

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela de Formación Profesional de
Ciencias Biológicas

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS FÚNGICOS DE
Trametes versicolor FRENTE A CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* y
Staphylococcus aureus”**

TESIS

Requisito para optar el título profesional de:

BIÓLOGO

AUTORES:

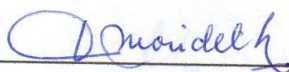
Machoa Arévalo Juan Carlos

Tananta Ochavano Radoc Jeffrey

IQUITOS – PERÚ

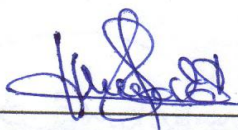
2017

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR



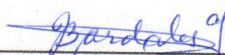
Blga. Teresa De Jesús Mori del Águila, Dra.

Presidenta



Blga. Mildred Magdalena García Dávila, Dra.

Miembro



Blga. Julia Bardales García, MSc.

Miembro

ACTA DE ASESORES



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dirección de Escuela de Formación
Profesional de Ciencias Biológicas

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 014
Fecha: 10 de octubre de 2017

En la ciudad de Huancayo, a los trece días del mes de octubre del 2017, se reunió en el aula de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano (UNAP) el jurado calificador y dictaminador de la tesis de grado, con el siguiente Director de Tesis: **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 014**, presentada por la **Blga. TERESA DEL ROSARIO AYALA** del **MAESTRÍA EN PROFESIONALES DE LA SALUD PÚBLICA**, Presidencia: **Blga. JULIA ROSARIO SANCHEZ**, M.Sc., Examinador y **Blga. WILFREDO RUIZ MESIA**, M.Sc., Examinador, con el siguiente tema de tesis: **EFECTOS DE LA SUSTENTACIÓN DE TESIS EN LA SALUD PÚBLICA**.

Mblgo. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, Dr.

Blga. María Elena Bendayán Acosta, MSc.

Ing. Wilfredo Ruiz Mesía, Dr.

El jurado calificador y dictaminador, con el puntaje alcanzado por los miembros es de **100% (100/100)**, considerando en la tesis de calificación, así como valoración de la **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**, CALIFICADO COMO **BUENO**, quedando en consecuencia los postulantes aptos para obtener el **Grado de Maestría**, según el reglamento del Estado profesional por la Universidad Nacional del Altiplano y, según el procedimiento inscrito al Colegio de Biólogos del Perú.

En consecuencia, la Presidencia del Jurado Calificador y Dictaminador levanta la sesión a las **12:00** horas y en fe de lo cual, todos los intervinientes suscriben la presente acta de sustentación por suscrita.

Blgo. Teresa del Rosario Sánchez, Dr.
PRESIDENTE

Blga. María Elena Bendayán Acosta, MSc.
SECRETARÍA

Ing. Wilfredo Ruiz Mesía, Dr.
SECRETARÍA

UNAP - Calle San Martín N° 1271, Huancayo, Perú
www.unap.edu.pe

ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dirección de Escuela de Formación
Profesional de Ciencias Biológicas

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 014

Iquitos, 03 de octubre de 2017

En la ciudad de Iquitos, a los tres días del mes de octubre del 2017 y, siendo las 10.00 am. horas; se reunió en el auditorio de las Direcciones de Escuelas de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNAP, el Jurado Calificador y Dictaminador de la tesis que suscribe, designado con Resolución Directoral N° 072-2016-DEFP-B-FCB-UNAP, presidido e integrado por; **Blga. TERESA DE JESÚS MORI DEL ÁGUILA, Dra., (Presidente)**, **Blga. JULIA BARDALES GARCÍA, M.Sc., (Miembro)** y **Blga. MILDRED MAGDALENA GARCÍA DÁVILA, Dra., (Miembro)**, para escuchar, examinar y calificar la sustentación y defensa de la tesis titulada: “**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS FÚNGICOS DE Trametes versicolor FRENTE A CEPAS DE Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus**” de los Bachilleres **JUAN CARLOS MACHOA ARÉVALO** de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, promoción 2015-II, graduado de bachiller con R.R. N° 0993-2016-UNAP de fecha 23 de agosto 2016 y **RADOC JEFFREY TANANTA OCHAVANO** de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, promoción 2015-II, graduado de Bachiller con R.R. N° 0566-2016-UNAP de fecha 26 de mayo 2016, reconociendo como asesores a los siguiente profesionales: Mblgo. **ALVARO BENJAMIN TRESIERRA AYALA, Dr.**; Blga. **MARIA ELENA BENDAYAN ACOSTA, M.Sc.**; Ingº **WILFREDO RUIZ MESÍA, Dr.**

Durante todo el desarrollo de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Calificador y Dictaminador, considerando lo establecido en el nuevo Reglamento de Grados y Títulos, aprobado y puesto en vigencia mediante RESOLUCIÓN DECANAL N° 206-2012-FCB-UNAP; realizó la evaluación del desempeño de los bachilleres, considerando los criterios y el puntaje consignados en la tabla de valoración.

Culminado el acto, el Jurado Calificador y Dictaminador, con el puntaje alcanzado por los Bachilleres y, aplicando los términos establecidos en la tabla de calificación; dió como veredicto; APROBADO **LA SUSTENