaje fitoquímico

Este análisis cualitativo se lo realizó tomando fracciones de una alícuota de 20 ml de extracto acuoso y de 20 mL de extracto etanólico.

Tabla 1-2: Procedimientos Tamizaje fitoquímico.

Ensayo/Metabolitos Secundarios	Procedimiento	Interpretación
Sudán III. 0.2 % Compuestos grasos	A una fracción del extracto se le añadió el colorante Sudán III, y se calentó en baño María hasta que el solvente se evaporó.	La reacción es positiva si aparecen gotas o una película de color rojo.
Dragendorff Alcaloides	Se evaporó en baño María el etanol de una fracción del extracto y se resuspendió en 1 mL de HCl 1%, luego se colocó 3 gotas de reactivo de Dragendorff.	Si hay opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).
Mayer Alcaloides	Se evaporó en baño María el etanol de una fracción del extracto y se resuspendió en 1 mL de HCl 1%, se añadió una pequeña cantidad de sal yodada y finalmente 3 gotas de Reactivo de Mayer.	Si hay opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).
Wagner Alcaloides	Se evaporó en baño María el etanol de una fracción del extracto y se resuspendió en 1 mL de HCl 1%, luego se colocó 3 gotas de reactivo de Wagner	Si hay opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).
Baljet Cumarinas	Se evaporó en baño María el etanol de una fracción del extracto, luego se adicionó el reactivo de Baljet.	Positivo si aparece un precipitado de color rojo.
Borntrager Quinonas	Se evaporó en baño María el solvente de una fracción del extracto , se resuspendió en	Positivo si aparece una coloración rosada (++) y rojo (+++)

	1 mL de cloroformo, y se adicionó hidróxido de sodio , se mezcló y se dejó 10 min en reposo	
Lieberman-Burchard Triterpenos y /o esteroide	Se evaporó en baño María el solvente de una fracción del extracto , se resuspendió en 1 mL de cloroformo, se adicionó 1 mL de anhídrido acético y se colocó gotas de ácido sulfúrico concentrado	La reacción es positiva si aparecen coloraciones Rosada- verde- azul verdoso- negro
Resinas	En una fracción del extracto se añadió agua destilada, se mezcló y se dejó reposar por 10 min.	La reacción es positiva si aparecen precipitado
Fehling Azúcares Reductores	En una fracción del extracto se añadió reactivo de Fehling, se calentó en baño maría durante 10 min.	La reacción es positiva si aparecen precipitado o un color rojo
Espuma Saponinas	A una fracción del extracto se agitó fuertemente por 10 min	La reacción es positiva si aparece espuma con 2 mm de altura y perdura por 2 min
Cloruro férrico Compuestos fenólicos y taninos	A una fracción del extracto se adicionó Cloruro Férrico 5% y se agitó.	Positivo si aparece coloraciones: rojo/vino = Fenoles verde intensa =taninos pirocatecólicos azul = Taninos pirogalotánicos
Shinoda Flavonoides	A una fracción del extracto se adicionó HCL concentrado, se añadió magnesio metálico y se esperó 5 minutos luego se colocó alcohol amílico, se mezcló y se dejó en reposo hasta que exista separación de fases	Positivo si aparece coloraciones rojo, naranja o amarillo
Antocianidinas	A una fracción del extracto se adicionó HCL concentrado y se calentó por 10 min en baño maría , se esperó que se enfrié y se adicionó agua destilada y alcohol amílico , se agitó y dejó separar las fases	Positivo si aparece coloración roja y marrón
Mucílagos Polisacáridos	Una fracción del extracto se refrigeró a 4 °C.	Positivo si aparece una consistencia gelatinosa
Principios amargos y astringentes	Unas gotas del extracto fueron saboreadas	Con el paladar se determina sus características

Fuente: (Miranda, 2002, p18-22)

2.6. Evaluación de la actividad antimicrobiana

2.6.1. Obtención de cultivos

A partir de cultivos almacenados a 4 °C en pico de flauta en agar Mueller Hinton se tomó con ayuda del asa estéril de 2- 3 colonias de bacterias ATCC y se procedió a sembrar para su reactivación y replicación, por estriado simple en Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón, incubándolos por 24 horas a 33 °C

2.6.2. Descripción morfológica de los cultivos bacterianos

2.6.2.1. Descripción de las colonias

Después de 24 horas de incubación se realizó el análisis macroscópico observando el crecimiento de cada colonia en Agar Cerebro Corazón y Mueller Hinton

También se describió las colonias en medios selectivos para *Escherichia coli*, Enterobacterias y *Staphylococcus aureus*, Agar Eosina Azul de metileno y Agar manitol salado respectivamente , incubando por 24 h a 33 °C.

2.6.2.2. Tinción Gram

Se la realizó para corroborar la bacteria ATCC

En una placa portaobjeto seca y limpia se colocó una gota de suero fisiológico y una muestra de bacteria con ayuda de un palillo, se mezcló y se dejó secar por 30 min, posteriormente se fijó la placa con ayuda de un mechero.

Se procedió a realizar la Tinción Gram, en donde se colocó cristal violeta (1 min), lugol (1 min), alcohol cetona (30 s) y safranina (1 min), realizando un lavado después de cada periodo de tiempo

La placa se dejó secar y se colocó una gota de aceite de inmersión, finalmente se observó en el microscopio con el lente de 1000 x.

2.6.3. Determinación de las UFC de Bacterias

2.6.3.1. Preparación de estándar Mcfarland 0,5

Para su preparación se utilizó soluciones acuosas de Cl_2Ba 1 % y H_2SO_4 1%

En un tubo de vidrio limpio y seco se mezcló 0,05 mL Cl_2Ba 1 % y 9.95 mL H_2SO_4 1% y luego se tapó.

2.6.3.2. Preparación de suspensión bacteriana

En un volumen de 10 mL de agua destilada se colocó de 2- 3 colonias bacterianas recogidas con el asa estéril y se llevó a turbidez Mcfarland comparando con el estándar y sobre un contraste de líneas negras de 1 cm, posteriormente se almacenaron las suspensiones a 4 °C hasta su utilización

Tabla 2-1: Preparación suspensiones bacterianas

Bacterias	UFC	Volumen
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	$1,5 \times 10^8$	10 mL
<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	$1,5 \times 10^8$	10 mL
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	$1,5 \times 10^8$	10 mL

Realizado por: Lissette Segovia, 2017.

2.6.4. Prueba de actividad

Tabla 3-2: Preparación prueba de actividad con antibióticos

Bacteria	Antibiótico	Concentración
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Estreptomina	300 µg
	Eritromicina	15 µg
	Penicilina G	10 µg
	Tetraciclina	30 µg
	Trimetoprim + Sulfametoaxol	1.5 µg / 23.75 µg
<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	Estreptomina	300 µg
	Eritromicina	15 µg
	Penicilina G	10 µg
	Tetraciclina	30 µg

	Trimetoprim + Sulfametoazol	1.5 µg / 23.75 µg
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	Estreptomicina	300 µg
	Eritromicina	15 µg
	Penicilina G	10 µg
	Tetraciclina	30 µg
	Trimetoprim + Sulfametoazol	1.5 µg / 23.75 µg

Realizado por: Lissette Segovia, 2017.

2.6.5. Preparación de los extractos para determinar la actividad bacteriana

Los extractos acuosos y etanólico fueron filtrados y acondicionados a concentraciones de 50 %, 75 % y 100 % de extracto.

Dentro de las distintas concentraciones se sumergieron discos de papel filtro de 6 mm por 24 horas y fueron almacenados a 4 °C

2.6.5.1. Esterilidad de los extractos

En los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton se adicionó 100 µL de extracto acuoso y extracto etanólico, se realizó estriado con ayuda de un hisopo estéril y se incubó por 24 horas a 33 °C

2.6.6. Evaluación de halos de inhibición

Se preparó medio de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton según las especificaciones de la casa comercial y se dejó solidificar.

En cada medio de cultivo se adicionó 100 µL de bacteria 1.5×10^8 y se estrió por hisopado realizando un rayado homogéneo para obtener un tapiz bacteriano.

En cada caja se colocó cinco discos de 6 mm uno impregnado con etanol o agua, tres discos impregnados con extractos etanólicos o acuosos al 50 %, 75 % y 100 %, y un disco comercial de antibiótico, a una separación de 1,5 mm; proceso similar a (Miranda, et al, 2012, p.356)

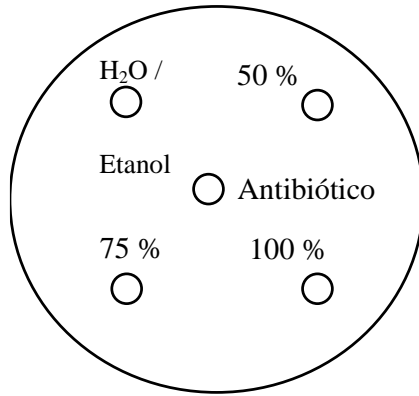


Figura 1-2: Distribución de los discos en el medio de cultivo

Realizado por: Lissette Segovia, 2017.

Se dejó reposar por una hora, se volteó y se incubó a 33 °C por 24, 48 y 72 horas

Se realizó la medición de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas

2.7. Análisis estadísticos de datos

Los diámetros de halos de inhibición obtenidos fueron analizados con cada uno de los factores a través del programa estadístico IBM SPSS Statistics v22 para Windows, con la finalidad de cumplir cada uno de los objetivos anteriormente expuestos.

CAPÍTULO III

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Obtención de extractos del hongo *Ganoderma lucidum*

Tabla 1-3: Resultados de la obtención de extractos de *Ganoderma Lucidum*.

Extracto	Peso / volumen inicial	Volumen (Maceración)	Extracto concentrado (Rotavapor)	% Rendimiento
Etanólico	500g – 3500 mL	2000 mL	12, 18 g peso seco	2, 44 %
Hidroalcohólico	500 g- 1500mL	1400 mL	297.51 g peso/ volumen (acuoso)	1. 79 %

Realizado por: Lissette Segovia, 2017.

Se obtiene un mejor porcentaje de rendimiento en el solvente etanol, debido a sus características químicas y por su afinidad a compuestos terpénicos especialmente triterpenos como el ácido ganodérico, pues en su estructura posee un OH , lo que tiene relación a lo descrito por (Jones, 2013, p. 246).

En etanol se obtienen los triterpenos con actividad biológica especialmente antimicrobiana método usado por (Yang, et al, 2007, p. 927; Cheng, et al, 2012, p. 2307), quienes identificaron 32 y 43 triterpenoides. El hongo *Ganoderma lucidum* posee gran cantidad de metabolitos secundarios alrededor de 240, de los cuales se ha determinado que los principales constituyentes son los triterpenoides, este estudio se realizó en extracto etanólico (Hennike, et al, 2016, p. 31) cuya presencia se comprobó posteriormente con el ensayo de Liebermann- Burchard.

El extracto acuoso es el medio apropiado para obtener polisacáridos de *Ganoderma lucidum* con actividades biológicas, también por las características de solubilidad se encuentran presentes triterpenos (Jones, 2013, p. 246), por lo que se determina que el extracto acuoso difiere en una cantidad mínima del etanólico siendo apto para realizar los ensayos de sensibilidad antimicrobiana , la misma que ha sido llevada a cabo con extracto acuoso por (Yoon et al., 1994, p. 438)

Tabla 2-3: Resultados obtenidos del control de calidad de los extractos de *Ganoderma lucidum*

Hongo <i>Ganoderma lucidum</i>		
Características	Extracto etanólico	Extracto Acuoso
Organolépticas		
Olor	Suigéneris	Suigéneris
Color	Ámbar oscuro	Ámbar claro
Transparencia	Ligeramente turbio	Ligeramente turbio
Partículas	Media	Baja
Fases	No	No
Sabor	Suigéneris	Suigéneris
Parámetros fisicoquímicos		
pH	6.12	5.76
Densidad Relativa	0,82g/mL	0,86g/mL
Índice de Refracción	29,498	19,498
Sólidos totales	9, 1	3

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Los parámetros de los extractos acuoso y etanólico olor, color, sabor, pH, sólidos totales, cumplen con los parámetros de control de calidad descritos por (REDSA, 2015, <http://redsa.com.mx/descargas/fichastecnicas/extractos-fluidos/reishi.pdf>), en el caso de la densidad difiere en 0.1 g / mL al valor de referencia lo cual puede deberse a que los extractos fueron filtrados.

Además el índice de refracción es diferente según el tipo de extracto, así en el extracto etanólico existe una mayor cantidad de sólidos disueltos o mayor presencia de azúcares (Maquimsa, 2007, <http://maquimsa.com/html/tecnica/refractometros.html>), lo cual se debe a las características del solvente pues tiene mayor afinidad por compuestos orgánicos y forma puentes de hidrogeno que da lugar a gran cantidad de glicósidos con los carbohidratos de tal manera que son percibidos por el refractómetro (Morrison & Boyd, 1998; Parry, 1993, p. 217; Bibing, 2016, <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/20005/fichero/1.Memoria%252F1.6.pdf>); la presencia de estos compuestos carbohidratos se corroboró al realizar tamizaje fitoquímico (Prueba de mucílagos). No existen datos referenciales sobre el cálculo de índice de refracción en extractos de *Ganoderma lucidum*

3.2. Tamizaje fitoquímico cualitativo de *Ganoderma lucidum*

Tabla 3-1: Resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico cualitativo de *Ganoderma lucidum*

METABOLITO ENSAYADO	TIPO DE EXTRACTO	
	Etanólico	ACUOSO
Sudan III Lípidos monoterpénicos	+	+
Dragendorf Alcaloides	++	+
Mayer Alcaloides	+	+
Wagner Alcaloides	++	+
Baljet Cumarinas	++	+
Borntrager Quinonas	+++	++
Liebermann-Burchard triterpenos y/o esteroides	+++	+++
Resinas	-	NE
Fheling Azúcares Reductores	-	-
Espuma Saponinas	-	-
Cloruro férrico Compuestos fenólicos Taninos catéquicos Taninos pirogálicos	+++ - -	+++ - -
Shinoda Flavonoides	+++	++
Antocianidinas Flavonoides	+++	+++
Mucílagos Polisacáridos	++	++
Principios amargos y astringentes amargos astringentes	+++ -	+++ -

Equivalencia: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Media Evidencia, (+++) Alta evidencia, (NE) no se realizó el ensayo

Realizado por: Lissette Segovia, 2017.

Los resultados de la tabla del tamizaje fitoquímico evidencia que en los extractos de *Ganoderma lucidum* existe la presencia de alcaloides, ácidos grasos, triterpenos, compuestos fenólicos,

carbohidratos y glicósidos que concuerdan con lo descrito por (Li, et al, 2013,p. 18; Shah, et al, 2014, p. 246) , además a través del ensayo de Lieberman- Burchard se comprobó la presencia de triterpenos tipo esteroides pues se formó una coloración n azul verdosa , y la presencia de polisacáridos se ratificó por la prueba de mucílagos, ambos metabolitos son similares a los descrito por (Boh, et al., 2007, p. 14).

Los extractos acuosos y etanólicos también presentan cumarinas, quinonas y compuestos fenólicos, metabolitos secundarios descritos de la misma manera por (Dávila,2014, pp. 48-49) en esta bibliografía también se describe la presencia de azúcares reductores los cuales en el presente ensayo de los extractos no se detectaron debido a que la concentración de carbohidratos reductores en la muestra es muy baja de tal manera que el ensayo no posee la sensibilidad adecuada para detectarlos; pero de manera general la presencia de carbohidratos se detectaron por la prueba de mucílagos, en donde pueden estar presentes compuestos como glucosa, en mayor cantidad xilosa, manosa, galactosa y fucosa según lo reporta (Bao et al., 2001, p. 67).

En ambos extractos se evidenció la presencia de flavonoides, obteniendo una coloración amarilla, estos compuestos son responsables de la actividad antioxidante de *Ganoderma* según estudios realizados por (Kamra & Bhatt, 2012, p. 361) que además define como ricos constituyentes fitoquímicos a fenoles, flavonoides y ácido ascórbico.

Ambos extractos presentaron sabor amargo característico de *Ganoderma lucidum* y se lo atribuye a los triterpenos tipo lanostano altamente oxidados de acuerdo a los estudios realizados por (Mizuno, 1997, p. 32). Además, este sabor tiene una relación estrecha con los potenciales efectos farmacológicos. (Mizuno, 1997, p. 32)

3.3. Descripción morfológica de los cultivos

3.3.1. Caracterización macroscópica y Tinción Gram

Agar Infusión Cerebro Corazón

Se usó éste agar porque es un medio de enriquecimiento, que permite el desarrollo de bacterias exigentes, las bacterias que se utilizaron en esta investigación presentaban esta condición pues se encontraban inactivas en pico de flauta en agar Mueller Hinton, a su vez este medio de cultivo permite el desarrollo de gran cantidad de colonias de bacterias de fácil observación macroscópica, por lo que es usado para el aislamiento e identificación de bacterias. (Cercenado & Cantón, 2010,

<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

Agar Mueller Hinton

Se usó este agar para corroborar si las colonias tienen las mismas características que al colocarlas en un medio de enriquecimiento, y si se trata de la misma bacteria, de igual manera se lo usó para observar si la bacteria tiene un buen crecimiento en este medio, pues este se lo usa posteriormente para realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, porque no lleva en su composición inhibidores de antimicrobianos. (Britania, 2001, <http://www.britanialab.com/productos/B23137%20REV%2001-MUELLER%20HINTON%20AGAR.pdf>)

3.3.1.1. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

En Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton existió crecimiento de colonias blancas cremosas, mayor a 1 mm, y en tinción cocos Gram positivos

En Agar Manitol Salado se observó colonias amarillentas y redondas mayor a 1 mm, zonas amarillas (coagulasa positivo) y cambio de color en el medio.



Figura 1-3: Vista macroscópica *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en Agar cerebro corazón y Agar Mueller Hinton

Realizado por: Lissette Segovia, 2017.



Figura 2-3: Vista macroscópica *S. aureus* ATCC25923 en Agar Manitol Salado

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

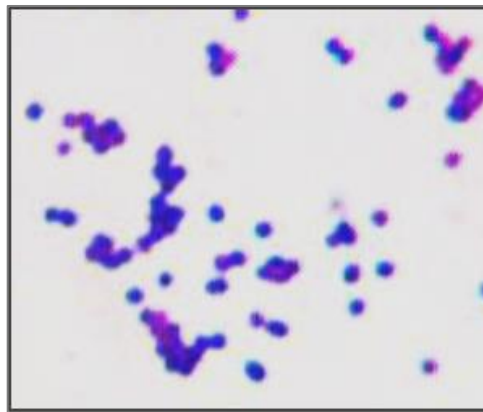


Figura 3-1: Vista microscópica *S.aureus* ATCC 25923 Tinción Gram

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

3.3.1.2. *Escherichia coli* ATCC 9637

En Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton existió crecimiento de colonias blancas, menor a 1 mm, olor putrefacto, y en tinción bacilos Gram negativos

En Agar Eosina Azul de Metileno se observaron colonias verdosas con brillo metálico y centro negro azulado, mayor a 1 mm

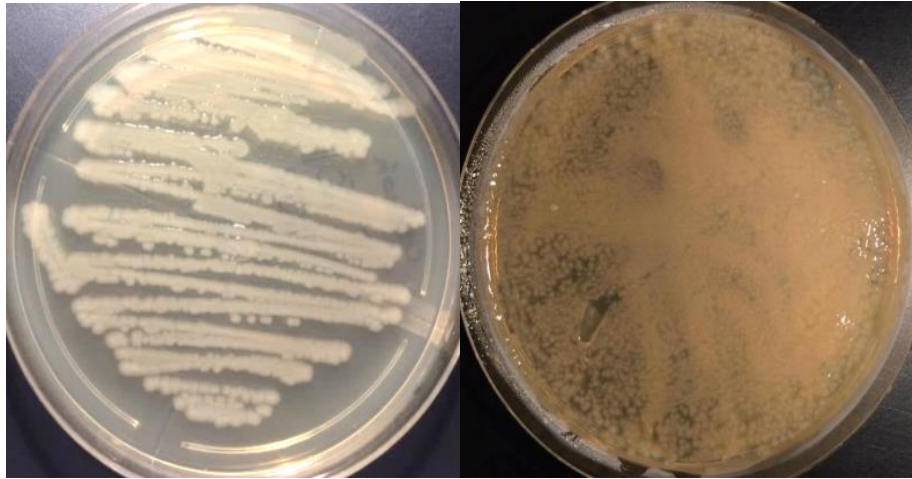


Figura 4-3: Vista macroscópica *E.coli* ATCC 9637 Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

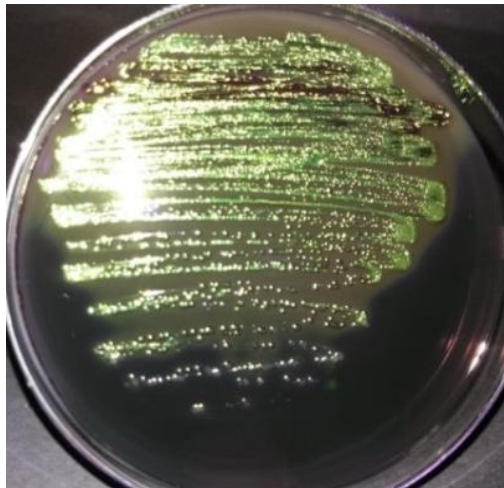


Figura 5-3: Vista macroscópica *E. coli* ATCC9637 en EMB

Realizado por: Lissette Segovia, 2017



Figura 6-3: Vista microscópica *E.coli* ATCC 9637

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

3.3.1.3. *Proteus mirabilis* ATCC 25933

En Agar Mueller Hinton y Cerebro Corazón se obtuvieron colonias blancas pardas traslúcidas, mayor a 1 mm, con crecimiento en forma de manto y en tinción bacilo Gram negativo

En Eosina Azul de Metileno se observaron colonias incoloras, mayor a 1 mm

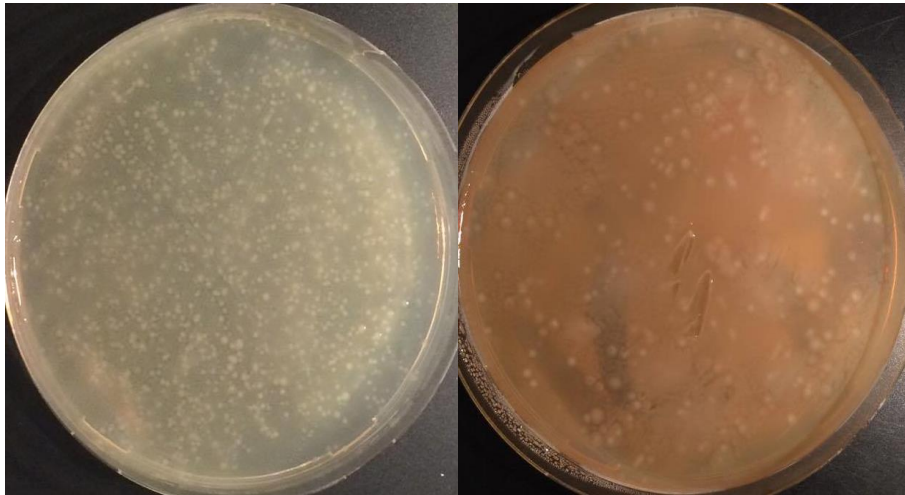


Figura 7-3: Vista macroscópica *P.mirabilis* ATCC 25933 Agar cerebro corazón y Agar Mueller Hinton

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

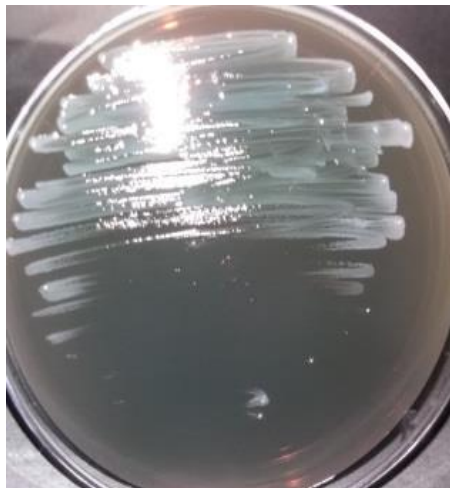


Figura 8-3: Vista macroscópica *P.mirabilis* ATCC 25933 EMB

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

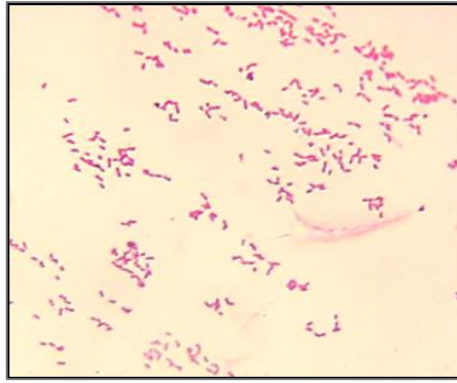


Figura 9-3: Vista microscópica

P.mirabilis ATCC 25933

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

3.4. Prueba de actividad antibióticos controles

Tabla 4-3: Resultados de actividad antibióticos c esterilidad de los extractos acuoso controles

Prueba de Sensibilidad Antibióticos					
Bacterias/ Antibióticos	Estreptomic ina 300 µg	Eritromicin a 15 µg	Penicilina G 10 µg	Tetraciclín a 30 µg	SXT 1.5 / 23.75 µg
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	+	-	-	+	+
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	+	-	+	+	+

Equivalencias: + Presencia; -Ausencia

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Los antibióticos son adecuados para realizar el control de la actividad antimicrobiana en comparación con las concentraciones de los extractos, pues la mayoría de estos son sensibles para las cepas de bacterias analizadas y por ende sus halos de inhibición son factibles de ser comparados con los halos generados por los extractos, a su vez cabe recalcar que son los antibióticos de primera elección para tratar las infecciones de tipo bacteriano. (World Health Organization, 1979, p.979)

3.5. Esterilidad de los extractos

Tabla 5-3: Resultados de la esterilidad de los extractos acuoso y etanólico de *Ganoderma lucidum*

EXTRACTO	ESTERILIDAD
Etanólico	-
Acuoso	-

Equivalencia: + Presencia de microorganismos; - Ausencia de microorganismos

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Los extractos luego de 24 , 48 y 72 horas no presentaron crecimiento microbiano , lo que significa que son estériles , lo cual se debe a la presencia de metabolitos secundarios y otros compuestos como enzimas propias del hongo *Ganoderma lucidum* que impiden la proliferación de microorganismos . Para conservar dicha propiedad los extractos fueron almacenados a 4 °C en refrigeración.

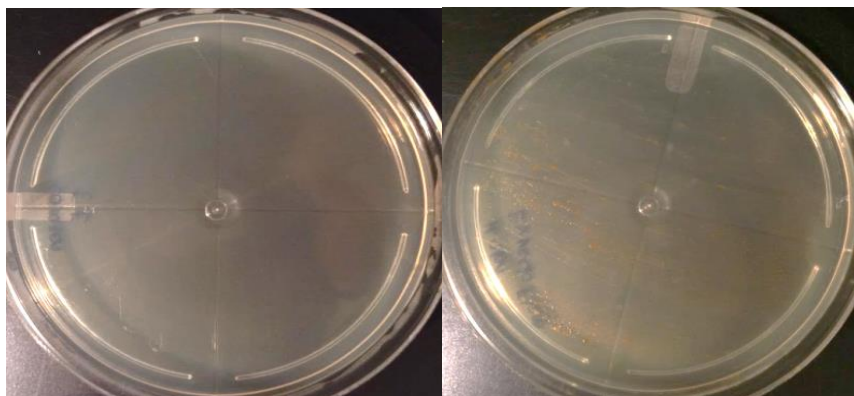


Figura 10-3: Extracto etanólico Agar Cerebro Corazón y Mueller Hinton

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

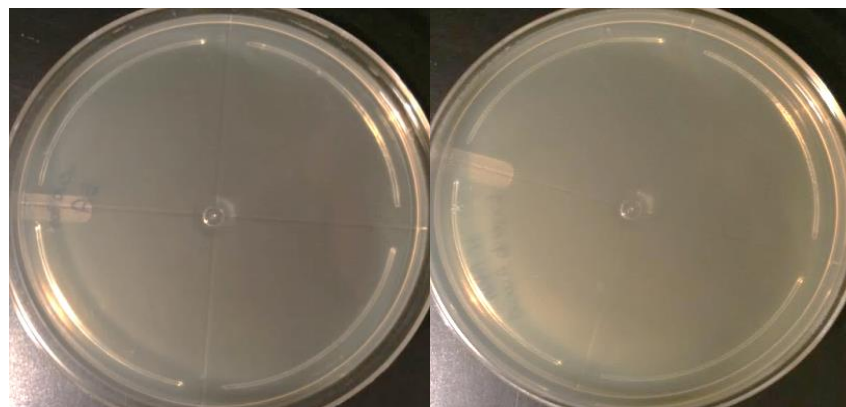


Figura 11-3: Extracto acuoso Agar Cerebro Corazón y Mueller Hinton

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

3.6. Evaluación de los halos de inhibición

Tabla 6-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Ganoderma lucidum* frente a *Escherichia coli* ATCC9637 a las 24- 48 y 72 horas.

Extracto etanólico - <i>Escherichia coli</i> ATCC9637															
AGAR MUELLER HINTON															
Antibióticos	24 h					48 h					72 h				
	Ømm					Ømm					Ømm				
	E	50	75	100	C	E	50	75	100	C	E	50	75	100	C
	%	%	%	%		%	%	%	%		%	%	%	%	
Penicilina G 10µg	+	+	-	-	-	++	+	+	-	-	++	++	-	-	-
Eritromicina 15µg	+	+	+	-	++	++	+	-	-	++	++	++	+	-	++
Estreptomina 300µg	+	+	+	-	++	++	+	-	-	++	++	++	+	-	+++
Tetraciclina 30µg	+	+	+	-	++	++	+	+	-	++	++	++	+	-	+++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	+	+	-	-	++	++	+	-	-	++	++	++	-	-	+++
	+	+			+	+	+			+					
AGAR CEREBRO CORAZÓN															
Antibióticos	24 h					48 h					72 h				
	Ømm					Ømm					Ømm				
	E	50	75	100	C	E	50	75	100	C	E	50	75	100	C
	%	%	%	%		%	%	%	%		%	%	%	%	
Penicilina G 10µg	+	+	+	++	-	++	+	-	-	-	++	++	+	++	-
Eritromicina 15µg	+	+	-	-	-	++	+	-	-	-	++	++	-	-	-
Estreptomina 300µg	+	+	+	-	++	++	+	+	-	++	++	++	+	-	+++
Tetraciclina 30µg	+	+	-	-	++	++	+	-	-	++	++	++	-	-	+++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	+	+	+	-	++	++	+	+	++	++	++	++	+	++	+++
	+	+			+	+	+			+					

Diámetro de halos de inhibición (mm): +: 3-7; ++: >7-20; +++: > 20; -: no inhibición. (León, et al, 2010, p.217)

Realizado por: Lissette Segovia, 2017.

Extracto etanólico 50 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico obtenido de Reishi en solución acuosa al 50% , en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Escherichia coli* ATCC 9637, con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg, Estreptomina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/sulfametoxazol 1.5/23.75µg; se evidenció la inhibición mediante los halos en todos los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración los compuestos activos del hongo actúan de forma eficiente para la inhibición del crecimiento de la enterobacteria en mención.

La concentración del extracto etanólico presenta actividad antimicrobiana como en (Shikongo, et al, 2013, p. 4815; Jonathan & Awotona, 2010, p. 135) en donde la inhibición presentó halo de 14.3mm.

Dicha actividad puede atribuirse a una mayor concentración de triterpenos (Tabla 3-3). Presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard, considerados los responsables de la actividad antibiótica según (Li, et al, 1999, 67; Yoon, et al, 1994, 360 ; Connolly & Hill, 2013, p. 1029) en forma libre y los cuales son los que ejercen la actividad antimicrobiana en sinergismo con los polisacáridos que son solubles en agua pues estos compuestos aumentan la respuesta a bacterias, parásitos , virus u hongos, dicha función ha sido comprobada por (Skalicka, et al, 2012, p. 19; Chen , et al, 2004, p. 5596).

Se considera que los triterpenos de tipo lanostano tales como ácidos ganodéricos ,ganoderioles, ácido ganolucídico, ácido lucidénicos y lucidones son los mayores constituyentes en el extracto ensayado porque se usó para los extractos los cuerpos fructíferos , en los cuales se ha comprado la presencia de dichos triterpenos según (Trigos & Suarez, 2011, p. 65) se considera que sus características químicas son similares a la estructura base de las hormonas esteroidales porque siguen la misma vía del mevalonato/isopreno , el más conocido del grupo de las hormonas esteroidales es el colesterol que se produce a partir del lanosterol , así se conoce que al ser un compuesto anfipático con solubilidad baja en agua ,en contacto con éste el esteroide forma monocapas estables en la superficie (Pasquali & Bregni ; 2006, p. 44) , donde se encuentran triterpenos y otros metabolitos secundarios en forma de ésteres, glicósidos y baja cantidad en forma libre .

De tal manera que cuando se añade agua en el caso de glicósidos la parte soluble, es decir el carbohidrato, se une con el agua y deja libre la parte lipofílica la cual tiene mejores características para penetrar la membrana celular y producir la actividad antimicrobiana , (Maguna ,et al, 2005, <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/8-Exactas/E-045.pdf>) y en el caso de los ésteres ,que se forman

por acción etanol al adicionar agua se produce hidrólisis en donde actúan enzimas propias del hongo *Ganoderma*, dejando libre la fracción lipofílica la misma que ingresa al enteropatógeno y ejerce su acción bactericida. (Cagliari & Macaño, 2010, p. 69).

A su vez esta entrada de triterpenos y otros metabolitos secundarios es facilitada por el ácido ganodérico que tiene una estructura y función similar al ácido ursólico (Anaya, et al, 2001, p. 192).

Extracto etanólico al 75 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 75% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Escherichia coli* ATCC9637, con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg ,Estreptomicina 300µg ,Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg ,se evidenció que la inhibición bacteriana en todos los medios de cultivo es menor en comparación con el extracto etanólico al 50 % , frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a ésta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de una forma intermedia sobre la enterobacteria en mención, pero si posee actividad antimicrobiana similar a (Quereshi, et al, 2010, p. 11).

Lo cual puede atribuirse a que se encuentra mayor cantidad de triterpenos (Tabla 3-3 = los triterpenos son considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, 67 ; Yoon, et al, 1994,p. 360 y metabolitos secundarios como polisacáridos en la fase acuosa; esto se fundamenta en que los triterpenos no se encuentran en forma libre porque fueron extraídos en etanol y requiere estar en agua para sufrir hidrólisis y que la porción lipofílica pueda ejercer su acción, de igual manera al formar capas se va a facilitar la entrada a la bacteria por acción de los ácidos de tipo lanostano del hongo *Ganoderma lucidum* .

Los metabolitos solubles en agua también van a poder ejercer su acción expresado en sinergismo (Skalicka, et al, 2012, p. 19), así en este caso se puede establecer una relación directamente proporcional entre menor cantidad de agua menor cantidad de triterpenos con actividad antimicrobiana y viceversa.

Extracto etanólico al 100 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 100% obtenido de Reishi , en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Escherichia coli* ATCC 9637, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomicina 300µg,

Penicilina G 10µg	-	++	++	++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-
Eritromicina 15µg	-	-	++	++	-	-	-	++	++	-	-	-	++	++	-
Estreptomicina 300µg	-	-	++	++	++			++	++	++	-	-	++	++	++
Tetraciclina 30µg	-	-	++	++	++	-	-	++	++	++	-	-	++	++	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	-	-	++	++	++	-	-	-	++	++	-	-	++	++	++

Diámetro de halos de inhibición (mm): +: 3-7; ++: >7-20; +++: > 20; -: no inhibición. (León, et al, 2010, p.217).

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Extracto acuoso 50 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 50 % obtenido de Reishi , en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Escherichia coli* ATCC9637, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomicina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/sulfametoxazol 1.5/23.75µg, se evidenció que no hay actividad antimicrobiana porque no hay presencia de halos de inhibición en los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuesto activos del hongo es nula frente al crecimiento de la enterobacteria en mención.

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) al añadir agua destilada estéril se redujo a cantidades a las cuales el microorganismo es resistente, y por ende no puede ejercer su acción , teniendo en cuenta que por el hecho de estar en agua su concentración ya es mínima pues el solvente adecuado para extraer este tipo de compuestos es el etanol (Jones, 2013, p. 246).

De igual manera la cantidad de polisacáridos solubles es inferior de tal forma que no pueden ejercer su sinergismo, ni su acción en forma individual.La falta de actividad antimicrobiana de los extractos acuosos de *Ganoderma lucidum* se aprecia en estudios realizados por (Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222)

Extracto acuoso 75 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 75% obtenido de Reishi , en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Escherichia coli* ATCC9637, con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg ,Estreptomicina 300µg,Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció la presencia de actividad antimicrobiana a través de halos de inhibición en los medios, frente a los antibióticos excepto a Penicilina G 10µg en Agar Mueller Hinton y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo es alta frente al crecimiento de la enterobacteria en mención.

La actividad del extracto acuoso ha sido comprobada por (Shikongo, et al, 2013, p. 4815; Quereshi, et al, 2010, p. 11; Kamble, et al, 2011, p. 983; Jonathan & Awotona, 2010, p. 136), en este último presenta un halo de inhibición de 10.3 mm.

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) al añadir agua destilada no se redujo más bien se produjo una hidrólisis de glicósidos de triterpenos, en donde los azúcares se unieron con moléculas de agua y dejaron libre la fracción lipídica, aumentando la entrada a la bacteria y activando los mecanismos de acción bactericida, así en esta solución están concentraciones de triterpenos a las cuales la bacteria es sensible , se puede atribuir que los polisacáridos están en una cantidad adecuada de tal manera que facilitan la entrada de los triterpenos (Skalicka, et al, 2012, p. 19)

La actividad bactericida en el medio Agar Cerebro Corazón se puede evidenciar de forma más clara en comparación con el Agar Mueller Hinton debido a que los mecanismos de crecimiento de la bacteria se ven modificados por los sustratos del medio de cultivo, (Montoya, 2008, p. 72) en este caso los componentes del Agar Cerebro Corazón como cloruro de sodio, glucosa y fosfato disódico (Britanialab,2016, <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/cerebcorinfusagar.htm>) desfavorecen el crecimiento de *Escherichia coli* , especialmente por acción de cloruro de sodio, el cual aumenta el efecto inhibitor de Enterobacterias en medios de enriquecimientos (Huang, et al, 2001, p. 546)

Extracto acuoso 100 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 100 % , obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Escherichia coli*

ATCC9637, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció la presencia de actividad antimicrobiana a través de halos de la inhibición, en ambos medios de cultivo frente a los antibióticos Estreptomina 300µg y Trimetoprim/sulfametoxazol 1.5/ 23.75µg, en todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuesto activos del hongo es intermedia frente al crecimiento de la enterobacteria en mención.

La actividad del extracto acuoso ha sido comprobada por (Shikongo, et al, 2013, p. 4815; Quereshi, et al, 2010, p. 11; Kamble, et al, 2011, p. 983; Jonathan & Awotona, 2010, p. 136), en este último presenta un halo de inhibición de 10.3mm.

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios triterpenos (Tabla 3-3) presenta Triterpenos del tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) en forma libre es baja pero está en una concentración que provoca sensibilidad en la enterobacteria, teniendo en cuenta además que el solvente apropiado para su extracción es etanol pues su solubilidad en agua es mínima pero aunque exista un mínima cantidad de triterpenos esto se ve recompensado por su alta actividad que es consecuencia de su carácter lipofílico, (Gao, et al, 2003, p. 235) esto se ve claramente expresado en la existencia de halos de inhibición en el ensayo, a su vez se ve recompensado con la presencia de polisacáridos y otros compuestos como lectinas que van a potenciar la acción y la entrada a la membrana plasmática bacteriana .(Yang,et al, 2002,p.937 ; Skalicka, et al, 2012, p. 19) .

La actividad bactericida en el medio Agar Cerebro Corazón se puede evidenciar de forma más clara en comparación con Agar Mueller Hinton debido a que los mecanismos de crecimiento de la bacteria se ven modificados por los sustratos del medio de cultivo, (Montoya, 2008, p. 72) en este caso los componentes del Agar Corazón como cloruro de sodio, glucosa y fosfato disódico (Britanialab, 2016, <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/cerebcorinfusagar.htm>) desfavorecen el crecimiento de *Escherichia coli* , especialmente cloruro de sodio que aumenta el efecto inhibitor. (Huang, et al, 2001, p. 546)

Tabla 8-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Ganoderma lucidum* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 a las 24- 48 y 72 horas.

Extracto etanólico <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923															
AGAR MUELLER HINTON															
Antibióticos	24 h					48 h					72 h				
	Ømm					Ømm					Ømm				
	E	50 %	75 %	100 %	C	E	50 %	75 %	100 %	C	E	50 %	75 %	100 %	C
Penicilina G 10µg	++	-	++	++	+++	++	-	++	++	+++	++	-	+	++	+++
Eritromicina 15µg	++	-	++	++	++	++	-	++	++	++	++	-	++	++	++
Estreptomina 300µg	++	-	+	++	+++	++	-	+	++	+++	++	-	+	+	+++
Tetraciclina 30µg	++	-	++	++	++	++	-	++	++	++	++	-	++	+	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	++	-	+	++	+++	++	-	-	++	+++	++	-	+	+	+++
AGAR CEREBRO CORAZÓN															
Antibióticos	24 h					48 h					72 h				
	Ømm					Ømm					Ømm				
	E	50 %	75 %	100 %	C	E	50 %	75 %	100 %	C	E	50 %	75 %	100 %	C
Penicilina G 10µg	++	-	++	++	+++	++	-	++	++	+++	++	-	++	++	+++
Eritromicina 15µg	++	-	+	-	+++	++	-	++	-	++	++	-	+	-	++
Estreptomina 300µg	++	-	+	++	+++	++	-	++	++	+++	++	-	+	++	+++
Tetraciclina 30µg	++	-	+	-	++	++	-	++	-	++	++	-	+	-	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	++	-	++	+	-	++	-	++	++	-	++	-	+	+	-

Diámetro de halos de inhibición (mm): +: 3-7; ++: >7-20; +++: > 20; -: no inhibición. (León, et al, 2010, p.217).

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Extracto etanólico 50%

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 50 % obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 , con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomicina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/sulfametoxazol 1.5 / 23.75µg, se evidenció que no hay actividad antimicrobiana porque no hay presencia de halos de inhibición en los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo es nula frente al crecimiento de la bacteria en mención. Los resultados de la falta de actividad son similares similar a (Zuluaga, 2007, p. 329)

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios triterpenos (Tabla 3-3) presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) al añadir agua destilada estéril se redujo a cantidades a las cuales el microorganismo es resistente y por ende no puede ejercer la acción. (Jones, 2013, p. 246) De igual manera la cantidad de polisacáridos no puede influir sobre esta cantidad mínima de triterpenos por lo que no pueden ejercer su sinergismo.

Extracto etanólico75%

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 75% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomicina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5/23.75µg, se evidenció la inhibición mediante los halos en todos los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de forma alta y eficiente para la inhibición del crecimiento de la bacteria en mención.

Presenta actividad como en (Shikongo, et al, 2013, p. 4815; Quereshi, et al, 2010, p. 11; Jonathan & Awotona, 2010, p. 135) en este último presenta un halo de 17.7 mm.

Lo cual puede atribuirse a una mayor concentración de triterpenos (Tabla 3-3) presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) que fueron extraídos por etanol en distintas presentaciones como ésteres, glucósidos y que al añadir agua son hidrolizados y su fracción lipídica aumenta permitiendo que la entrada a la membrana celular sea mejor ,de igual

manera se han realizado estudios en donde comprueban que la presencia de etanol aumenta la inhibición bacteriana de *Staphylococcus aureus* (Shapero, et al, 1978, p. 1467), así en este ensayo el etanol ejerce un sinergismo potente que aumenta la acción de los triterpenos. Es importante recalcar la presencia de polisacáridos libres que aumentan la respuesta a la infección. (Yang, et al, 2002, p. 937; Skalicka, et al, 2012, p. 19)

Extracto etanólico 100 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 100 % obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Staphylococcus aureus* ATCC25923, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció la inhibición mediante los halos en los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de forma eficiente para la inhibición del crecimiento de la bacteria en mención.

Presenta actividad como en (Shikongo, et al, 2013, p. 4815; Singh, et al, 2014, p. 462). Lo cual puede atribuirse a una mayor concentración de triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard, considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) con una alta actividad bactericida por el sinergismo que genera el etanol (Shapero, et al, 1978, p. 1467), su actividad es significativamente inferior a la concentración al 75 % que puede deberse a la falta de agua que hidrolice los triterpenos que se encuentran en forma de ésteres o glicósidos y por la baja actividad de los polisacáridos los cuales son solubles en agua.

La actividad bactericida en el medio Agar Cerebro Corazón es menor que en Mueller Hinton debido a que los mecanismos de crecimiento de la bacteria se ven modificados por los sustratos del medio de cultivo, (Montoya, 2008, p. 72) en este caso los componentes del Agar Cerebro Corazón como cloruro de sodio, glucosa y fosfato disódico (Britanialab, 2016, <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/cerebcorinfusagar.htm>) favorecen el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. (Montoya, 2008, p. 72)

Tabla 9-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Ganoderma lucidum* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 a las 24- 48 y 72 horas.

Extracto Acuoso <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923			
AGAR MUELLER HINTON			
Antibióticos	24 h Ømm	48 h Ømm	72 h Ømm

	B	50 %	75 %	100 %	C	B	50 %	75 %	100 %	C	B	50 %	75 %	100 %	C
Penicilina G 10µg	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++
Eritromicina 15µg	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++
Estreptomicina 300µg	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	++
Tetraciclina 30µg	-	-	-	++	++	-	-	-	++	++	-	-	-	++	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++
AGAR CEREBRO CORAZÓN															
Antibióticos	24 h Ømm					48 h Ømm					72 h Ømm				
	B	50 %	75 %	100 %	C	B	50 %	75 %	100 %	C	B	50 %	75 %	100 %	C
Penicilina G 10µg	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++
Eritromicina 15µg	-	-	-	+	++	-	-	-	+	++	-	-	-	+	++
Estreptomicina 300µg	-	-	-	+	++	-	-	-	++	++	-	-	-	+	+++
Tetraciclina 30µg	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Diámetro de halos de inhibición (mm): +: 3-7; ++: >7-20; +++: > 20; -: no inhibición. (León, et al, 2010, p.217).

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Extracto acuoso 50 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 50 % obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Staphylococcus aureus* ATCC25923, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomicina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció que no hay actividad antimicrobiana porque no hay presencia de halos de la inhibición en todos los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta

concentración la actividad de los compuestos activos del hongo es nula frente al crecimiento de la bacteria en mención.

La falta de actividad antimicrobiana se aprecia en estudios realizados por (Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222) en donde la bacteria no presenta sensibilidad a ningún extracto acuoso de ninguna parte del hongo.

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios tri terpenos triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman-Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) al añadir agua destilada estéril se redujo a cantidades a las cuales el microorganismo es resistente, y por ende no puede ejercer su acción (Jones, 2013, p. 246) teniendo en cuenta que en agua se extrae una baja cantidad de triterpenos pues este solvente es apropiado para polisacáridos.

De igual manera la cantidad de polisacáridos no puede influir sobre esta cantidad mínima de triterpenos, por lo que no pueden ejercer su sinergismo.

Extracto acuoso 75 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 75 % obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg ,Estreptomicina 300µg ,Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció que no hay actividad antimicrobiana porque no hay presencia de halos de la inhibición en todos los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo es nula frente al crecimiento de la bacteria en mención.

La falta de actividad antimicrobiana se aprecia en estudios realizados por (Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222) en donde la bacteria no presenta sensibilidad a ningún extracto de ninguna parte del hongo.

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) al añadir agua destilada estéril se redujo a cantidades a las cuales el microorganismo es resistente, y por ende no puede ejercer su acción (Jones, 2013, p. 246) teniendo en cuenta que en agua se extrae una baja cantidad de triterpenos pues este solvente es apropiado para polisacáridos.

De igual manera la cantidad de polisacáridos no puede influir sobre esta cantidad mínima de triterpenos por lo que no pueden ejercer su sinergismo.

Extracto acuoso 100 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 100% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 , con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg ,Estreptomina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció que hay halos de inhibición solo en Agar Mueller Hinton Tetraciclina 30µg , y en Agar Cerebro Corazón Estreptomina 300µg y Eritromicina 15µg, en todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo es baja frente al crecimiento de la bacteria en mención.

La actividad antimicrobiana del extracto acuoso también fue comprobado por (Singh, et al, 2014, p. 462; Shikongo, et al, 2013, p. 4815; Kamble, et al, 2011, p. 983; Jonathan & Awotona, 2010, p. 136), en éste presenta un halo de inhibición de 11 mm.

Lo cual puede atribuirse a que el *Staphylococcus aureus* es resistente, a la concentración de metabolitos secundarios triterpenos que se encuentran en esta solución de extracto (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) , es decir la característica lipofílica de la pequeña cantidad de triterpenos que se extraen en agua no es la suficiente para actuar sobre los mecanismos de la bacteria , de igual manera la cantidad de polisacáridos no puede influir de forma eficiente sobre esta cantidad mínima de triterpenos por lo que no pueden ejercer un correcto sinergismo. (Skalicka, et al, 2012, p. 19)

Tabla 10-2: Evaluación de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Ganoderma lucidum* frente a *Proteus mirabilis* ATCC25933 a las 24- 48 y 72 horas.

Extracto etanólico <i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933										
AGAR MUELLER HINTON										
Antibióticos	24 h					48 h				
	Ømm					Ømm				
	E	50 %	75 %	100 %	C	E	50 %	75 %	100 %	C
Penicilina G 10µg	-	+++	++	++	+++	-	++	-	-	+++

Eritromicina 15µg	-	++	-	-	-	++	++	-	-	-
Estreptomicina 300µg	++	++	++	++	+++	-	-	-	-	+++
Tetraciclina 30µg	-	++	-	-	++	++	++	-	-	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	-	+++	-	+++	++	-	++	-	-	-
AGAR CEREBRO CORAZON										
Antibióticos	24 h					48 h				
	Ømm					Ømm				
	E	50 %	75 %	100 %	C	E	50 %	75 %	100 %	C
Penicilina G 10µg	++	++	-	-	+++	++	++	-	++	+++
Eritromicina 15µg	-	++	++	++	++	-	++	++	++	-
Estreptomicina 300µg	-	++	-	+	+++	-	++	-	-	+++
Tetraciclina 30µg	-	++	-	++	+++	-	++	++	++	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	-	++	++	-	+++	-	++	++	++	++

Diámetro de halos de inhibición (mm): +: 3-7; ++: >7-20; +++: > 20; -: no inhibición. (León, et al, 2010, p.217).

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Extracto etanólico 50%

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 50% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Proteus mirabilis* ATCC25933, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomicina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció inhibición mediante los halos en todos los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de forma eficiente para la inhibición del crecimiento de la enterobacteria en mención.

La actividad ha sido comprobada por (Jonathan & Awotona, 2010, p. 135), en donde se presenta un halo de inhibición de 16 mm, también por (Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222) en donde *Proteus mirabilis* tiene

sensibilidad a los extractos etanólicos de las diferentes partes del hongo, y es el microorganismo más sensible a *Ganoderma lucidum*.

Lo cual puede atribuirse a una mayor concentración de triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) en forma libre , la solubilidad y comportamiento en agua es similar al colesterol en donde los triterpenos esteroidales forman monocapas estables en la superficie (Pasquali & Bregni ; 2006, p. 44) , es por ello que al añadir agua los triterpenos que se encuentran en forma de glicósidos y ésteres se hidrolizan y aumenta la fracción lipídica la cual va a ingresar a través de la membrana bacteriana de una mejor manera y sin complicaciones. (Maguna *et al.*, 2005, <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/8-Exactas/E-045.pdf>; Caglieri & Macaño, 2010, p. 69)

Los compuestos de tipo lanostano como el ácido ganodérico, principal metabolito secundario presente en el cuerpo fructífero (Trigos & Suarez, 2011, p. 65) tiene una estructura similar al ácido ursólico y por lo tanto una misma actividad de facilitar la entrada a la membrana. (Anaya, et al, 2001, p. 192)

Esta actividad antimicrobiana se ve incrementada por los polisacáridos que se encuentran en una alta cantidad en forma libre como resultado de las hidrólisis, estos compuestos que son muy solubles en agua aumenta la respuesta antimicrobiana de los triterpenos se produce un sinergismo. (Chen, et al, 2004, p. 5596; Skalicka, et al, 2012, p. 19)

Extracto etanólico 75%

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 75% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Proteus mirabilis* ATCC25933 , con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg ,Estreptomicina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció que la inhibición bacteriana en los medios es menor en comparación con el extracto etanólico al 50% , frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de una forma intermedia sobre la enterobacteria en mención, pero si posee actividad antimicrobiana similar (Jonathan & Awotona, 2010, p. 135; Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222)

La presencia de dicha actividad puede atribuirse a que los metabolitos secundarios conocidos como triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al,

1994, p. 360) que se encuentran en forma de ésteres por su extracción en etanol y en forma de glicósidos , al añadir una cantidad de agua se hidrolizan y queda libre la fracción lipídica la cual ingresa a la membrana bacteriana , determinando que ha ésta concentración de extracto es sensible, además se encuentra en la fracción acuosa polisacáridos que producen sinergismo mejorando la entrada a través de la membrana celular, así se puede establecer una relación directamente proporcional entre menor cantidad de agua menor cantidad de triterpenos con actividad antimicrobiana y viceversa.

Extracto etanólico 100 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 100% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Proteus mirabilis* ATCC25933 , con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg ,Estreptomicina 300µg ,Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75µg , se evidenció la inhibición mediante los halos en los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de forma intermedia para la inhibición del crecimiento de la bacteria en mención.

Presenta actividad en estudios realizados por (Jonathan & Awotona, 2010, p. 135; Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222). Lo cual puede atribuirse a que la concentración de triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) presentes en el extracto ya sean en forma compleja como ésteres o glicósidos y una baja cantidad en forma libre es suficiente para activar los mecanismos de actividad antimicrobiana sobre *Proteus mirabilis* , esta actividad no es producto del sinergismo con etanol pues en el control se observa que *Proteus mirabilis* no presenta sensibilidad frente a ese solvente , su actividad es significativamente inferior a la concentración al 50% que puede ser por la falta de agua que hidrolice los triterpenos que no se encuentran en forma libre y por la baja actividad de los polisacáridos los cuales son solubles en agua.

Tabla 11-3: Resultados de la evaluación de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Ganoderma lucidum* frente a *Proteus mirabilis* ATCC25933 a las 24- 48 y 72 horas.

Extracto acuoso - <i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933										
AGAR HINTON										
Antibióticos	24 h					48 h				
	Ømm					Ømm				
	B	50 %	75 %	100 %	C	B	50 %	75 %	100 %	C

Penicilina G 10µg	-	++	-	-	++	-	++	-	++	+++
Eritromicina 15µg	-	++	-	++	+	-	++	++	-	++
Estreptomicina 300µg	-	++	-	-	+++	-	++	-	++	+++
Tetraciclina 30µg	-	++	-	-	++	-	++	-	-	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	-	++	++	++	++	-	-	++	++	++
AGAR CEREBRO CORAZON										
Antibióticos	24 h					48 h				
	Ømm					Ømm				
	B	50 %	75 %	100 %	C	B	50 %	75 %	100 %	C
Penicilina G 10µg	-	++	++	++	+++	-	++	++	++	+++
Eritromicina 15µg	-	++	++	++	++	-	++	-	++	+++
Estreptomicina 300µg	-	++	-	++	+++	-	++	-	++	+++
Tetraciclina 30µg	-	++	++	++	+++	-	++	++	++	++
Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg	-	++	++	++	++	-	++	++	++	++

Diámetro de halos de inhibición (mm): +: 3-7; ++: >7-20; +++: > 20; -: no inhibición. (León, et al, 2010, p.217).

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Extracto acuoso 50 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 50% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Proteus mirabilis* ATCC25933, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomicina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció la inhibición mediante los halos en todos los medios, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de forma eficiente para la inhibición del crecimiento de la enterobacteria en mención.

La actividad ha sido comprobada por (Kamble, et al, 2011, p. 983; Jonathan & Awotona, 2010, p. 136), en donde presenta un halo de inhibición de 4.7 mm y por (Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222) en donde *Proteus mirabilis* tiene sensibilidad a los extractos acuoso de las diferentes partes de hongo.

Lo cual puede atribuirse a una mayor concentración de triterpenos (Tabla 3-3 = presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) en forma libre, pues al usar como solvente agua los triterpenos se podrían encontrar en forma de glucósidos los mismos que al momento de añadir agua destilada estéril se separan en carbohidratos y fracción lipídica, esta última es la encargada de ingresar a la membrana y ejercer la actividad antimicrobiana a su vez los polisacáridos, y más compuestos afines al agua como lectinas aumentan la respuesta antimicrobiana (Chen , et al, 2004, p. 5596; Skalicka, et al, 2012, p. 19; Maguna *et al.*, 2005, <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/8-Exactas/E-045.pdf>).

Extracto acuoso 75 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 75% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Proteus mirabilis* ATCC25933 , con los antibióticos Penicilina G 10µg ,Eritromicina 15µg ,Estreptomina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg , se evidenció que la inhibición bacteriana en los medios es mínima en comparación con el extracto acuoso al 50 % , frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de una forma baja sobre la enterobacteria en mención, pero si posee actividad antimicrobiana similar a (Jonathan & Awotona, 2010, p. 135; Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222; Kamble, et al, 2011, p. 983)

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios triterpenos (Tabla 3-3)= presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard , considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) al añadir agua destilada se redujo a cantidades a las cuales el microorganismo es resistente, y por ende no puede ejercer su acción(Jones, 2013, p. 246) teniendo en cuenta que en agua se extrae una baja cantidad de triterpenos pues este solvente es apropiado para polisacáridos. De igual manera la cantidad de polisacáridos no puede influir de forma adecuada sobre esta cantidad mínima de triterpenos por lo que no ejerce eficientemente su sinergismo.

La actividad bactericida en el medio Agar Cerebro Corazón se puede evidenciar de forma más clara en comparación con Agar Mueller Hinton debido a que los mecanismos de crecimiento de

la bacteria se ven modificados por los sustratos del medio de cultivo (Montoya, 2008, p. 72) en este caso los componentes del Agar Cerebro Corazón como cloruro de sodio, glucosa y fosfato disódico (Britanialab, 2016, <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/cerebcorinfusagar.htm>) desfavorecen el crecimiento de *Proteus mirabilis*, especialmente cloruro de sodio contribuye al efecto inhibitor de enterobacterias. (Huang, et al, 2001, p. 546)

Extracto acuoso 100 %

Al evaluarse la actividad antibacteriana del extracto acuoso al 100% obtenido de Reishi, en los medios de cultivo Agar Cerebro Corazón y Agar Mueller Hinton, para *Proteus mirabilis* ATCC25933, con los antibióticos Penicilina G 10µg, Eritromicina 15µg, Estreptomina 300µg, Tetraciclina 30µg y Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg, se evidenció que la inhibición bacteriana en los medios de cultivo es mínima en comparación con el extracto acuoso al 50%, frente a todos los antibióticos y a todos los tiempos de evaluación lo que muestra que a esta concentración la actividad de los compuestos activos del hongo actúan de una forma baja sobre la enterobacteria en mención, pero si posee actividad antimicrobiana similar a (Jonathan & Awotona, 2010, p. 135; Klaus; NIKŠIĆ, 2007, p. 222; Kamble, et al, 2011, p. 983)

Lo cual puede atribuirse a que la concentración de los metabolitos secundarios triterpenos (Tabla 3-3) presencia de Triterpenos tipo esteroides según Prueba Lieberman- Burchard, considerados los responsables de la actividad inhibitoria (Li, et al, 1999, p. 67; Yoon, et al, 1994, p. 360) está formada por glicósidos y una cantidad baja de triterpenos en forma libre pero que esta pequeña cantidad de triterpenos por su característica de liposolubilidad es capaz de entrar a la membrana bacteriana de *Proteus mirabilis* y generar acción bactericida. Teniendo en cuenta además que en agua se extrae una baja cantidad de triterpenos pues este solvente es apropiado para polisacáridos.

De igual manera la cantidad de polisacáridos no puede influir de forma adecuada sobre esta cantidad mínima de triterpenos por lo que no pueden ejercer un sinergismo eficiente; es decir la falta de adición de agua impide que se separe la fracción lipídica de glicósidos y por ende no se incrementa la concentración de triterpenos en forma libre. (Kamble, et al, 2011, p. 983)

La actividad bactericida en el medio Agar Cerebro Corazón se puede evidenciar de forma más clara en comparación con Agar Mueller Hinton debido a que los mecanismos de crecimiento de la bacteria se ven modificados por los sustratos del medio de cultivo (Montoya, 2008, p. 72) en este caso los componentes del Agar Cerebro Corazón como cloruro de sodio, glucosa y fosfato disódico (Britanialab, 2016, <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/cerebcorinfusagar.htm>) desfavorecen el crecimiento de *Proteus mirabilis*, especialmente cloruro de sodio contribuye al efecto inhibitor de enterobacterias. (Huang, et al, 2001, p. 546)

3.7. Resultados estadísticos con SPSS v22 para Windows

3.7.1. Influencia de los antibióticos y concentraciones de extractos sobre *Escherichia coli* ATCC9637, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933

3.7.1.1. Influencia de los antibióticos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas. Pruebas no paramétricas.

Tabla 12-3: Evaluación de la sensibilidad de penicilina G 10µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 h en Agar Cerebro Corazón (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)

Penicilina G - Agar Cerebro Corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	3	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	24	12	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	22	9	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	3	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	26	12	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	23,2	9	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	3	c
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	25	13	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	20,6	8	b

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 13-4: Prueba de Kruskal Wallis. Penicilina G 10µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas.

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	11,011	10,950	13,487
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,004	,004	,001

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempo; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 y 48 horas sigue la misma tendencia de actividad

antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933 y a las 72 horas varía, disminuyendo su actividad sobre *Proteus mirabilis* ATCC25933

Tabla 14-5: Evaluación de la sensibilidad de eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48,72 h en Agar Cerebro Corazón (Prueba Kruskal Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)

Eritromicina 15 µg - Agar Cerebro Corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	3	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	20,2	12	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	17,4	9	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	5,50	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	19,6	13	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	5,50	b
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	5,50	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	18,4	13	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	5,50	b

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Tabla 15-3: Prueba de Kruskal Wallis. Eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	11,329	13,636	13,325
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,003	,001	,001

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 horas produce actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933 y a las 48 horas el antibiótico disminuye su actividad sobre *Proteus mirabilis* ATCC25933, tendencia que se mantiene a las 72 horas.

Tabla 16-6: Evaluación de la sensibilidad de sulfametoxazol /trimetoprim frente a bacterias, 24, 48,72 h, Agar Cerebro Corazón (Prueba Wallis /Whitney $p < 0.05$ $n=5$)

Sulfametoxazol 1.5 µg - trimetoprim 23.75 µg - Agar Cerebro Corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	29	13	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	3,50	c
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	16,2	7,50	b
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	24,25	13	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	3,50	c
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	11,2	7,50	b
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	20,5	13	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	3,50	c
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	11,4	7,50	b

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 17-7: Prueba Kruskal Wallis .Sulfametoxazol-trimetoprim frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	12,156	12,133	12,156
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,002	,002	,002

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 , 48 y 72 horas el antibiótico sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana produciendo mayor sensibilidad sobre *Escherichia coli* ATCC9637

Tabla 18-3: Evaluación de la Sensibilidad de penicilina G 10 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)

Penicilina G 10 µg - Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	3	B
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	24,6	10,30	A
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	24,8	10,70	A
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	3,50	C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	27,6	12,80	A
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	18,6	7,70	B
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	3	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	27,2	12,40	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	22,4	8,60	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 19-3: Prueba Kruskal Wallis. Penicilina G 10 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	9,797	11,679	11,724
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,007	,003	,003

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 horas tiene actividad antibiótica sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933, la misma que a las 48 horas varía, disminuyendo su actividad sobre *Proteus mirabilis* ATCC25933, pero a las 72 horas sigue la misma tendencia de actividad que a las 24 horas, suceso que puede deberse a mayor liberación del antibiótico.

Tabla 20-3: Evaluación de la sensibilidad de eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney /p < 0.05 n = 5)

Eritromicina 15 µg - Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	3,75	6,20	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	19,8	13	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	2	4,80	b
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	5,25	7,20	B
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	18,6	12,80	A
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	4	B
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	6,10	B
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	19,6	12,90	A
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	5	b

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 21-3: Prueba Kruskal Wallis. Eritromicina 15 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	10,360	11,066	11,705
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,006	,004	,003

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 , 48 y 72 horas tiene la misma tendencia de actividad antimicrobiana sobre las tres bacterias analizadas , generando mayor sensibilidad sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Tabla 22-3: Evaluación de la sensibilidad de tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 24horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 5$)

Tetraciclina 30 µg Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango

<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	33	13	A
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	11,4	4,60	B
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	11,6	6,40	B

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 23-8: Prueba Wallis.

Tetraciclina frente bacterias 24h

	24 horas
Chi-cuadrado	10,049
gl	2
Sig. asintótica	,007

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en un periodo de tiempo, que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 horas presenta mayor actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* ATCC9637.

Tabla 24-3: Evaluación de la Sensibilidad de estreptomicina 300 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney / $p < 0.05$ $n = 5$)

Estreptomicina 300 µg - Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	36	13	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	20,8	3,10	c
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	24,8	7,90	b
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	35	11	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	20,8	3,40	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	33	9,60	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	35,5	12,20	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	20,4	3,60	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	29,2	8,20	b

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 25-3: Prueba Kruskal Wallis. Estreptomicina 300µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	12,804	8,594	9,766
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,002	,014	,008

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 , 48 y 72 horas varía su actividad antimicrobiana, así se puede destacar que hasta las 48 horas genera sensibilidad sobre *Escherichia coli* ATCC9637

Tabla 26-3: Evaluación de la Sensibilidad de Sulfametoxazol -trimetoprim frente a bacterias, 24, 48,72 h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis /Whitney/ $p < 0.05$ $n = 5$)

Sulfametoxazol 1.5 µg - trimetoprim 23.75 µg Agar Mueller hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	30,5	13	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	28,6	8	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	13,8	3	c
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	22	8	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	28,2	13	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	4,6	3	c
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	20,75	8	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	28,8	13	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	4,4	3	c

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 27-3: Prueba Kruskal Wallis. Sulfametoxazol-trimetoprim frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	12,750	12,915	12,797
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,002	,002	,002

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 el antibiótico presenta actividad antimicrobiana distinta para cada bacteria, siendo mayor para *Escherichia coli* ATCC9637 y a las 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad siendo mayor para *Staphylococcus aureus* ATCC25923

3.7.1.2. *Influencia de los antibióticos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas. Pruebas Paramétricas*

Tabla 28-3: Evaluación de la Sensibilidad de tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA / Prueba Dunnet C)

Tetraciclina 30 µg Agar Cerebro Corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango	Error Estándar
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	33,5	c	± 1,04
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	11,2	b	± 1,69
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	20,8	a	± 1,70
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	30,5	b	± 1,18
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	10,8	c	± 0,98
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	18,2	a	± 1,44
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	31,25	b	± 1,23
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	10,6	c	± 1,09
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	16,8	a	± 1,34

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Tabla 29-3: Prueba ANOVA. Tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Cerebro Corazón

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
24 horas	Entre microorganismos	1262,933	2	631,467	110,140	,000
	En cada microorganismo	68,800	12	5,733		
	Total	1331,733	14			

48 horas	Entre microorganismos	1088,933	2	544,467	145,839	,000
	En cada microorganismo	44,800	12	3,733		
	Total	1133,733	14			
72 horas	Entre microorganismos	1164,133	2	582,067	154,531	,000
	En cada microorganismo	45,200	12	3,767		
	Total	1209,333	14			

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico, en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Dunnet C se evidencia que a las 24 horas tiene mayor actividad antibiótica sobre *Proteus mirabilis* ATCC25933 y a las 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana siendo sensible para la enterobacteria en mención.

Tabla 30-3: Evaluación de la sensibilidad de estreptomicina 300 µg frente a bacterias, 24, 48, 72 h, Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA/Bonferroni/Scheffe/Tuckey/Dunnet C)

Estreptomicina 300 µg Agar Cerebro Corazón		
24 horas		
Bacterias	Medias Halo de inhibición X̄(mm)	Error Estándar
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	34 a	± 0,75
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	21,8 b	± 1,16
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	27,8 b	± 2,40
48 horas		
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	32,5 a	± 1,49
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	22,6 b	± 3,04
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	31,8 ab	± 2,72
72 horas		
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	33,5 a	± 1,12
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	22 b	± 2,96
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	28 ab	± 2,94

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 31-9: Prueba ANOVA. Estreptomicina 300 µg frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Cerebro Corazón

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
24 horas	Entre microorganismos	397,200	2	198,600	15,597	,000
	En cada microorganismo	152,800	12	12,733		
	Total	550,000	14			
48 horas	Entre grupos	308,800	2	154,400	9,793	,003
	Dentro de grupos	189,200	12	15,767		
	Total	498,000	14			
72 horas	Entre grupos	325,200	2	162,600	10,423	,002
	Dentro de grupos	187,200	12	15,600		
	Total	512,400	14			

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Dunnet C se evidencia que a las 24 horas tiene mayor actividad antibacteriana para *Escherichia coli* ATCC9637; a las 48 y 72 horas presentan la misma tendencia de actividad antimicrobiana siendo más sensible para *Escherichia coli* ATCC9637.

Tabla 32-3: Evaluación de la Sensibilidad de Tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 48, 72 h, Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA/Bonferroni/Scheffe/Tuckey/Dunnet C)

Tetraciclina 30 µg Agar Mueller Hinton		
48 horas		
Bacterias	Medias Halo de inhibición \bar{X} (mm)	Error Estándar
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	27,25 a	± 2,01
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	11,4 b	± 0,81
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	13,6 b	± 3,49
72 horas		
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	29,25 a	± 1,21
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	12 b	± 0,55
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	14,4 b	± 4,04

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 33-10: Evaluación de la Sensibilidad de Tetraciclina 30 µg frente a bacterias a las 48, 72 h, Agar Cerebro Corazón (Prueba ANOVA/Bonferroni/Scheffe/Tuckey/Dunnet C)

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
24 horas	Entre microorganismos	854,800	2	427,400	15,192	,001
	En cada microorganismo	337,600	12	28,133		
	Total	1192,400	14			
48 horas	Entre microorganismos	784,533	2	392,267	12,989	,001
	En cada microorganismo	362,400	12	30,200		
	Total	1146,933	14			

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo antibiótico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Dunnet C se evidencia que a las 24, 48 y 72 horas se mantiene la misma tendencia de actividad antibiótica siendo más sensible *Escherichia coli* ATCC9637

3.7.1.3. Influencias de las concentraciones de extractos etanólicos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas

Tabla 34-11: Evaluación de la sensibilidad concentración 100 % extracto etanólico frente a bacterias, 24,48 ,72 h, Agar Mueller Hinton (Prueba K.Wallis/Whitney, $p < 0.05$, $n = 10$)

Concentración 100 % Extracto etanólico - Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	5,50	c
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	8	15,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	14	25,50	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	10,50	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	8,2	25,50	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	10,50	b
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	10,50	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	7,4	25,50	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	10,50	c

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 35-12: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico 100% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	27,992	28,247	27,885
G1	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto etanólico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 horas tiene actividad antimicrobiana sobre *Proteus mirabilis* ATCC25933 y a las 48 y 72 horas misma tendencia de actividad antimicrobiana varia pero se destaca su mayor sensibilidad en ambas tiempos sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Tabla 36-13: Evaluación de la sensibilidad concentración 75% extracto etanólico frente a bacterias, 24,48,72 h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis/Whitney $p < 0.05$, $n = 10$)

Concentración 75 % Extracto etanólico -Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	11,11	18,50	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	7,8	6,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	12,4	21,50	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	8,22	21,30	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	8	19,70	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	5,50	b
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	7,78	22,50	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	7,4	18,50	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0	5,50	b

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 37-14: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico 75% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	17,043	22,708	23,141
G1	2	2	2

Sig. asintótica	,000	,000	,000
-----------------	------	------	------

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto etanólico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 tiene mayor actividad sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933, la misma que al pasar el tiempo varía de tal manera que a las 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* ATCC9637 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

Tabla 38-15: Evaluación de la sensibilidad concentración 50% extracto etanólico frente a bacterias, 24, 48, 72 h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney, $p < 0.05$, $n = 10$)

Concentración 50 % Extracto etanólico Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	16,89	19,85	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	5,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	18,3	21,15	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	17,56	20,10	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	5,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	17,3	20,90	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	14,89	20,30	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	5,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	16,3	20,70	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 39-16: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico 50% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	20,485	20,361	20,168
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto etanólico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 , 48 y 72 horas sigue la misma

tendencia de actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933.

Tabla 40-3: Evaluación de la sensibilidad de etanol absoluto frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney, $p < 0.05$, $n = 10$)

Etanol Absoluto- Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	11,56	21,85	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	9,8	15,80	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	2,5	8,85	c
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	10	21,10	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	8,8	18,35	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	1	7,05	b
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	9,44	18,80	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	9,4	20,70	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	1	7	b

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Tabla 41-3: Prueba Kruskal Wallis. Etanol Absoluto frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	11,727	15,335	14,987
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,003	,000	,001

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para etanol absoluto en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 horas tiene mayor actividad antibacteriana para *Escherichia coli* ATCC9637, y a las 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* ATCC9637 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Tabla 42-3: Evaluación de la sensibilidad extracto etanólico 100% frente a bacterias, 24, 48, 72 h, Agar Cerebro Corazón (Prueba Wallis / $p < 0.05$ $n = 10$)

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	,863	3,389	3,358
G1	2	2	2
Sig. asintótica	,650	,184	,187

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p > 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica que no hay diferencia entre las bacterias para un mismo Extracto etanólico en diferentes periodos de tiempos; por lo que se evidencia que a las 24, 48 y 72 horas la actividad antimicrobiana de la concentración al 100 % de extracto etanólico es la misma sobre *Escherichia coli* ATCC9637, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933.

Tabla 43-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 75% de extracto etanólico frente a bacterias 24, 48, 72h, Agar Cerebro corazón (Prueba Kruskal Wallis $p < 0.05$ $n = 10$)

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	2,803	5,007	4,105
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,246	,082	,128

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p > 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica que no hay la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto etanólico en diferentes periodos de tiempos; por lo que se evidencia que a las 24, 48 y 72 horas la actividad antimicrobiana de la concentración al 75 % de extracto etanólico es la misma sobre *Escherichia coli* ATCC9637, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933.

Tabla 44-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 50 % extracto etanólico frente a bacterias, 24, 48, 72 h, Agar Cerebro corazón (Prueba Wallis/Whitney $p < 0.05$ $n = 10$)

Concentración 50 % extracto etanólico - Agar Cerebro Corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	17,33	22,15	a

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	5,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	15	18,85	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	18,33	23,15	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	6,50	c
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	12,1	16,85	b
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	16,22	21,85	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	6,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	11,9	18,15	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 45-3: Prueba Kruskal Wallis. Concentración 50 % extracto etanólico frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	21,099	19,669	17,753
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto etanólico en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 horas tiene mayor actividad antibacteriana para *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933, y a las 48 varía presentando mayor actividad solo para *Escherichia coli* ATCC9637 y pero a las 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana que a las 24 horas lo cual puede deberse a una mayor acción de los principios activos presentes en la concentración del extracto.

Tabla 46-3: Evaluación de la sensibilidad del etanol absoluto frente a bacterias, 24, 48, 72 horas, Agar Cerebro corazón (Prueba Wallis / Mann Whitney / $p < 0.05$ $n = 10$)

Etanol absoluto - Agar cerebro corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	10,67	20,30	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	10,6	18,70	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	1,4	7,50	b
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	7,56	15,90	b

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	10,5	22,20	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	1,5	8,40	c
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	10,11	18,25	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	10,6	20,75	a
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	1,4	7,50	b

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 47-3: Prueba Kruskal Wallis. Etanol Absoluto frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	13,301	13,329	13,370
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,001	,001	,001

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para etanol absoluto en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 horas tiene mayor actividad antibacteriana para *Escherichia coli* ATCC9637 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923, y a las 48 varía presentando mayor actividad solo para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 pero a las 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana que a las 24 horas lo cual puede deberse a una mayor acción de los principios activos presentes en la concentración del extracto.

3.7.1.4. Influencias de las concentraciones de extractos acuosos sobre los microorganismos patógenos 24- 48 – 72 horas

Tabla 48-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 100 % extracto acuoso frente a bacterias, 24, 48, 72 h ,Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis/Whitney $p < 0.05$ $n = 10$)

	24 h	48 h	72 h
Chi-cuadrado	,406	,695	1,334
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,816	,706	,513

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p > 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica que no hay la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto acuoso en diferentes periodos de tiempos; por lo que se evidencia que a las 24, 48 y 72 horas la actividad antimicrobiana de la concentración al 100 %

de Extracto acuoso es la misma sobre *Escherichia coli* ATCC9637, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933.

Tabla 49-3: Evaluación de la sensibilidad concentración 75% extracto acuoso frente a bacterias 24, 48,72h, Agar Mueller Hinton (Prueba Kruskal Wallis/Whitney $p < 0.05$ $n=10$)

Concentración 75 % Extracto acuoso - Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	13,11	25,50	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	10	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	0,8	11	b
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	7,67	22,20	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	11,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	1	12,80	b
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	8	22,20	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	11,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	11	12,80	b

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Tabla 50-3: Prueba Kruskal Wallis .Extracto acuoso 75% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	26,135	14,533	14,533
G1	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,001	,001

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto acuoso, en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 , 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana siendo más sensible para *Escherichia coli* ATCC9637.

Tabla 51-3: Evaluación de la sensibilidad de la concentración 50% extracto acuoso frente bacterias, 24, 48,72h, Agar Mueller Hinton (Prueba Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n=10$)

Concentración 50 %- Extracto acuoso - Agar Mueller Hinton			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	13	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	13	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	5,1	20,50	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	14	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	14	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	3,2	18,50	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	14	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	14	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	3,1	18,50	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 52-3: Prueba Kruskal Wallis .Concentración 50 % extracto acuoso etanólico frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas en Agar Mueller Hinton

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	11,484	6,429	6,423
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,003	,040	,040

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto acuoso, en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24 , 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana siendo más sensible para *Proteus mirabilis* ATCC25933.

Tabla 53-17: Evaluación de la sensibilidad de la concentración 100% extracto acuoso frente a bacterias,24, 48,72h, Agar Cerebro(Prueba Wallis / Whitney / $p < 0.05$ $n = 10$)

Concentración 100 % Extracto acuoso - Agar cerebro corazón
24 horas

Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	10	18,60	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	2,9	6,90	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	12,4	21	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	6,56	15,05	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	2,9	9,25	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	11,7	22,20	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	6,89	17,20	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	2,1	8,70	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	10	20,60	a

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Tabla 54-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto acuoso 100% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	15,296	11,460	10,228
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,003	,006

Realizado por: Lisette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto acuoso, en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24, 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana siendo más sensible para *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933.

Tabla 55-3: Evaluación de la sensibilidad de la concentración 75 % extracto acuoso frente a bacterias, 24 h, Agar corazón (Prueba Wallis /Whitney / $p < 0.05$ $n = 10$)

Concentración 75 % Extracto acuoso - Agar cerebro corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	8,89	20,80	a

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	8,50	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	6,6	17,20	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 56-3: Prueba Kruskal/Wallis. Extracto acuoso 75% frente a bacterias las 24, 48 y 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	12,292	5,995	8,109
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,002	,050	,017

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto acuoso a las 24 horas produciendo mayor sensibilidad en *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933; al analizar Kruskal Wallis se evidencia que no hay diferencia entre las bacterias para un mismo extracto acuoso a las 48 horas y al realizar Mann Whitney a las 72 horas de igual manera no existen diferencias ; por lo que a las 48 y 72 horas la actividad antimicrobiana de la concentración al 100 % de extracto acuoso es la misma sobre *Escherichia coli* ATCC9637, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933.

Tabla 57-3: Evaluación de la Sensibilidad de la concentración 50% extracto acuoso frente a bacterias, 24, 48,72 h, Agar corazón (Prueba Wallis / Whitney/ $p < 0.05$ $n = 10$)

Concentración 50 % Extracto acuoso – Agar cerebro corazón			
24 horas			
Bacterias	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	11	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	11	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	11,7	24,5	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	11,5	b
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	11,5	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	10,6	23,5	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	0	11,5	b

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	11,5	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	9,5	23,5	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 58-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto acuoso 50% frente a bacterias a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	23,888	20,478	20,448
G1	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para un mismo extracto acuoso, en diferentes periodos de tiempos; que complementado con Mann Whitney se evidencia que a las 24, 48 y 72 horas sigue la misma tendencia de actividad antimicrobiana siendo más sensible para *Proteus mirabilis* ATCC25933.

3.7.2. Comparación y Selección del mejor antibiótico y la mejor concentración de extracto sobre *Escherichia coli* ATCC 9637, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Proteus mirabilis* ATCC 25933.

3.7.2.1. Selección del mejor extracto, en general, con mayor actividad antimicrobiana sobre las bacterias patógenas

Tabla 59-3: Selección del mejor extracto de *Ganoderma lucidum* con actividad antibiótica frente a bacterias 24, 48 y 72 h (Prueba Wallis / Whitney $p < 0.05$ $n = 180$)

Extracto etanólico vs Extracto acuoso			
24 horas			
Extracto	Halo de inhibición (EE) X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
Etanólico	7,99	202,07	a
Acuoso	4,48	158,93	b
48 horas			
Etanólico	6,25	198,92	a
Acuoso	3,39	162,08	b
72 horas			
Etanólico	5,58	196,25	a

Acuoso	3,32	164,75	b
--------	------	--------	---

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 60-3: Prueba Kruskal Wallis. Mejor extracto de *Ganoderma lucidum* con actividad antibiótica frente a bacterias a las 24- 48 y 72h

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	17,586	14,348	10,495
G1	1	1	1
Sig. asintótica	,000	,000	,001

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 180$. Lo cual indica la diferencia entre los dos tipos de extractos etanólico y acuoso de manera general, en diferentes periodos de tiempos: sobre las bacterias patógenas *Escherichia coli* ATCC9637, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933, evidenciando que a las 24, 48 y 72 horas el extracto que tiene mejor actividad antibiótica es el etanólico tendencia que se mantiene.

3.7.2.2. *Comparación de las bacterias con cada una de las concentraciones de los extractos tanto acuoso como etanólico de Ganoderma lucidum, y selección del extracto con mayor actividad antimicrobiana*

Tabla 61-3: Evaluación de la sensibilidad concentraciones extractos *Ganoderma* frente a *Escherichia coli* ATCC963, 24,48 y 72 (Prueba Wallis / Whitney para $p < 0.05$ $n = 10$)

Escherichia coli ATCC9637 Vs Concentraciones extractos etanólicos y acuosos			
24 horas			
Tratamiento	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
7	17,6	131,15	a
3	16,8	125,75	a
8	10,8	98,45	b
4	11,6	94,70	b
10	13,2	90,95	bc
12	10	82,65	bc
2	11,2	72,70	c
13	9,6	71,35	cd
6	4,4	44,75	de
9	3	43,20	de
5	2	35,35	de
1	0	32	de
11	0	32	e

14	0	32	e
48 horas			
7	18,1	131,25	a
3	17,4	128,45	a
4	10,1	99,50	b
10	8,1	85,90	bc
8	7,7	82,55	bc
2	8,2	77,60	c
12	6,6	74,60	cd
13	4,4	60,65	cd
6	3,9	59,25	cd
9	1,8	45,20	d
5	0,8	38,55	d
1	0	34,50	d
11	0	34,50	d
14	0	34,50	d
72 horas			
7	16	131,15	a
3	14,6	125,75	a
8	10	98,45	b
4	9,6	94,70	b
10	8,5	90,95	bc
12	7,6	82,65	bc
2	7,8	72,70	c
13	6,3	71,35	cd
6	2,4	44,75	d
9	1,8	43,20	d
5	0,7	35,35	d
1	0	32,00	d
11	0	32,00	d
14	0	32,00	d

Equivalencias 1= Extracto etanólico 100 % Agar Mueller Hinton, 2= Extracto etanólico 75 % Agar Mueller Hinton, 3= Extracto etanólico 50% Agar Mueller Hinton, 4= Etanol 99 ° Agar Mueller Hinton Control , 5= Extracto etanólico 100 % Agar Cerebro Corazón, 6= Extracto etanólico 75 % Agar Cerebro Corazón, 7= Extracto etanólico 50 % Agar Cerebro Corazón, 8= Etanol 99 ° Agar Cerebro Corazón , 9= Extracto acuoso 100 % Mueller Hinton, 10= Extracto acuoso 75 % Mueller Hinton, 11= Extracto acuoso 50 % Mueller Hinton, 12= Extracto acuoso 100 % Agar Cerebro Corazón, 13= Extracto acuoso 75 % Cerebro Corazón, 14= Extracto acuoso 50 % Cerebro Corazón

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 62-3: Prueba Wallis .Concentraciones extractos *Ganoderma* a las 24, 48 y 72 horas frente a *Escherichia coli* ATCC9637

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	105,735	97,206	105,735
gl	13	13	13
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las concentraciones de extractos para una misma bacteria, en diferentes periodos de tiempos y medios de cultivo; que complementado con Mann Whitney se comprueba que a las 24, 48 y 72 horas tiene mayor actividad antibiótica frente a *Escherichia coli* ATCC9637 el tratamiento 7 y 3 que corresponde a Extracto etanólico 50 % Cerebro Corazón, Extracto etanólico 50 % Mueller Hinton respectivamente, tendencia que se mantiene para todos los tiempos.

Tabla 63-18: Evaluación de la sensibilidad concentraciones extractos *Ganoderma* frente *Staphylococcus aureus* ATCC25923,24,48 y72 h (Prueba Wallis /Whitney $p < 0.05$ $n = 10$)

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 vs Concentraciones extractos etanólicos y acuosos				
24 horas				
Tratamiento	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango	
8,00	10,6	128,75	a	
4,00	9,8	117,40	a	
1,00	8	104,90	b	
2,00	7,8	104,90	b	
6,00	6,1	91,75	b	
5,00	3,4	69,40	bc	
12,00	2,9	59,35	c	
9,00	1,9	52,55	c	
3,00	0	43,00	c	
7,00	0	43,00	c	
10,00	0	43,00	c	
11,00	0	43,00	c	
13,00	0	43,00	c	
14,00	0	43,00	c	
48 horas				
8,00	10,5	129,10	a	
4,00	8,8	113,80	a	
1,00	8,2	103,20	b	

6,00	7,8	102,65	b
2,00	8	100,30	b
5,00	3,6	70,20	bc
12,00	2,9	61,60	c
9,00	2,1	57,15	c
3,00	0	41,50	c
7,00	0	41,50	c
10,00	0	41,50	c
11,00	0	41,50	c
13,00	0	41,50	c
14,00	0	41,50	c
72 horas			
8,00	10,6	128,75	a
4,00	9,4	117,40	a
1,00	7,4	104,90	b
2,00	7,4	104,90	b
6,00	6,1	91,75	bc
5,00	3,2	69,40	bc
12,00	2,1	59,35	c
9,00	1,3	52,55	c
3,00	0	43,00	c
7,00	0	43,00	c
10,00	0	43,00	c
11,00	0	43,00	c
13,00	0	43,00	c
14,00	0	43,00	c

Equivalencias 1= Extracto etanólico 100 % Agar Mueller Hinton, 2= Extracto etanólico 75 % Agar Mueller Hinton, 3= Extracto etanólico 50% Agar Mueller Hinton, 4= Etanol 99 ° Agar Mueller Hinton Control , 5= Extracto etanólico 100 % Agar Cerebro Corazón, 6= Extracto etanólico 75 % Agar Cerebro Corazón, 7= Extracto etanólico 50 % Agar Cerebro Corazón, 8= Etanol 99 ° Agar Cerebro Corazón , 9= Extracto acuoso 100 % Mueller Hinton, 10= Extracto acuoso 75 % Mueller Hinton, 11= Extracto acuoso 50 % Mueller Hinton, 12= Extracto acuoso 100 % Agar Cerebro Corazón, 13= Extracto acuoso 75 % Cerebro Corazón, 14= Extracto acuoso 50 % Cerebro Corazón

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 64-3: Prueba Kruskal Wallis. Concentraciones extractos *Ganoderma* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 a las 24, 48 y 72 horas.

	24 horas	48 horas	72 horas
--	-----------------	-----------------	-----------------

Chi-cuadrado	105,735	104,414	105,735
Gl	13	13	13
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre las concentraciones de extractos para una misma bacteria, en diferentes periodos de tiempos y medios de cultivo; que complementado con Mann Whitney se comprueba que a las 24, 48 y 72 horas tiene mayor actividad antibiótica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 el tratamiento 8 y 4 que corresponde a Etanol absoluto Agar Cerebro Corazón y Etanol absoluto Agar Mueller Hinton respectivamente, tendencia que se mantiene para todos los tiempos.

Tabla 65-3: Evaluación de la sensibilidad concentraciones extractos *Ganoderma* frente a *Proteus mirabilis* ATCC25933, 24, 48 y 72 h (Prueba Wallis /Whitney / $p < 0.05$ $n=10$)

<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933 vs Concentraciones extractos etanólicos y acuosos			
24 horas			
Tratamiento	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
3	18,3	121,30	a
7	15	105,55	a
12	12,4	104,30	a
14	11,7	99,05	a
13	6,6	72,45	b
5	3,9	66,25	b
9	3,5	63,05	b
11	5,1	61,60	b
6	2,1	55,75	b
8	1,4	51,45	b
10	0,8	50,15	b
4	2,5	49,10	b
1	14	43,50	b
48 horas			
3	17,3	125,40	a
12	11,7	104,85	b
7	12,1	104,80	b
14	10,6	99,65	b
13	5,2	71,95	bc
5	4,4	67,30	c
9	3,5	61,75	c
11	3,2	60,60	c

6	2,1	54,95	c
8	1,5	51,35	c
4	1	48,70	c
10	1	48,70	c
1	0	43,50	c
2	0	43,50	c
72 horas			
3	16,3	121,30	a
7	11,9	105,55	a
12	10	104,30	a
14	9,5	99,05	a
13	4,9	72,45	b
5	3,9	66,25	b
9	3,5	63,05	b
11	3,1	61,60	b
6	2,1	55,75	b
8	1,4	51,45	b
10	1,1	50,15	b
4	1	49,10	b
1	0	43,50	b
2	0	43,50	b

Equivalencias 1= Extracto etanólico 100 % Agar Mueller Hinton, 2= Extracto etanólico 75 % Agar Mueller Hinton, 3= Extracto etanólico 50% Agar Mueller Hinton, 4= Etanol 99 ° Agar Mueller Hinton Control , 5= Extracto etanólico 100 % Agar Cerebro Corazón, 6= Extracto etanólico 75 % Agar Cerebro Corazón, 7= Extracto etanólico 50 % Agar Cerebro Corazón, 8= Etanol 99 ° Agar Cerebro Corazón , 9= Extracto acuoso 100 % Mueller Hinton, 10= Extracto acuoso 75 % Mueller Hinton, 11= Extracto acuoso 50 % Mueller Hinton, 12= Extracto acuoso 100 % Agar Cerebro Corazón, 13= Extracto acuoso 75 % Cerebro Corazón, 14= Extracto acuoso 50 % Cerebro Corazón

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 66-3: Prueba Kruskal Wallis. Concentraciones extractos *Ganoderma* frente a *Proteus mirabilis* ATCC25933, 24, 48 y 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	69,990	74,747	69,990
gl	13	13	13
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 10$. Lo cual indica la diferencia entre los extractos para una misma bacteria , en diferentes periodos de tiempos y medios de cultivo ; que complementado con Mann Whitney se comprueba que a las 24 horas tiene mayor actividad antibiótica frente *Proteus mirabilis* ATCC25933 los tratamientos 3, 7, 12 y 14 que corresponden a Extracto etanólico 50 % Agar Mueller Hinton, Extracto etanólico 50 % Agar Cerebro Corazón, Extracto acuoso 100 % Agar Cerebro Corazón y Extracto acuoso 50 % Cerebro Corazón , respectivamente; a las 48 horas la actividad antibacteriana se presenta en el Extracto etanólico 50% Agar Mueller Hinton; pero a las 72 horas se presenta nuevamente la misma tendencia de las 24 horas.

3.7.2.3. *Comparación de las bacterias con cada uno de los antibióticos y selección del antibiótico con mayor actividad antimicrobiana.*

Tabla 67-3: Evaluación de la sensibilidad de antibióticos frente a *Escherichia coli* ATCC9637 (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ $n = 5$)

<i>Escherichia coli</i> ATCC9637 vs Antibióticos		
24 horas		
Tratamiento	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio
7	36	46,00 a
8	34,4	40,60 a
6	33,6	37,80 b
5	32,8	34,80 bc
9	30,8	27,50 c
10	29,6	26,30 c
3	3	15,00 d
1	0	9,00 d
2	0	9,00 d
4	0	9,00 d
48 horas		
7	35,2	47,60 a
8	32,6	40,80 b
6	31,4	38,10 b
5	28,4	32,90 bc
10	25	28,20 c

9	22	25,40 c
3	6	15,00 d
1	0	9,00 d
2	0	9,00 d
4	0	9,00 d
72 horas		
7	35,4	47,10 a
8	33,4	42,20 a
6	31,6	38,30 b
5	28,4	33,20 bc
10	22,4	26,40 c
9	21,8	25,80 c
3	2,4	12,00 d
1	0	10,00 d
2	0	10,00 d
4	0	10,00 d

Equivalencia: 1= Penicilina G 10 µg Agar Mueller hinton , 2= Penicilina G 10 µg Agar Cerebro Corazón, 3= Eritromicina 15 µg Agar Mueller Hinton , 4 = Eritromicina 15 µg Agar Cerebro Corazón , 5= Tetraciclina 30 µg Agar Mueller Hinton, 6= Tetraciclina 30 µg Agar Cerebro Corazón, 7= Estreptomicina 300 µg Agar Mueller Hinton , 8= Estreptomicina 300 µg Agar Cerebro Corazón , 9= Sulfametoxazol – trimetropim 1,5/23,75 µg Agar Mueller Hinton , 10= Sulfametoxazol – trimetropim 1,5/23,75 µg Agar Cerebro Corazón

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 68-3: Prueba Kruskal Wallis .Antibióticos frente a *Escherichia coli* ATCC9637 a las 24, 48 y 72 horas.

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	45,338	45,970	46,779
gl	9	9	9
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre los antibióticos para una misma bacteria, en diferentes periodos de tiempos y medios de cultivo; que complementado con Mann Whitney se comprueba que a las 24 horas tiene mayor actividad antibiótica frente *Escherichia coli* ATCC9637 los tratamientos 7 y 8 que corresponden Estreptomicina 300 μg Agar Mueller Hinton y Estreptomicina 300 μg Agar Cerebro Corazón, a las 48 horas se evidencia la actividad antibacteriana con Estreptomicina 300 μg Agar Mueller Hinton; pero a las 72 horas se presenta nuevamente la misma tendencia de las 24 horas

Tabla 69-3: Evaluación de la sensibilidad de antibióticos frente a *Staphylococcus aureus* ATCC9637 a las 24, 48, 72 h (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ $n = 5$)

Staphylococcus aureus ATCC9637 vs Antibióticos		
24 horas		
Antibióticos	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio
9	28,6	48,00 a
1	24	39,90 b
2	24	38,80 b
8	21,8	30,10 bc
7	20,8	27,10 c
4	20,2	23,90 c
3	19,8	23,20 c
5	11,4	10,90 d
6	11,2	10,10 d
10	0	3,00 e
48 horas		
9	28,2	45,40 a
1	27,5	43,60 a
2	26	38,60 b
8	22,6	30,40 bc
7	20,8	27,60 c
3	18,6	22,80 cd
4	19,6	21,00 d
5	11,4	11,90 e
6	10,8	10,70 e
10	0	3,00 f
72 horas		
9	28,8	46,20 a
1	28,5	43,10 a
2	25	39,00 b
8	22	30,20 c
3	19,6	25,80 cd

7	20,4	24,90 cd
4	18,4	21,20 d
5	12	12,40 e
6	10,6	9,20 e
10	0	3,00 f

Equivalencia: 1= Penicilina G 10 µg Agar Mueller hinton , 2= Penicilina G 10 µg Agar Cerebro Corazón, 3= Eritromicina 15 µg Agar Mueller Hinton , 4 = Eritromicina 15 µg Agar Cerebro Corazón , 5= Tetraciclina 30 µg Agar Mueller Hinton, 6= Tetraciclina 30 µg Agar Cerebro Corazón, 7= Estreptomina 300 µg Agar Mueller Hinton , 8= Estreptomina 300 µg Agar Cerebro Corazón , 9= Sulfametoxazol – trimetrompim 1,5/23,75 µg Agar Mueller Hinton , 10= Sulfametoxazol – trimetrompim 1,5/23,75 µg Agar Cerebro Corazón

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 70-3: Prueba Kruskal Wallis .Antibióticos frente a *Staphylococcus aureus* ATCC9637 a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	44,492	44,301	45,157
gl	9	9	9
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre los antibióticos para una misma bacteria , en diferentes periodos de tiempos y medios de cultivo ; que complementado con Mann Whitney se comprueba que a las 24 horas tiene mayor actividad antibiótica frente *Staphylococcus aureus* ATCC9637el tratamiento 9 que corresponden a Sulfametoxazol – trimetoprim 1,5/23,75 µg Agar Mueller Hinton; a las 48 horas se evidencia la actividad antibacteriana con el tratamiento 1= Penicilina G 10 µg Agar Mueller Hinton; pero a las 72 horas se presenta nuevamente la misma tendencia de las 24 horas

Tabla 71-3: Evaluación de la sensibilidad de antibióticos frente a *Proteus mirabilis* 25933 a las 24, 48, 72 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ $n = 5$)

<i>Proteus mirabilis</i> 25933 vs Antibióticos		
24 horas		
Antibióticos	Halo de inhibición X̄(mm)	Rango Promedio
8	27,8	43,00 a
7	24,8	39,60 a
1	23,5	36,50 a

2	22	31,30	a
6	20,8	29,10	b
10	16,2	23,30	bc
4	17,4	20,50	bc
9	13,8	15,50	bc
5	11,6	11,80	c
3	2	4,40	c
48 horas			
7	33	44,50	a
8	31,8	44,40	a
2	23,2	36,70	a
1	16,75	31,60	a
6	18,2	27,50	b
5	13,6	22,50	bc
10	11,2	18,50	c
9	4,6	12,30	cd
3	0	8,50	d
4	0	8,50	d
72 horas			
7	29,2	44,00	a
8	28	43,20	a
1	22,5	37,90	a
2	20,6	33,90	a
6	16,8	26,50	b
5	14,4	24,30	bc
10	11,4	17,70	c
9	4,4	11,50	cd
3	0	8,00	d
4	0	8,00	d

Equivalencia: 1= Penicilina G 10 µg Agar Mueller hinton , 2= Penicilina G 10 µg Agar Cerebro Corazón, 3= Eritromicina 15 µg Agar Mueller Hinton , 4 = Eritromicina 15 µg Agar Cerebro Corazón , 5= Tetraciclina 30 µg Agar Mueller Hinton, 6= Tetraciclina 30 µg Agar Cerebro Corazón, 7= Estreptomicina 300 µg Agar Mueller Hinton , 8= Estreptomicina 300 µg Agar Cerebro Corazón , 9= Sulfametoxazol – trimetoprim 1,5/23,75 µg Agar Mueller Hinton , 10= Sulfametoxazol – trimetoprim 1,5/23,75 µg Agar Cerebro Corazón

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 72-3: Prueba Kruskal Wallis .Antibióticos frente a *Proteus mirabilis* 25933 a las 24, 48, 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	34,115	41,303	42,459

Gl	9	9	9
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 5$. Lo cual indica la diferencia entre los antibióticos para una misma bacteria, en diferentes periodos de tiempos y medios de cultivo; que complementado con Mann Whitney se comprueba que a las 24, 48 y 72 horas se mantiene la misma tendencia de actividad antibiótica frente *Proteus mirabilis* 25933 por los tratamientos 7, 8, 1 y 2 que corresponden a Estreptomicina 300 µg Agar Mueller Hinton, Estreptomicina 300 µg Agar Cerebro Corazón, Penicilina G 10 µg Agar Mueller Hinton y Penicilina G 10 µg Agar Cerebro Corazón, respectivamente

3.7.3. Determinar qué bacteria es la más sensible frente a las concentraciones de los extractos

3.7.3.1. Comparación y selección de la bacteria más sensible frente a los extractos de *Ganoderma lucidum* en general

Tabla 73-19: Selección de la bacteria más sensible a los extractos de *Ganoderma lucidum* (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 120$)

Bacterias sensibles a extractos de <i>Ganoderma lucidum</i> (General)			
24 horas			
Bacteria	Halo de inhibición (EE) X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	7,38	200,78	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	2,51	124,84	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	8,82	215,89	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	5,82	192,70	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	2,72	157,87	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	5,92	195,93	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	3,95	198,03	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0,57	149,38	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	5,35	194,10	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 74-3: Prueba Kruskal Wallis .Bacteria más sensible a los extractos de *Ganoderma lucidum*

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	59,995	16,220	20,596
gl	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 120$. . Lo cual indica la diferencia entre las bacterias patógenas frente a los extractos de *Ganoderma lucidum* y a diferentes periodos de tiempo, evidenciando que a las 24 48 y 72 horas las bacterias más sensibles a los extractos de *Ganoderma lucidum* son *Proteus mirabilis* ATCC25933 y *Escherichia coli* ATCC9637.

3.7.3.2. Comparación y selección de la bacteria más sensible frente al extracto etanólico de *Ganoderma lucidum*

Tabla 75-3: Selección de la bacteria más sensible al extracto etanólico a las 24 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 60$)

Bacteria sensible al extracto etanólico (General)				
				24 horas
Bacteria	Halo de inhibición (EE) X̄(mm)	Rango Promedio	Rango	
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	8,81	99,27	a	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	4,22	61,18	b	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	10,95	111,06	a	

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 76-3: Prueba Kruskal Wallis. Bacteria más sensible al extracto etanólico a las 24 horas, 48 y 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	31,685	4,832	5,558
Gl	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,089	,062

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 60$. .Lo cual indica la diferencia entre las bacterias patógenas frente al extracto etanólico y a diferentes periodos de tiempo, evidenciando

que a las 24 horas las bacterias más sensibles al extracto etanólico son *Proteus mirabilis* ATCC25933 y *Escherichia coli* ATCC9637.

Esta prueba no paramétrica muestra una $p > 0.05$ $n = 60$. Lo cual indica que no existe diferencia entre las bacterias para el extracto etanólico, a las 48 y 72 horas, en diferentes medios de cultivo; por lo tanto se evidencia la sensibilidad de las bacterias frente a este extracto es igual.

3.7.3.3. Comparación y selección de la bacteria más sensible frente al extracto acuoso de *Ganoderma lucidum*

Tabla 77-3: Selección de la bacteria más sensible al extracto acuoso a las 24 horas, 48 y 72 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 60$)

Bacteria sensible a extracto acuoso (General)			
24 horas			
Bacteria	Halo de inhibición (EE) X̄(mm)	Rango Promedio	Rango
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	5,89	102,28	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0,8	62,48	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	6,68	106,73	a
48 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	3,39	91,89	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0,83	70,77	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	5,87	108,84	a
72 horas			
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	3,95	96,43	a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0,57	68,08	b
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	5,35	106,99	a

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 78-3: Prueba Kruskal Wallis .Bacteria más sensible al extracto acuoso a las 24, 48 y 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	34,375	24,497	26,917
Gl	2	2	2
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 60$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias patógenas frente al extracto acuoso y a diferentes periodos de tiempo, evidenciando que a las 24 horas las bacterias más sensibles al extracto etanólico son *Proteus mirabilis* ATCC25933 y *Escherichia coli* ATCC9637 y es una tendencia que se mantiene a las 48 y 72 horas.

3.7.3.4. *Comparación y selección del microorganismo más sensible frente a cada una de las concentraciones del extracto etanólico de Ganoderma lucidum*

Tabla 79-3: Evaluación de la sensibilidad del extracto etanólico frente a bacterias a las 24 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney/ $p < 0.05$ $n = 30$)

Extracto etanólico vs bacterias		
24 horas		
Tratamiento	Halo de inhibición (EE) X̄(mm)	Rango Promedio
5	14,9	136,68 a
1	9,33	105,62 a
2	8	92,92 b
6	7	85,43 b
3	5,27	68,13 b
4	3,17	54,22 c

Equivalencia: 1 = *Escherichia coli* ATCC9637 Agar Mueller Hinton, 2= *Escherichia coli* ATCC9637 Agar cerebro Corazón, 3 = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Agar Mueller Hinton; 4= *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Agar Cerebro corazón, 5= *Proteus mirabilis* ATCC25933 Agar Mueller Hilton, 6 = *Proteus mirabilis* ATCC25933 Agar Cerebro Corazón

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 80-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto etanólico frente a bacterias a las 24, 48 y 72 horas

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	49,057	6,553	9,599
gl	5	5	5
Sig. asintótica	,000	,256	,087

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 30$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para el extracto etanólico a las 24 horas, en diferentes medios de cultivo; que complementado con Mann Whitney se evidencia que frente al extracto etanólico durante este

tiempo es más sensible el tratamiento 5 y 1 que corresponde a *Proteus mirabilis* ATCC25933 Agar Mueller Hinton y *Escherichia coli* ATCC963 Agar Mueller Hinton

Esta prueba no paramétrica muestra una $p > 0.05$ $n = 30$. Lo cual indica que no existe diferencia entre las bacterias para el extracto etanólico, a las 48 y 72 horas, en diferentes medios de cultivo; por lo tanto se evidencia que frente al extracto etanólico durante estos periodos tiempo son sensibles todas las bacterias en todos los medios de cultivo.

3.7.3.5. Comparación y selección del microorganismo más sensible frente a cada una de las concentraciones del extracto acuoso de *Ganoderma lucidum*

Tabla 81-3: Evaluación de la sensibilidad del extracto acuoso frente bacterias las 24, 48 y 72 horas (Prueba Kruskal Wallis / Mann Whitney $p < 0.05$ $n = 30$)

Extracto acuoso vs bacterias				
24 horas				
Tratamiento	Halo de inhibición (EE) X̄(mm)	Rango Promedio	Rango	
6	10,23	133,70	a	
2	6,53	106,77	a	
1	5,4	97,80	b	
5	3,13	79,77	bc	
4	0,97	63,78	c	
3	0,63	61,18	c	
48 horas				
6	9,17	133,32	a	
2	3,67	93,58	b	
1	3,3	90,20	bc	
5	2,57	84,37	bc	
4	0,97	72,37	c	
3	0,7	69,17	c	
72 horas				
6	8,13	129,87	a	
2	4,63	101,77	b	
1	3,43	91,08	b	
5	2,57	84,12	bc	
4	0,7	69,70	c	
3	0,43	66,47	c	

Equivalencia: 1 = *Escherichia coli* ATCC9637 Agar Mueller Hinton, 2= *Escherichia coli* ATCC9637 Agar cerebro Corazón, 3 = *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Agar Mueller Hinton; 4= *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Agar Cerebro corazón, 5= *Proteus mirabilis*

ATCC25933 Agar Mueller Hinton, 6 = *Proteus mirabilis* ATCC25933 Agar Cerebro Corazón.

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Tabla 82-3: Prueba Kruskal Wallis. Extracto acuoso frente a bacterias a las 24, 48 y 72 horas.

	24 horas	48 horas	72 horas
Chi-cuadrado	56,060	44,844	45,351
gl	5	5	5
Sig. asintótica	,000	,000	,000

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Esta prueba no paramétrica muestra una $p < 0.05$ $n = 30$. Lo cual indica la diferencia entre las bacterias para el extracto acuoso, en diferentes periodos de tiempos; evidenciando que a las 24 presenta mayor sensibilidad frente a este extracto los tratamientos 6 y 2 que corresponden a 6 = *Proteus mirabilis* ATCC25933 Agar Cerebro Corazón y = *Escherichia coli* ATCC9637 Agar cerebro Corazón, sensibilidad que al pasar el tiempo varía así a las 48 y 72 horas presenta mayor sensibilidad solo *Proteus mirabilis* ATCC25933 en Agar Cerebro Corazón

Tabla 83-20: Promedios generales de los halos de inhibición de las bacterias frente a los antibióticos con mayor efecto antimicrobiano

Actividad antimicrobiana de Antibióticos				
Bacterias	Antibióticos	Promedio halos de inhibición	Interpretación NCCLS	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Estreptomina 300µg	29,1 mm	≥ 15 mm	S
	Penicilina G 10 µg	21,93 mm	≥ 20 mm	S
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	Sulfametoxazol/ Trimetoprim 1.5/23.75 µg	28,53 mm	≥ 16 mm	S
	Penicilina G 10 µg	26,43 mm	≤ 28mm	R
<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	Estreptomina 300 µg	34,5 mm	≥ 15 mm	S

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Los promedios de los halos de inhibición al compararse con los halos según (NCCLS,1985; citados en Álvarez & Boquet,1995) se evidenció que estreptomina es sensible para *Proteus*

mirabilis ATCC25923 y *Escherichia coli* ATCC 9637 ; Sulfametoxazol/ Trimetoprim es sensible para *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 y Penicilina G es sensible para *Proteus mirabilis* ATCC25923 , es decir con estos antibióticos y a dosis normales se puede tratar adecuadamente infecciones causadas por estas cepas. (Picazo, 2000, http://coesantseimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf)

Tabla 84-21: Promedios generales de los halos de inhibición de las bacterias frente a los extractos con mayor efecto antimicrobiano

Actividad antimicrobiana de extractos de <i>Ganoderma lucidum</i>				
Bacteria	Concentraciones de extracto	Promedio halos de inhibición	Interpretación	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933	Extracto etanólico 50%	15, 15 mm	≥ 15	I
	Extracto acuoso 100%	7, 43 mm	≤ 14	R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25922	Etanol absoluto	9,95 mm	≤ 12	R
<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	Extracto etanólico 50%	16,76 mm	≥ 15	I

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

Los promedios de los halos de inhibición de los extractos al relacionarse con las halos que presentan las bacterias frente a los distintos antibióticos según (NCCLS,1985; Alvarez & Boquet, 1995; Sacaquispe & Velásquez, 2002, http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_l%20sensibilidad.pdf, p.21-33) se evidencia que el extracto que posee efecto antimicrobiano para *Proteus mirabilis* ATCC25923 y *Escherichia coli* ATCC9637 es el extracto etanólico al 50% pues tiene sensibilidad intermedia, es decir que este halo de inhibición se acerca a las concentraciones de antibiótico que se dirige a sangre o tejidos, y que produce eficacia clínica en los lugares donde se acumulan concentraciones altas, o cuando se usan dosis mayores a la normal. (Picazo, 2000, http://coesantseimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf.)

Los promedios de los halos de inhibición de los extractos al relacionarse con las halos que presentan las bacterias frente a los distintos antibióticos según (NCCLS,1985; citados en Alvarez & Boquet,1995; Sacaquispe & Velásquez, 2002, http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_l%20sensibilidad.pdf), se evidenció que los halos de inhibición que generan el extracto acuoso 100 % y etanol absoluto son resistentes para *Proteus mirabilis* ATCC25933 y *Staphylococcus aureus* ATCC25922 , lo que indica que los microorganismo no se inhiben a esas concentraciones y se activan mecanismos de resistencias por lo que no existe una respuesta clínica adecuada frente a ese tratamiento.(Picazo, 2000,

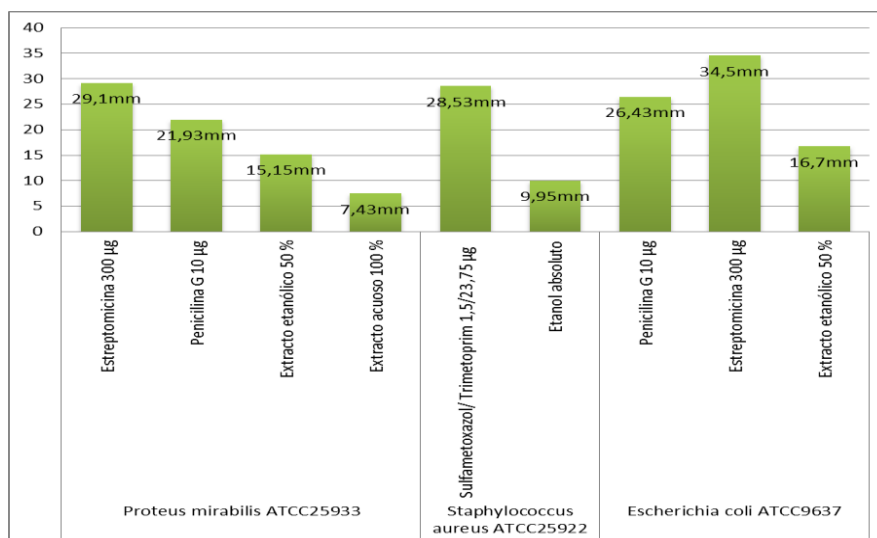


Gráfico 1-3: Comparación de los promedios de los halos de inhibición entre antibióticos y concentraciones de extractos

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

La actividad antibacteriana de los extractos no superó a la actividad de los antibióticos sintéticos, sin embargo el posible fraccionamiento del extracto podría determinar la sustancia más activa y las concentraciones de la misma que pudieran superar los controles con los antibióticos.

El efecto antibacteriano del extracto etanólico al 50 % de *Ganoderma lucidum*, puede ser mayor si se modifica el mecanismo de extracción, fraccionando el compuesto más activo, y retirando los compuestos que provoquen una inhibición de la acción.

CONCLUSIONES

- Los extractos etanólico y acuoso se obtuvieron a través de maceración de los cuerpos fructíferos de *Ganoderma lucidum*, y posterior concentración de solvente, al realizar las pruebas de control de calidad cumplieron con los distintos parámetros de características organolépticas, pH, densidad relativa, índice de refracción y sólidos totales. Al realizar el tamizaje fitoquímico se cualifico y se determinó la presencia de Triterpenos de tipo esteroidal, alcaloides, cumarinas, quinonas, lípidos monoterpenos, compuesto fenólicos, flavonoides y polisacáridos.
- Se estableció que el medio de cultivo adecuado para la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Ganoderma lucidum* y de los antibióticos es el Agar Mueller Hinton pues sus sustratos no aumentan el efecto inhibitor del crecimiento de las bacterias como sucede con Agar Cerebro Corazón, el mismo que es adecuado para reactivar las cepas bacterianas y observar la morfología de las colonias
- En la evaluación de la sensibilidad de los antibióticos se determinó que Penicilina G 10µg y Eritromicina 15µg tiene marcada influencia de actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y *Proteus mirabilis* ATCC25933; Estreptomina 300µg y tetraciclina frente a *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933 ; Trimetoprim/ sulfametoxazol 1.5 / 23.75 µg frente a *Escherichia coli* ATCC9637 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.
- El antibiótico con mayor efecto antimicrobiano para *Escherichia coli* ATCC9637 es Estreptomina 300 µg; para *Proteus mirabilis* ATCC25933 son Estreptomina 300 µg, Penicilina G 10 µg y para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 es Sulfametoxazol – trimetoprim 1,5/23,75 µg en Agar Mueller Hinton.
- En el caso de *Ganoderma lucidum* los extractos acuoso y etanólico presentan mayor actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933. Tomando en cuenta el medio de cultivo los microorganismos más sensibles frente a las concentraciones del extracto etanólico son *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933 en Agar Mueller Hinton; y frente a las concentraciones del extracto acuoso son *Escherichia coli* ATCC9637 y *Proteus mirabilis* ATCC25933 en Agar Cerebro corazón.

- El extracto etanólico de *Ganoderma lucidum*, en forma general, presenta la mayor actividad antimicrobiana frente al crecimiento de las bacterias ensayadas, que el extracto acuoso . Las concentraciones con mayor efecto antimicrobiano para *Escherichia coli* ATCC9637 son Extracto etanólico 50 %; para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 Etanol absoluto y para *Proteus mirabilis* ATCC25933 son Extracto etanólico 50 % y Extracto acuoso 100 %.
- Ninguna de las concentraciones de los extractos de *Ganoderma lucidum* supera a los antibióticos sintéticos.

RECOMENDACIONES

- Embeber los discos por 24 horas pues influye mucho en los resultados
- En futuros estudios se recomienda fraccionar e identificar los compuestos triterpénicos de *Ganoderma lucidum*
- Utilizar otros tipos de solventes como éter, cloroformo, metanol, para la extracción de los principios activos
- Determinar en las bacterias estudiadas la CMI y CMB de los extractos del hongo *Ganoderma lucidum*
- Continuar con el estudio de las actividad biológicas de *Ganoderma lucidum*
- Realizar estudios sobre toxicidad
- Elaborar fitofármacos para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por las bacterias en estudio.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, L. Determinar la resistencia antimicrobiana de las enterobacterias y el uso de antibióticos en pacientes de UCI de la clínica D.A.M.E. (tesis) (pregrado). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba- Ecuador. 2014. p.15 [Consulta: 2016-12-27]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3890/1/56T00499%20UDCTFC.pdf>

AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS. *SEPTRIN Ficha Técnica*. [En línea]. España: AEMPS, 2015. [Consulta: 27 diciembre 2016]. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/48669/48669_ft.pdf

AGUILAR, A. *Método de difusión en agar según Kirby Bauer*. [En línea]. México: Aguilar, 2000. [Consulta: 29 diciembre 2016]. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lcf/aguilargae/apendiceB.pdf

ANAYA, A.; et al. *Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación*. México: plazayvaldes, 2000, p.192

BABY, S.; et al. Secondary metabolites from Ganoderma. *Phytochemistry*, [en línea], vol 114 (2015), (India), pp.66-101. [Consulta: 17 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942215001223>

BAEZA, R.; et al. *Predicción del crecimiento de Staphylococcus aureus en un alimento cárnico dejado a temperatura ambiente por varias horas : aplicación a varias ciudades argentinas de climas cálidos*. [en línea]. (Proyecto de investigación). Universidad Católica Argentina, Facultad de Ciencias Agrarias, Argentina:2010,p. 2. [Consulta: 2016-12-27]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/investigacion/prediccion-crecimiento-de-staphylococcus-aureus.pdf>

BAO, X.; et al. Structural and immunological studies of a major polysaccharide from spores of Ganoderma lucidum (Fr.) Karst. *Carbohydrate research*, [en línea], vol 332 (2001),(China),pp.67-74. [Consulta: 17 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621501000751>

BAUER, A, et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of clinical pathology*, [en línea], vol 45, n° 4(1996), (USA), p. 493. [Consulta: 21 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5325707>.

BELTRÁN, Carlos; et al. Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, [en línea], vol. 18, n° 4(2013), (Colombia) pp. 619-631. ISSN 1028-4796. [Consulta: 26 Enero 2017]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000400013

BEROVIC, M,et al.Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *Journal of Biotechnology*, [en línea], vol 103, n° 1(2003), (Slovenia) p. 77-86 [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165603000695>

BEVERIDGE, T. Use of the Gram stain in microbiology. *Biotechnic & Histochemistry*, [en línea], vol 76 , n° 3(2001),(Canadá) p.111. [Consulta: 15 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/bih.76.3.111.118>

BIBLIOTECA DE LA ESCUELA SUPERIOR DE INGENIEROS DE SEVILLA. *Introducción a la química de los azúcares* [en línea].España: Bibing, 2016. [Consulta: 3 Enero 2017].Disponible en: <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/20005/fichero/1.Memoria%252F1.6.pdf>

BIOMERIEUX. *Mueller Hinton Agar* . [En línea].Ecuador: BIOMERIEUX, 2016. [Consulta: 4 Enero 2017]. Disponible en: http://www.biomerieux.es/servlet/srt/bio/spain/dynPage?open=SPN_CLN_PRD&doc=SPN_CLN_PRD_G_PRD_CLN_93&pubparams.sform=8&lang=es#

BOH, B, et al. Ganoderma lucidum and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnology Annual Revision*, [en línea], vol 13 (2007), (Slovenia) p. 265-301. [Consulta: 15 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387265607130106>

BONATI, A. How and why should we standardize phytopharmaceutical drugs for clinical validation. *Journal of Ethnopharmacology*, [en línea], vol 32 , n°1 (1990), (Italia), pp. 195-197. [Consulta: 13 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037887419190117V>

BORCHERS, A, et al. Minireview: Mushrooms, tumors and immunity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, [En línea], vol. 221, n° 4(1999), (California) p. 281-293. [Consulta: 9 Enero 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1525-1373.1999.d01-86.x/full>

BRITANIALAB. *Nutritivo Agar* . [En línea].Ecuador: BRITANIALAB, 2016. [Consulta: 4 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/nutritivoagar.htm>

BRITANIALAB. *Infusion cerebro corazón* [en línea].Ecuador: BRITANIALAB, 2016. [Consulta: 4 Enero 2017]. Disponible en: <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/cerebcorinfusagar.htm>

BRIZUELA, M, et al. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios *.Revista Iberoamericana de micología*, [en línea], vol 15 (1998), (Cuba) p.p.69-74. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://reviberoammicol.com/1998-15/069074.pdf>

BRUNETON, J. *Farmacognosia*. 2 da edición. España: Acribia,(2000),pp. 563-687

BRYSTKIER ,A, et al. *Macrolides, chemistry, pharmacology and clinical use*. Paris: Arnette Blackwell (1993), pp. 5-66

CAGLIERI, S.; MACAÑO, Héctor.Estudio Teórico de la Hidrólisis de Ésteres Alifáticos y Aromáticos *Información tecnológica*, [en línea], vol 21 , n° 4 (2010),(Argentina) p.p 67-73. [Consulta: 8 Enero 2017]. Número ISSN 0718-0764 . Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642010000400009&script=sci_arttext&tlng=pt

CALONGE, F. *Hongos medicinales*. Madrid: Mundi- Prensa,(2011),p. 76

CALVO, J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, Luis. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, [en línea], vol. 27, n° 1(2009), (España) pp. 44-52. [Consulta: 10 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-mecanismos-accion-los-antimicrobianos-S0213005X08000177>

CANTÓN, E. *Procedimientos en Microbiología.Recomendaciones de la Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica* [en línea]. Ecuador: Cantón, 2010, [Consulta:

13 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

CAÑEDO, V, et al. *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Perú: Centro Internacional de la papa, (2004), pp.33-34

CAÑIGUERAL, S. La Fitoterapia: ¿Una terapéutica para el tercer milenio?. *Revista de Fitoterapia*, [en línea], vol. 2, n° 2(2002), (Catalunya) p. 101-121[Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: http://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4761&doc_r=sn

CAÑIGUERAL, S, et al. Plantas Medicinales y Fitoterapia: indicadores de dependencia o factores de desarrollo *Acta farmacéutica bonaerense* [en línea], vol. 22, n° 3(2003), (Argentina) p. 265-279. [Consulta: 8 Enero 2017]. Número ISSN 0326-2383. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf

CARTAYA, O.; REYNALDO, Inés. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, [en línea], vol. 22, n° 2(2001), (Cuba) p. 5-15. [Consulta: 10 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>

CASELLAS, José María. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana de Salud Pública*, [en línea], vol. 30, n° 6(2011), (Argentina) p. 519-28. [Consulta: 11 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v30n6/a04v30n6>

CASTRO, G. Determinación de la Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las flores de ISO (*Dalea mutisii*). (tesis). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba- Ecuador. 2012. p.23 [Consulta: 2017-01-14]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2555/1/56T00322.pdf>

CEBRIÁN, J. *Diccionario Integral de Plantas Medicinales*. Barcelona: Integral,(2002),p.312

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS. *Anuario de Estadísticas Hospitalarias: Egresos y Camas* [en línea]. Quito: INEC, 2014, [Consulta: 17 Enero 2017]. Disponible en: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Estadisticas_Sociales/Camas_Egresos_Hospitalarios/PublicacionesCam_Egre_Host/Anuario_Camas_Egresos_Hospitalarios_2014.pdf

CERVANTES-GARCÍA, Estrella, et al. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio*, [en línea], vol. 61, n° 1(2014), (México) p. 28-40. [Consulta: 7 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

CHEN, Hung-Sen, et al. Studies on the immuno-modulating and anti-tumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides. *Bioorganic & medicinal chemistry*, [en línea], vol. 12, n° 21(2004), (Taiwán) p. 5595-5601. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089604006054>

CHEN, M, et al. A new triterpene from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *Yao xue xue bao= Acta pharmaceutica Sinica*, [en línea], vol 44 , n°7 (2009), (China) p.768 [Consulta: 15 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19806918>

CHENG, Chunru, et al. Identification of metabolites of ganoderic acid D by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*, [en línea], vol 40, n° 12 (2012), (China) p. 2307-2314. [Consulta: 18 Enero 2017]. Disponible en: <http://dmd.aspetjournals.org/content/40/12/2307.short>

CHOPRA, Ian. & Roberts, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, [en línea], vol 65, n° 2(2001), (Estados Unidos) p. 232-260 [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <URL> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11381101>

CHUNG, King-Thom, et al. Tannins and human health: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, [en línea], vol 38, n° 6(1998), (Estados Unidos) p. 421-464. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408699891274273>

COLE, Richard, et al. Handbook of secondary fungal metabolites, 3rd Volumen Set. Estados Unidos: Academic Press, 2003 p.8

COLETTI, M, et al. Antibiotic activity in Basidiomycetes. VII. *Antibiotic activity of mycelia and cultural filtrates*, vol 32(1994), (Turin) pp.79-83. [Consulta: 9 Enero 2017] Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/260024799_Antimicrobial_Activity_of_Ganoderma_lucidum_Mycelia

COMISIÓN INTERAMERICANA DE CONTROL DE ABUSO DE DROGAS. *Cantón Riobamba*. [En línea]. Ecuador: CICAD, 2011, [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/savia/PDF/Cant%C3%B3n%20de%20Riobamba.pdf

CONNOLLY, Joseph. & HILL, Robert. Triterpenoids. *Natural product reports*, [en línea], vol 30, n° 7(2013), (Escocia) p. 1028-1065. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/np/b808530g/unauth>

CREUS, E. Compuestos fenólicos, un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito farmacéutico*, [en línea], vol 23(2004), (España) pp. 80-84. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <URL>Offarm: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>

CRUZ, Sully Margot. Medicina tradicional y fitoterapia una alternativa para el mejoramiento de la salud en Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, [en línea], vol 3, n° 1(2016), (México) pp. 81-90. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <URL> <http://digi.usac.edu.gt/ojsrevistas/index.php/cytes/article/view/99/111>

CUADROS, A. Evaluación antibacteriana de metabolitos secundarios de extractos de cepas híbridas de *Pleurotus spp.* [En línea]. (tesis). (Maestría). Universidad Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinarias de Biotecnología. México D.F. 2010.p.4. [Consulta: 2017-01-20]. Disponible en: <http://tesis.bnct.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/19722/ADRIANA-CUADROS-MORENO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

DICKINSON, B. *BD Mannitol Salt Agar* . [En línea]. Alemania: Dickinson, 2013, [Consulta: 28 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8771>

DIFCO & BBL. *Bacto Agar: Manual* . [En línea] Alemania, DIFCO, 2016 [Consulta: 28 Enero 2017] Disponible en: https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/281230.pdf

CORDIÉS, Lilliam.; VÁSQUEZ, Alfredo. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana: revisión bibliográfica. *Acta médica Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras*, [en línea], vol 8, n° 1(1998), (Cuba) p.21. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act03198.htm

EISENREICH, Wolfgang, et al. Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. *Trends in plant science*, [en línea], vol 6, n° 2(2001), (Alemania) pp. 78-84. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138500018124>

FAJARDO, J, et al. Etnomicología en Castilla-La Mancha. *Boletín Sociedad Micología de Madrid*, [en línea], vol. 34(2010), (España) p. 341-360. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: http://www.etnofloravegetacion-clm.com/presentacion_etnomicologia.php

FONDO DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA INFANCIA. *Reducir las diferencias para alcanzar los Objetivos.* . [En línea]. New York: UNICEF, 2010. [Consulta: 4 Enero 2017]. Disponible en: https://www.unicef.org/spanish/publications/files/Narrowing_the_Gaps_to_Meet_the_Goals_SP_091510.pdf

FORBES, B, et al. *Diagnostic microbiology*. St. Louis-Estados Unidos: Mosby Elsevier,1998, p.778

GAO, Yihuai, et al. Antimicrobial activity of the medicinal mushroom *Ganoderma*. *Food Reviews International*, [en línea], vol 21, n° 2(2005), (Singapur) pp. 211-229. [Consulta: 11 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/FRI-200051893>

GAO, Yihuai, et al. Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. Species (Aphyllphoromycetidae): a review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, [en línea], vol 5, n° 3(2003), (China), pp. 235-246. [Consulta: 28 Enero 2017]. Disponible en <http://www.dl.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52,5d7e3270003d02bf,6a2db231456631ee.html>

GARCÍA RODRÍGUEZ, J.; GARCÍA SÁNCHEZ, E. Resistencias bacterianas y antibioterapia. Eficacia in vivo Eficacia in vitro. Madrid-Barcelona-España: Doyma, SA, 1997, pp. 39-50.

GARCÍA, Adolfo.; CARRIL, Elena. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología Serie Fisiología vegetal)*, [en línea], vol 2, n° 3(2011), (España), pp. 122-123. [Consulta: 8 Enero 2017]. Número ISSN. 1989-3620 Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798/814>

GIRALDO, Lina. Evaluación de la actividad biológica de macromicetos en el área del cañón del Combeima (departamento del Tolima-Colombia). [en línea]. (tesis). Universidad del Tolima,

Facultad de Ciencias. Ibagué, Colombia.2014.pp. 16-18. [Consulta: 2017-02-01]. Disponible en:
<http://repository.ut.edu.co/bitstream/001/1256/1/RIUT-AAA-spa-2014-Evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20biol%C3%B3gica%20de%20macromicetos%20en%20el%20C3%A1rea%20del%20ca%C3%B1%C3%B3n%20del%20Combeima.pdf>

GONZÁLEZ, María José. Caracterización fenotípica de cepas de *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) en pacientes pediátricos y sus perfiles de resistencia a aminoglucósidos, quinolonas y betalactámicos.). [en línea]. (tesis). Universidad de la República de Uruguay, Facultad de Ciencias. Montevideo, Uruguay.2013.p.25. [Consulta: 2017-02-02]. Disponible en:
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/bitstream/123456789/1546/1/uy24-16734.pdf>

GUZMAN, Miguel. Estudio químico y actividades antioxidante y bactericida de *Ganoderma applanatum*. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, [en línea], vol. 11, n° 1(2013), (Colombia) p.88. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en:
<http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotecnologia/article/view/276>

GERHÄUSER, Clarissa, et al. New Lanostanoids from *Ganoderma lucidum* that Induce NAD (P) H: Qui-nine Oxidoreductase in Cultured Hepalcl7 Murine Hepatoma Cells. *Planta médica*, [en línea], vol 66, n° 07(2000), (Alemania) p. 681-684. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en:
<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2000-8647>

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical pharmacology*, [en línea], vol 32, n° 7(1983), (Alemania) p. 1142. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6342623>

HENNICKE, Florian, et al. Distinguishing commercially grown *Ganoderma lucidum* from *Ganoderma lingzhi* from Europe and East Asia on the basis of morphology, molecular phylogeny, and triterpenic acid profiles. *Phytochemistry*, [en línea], vol 127(2016), (Alemania) p.29-37. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27044336>

HERNÁNDEZ, A, et al. Actualización en antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, [en línea], vol 28, n°4(2010),(España)p.39. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: http://www.sefh.es/fichadjuntos/EIMC_Antimicrobianos.pdf

HLADKI, A. *Un Acercamiento Al Mundo De La Micología*. [En línea]. Argentina: Hladki, 2009. [Consulta: 6 Enero 2017]. Disponible en:<http://www.ciencias.org.ar/user/files/Hladki09.pdf>

HOBBS, C. *Medicinal mushrooms an exploration of tradition, healing e culture.* Loveland – Estados Unidos: Interweave Press, 1996, p.252

HONGYEN, Hsu, et al. *Oriental materia médica: a concise guide.* Long Beach-Estados Unidos: Keats Publishing, Inc, 1996, pp.640-641

HUANG, Sue-Lang, et al. Survival of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as affected by ethanol and NaCl. *Journal of food protection*, [en línea], vol 64, n° 4(2001), (China) p. 546. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11307895>

INSTITUTO MERIDIANS DE MEDICINA TRADICIONAL CHINA. *Fitoterapia China* [En línea]. Barcelona: Meridians, 2016. [Consulta: 12 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.institutomeridians.com/fitoterapia/>

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS Y CENSOS . *Cañar .* [En línea]. Ecuador: INEC, 2015. [Consulta: 11 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wpcontent/descargas/Manu-lateral/Resultados-provinciales/canar.pdf>

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS Y CENSOS . *Anuario de Estadísticas Defunciones vitales Nacimientos y defunciones .* [En línea]. Ecuador: INEC, 2014. [Consulta: 11 Enero 2017]. Disponible en: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion_y_Demografia/Nacimientos_Defunciones/Publicaciones/Anuario_Nacimientos_y_Defunciones_2014.pdf

INSTITUTO QUÍMICO BIOLÓGICO . *Eritromicina.* [En línea]. España: Iqb, 2016. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/e018.htm>

JAMPAR. *Agar Cerebro- Corazón .* [En línea]. Perú: JAMPAR, 2017. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: <http://provincia.jampar.com.pe/reactivos/182-agar-cerebro-corazon-x-500-gr-bhi.html>

JARAMILLO, M. *Determinacion estructural y de actividad antimicrobiana de los intra y exo metabolitos secundarios triterpenoidales en Ganoderma lucidum obtenido en cultivo sumergido.* (tesis). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Bogota, Colombia . 2009.p 13

JAWETZ, E, et al. Quimioterapia antimicrobiana. 9 ed. Manual de microbiología médica, Mexico, DF: El Manual Moderno, 1989, pp. 110-113

JENSEN, Ulrich, et al. Consequences of increased antibacterial consumption and change in pattern of antibacterial use in Danish hospitals. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, [En línea], vol. 63, n°4 (2009), (Dinamarca), p.812-815. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://jac.oxfordjournals.org/content/63/4/812.short>

JONATHAN, S.; AWOTONA, F. Studies on Antimicrobial Potentials of three *Ganoderma species*. *African Journal of Biomedical Research*, [en línea], vol. 13, n° 2(2010), (África) p. 131-139. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.ajol.info/index.php/ajbr/article/view/95206/84553>

JONES, B. The Deerholme Mushroom Book: From Foraging to Feasting. Canada: touchwood editions , 2013,p.246

KAMBLE, R, et al. Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Mycelia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, [en línea], vol 5, n° 2(2011), (India) pp. 983-986. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Arpita_Gupte/publication/260024799_Antimicrobial_Activity_of_Ganoderma_lucidum_Mycelia/links/54d2eaf10cf250179180deeb.pdf

KAMRA, Anita. BHATT, A. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* extracts against human pathogenic bacteria. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, [en línea], vol. 4, n° 2(2012), (India) pp. 359-362. [Consulta: 8 Enero 2017]. Número ISSN. 0975-1491 Disponible en: http://ultimateelixir.com/images/Evaluation_of_Antimicrobial_and_Antioxidant_Activity_of_G.L._Extracts_Against_Human_Pathogenic_Bacteria.pdf

KHAN, Ikhlas A; & ABOURASHED, Ehab *Leung's encyclopedia of common natural ingredients: used in food, drugs and cosmetics*. Oxford, Misissippi: John Wiley & Sons, 2011, p.303

KIM, M, et al. Studies on safety of *Ganoderma lucidum*. *The Korean Journal of micology*, [En línea], vol 14, n° 1 (1986),(Corea) pp.49-59. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: http://kpubs.org/article/articleTagCloud.kpubs?articleANo=GNHHDL_1986_v14n1_49

KLAUS, Anita; NIKŠIĆ, Miomir. Influence of the extracts isolated from *Ganoderma lucidum* mushroom on some microorganisms. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, [En línea], n° 113(2007), (Serbia) pp. 219-226. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0352-4906/2007/0352-49060713219K.pdf>

KONEMAN, E. W. *Mecanismos de resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos: en Diagnóstico microbiológico*. Argentina: Medica-Panamericana, 2004,p. 599

LENNETTE, E. B, et al. *Manual de Microbiología clínica* . Argentina: Medica Panamericana, 2008,p.246

LEÓN, Jorge, et al. Bacterias marinas productoras de compuestos antibacterianos aisladas a partir de invertebrados intermareales. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, [en línea], vol. 27, n° 2(2010), (Perú) pp. 215-221.

LI, ZUBING; LIU, JING; ZHAO, YIFANG. Possible mechanism underlying the antiherpetic activity of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum* in vitro. *BMB Reports*, [en línea], vol. 38, n° 1(2005), (Corea), p. 34-40. [Consulta: 21 Enero 2017]. Disponible en: http://www.koreascience.or.kr/article/ArticleFullRecord.jsp?cn=E1MBB7_2005_v38n1_34

LI, PENG, et al. Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxic activities. *Natural product research*, [En línea], vol. 27, n° 1(2001), (China), p. 17-22. [Consulta: 21 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2011.652961>

LIMA, Analía, et al. An iron-regulated outer-membrane protein of *Proteus mirabilis* is a haem receptor that plays an important role in urinary tract infection and in in vivo growth. *Journal of medical microbiology*, [En línea], vol. 56, n° 12(2007), (Uruguay), pp. 1600-1607. [Consulta: 20 Enero 2017]. Disponible en: <http://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.47320-0>

LIVERMORE, David M. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. *Clinical infectious diseases*, [en línea], vol. 36, n°Supplement 1(2003), pp. 11-23. (Londres). [Consulta: 20 Enero 2017]. Disponible en: https://academic.oup.com/cid/article/36/Supplement_1/S11/301524/BacterialResistanceOrigins-Epidemiology-and

LOCK, O. *Investigación Fitoquímica: Métodos en el Estudio de Productos Naturales*. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, Fondo editorial, 1998, p.172

LOMBARDÍA, J., & M.FERNANDEZ. Ginecología y obstetricia .Manual de consulta rápida. Madrid: Medica Panamericana, (2009), p.155

LOPEZ, E. (2016). *La micoterapia, el uso curativo de los hongos.* [En línea]. Ecuador: López, 2017. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en:<http://www.puntofape.com/la-micoterapia-el-uso-curativo-de-los-hongos-5484/>

LUCERO, O. *Guía de Prácticas de Bromatología.* Riobamba- Ecuador: Xerox, 2013, pp.12-15 2013.

LUENGO, M. TRÁNSITO LÓPEZ. Las plantas medicinales en la medicina tradicional china. Plantas medicinales con actividad hipoglucemiante. *Offarm*, [en línea], vol. 22, n° 2(2003), (Estados Unidos) pp. 101-102. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-las-plantas-medicinales-medicina-tradicional-13043202>

MACEJKO AMANDA, S. A. (2007). Asymptomatic Bacteriuria and Symptomatic Urinary Tract Infections During Pregnancy . *Urologic Clinics of North America*, [en línea], vol 34, n°1, (2007),(Estados Unidos) pp.35-42. [Consulta: 28 Enero 2017]. Disponible en : [http://www.urologic.theclinics.com/article/S0094-0143\(06\)00107-8/abstract](http://www.urologic.theclinics.com/article/S0094-0143(06)00107-8/abstract)

MADIGAN, M, ET AL. *Biología de los Microorganismos.* España: Prentice Hall, 2000, p. 200

MAGUNA, Fabiana P., et al. *Relación entre la estructura molecular de terpenoides y su actividad antimicótica sobre Candida albicans.* Universidad Nacional del Nordeste Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, [en línea], vol 1(2005), (Argentina) pp.1-4. [Consulta: 28 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/8-Exactas/E-045.pdf>

MANDELL, G. Introducción a las enfermedades microbianas. En Tratado de Medicina Interna Mexico: Interamericana-Mc Graw- -Hil, 1994, p. 1823

MARTÍNEZ, A. *Quinonas y compuestos relacionados .* [En línea], España: Martínez, 2012. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en http://s3.amazonaws.com/academia.edu/documents/32196770/quinonas.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAJ56TQJRTWSMTNPEA&Expires=1484988931&Signature=%2B6vYjIuJJii0dUMypPXffTcbw1M%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DUNIVERSIDAD_DE_ANTIOQUIA_QUINONAS_

MARTÍNEZ FREIJO, P. Integrones. Nueva causa de resistencia a antibióticos. *Rev Esp Quimioterapia*, [en línea], vol. 10(1997), (Madrid) pp. 191-194. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0397/edit1.html

MARTÍNEZ-VALVERDE, ISABEL, ET AL. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, [en línea], vol. 50, n° 1(2000), (España) pp.5-18. [Consulta: 14 Enero 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Gaspar_Ros/publication/12277022_Nutritional_importance_of_phenolic_compounds_in_the_diet/links/56310dd808ae0530378d0170.pdf

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, Luis. Muerte bacteriana y heterorresistencia a los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, [en línea], vol. 26, n° 8(2008), (España) pp. 481-484. [Consulta: 14 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-muerte-bacteriana-heterorresistencia-los-antimicrobianos-13127451>

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, Luis; CALVO, Jorge. Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, [en línea], vol. 28(2010), (España) pp. 4-9. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X10700355>

MATEINI, M., & MOLES, A. *La Química en la Restauración*. Italia: NEREA, 2008, pp.201

MATERIAL Y QUÍMICA S.A. MAQUIMSA. *Refractómetro*. [En línea], México: Maquimsa, 2007. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: <http://maquimsa.com/html/tecnica/refractometros.html>

MAU, Jeng-Leun; et al. Non-volatile components of several medicinal mushrooms. *Food Research International*, [en línea], vol. 34, n° 6(2001), (Taiwán) pp. 521-526. [Consulta: 2 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996901000679>

MCGOWAN JR, John E. Economic impact of antimicrobial resistance. *Emerging infectious diseases*, [en línea], vol 7, n° 2(2001), (Estados Unidos) p. 282. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2631707/>

MENDOZA PATIÑO, HERNÁNDEZ, J. Herbolaria. *Revista de la Facultad de Medicina*, [en línea], vol. 48, no 006(2005), (México) p. 48. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://revistas.unam.mx/index.php/rfm/article/view/12894>

DE MERECH, Leticia Florentin. Consenso de infección urinaria. Pautas de diagnóstico y tratamiento. *Pediatría (Asunción): Órgano Oficial de la Sociedad Paraguaya de Pediatría*, [en línea], vol. 38, no 1(2011),(Paraguay)pp. 68-72. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1683-98032011000100013&script=sci_arttext

MIRANDA-CRUZ, Edith, et al. Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum L.*, *Pterocarpus hayesii L.*, *Tynanthus guatemalensis L.* y *Spondias purpurea L.* *Boletín latinoamericano del Caribe plantas medicinales aromáticas*, [en línea] 2012, vol. 11, n° 4(2012), (Chile) pp. 354-361. [Consulta: 11 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85623048007.pdf>

MIRANDA, M. Folleto de Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de farmacia y alimentos. Habana – Cuba, 2002, pp. 5165

MIZUNO, Takashi. Studies on bioactive substances and medicinal effect of Reishi, *Ganoderma lucidum* in Japan. En *Proceedings of the 1st International Symposium on Ganoderma lucidum in Japan*, *Toyo-Igaku-sha Co. Ltd., Tokyo*. [En línea], vol 1(1997), (Japón). pp. 121-127. [Consulta: 11 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.canited.com/reishi97d-1.htm>

MIZUNO, Takashi, et al. Reishi, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*: bioactive substances and medicinal effects. *Food Reviews International*, [en línea], vol. 11, n° 1(1995) (Japón), pp. 151-166. [Consulta: 12 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129509541025?journalCode=lfri20>

MONTOYA, H. H. *Microbiología básica para el área de la salud y afines*. Colombia: Univerdidad de Antioquia, 2008, p. 72

MORRISON, R & BOYD, R. *Química Orgánica*. New York : Pearson, 1998, p. 217

MUÑOZ, O., et al. *Plantas Medicinales de Uso en Chile: Química y Farmacología*. Santiago de Chile: Editorial Universitaria, 1999, p. 9

MURRAY, P. *Microbiología médica*. Estados Unidos: Elsevier, 2008, p. 18.

MCGOWAN JR, John E. Economic impact of antimicrobial resistance. *Emerging infectious diseases*, [en línea], vol 7, n° 2(2001), (Estados Unidos) p. 282. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <URL><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2631707/>

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. [En línea]. Estados Unidos: NCCLS, 2015. [Consulta: 19 Enero 2017]. Disponible en: http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M07A10_sample.pdf

NATUREDUCA. *Plantas Medicinales*. [En línea]. España: natureduca, 2014. [Consulta: 22 Enero 2017]. Disponible en: http://www.natureduca.com/med_sustanc_alcaloides.php

NCCLS ORDER CODE M2-A3. *Diámetro de las zonas patrón y su equivalencia con los puntos de ruptura de las CMI's*. En Álvarez & Benito, Manual de técnicas en microbiología clínica. España: Asociación Española de Farmacéuticos Analistas, 1995, p. 314

NIKAIDO, Hiroshi. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and molecular biology reviews*, [en línea], vol. 67, n° 4(2003), (California) pp. 593-656. [Consulta: 22 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14665678>

NIÑO, F. *Evaluación de metabolitos secundarios del hongo Ganoderma lucidum con actividad antifúngica frente a fusarium spp.* [En línea]. (tesis). Pontificia Universidad Javeriana, Facultad De Ciencias, Carrera De Biología. Bogotá, 2010, p.9 [Consulta: 2017-01-20]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8495/tesis455.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

NYCHAS, J. (1995). *New Methods of Food Preservation*. En Natural antimicrobials from plants. Londres: Chapman & Hall, 1995, pp. 59-89

OMS. *Report on infectious diseases: Removing obstacles to healthy development*. [En línea]. Ginebra: OMS, 2001. [Consulta: 23 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/en/whocdscsrdrs20012spanish.pdf>

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. *Resistencia a los antimicrobianos*. [En línea]. Ginebra: OMS, 2015. [Consulta: 23 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (1979). *Guidelines for Antimicrobial Susceptibility Testing*. [En línea]. Ginebra: OMS, 1979 [Consulta: 23 diciembre 2016]. Disponible en: <https://www.asm.org/ccLibraryFiles/FILENAME/000000002484/Manual%20of%20Antimicrobial%20Susceptibility%20Testing.pdf>

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional*. [En línea]. Ginebra: OMS, 2002. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/67314/1/WHO_EDM_TRM_2002.1_spa.pdf

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *World health statistics*. [En línea]. USA: WHO, 2015. [Consulta: 25 Febrero 2017]. Disponible en: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2015/en/

PADUCH R, et al. Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, [En línea], vol 55, n° 5(2007), (Polonia), pp.315-327. [Consulta: 18 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18219762>

PAGE, C., et al. *Farmacologia integrada*. Segunda Edición, España: Elsevier, 2000, p. 513

PALACIOS, M. *Farmacognosia*. [En línea]. Barcelona: Palacios, 2008. [Consulta: 18 Enero 2017]. Disponible en: <http://farmacognosia-farmacialadech.blogspot.com/>

PARRY, R. W. *Química: fundamentos experimentales*. New Jersey : Reverté, 1973, p. 217

PASQUALI, Ricardo C.; BREGNI, Carlos. Balance Hidrofílico-Lipofílico (HLB) del Colesterol y sus Aplicaciones en Emulsiones del Tipo Aceite en Agua. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, [en línea], vol. 25, n° 2 (2006), (Argentina) p. 239. ISSN 0326-2383. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/25/2/LAJOP_25_2_1_1_2_W0H99G8U0F.pdf

PEDRAZA, H. *Micoterapia: Guía de hongos para la Salud*. Colombia: Pedraza, 2013. [En línea]. [Consulta: 9 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11550/7/Anexo%20Micoterapia.2013.pdf>

PÉREZ, D. *Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria*. España: Pérez, 1998. [En línea]. [Consulta: 10 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.msps.es/fr/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>

PÉREZ, R. *Farmacología veterinaria*. Chile: Talleres dirección de Docencia, 2010, p.327

PICAZO, J. J. *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. Perú: Picazo, 2000. [En línea]. [Consulta: 10 Febrero 2017]. Disponible en: http://coesantseimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf

PÍREZ, M., & MOTA, M. (2008). *Morfología y estructura bacteriana*. Uruguay: Pérez & Mota, 2008. [En línea]. [Consulta: 3 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>

PLOTNIKOFF, G. A. *Medicina Herbolaria*. En M. Snyder, & R. Lindquist, *Terapias complementarias y alternativas en enfermería*. New York: Springer Publishing Company, 2010, p. 421

POPESCU, Andreia; DOYLE, R. J. The Gram stain after more than a century. *Biotechnic & histochemistry*, [En línea], vol. 71, n°3(1996), (Romania) pp. 145-151. Romania. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10520299609117151>

PRESCOTT, L. M. *Microbiología*. España.: McGraw-Hill Interamericana, 2002, p. 521

PUMAROLA, A., et al. *Microbiología y parasitología médica*. Barcelona: Masson, 1999, p. 33.

QUERESHI, Sadaf; et al. Evaluation of antibacterial activity of different ganoderma lucidum extracts. *People's Journal of Scientific Research* [En línea], vol 3, n°1(2010), (Bophal) pp.9-14. 2010. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: http://imsear.li.mahidol.ac.th/bitstream/123456789/127147/2/pjsr2010v_3n_1p9.pdf

QUINTANA, A. (2002). *Bases microbiológicas del uso de antimicrobianos*. [En línea]. Uruguay: Quintana, 2002. [Consulta: 17 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2028.pdf>

QUIRIZ, F. (2012). Evaluación de las propiedades antioxidantes y microbianas de dos especies de hongo medicinal *Ganoderma* nativo de México y su contribucion al desarrollo regional. [En línea]. (tesis).Colegio de Posgraduados, Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. México, 2012.pp. 1-4. [Consulta: 2017-01-20]. Disponible en:

http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/10521/1836/1/Quiriz_Cerezo_FA_MC_EDAR_2012.pdf.

RINGUELET, J., & VIÑA, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Buenos Aires: Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales, 2013, pp. 14-15.

RÍOS, José-Luis, et al. Lanostanoids from fungi: a group of potential anticancer compounds. *Journal of natural products*, [En línea], vol. 75, n° 11(2012),(España) pp. 2016-2044. [Consulta: 17 Febrero 2017]. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np300412h>

RÍOS, José-Luis. *Ganoderma lucidum*, un Hongo con Propiedades Inmunoestimulantes. [En línea]. Valencia: Ríos, 2014. [Consulta: 26 Febrero 2017]. Disponible en: http://www.hostelvending.com/img/bdd_productos/178_dossier.pdf

RODRIGUEZ, E., et al. *Bacteriología General: Principios y Practicas de laboratorio*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica, 2005, pp. 135-251

RODRÍGUEZ, M. A., et al. Tetraciclinas. *Acta médica*, [en línea], vol. 8, (1998), (Cuba) pp. 75-90. [Consulta: 27 Febrero 2017]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act11198.htm

RODRÍGUEZ-ANGELES, Guadalupe. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*, [En línea], vol. 44, n° 5(2002), (México) pp. 464-475. ISSN 0036-3634. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011

ROPANA. *Glucósidos*. [En línea]. Chile: Ropana, 2016. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: http://www.ropana.cl/plantas_toxicas/glucos.htm

ROSA ELENA DUEÑAS. *Extracto Fluído de Reishi* [En línea]. México: REDSA, 2015. [Consulta: 27 Enero 2017]. Disponible en: <http://redsa.com.mx/descargas/fichastecnicas/extractos-fluidos/reishi.pdf>

SACSAQUISPE, R., & VELÁSQUEZ, J. *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*. [En línea]. Perú: Sacsquispe & Velásquez, 2002. [Consulta: 25 Enero 2017]. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_1%20sensibilidad.pdf

SADAVA, David, et al. Effect of Ganoderma on drug-sensitive and multidrug-resistant small-cell lung carcinoma cells. *Cancer letters*, [En línea], Vol 277, n° 2(2009), (Estados Unidos) p. 185. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383508009415>

SANODIYA, Bhagwan S., et al. Ganoderma lucidum: a potent pharmacological macrofungus. *Current pharmaceutical biotechnology*, [En línea], vol. 10, n° 8 (2009), (Estados Unidos) pp. 717-742. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpb/2009/00000010/00000008/art00001>

SCHENKEL, E., GOSMANN, G., & ATHAYDE, M. (2001). Saponinas. En C. Simões, E. Schenkel, G. Gosmann, J. Mello, L. Mentz, & P. Petrovick, *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Brasil-Porto Alegre: UFRGS, p. 27

KUIPERS, Sophie Emma. *Medicinal plants for forest conservation and health care*. [En línea]. Kuipers, 1997. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/W7261e/W7261e08.htm>

SECRETARÍA DEL BUEN VIVIR. (2016). *Medicina ancestral y terapias complementarias: avanzando hacia una mirada integral*. [En línea]. Ecuador: Secretaria del buen vivir, 2016. [Consulta: 1 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.secretariabuenvivir.gob.ec/medicina-ancestral-y-terapias-complementarias-avanzando-hacia-una-mirada-integral/>

SECRETARÍA NACIONAL DE PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO. *Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo y Pastaza*. [En línea]. Ecuador: SENPLADES, 2015. [Consulta: 11 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/11/Agenda-zona-3.pdf>

SENPLADES. *Plan del Buen vivir*. [En línea]. Ecuador: SENPLADES, 2009. [Consulta: 9 Febrero 2017]. Disponible en: https://issuu.com/publisenplades/docs/pnbv_2009-2013

SHAH, Pooja, et al. Preliminary phytochemical analysis and antibacterial activity of Ganoderma lucidum collected from Dang District of Gujarat, India. *Internacional Journal Current Microbioly and Applied Sciences*, [en línea], vol. 3, n° 3(2014), (India) pp. 246-255. [Consulta: 19 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.ijcmas.com/vol-3-3/Pooja%20Shah,%20et%20al.pdf>

SHAPERO, M.; et al. Ethanol inhibition of *Staphylococcus aureus* at limited water activity. *Journal of Food Science*, [En línea], vol. 43, n° 5(1978), (Houston) pp. 1467-1469. [Consulta: 19 Febrero 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1978.tb02520.x/full>

SHARAPIN, N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Colombia: Azucena Martinez, 2000,pp.109

SHIAO, Ming-Shi. Natural products of the medicinal fungus *Ganoderma lucidum*: occurrence, biological activities, and pharmacological functions. *The Chemical Record*, [en línea], vol. 3, n° 3(2003), (Japón) pp. 172-180. [Consulta: 10 Enero 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tcr.10058/full>

SHIKONGO, L. T., et al. Antimicrobial screening of crude extracts from the indigenous *Ganoderma lucidum* mushrooms in Namibia. *African Journal of Microbiology Research*, [En línea]. Vol. 7, n° 40(2013), (Africa) pp. 4812-4816. [Consulta: 10 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/EE7AD0314189>

SINGH JAYA; et al. In-vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Int. *International Journal of Advanced Research* , [En línea], Vol 2, n° 6(2014), (India). pp. 460-466 (ISSN 2320-5407). [Consulta: 9 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.journalijar.com/article/1865/in-vitro-evaluation-of-antimicrobial-activity-of-ganoderma--lucidum/>

SKALICKA-WOZNIAK, Krystyna, et al. Evaluation of polysaccharides content in fruit bodies and their antimicrobial activity of four *Ganoderma lucidum* (W Curt.: Fr.) P. Karst. Strains cultivated on different wood type substrates. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, [En línea], vol. 81, n° 1(2012), (Polonia) p. 19. [Consulta: 19 Febrero 2017]. Disponible en: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-185efd35-4167-4cae-80b1-6fa5b4091973>

SLEYMI. *Micoterapia : Los hongos, los grandes desconocidos, medicamentos del futuro.* [En línea]. España: Sleyimi,(2016). [Consulta: 19 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.sleimy.es/los-hongos-los-grandes-desconocidos-medicamentos-del-futuro/>

SMANIA JR, Artur, et al. Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (*Aphyllphoromycetideae*) fruit body. *International Journal*

of medicinal mushrooms, [en línea], vol. 1, n° 4(1999), (Brasil) p. 325. [Consulta: 28 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.dl.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52,541026cc01cc467e3,56d7118b651c7a14.html>

SNYDER, M., & LINQUIST, R. Terapias complementarias y alternativas en enfermería. New York: Manual moderno, 2011, p. 422.

STAMETS, P. (1993). *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Berkeley: Ten Speed Press, 1993, p.552

ZHI-BIN LIN (2002). Lingzhi (*Ganoderma*) research – the past, present and future perspectives. *Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and Therapeutics. Proceedings of International Symposium on Ganoderma Research*. [En línea]. Segunda Edición: China, Beijing Medical University Press, 2002, p.9. [Consulta: 28 Enero 2017]. Disponible en: <http://cstm.cnki.net/stmt/TitleBrowse/Detail?baseid=ZGYS200210001>

TAFUR, J.; et al. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en gram negativas. [En línea]. Colombia: Tafur, 2008. [Consulta: 6 Enero 2017]. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/mecanismos_de_resistencia_a_los_antibioticos_en_bacterias_gram_negativas.pdf

TAROCCO, R; et al. (2008). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. [En línea]. Uruguay: Tarocco, 2008. [Consulta: 8 Enero 2017]. Disponible en educación : <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>

TIBAVIZCO, Diego, et al. Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. *Biomédica*, [en línea], vol. 27, n° 2(2007), (Bogotá) pp. 294-307. ISSN 0120-4157. [Consulta: 12 Enero 2017]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572007000200016

TODD, J. K. Infecciones estafilocócicas. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, [en línea], vol. 44, n° 3(2015), (Bolivia) p.43. [Consulta: 12 Enero 2017]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752005000300010

TREASE, E. W. (2006). *Farmacognosia*. 13 ed. Madrid: Interamericana, Mc GrawHill, 2006, pp. 41- 51.

TRIGOS, Ángel; MEDELLÍN, Jorge .Biologically active metabolites of the genus *Ganoderma*: Three decades of myco-chemistry research. *Revista Mexicana de Micología*, [en línea], vol. 34(2011), (México) pp. 63-83. [Consulta: 12 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=88321339010>

TRIPATHI. *Farmacología en Odontología* . India: Medica Panamericana , 2005, pp. 430

TUMBACO, G. Factores de riesgo que influyen en la predisposición de Infecciones urinarias en mujeres de 15–49 años que acuden a subcentro Virgen del Carmen del cantón Libertad 2012-2013 . [En línea]. (tesis). Universidad Estatal Península De Santa Elena, Facultad De Ciencias Sociales Y De La Salud, Escuela De Ciencias De La Salud, Carrera De Enfermería, Ecuador, 2013. p. 57 [Consulta: 2017-01-20]. Disponible en: <http://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/1003/1/TESIS%20INFECCIONES%20%20URINARIAS.pdf>

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. Tetraciclinas, cloranfenicol y antibióticos polipeptídicos. [En línea].España: UAM, 2009. [Consulta: 11 Enero 2017]. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a55-tetraciclinas,_cloranfenicol_y_antibioticos_polipeptococ.pdf

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO . Estreptomicina. [En línea].México: UNAM, 2007. [Consulta: 13 Enero 2017]. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Estreptomicina.htm

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE MADRID. Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales. [En línea].España: UPM, 2010. [Consulta: 13 Enero 2017]. Disponible en:<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>

VADEMECÚM. Estreptomicina . [En línea].España: Vademécum, 2016. [Consulta: 13 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.vademecum.es/principios-activos-estreptomicina-j01ga01>

VALENZUELA, B.; et al. Implementación de una red nacional para la vigilancia de resistencia de agentes patógenos a antimicrobianos según síndromes clínicos. *Revista chilena de infectología*, [En línea], vol. 20, n° 2(2003), (Chile) pp. 119-125. [Consulta: 9 Enero 2017]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182003000200006&script=sci_arttext

VALGAS, Cleidson; et al. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, [En línea], vol. 38, n° 2(2007), (Brasil) pp. 369-380. ISSN 1678-4405. [Consulta: 9 Enero 2017]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822007000200034&script=sci_arttext

VELÁSQUEZ ARÉVALO, S.; & ZARAVIA ARGOMEDO, L. M. (2014). Estudio comparativo de la estudio comparativo de las partes vegetativa y germinativa del hongo *Ganoderma lucidum*. [En línea]. (tesis). Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias, Perú: 2014. [Consulta: 2017-01-15]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UNITRU/3769/Velasquez%20Arevalo%20S%20haron.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

VIVANCO, Jorge M.; et al. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investigación y ciencia*, [en línea], vol. 341, n° 2(2005), (México) pp. 68-75. México. [Consulta: 9 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/vivanco-et-al-2005.pdf>

WANG, Hexiang. Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Peptides*, [En línea], vol. 27, n°1(2006), (China) pp. 27-30. [Consulta: 10 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16039755>

WASSER, S. *Ganoderma lucidum*. *Encyclopedia of Dietary Supplements*, [En línea], vol 2(2012),(Israel)pp.603-619 . [Consulta: 10 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.k9-doghealth.com/wp-content/uploads/reishi.pdf>

WORLD HEALTH ORGANIZATION . *Modelo OMS de información sobre prescripción de medicamentos: Medicamentos utilizados en las enfermedades micobacterianas*. [En línea]. Ginebra: WHO, 1992. [Consulta: 10 Enero 2017]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5513s/2.6.html>

WORLD HEALTH ORGANIZATION . *Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014*. [En línea]. Ginebra: WHO, 2014 [Consulta: 10 Enero 2017]. Disponible en: Obtenido de <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*. [En línea]. Ginebra: WHO, 2014. [Consulta: 13 Enero 2017]. Disponible en: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/

YANG, Byung-keun; et al. Hypoglycemic effect of a *Lentinus edodes* exo-polymer produced from a submerged mycelial culture. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, [en línea], vol. 66, n° 5(2002), (Corea Del Sur) pp. 937-942. [Consulta: 13 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1271/bbb.66.937>

YANG, Min; et al. Analysis of triterpenoids in *Ganoderma lucidum* using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, [en línea], vol. 18, n° 5(2007), (China) pp. 927-939. [Consulta: 30 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044030507000475>

YOON, Sang Yeon; et al. Antimicrobial activity of *Ganoderma lucidum* extract alone and in combination with some antibiotics. *Archives of pharmacal research*, [en línea], vol. 17, n° 6(1994), (Korea) pp. 438-442. Korea. [Consulta: 30 Enero 2017]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02979122?LI=true>

YÚFERA, E. P. Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria. Barcelona: Reverté, 2007, p.922

ZHONG, J.-J. (2004). *Advances in biochemical engineering/biotechnology: biomanufacturing* Heidelberg. Springer-Verlag, 2004, pp: 84-113

ZULUAGA, J, et al. Química y actividades antioxidante y bactericida del extracto etanólico del hongo *Ganoderma lucidum*. *Scientia et technica*, [en línea], vol. 1, n° 33(2007), (Colombia), pp.185-329. [Consulta: 30 Enero 2017]. Disponible en: <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/6095>

ANEXOS Y APÉNDICES

ANEXO A: Diámetros de los halos de inhibición de las concentraciones de los extractos de *Ganoderma lucidum* frente a las bacterias patógenas.

Concentraciones de Extractos	Tiempo	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
		<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933
Extracto etanólico 100 % Agar Mueller Hinton	24 horas	0	8	9
		0	8	30
		0	8	9
		0	8	11
		0	8	11
		0	8	9
		0	8	30
		0	8	9
		0	8	11
	48 horas	0	8	0
		0	8	0
		0	8	0
		0	8	0
		0	9	0
		0	8	0
		0	8	0
		0	8	0
		0	9	0
	72 horas	0	7	0
		0	7	0
		0	7	0
		0	8	0
		0	8	0
		0	7	0
		0	7	0
		0	7	0
		0	8	0
Extracto etanólico 75 % Agar Mueller Hinton	24 horas	12	6	11
		12	8	14
		8	9	11
		12	9	14

		12	7	12
		12	6	11
		8	8	14
		12	9	11
		12	9	14
		12	7	12
	48 horas	8	8	0
		9	9	0
		8	8	0
		8	7	0
		8	8	0
		8	8	0
		9	9	0
		8	8	0
		8	7	0
		8	8	0
	72 horas	8	7	0
		7	7	0
		8	8	0
		8	8	0
8		7	0	
8		7	0	
7		7	0	
8		8	0	
8		8	0	
8		7	0	
Extracto etanólico 50% Agar Mueller Hinton	24 horas	16	0	21
		16	0	26
		16	0	30
		16	0	25
		22	0	9
		16	0	9
		16	0	14
		16	0	10
		20	0	18
		14	0	21
	48 horas	16	0	16
		13	0	22
		16	0	20
		25	0	20
		21	0	10
		18	0	20
		16	0	22

		16	0	13
		16	0	10
		17	0	20
	72 horas	12	0	11
		14	0	18
		17	0	10
		12	0	15
		14	0	11
		12	0	31
		15	0	30
		22	0	16
		12	0	2
		16	0	19
Etanol Absoluto Control Agar Mueller Hinton	24 horas	12	9	13
		12	10	12
		12	10	0
		12	7	0
		12	11	0
		12	12	0
		12	11	0
		12	13	0
		12	8	0
		8	7	0
	48 horas	11	12	10
		10	11	0
		10	10	0
		10	9	0
		9	10	0
		9	10	0
		11	0	0
		10	10	0
		9	8	0
		12	8	0
	72 horas	11	10	10
		9	8	0
		8	10	0
		9	0	0
		11	12	0
		10	7	0
		10	14	0
		10	11	0
		9	11	0
		9	11	0

Extracto etanólico 100 % Agar Cerebro Corazón	24 horas	10	9	12
		10	7	10
		0	9	7
		0	9	10
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	48 horas	8	10	10
		0	10	10
		0	8	12
		0	8	12
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	72 horas	7	7	8
		0	7	10
		0	10	10
		0	8	11
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
0		0	0	
0		0	0	
0		0	0	
Extracto etanólico 75 % Agar Cerebro Corazón	24 horas	10	7	11
		10	7	10
		10	7	0
		14	8	0
		0	10	0
		0	8	0
		0	7	0
		0	7	0
		0	0	0
		0	0	0
	48 horas	13	8	10
		13	8	11
		13	8	0

		0	9	0
		0	8	0
		0	9	0
		0	11	0
		0	8	0
		0	9	0
		0	0	0
	72 horas	8	7	10
		8	7	11
		8	11	0
		0	8	0
		0	7	0
		0	7	0
		0	7	0
		0	7	0
		0	0	0
		0	0	0
Extracto etanólico 50 % Agar Cerebro Corazón	24 horas	20	0	15
		16	0	10
		16	0	12
		16	0	11
		16	0	9
		20	0	22
		16	0	20
		22	0	20
		16	0	11
		18	0	20
	48 horas	16	0	10
		18	0	16
		20	0	11
		23	0	13
		16	0	18
		16	0	13
		18	0	20
		20	0	20
		18	0	0
		16	0	0
	72 horas	14	0	8
		13	0	17
		15	0	10
		19	0	14
		17	0	19
		17	0	11

		0	0	0
	48 horas	9	13	10
		9	8	15
		0	0	10
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	72 horas	9	13	10
		9	0	15
		0	0	10
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
0		0	0	
Extracto acuoso 75 % Agar Mueller Hinton	24 horas	14	0	8
		16	0	0
		14	0	0
		12	0	0
		16	0	0
		12	0	0
		10	0	0
		12	0	0
		14	0	0
		12	0	0
	48 horas	12	0	10
		9	0	0
		16	0	0
		11	0	0
		11	0	0
		12	0	0
		10	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	0	0	0	
72 horas	13	0	11	
	12	0	0	

		12	0	0
		14	0	0
		13	0	0
		11	0	0
		10	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
Extracto acuoso 50 % Agar Mueller Hinton	24 horas	0	0	12
		0	0	10
		0	0	11
		0	0	8
		0	0	10
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	48 horas	0	0	10
		0	0	10
		0	0	12
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	72 horas	0	0	8
		0	0	10
		0	0	13
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
Extracto acuoso 100 % Agar Cerebro Corazon	24 horas	10	7	12
		12	7	12
		14	7	16
		12	8	11
		12	0	11

		12	0	15
		16	0	11
		12	0	10
		0	0	12
		0	0	14
	48 horas	7	6	16
		16	8	9
		13	7	10
		11	8	15
		9	0	11
		10	0	16
		0	0	15
		0	0	15
		0	0	10
		0	0	0
	72 horas	14	7	16
		10	7	6
		9	7	4
		10	0	13
		10	0	11
14		0	15	
9		0	14	
0		0	13	
0		0	8	
0		0	0	
Extracto acuoso 75 % Agar Cerebro Corazón	24 horas	16	0	12
		14	0	10
		10	0	12
		14	0	11
		10	0	11
		12	0	10
		10	0	0
		10	0	0
		0	0	0
		0	0	0
	48 horas	7	0	16
		9	0	12
		10	0	13
		9	0	11
		9	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0

		0	0	0
		0	0	0
	72 horas	8	0	15
		10	0	11
		9	0	12
		10	0	11
		7	0	0
		10	0	0
		9	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
0	0	0		
Extracto acuoso 50 % Agar Cerebro Corazón	24 horas	0	0	16
		0	0	10
		0	0	10
		0	0	9
		0	0	15
		0	0	20
		0	0	16
		0	0	11
		0	0	10
		0	0	0
	48 horas	0	0	17
		0	0	14
		0	0	16
		0	0	10
		0	0	11
		0	0	10
		0	0	14
		0	0	14
		0	0	0
		0	0	0
	72 horas	0	0	16
		0	0	13
		0	0	15
		0	0	11
		0	0	7
		0	0	10
		0	0	12
		0	0	11
		0	0	0
		0	0	0

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO B: Diámetros de los halos de inhibición de diferentes antibióticos frente a las bacterias patógenas

Antibióticos	Tiempo	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
		<i>Escherichia coli</i> ATCC9637	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC25933
Penicilina G 10 µg Agar Mueller Hinton	24 horas	0	27	30
		0	24	30
		0	22	18
		0	26	20
		0	24	26
	48 horas	0	28	26
		0	24	21
		0	30	23
		0	28	23
		0	28	0
	72 horas	0	22	22
		0	28	21
		0	29	24
		0	29	23
		0	28	22
Penicilina G 10 µg Agar Cerebro Corazón	24 horas	0	23	28
		0	23	20
		0	26	20
		0	24	22
		0	24	20
	48 horas	0	26	25
		0	24	27
		0	27	22
		0	25	20
		0	28	22
	72 horas	0	25	22
		0	25	23
		0	25	20
		0	25	18
		0	25	20
Eritromicina 15 µg Agar Mueller Hinton	24 horas	0	17	10
		0	20	0
		5	23	0
		5	19	0

	48 horas	5	20	0
		9	10	0
		12	20	0
		0	22	0
		0	21	0
		9	20	0
	72 horas	12	12	0
		0	21	0
		0	24	0
		0	20	0
Eritromicina 15 µg Agar Cerebro Corazón	24 horas	0	20	20
		0	22	11
		0	20	18
		0	19	20
		0	20	18
	48 horas	0	20	0
		0	20	0
		0	18	0
		0	20	0
	72 horas	0	20	0
		0	19	0
		0	16	0
		0	16	0
		0	21	0
	Tetraciclina 30 µg Agar Mueller Hinton	24 horas	32	8
32			13	17
32			14	11
36			11	15
32			11	0
48 horas		33	12	16
		30	14	16
		21	9	20
		28	11	16
72 horas		30	11	0
		25	12	15
		27	12	15
		32	11	25
		28	14	17
Tetraciclina 30 µg Agar Cerebro Corazón		24 horas	34	10
	32		11	20

		34	14	25	
		36	10	16	
		32	11	20	
	48 horas	35	10	20	
		33	10	20	
		29	12	15	
		30	11	18	
		30	11	18	
		72 horas	33	10	17
			30	10	20
	30		9	15	
	35		13	16	
	30		11	16	
	Estreptomicina 300 µg Agar Mueller Hinton	24 horas	36	21	26
36			22	30	
36			20	22	
36			20	23	
36			21	23	
48 horas		36	20	41	
		36	21	41	
		34	21	21	
		34	21	31	
72 horas		36	21	31	
		35	22	36	
		35	20	32	
		36	20	20	
		36	20	29	
		35	20	29	
Estreptomicina 300 µg Agar Cerebro Corazón	24 horas	36	22	31	
		34	26	35	
		32	19	21	
		34	21	26	
		36	21	26	
	48 horas	33	26	38	
		33	26	38	
		31	19	26	
		33	21	26	
		33	21	31	
	72 horas	33	24	31	
		33	24	37	
		31	21	20	
		35	21	26	
		35	20	26	

Sulfametoxazol - trimetoprim 1.5/ 23.75 µg Agar Mueller Hinton	24 horas	32	29	11
		32	29	16
		30	28	9
		30	28	22
		30	29	11
	48 horas	22	28	10
		22	28	13
		23	29	0
		21	28	0
		22	28	0
	72 horas	26	28	9
		21	28	13
		20	30	0
		21	30	0
		21	28	0
Sulfametoxazol - trimetoprim 1.5/ 23.75 µg Agar Cerebro Corazón	24 horas	32	0	20
		32	0	23
		28	0	16
		26	0	22
		30	0	0
	48 horas	28	0	14
		25	0	16
		20	0	11
		30	0	15
		22	0	0
	72 horas	30	0	14
		20	0	15
		22	0	13
		19	0	15
		21	0	0

Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO C: Antibióticos y diámetros críticos para *Staphylococcus spp*

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Penicilina	10 unidades	28	-	29
Oxacilina (<i>S. Aureus</i>)	1 µg	10	11-12	13
(<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>)	1 µg	17	-	18
GLICOPEPTIDOS				
Vancomicina	30 µg	-	-	15
Teicoplanina	30 µg	10	11-13	14
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	12	13-14	15
FLUOROQUINOLONAS				
Norfloxacin	10 µg	12	13-16	17
Ciprofloxacina	5 µg	15	16-20	21
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	14	15-18	19
MACROLIDOS				
Eritromicina	15 µg	13	14-22	23
LINCOSAMIDAS				
Clindamicina	2 µg	14	15-20	21
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	12	13-17	18
Rifampicina	5 µg	16	17-19	20
Nitrofurantoína	300 µg	14	15-16	17
Trimetoprim/sulfametoxazol	1.25/23.75 µg	10	11-15	16

Fuente: (Sacsquispe & Velásquez, 2002, http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_1%20sensibilidad.pdf)

ANEXO D: Antibióticos y diámetros críticos para *Enterobacterias*

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina	10 µg	13	14-16	17
CEFALOSPORINAS				
Cefalotina	30 µg	14	15-17	18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	14	15-22	23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	14	15-17	18
Cefoxitina	30 µg	14	15-17	18
Cefotaxima	30 µg	14	15-22	23
Ceftriaxona	30 µg	13	14-20	21
Ceftazidima	30 µg	14	15-17	18
Cefixima	5 µg	15	16-18	19
Cefpirome *	30 µg	14	15-17	18
Cefepime	30 µg	14	15-17	18
β LACTAMICO/ INHIBIDOR DE BETALACTAMASA				
Ampicilina/Sulbactam	10/10 µg	11	12-14	15
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	20/10 µg	13	14-17	18
Cefoperazona/sulbactam +	75 µg/30 µg	15	16-20	21
MONOBACTAMS				
Aztreonam	30 µg	15	16-21	22
CARBAPENEMS				
Imipenem	10 µg	13	14-15	16
Meropenem	10 µg	13	14-15	16
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	12	13-14	15
Amikacina	30 µg	14	15-16	17
QUINOLONAS				
Ácido nalidíxico	30 µg	13	14-18	19
Norfloxacin	10 µg	12	13-16	17
Ciprofloxacina	5 µg	15	16-20	21
Ofloxacina	5 µg	12	13-15	16
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	14	15-18	19
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	12	13-17	18
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75µg	10	11-15	16

Fuente: (Sacaquispe & Velásquez, 2002, http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_1%20sensibilidad.pdf)

ANEXO E: Diámetro de las zonas patrón y su equivalencia con los puntos de ruptura de las CMIs

Fuente: (NCCLS,1985; citados en Álvarez & Boquet,1995)

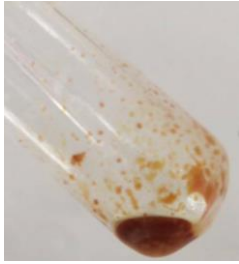
Agente antimicrobiano	Contenido del disco	Resistente	Diámetro interpretativo (mm)			Equivalente al punto de ruptura de CMI	
			Moderadamente		Resistente	Sensible	
			Intermedia	Sensible			
Ampicilina para gramnegativos entéricos	10 µg	<11	12-13	—	>14	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Para <i>Staphylococcus</i>	10 µg	<28	—	—	>29	β-lactamasa	<0,25 µg/ml
Para <i>Haemophilus</i>	10 µg	<19	—	—	>20	>4 µg/ml	<2 µg/ml
Para enterococo	10 µg	<16	—	>17	—	>16 µg/ml	—
Para otros estreptococos y <i>Listeria monocytogenes</i>	10 µg	<21	—	22-29	>30	>4 µg/ml	<0,12 µg/ml
Azlocilina para <i>Pseudomonas</i>	75 µg	<14	15-17	—	>18	>256 µg/ml	<64 µg/ml
Aztreonam	30 µg	<15	—	16-21	>22	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Carbenicilina							
Para <i>Enterobacteriaceae</i>	100 µg	<17	18-22	—	>23	>32 µg/ml	<16 µg/ml
Para <i>Pseudomonas</i>	100 µg	<13	14-16	—	>17	>512 µg/ml	<128 µg/ml
Cefalotina	30 µg	<14	15-17	—	>18	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Cefamandol	30 µg	<14	15-17	—	>18	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Cefazolina	30 µg	<14	15-17	—	>18	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Cefonicid	30 µg	<14	15-17	—	>18	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Cefoperazona	75 µg	<15	—	16-20	>21	>64 µg/ml	<16 µg/ml
Cefotaxima	30 µg	<14	—	15-22	>23	>64 µg/ml	<8 µg/ml
Cefotetán	30 µg	<12	—	13-15	>16	>64 µg/ml	<16 µg/ml
Cefoxitina	30 µg	<14	—	15-17	>18	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Ceftazidima	30 µg	<14	15-17	—	>18	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Ceftizoxima para aislados urinarios de <i>P. aeruginosa</i>	30 µg	<10	—	>11	—	>64 µg/ml	—
Para otros organismos	30 µg	<14	—	15-19	>20	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Ceftriaxona	30 µg	<13	—	14-20	>21	>64 µg/ml	<8 µg/ml
Cefuroxima	30 µg	<14	15-17	—	>18	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Cloranfenicol	30 µg	<12	13-17	—	>18	>25 µg/ml	<12,5 µg/ml
Cinoxacina	100 µg	<14	15-18	—	>19	>64 µg/ml	<16 µg/ml
Clindamicina	2 µg	<14	15-16	—	>17	>2 µg/ml	<1 µg/ml
Doxiciclina	30 µg	<12	13-15	—	>16	>16 µg/ml	<4 µg/ml
Eritromicina	15 µg	<13	14-17	—	>18	>8 µg/ml	<2 µg/ml
Estreptomina	10 µg	<11	12-14	—	>15	—	—
Gentamicina	10 µg	<12	13-14	—	>15	>8 µg/ml	<4 µg/ml
Imipenem	10 µg	<13	14-15	—	>16	>16 µg/ml	<4 µg/ml
Kanamicina	30 µg	<13	14-17	—	>18	>25 µg/ml	<6 µg/ml
Melicilina para <i>Staphylococcus</i>	5 µg	<9	10-13	—	>14	—	<3 µg/ml
Mezlocilina	75 µg	<12	13-15	—	>16	>256 µg/ml	<64 µg/ml
Minociclina	30 µg	<14	15-18	—	>19	>16 µg/ml	<4 µg/ml
Moxalactam	30 µg	<14	—	15-22	>23	>64 µg/ml	<8 µg/ml
Nafcilina para <i>Staphylococcus</i>	1 µg	<10	11-12	—	>13	—	<1 µg/ml
Acido nalidixico	30 µg	<13	14-18	—	>19	>32 µg/ml	<8 µg/ml
Netilmicina	30 µg	<12	13-14	—	>15	>32 µg/ml	<12 µg/ml
Nitrofurantoina	300 µg	<14	15-16	—	>17	>100 µg/ml	<25 µg/ml
Nortioxacina	10 µg	<12	13-16	—	>17	>16 µg/ml	<4 µg/ml
Oxacitina							
Para <i>Staphylococcus</i>	1 µg	<10	11-12	—	>13	—	<1 µg/ml
Para probar la sensibilidad del neumococo a la penicilina	1 µg	<19	—	—	>20	—	<0,06 µg/ml
Penicilina G							
Para <i>Staphylococcus</i>	10 unidades	<28	—	—	>29	β-lactamasa	>0,1 µg/ml
Para <i>N. gonorrhoeae</i>	10 unidades	<19	—	—	>20	β-lactamasa	>0,1 µg/ml
Para enterococo	10 unidades	<14	—	>15	—	>16 µg/ml	—
Para otros estreptococos y <i>L. monocytogenes</i>	10 unidades	<19	—	20-27	>28	>4 µg/ml	<0,12 µg/ml
Piperacilina	100 µg	<14	15-17	—	>18	>256 µg/ml	<64 µg/ml
Sulfonamidas	250 ó 300 µg	<12	13-16	—	>17	>350 µg/ml	<100 µg/ml
Tetraciclina	30 µg	<14	15-18	—	>19	>16 µg/ml	<4 µg/ml
Ticarcilina	75 µg	<11	12-14	—	>15	>128 µg/ml	<64 µg/ml
Ticarcilina/ácido clavulánico	75/10 µg	<11	12-14	—	>15	>128/2 µg/ml	<64/2 µg/ml
Tetramicina	10 µg	<12	13-14	—	>15	>8 µg/ml	<4 µg/ml
Trimetoprim	5 µg	<10	11-15	—	>16	>16 µg/ml	<4 µg/ml
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75 µg	<10	11-15	—	>16	>3/152 µg/ml	<2/38 µg/ml
Vancomicina	30 µg	<9	10-11	—	>12	—	<5 µg/ml

ANEXO F: Control de calidad y obtención de extractos

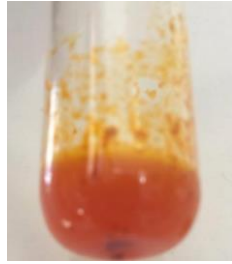


Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO G: Tamizaje fitoquímico



Sudán. (+)



Dragendorf (+)



Mayer (+)



Lieberman B. (+)



Borntrager (+)



Wagner (+)



Baljet (+)



Resinas (-)



Antocianidinas (+)



Saponinas (-)



Azúcar Reduc (+)



Shinoda (+)



Cloruro Férrico (+)



Mucílagos (+)

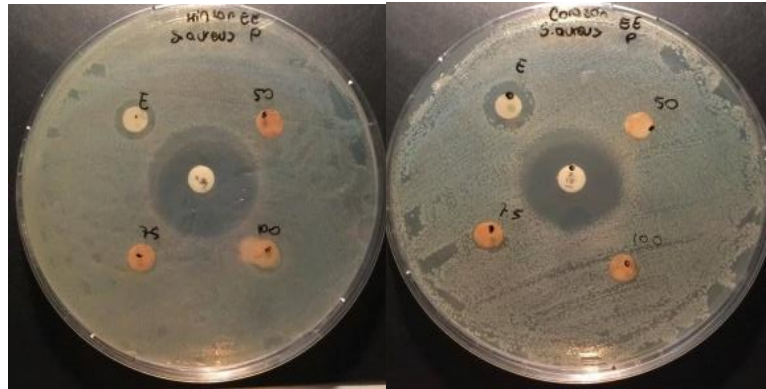
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO H: Mcfarland



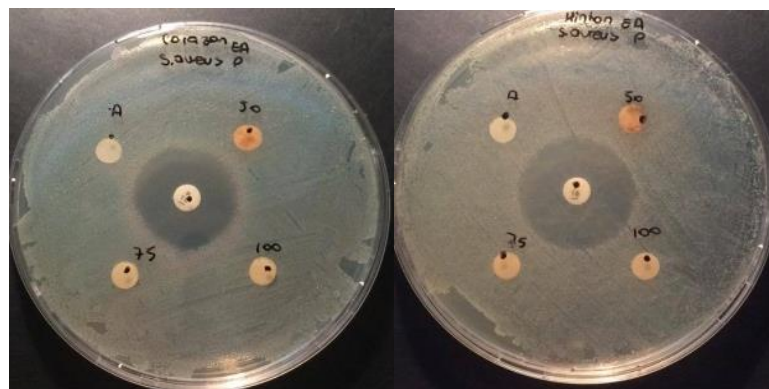
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO I: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Penicilina G 10 µg y etanol absoluto 24 horas



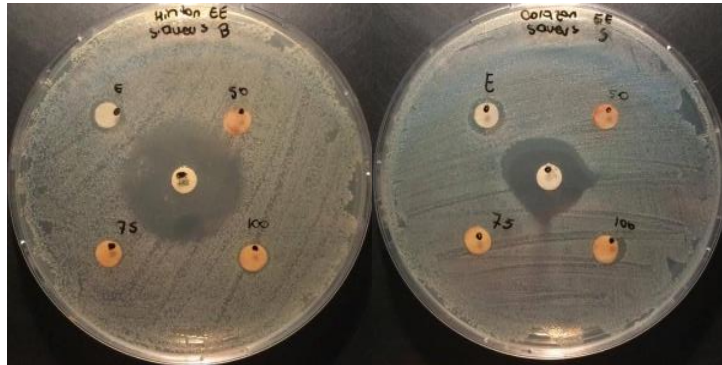
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO J: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Penicilina G 10 µg y Agua destilada estéril 24 horas



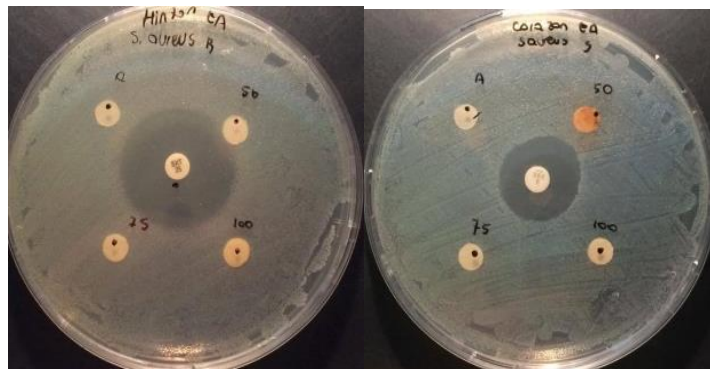
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO K: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Sulfametoxazol- Trimetoprim y etanol absoluto 24 horas



Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO L: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Sulfametoxazol- Trimetoprim y agua destilada estéril 24 h



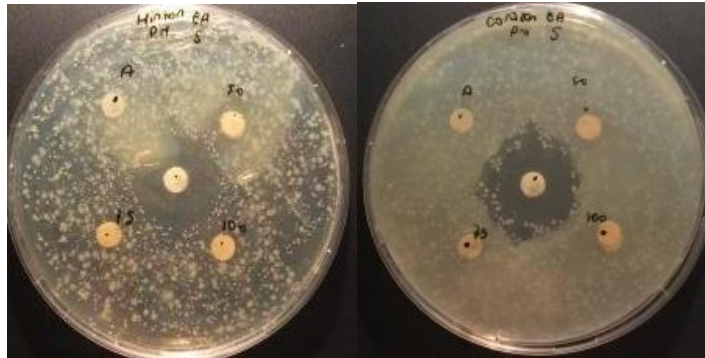
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO M: *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Estreptomicina y Etanol Absoluto 24 horas



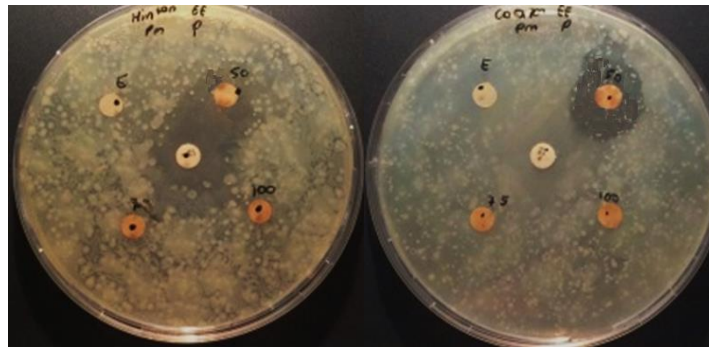
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO N: *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Estreptomicina y agua destilada estéril 24 horas



Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO O: *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Penicilina G 10 µg y etanol absoluto 24 horas



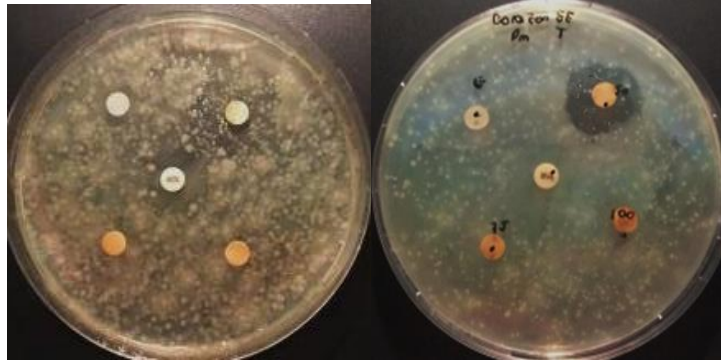
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO P: *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Penicilina G 10 µg y agua destilada estéril 24 horas



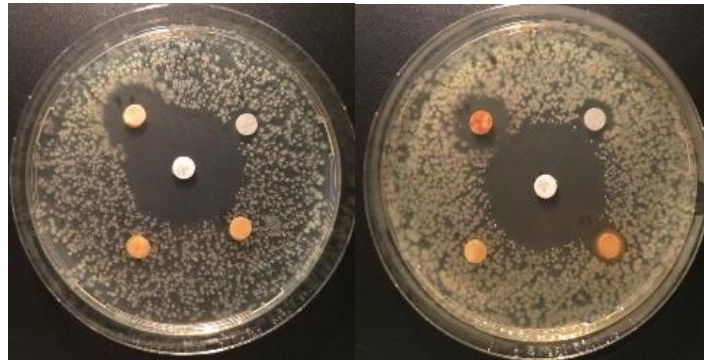
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO Q: *Proteus mirabilis* ATCC 25933 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Tetraciclina 30 µg y etanol absoluto 24 horas



Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO R: *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control estreptomicina y etanol absoluto 24 horas



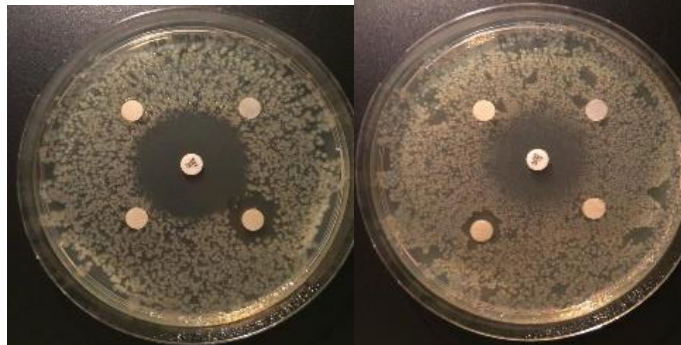
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO S: *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control estreptomicina y agua destilada estéril 24 horas



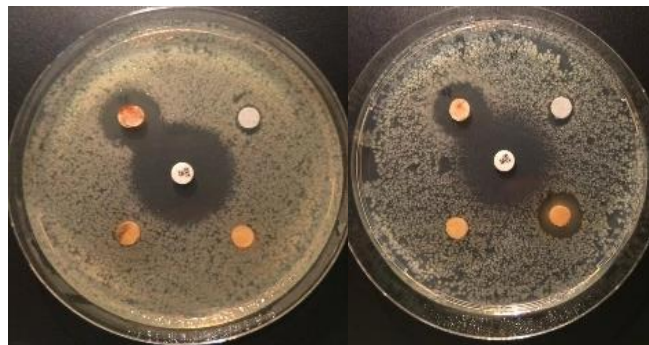
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO T: *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto acuoso control Sulfametoxazol / Trimetoprim y agua destilada estéril 24 horas



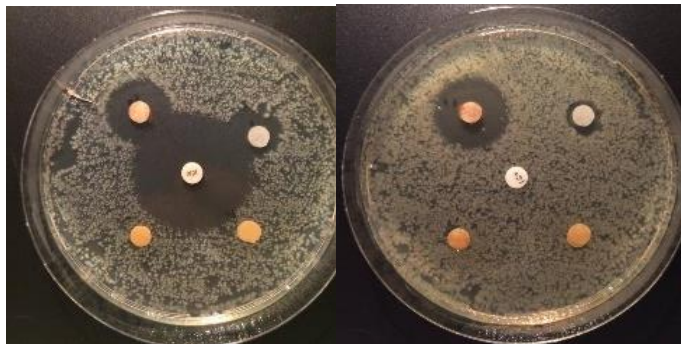
Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO U: *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Sulfametoxazol / Trimetoprim y etanol absoluto 24 horas



Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO V: *Escherichia coli* ATCC 9637 Agar Mueller Hinton y Agar Cerebro Corazón
Extracto etanólico control Penicilina G y etanol absoluto estéril 24 horas



Realizado por: Lissette Segovia, 2017

ANEXO W: Ensayos actividad antimicrobiana – Método difusión de discos



ANEXO X: Análisis sistema antiplagio- Urkund

URKUND

Documento: [Lissette Segovia_Tesis Ganoderma lucidum.docx](#) (D26237891)

Presentado: 2017-03-07 20:27 (-05:00)

Presentado por: Lissette Alejandra Segovia Tello (lissegoviatello@hotmail.com)

Recibido: carlos.espinosa.espocho@analysis.orkund.com

Mensaje: TESIS LISSETTE SEGOVIA [Mostrar el mensaje completo](#)

7% de esta aprox. 182 páginas de documentos largos se componen de texto presente en 55 fuentes.

Lista de fuentes	Bloques
Categoría	Enlace/nombre de archivo
	ESCRITO FINAL_BQF_THE END.docx
	http://dspace.espocho.edu.ec/bitstream/123456789/2555/1/56T00322.pdf
	https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/48669/48669_ft.pdf
	http://dspace.espocho.edu.ec/bitstream/123456789/4890/1/56T00499520UDCTFC...
	ARTICULO.docx

2 Advertencias. Reiniciar. Exportar. Compartir.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO OBTENIDO DE *Ganoderma lucidum* FRENTE A *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis*

Trabajo de titulación presentado para optar el grado académico de: BIOQUÍMICO FARMACEUTICO

AUTOR: LISSETTE ALEJANDRA SEGOVIA TELLO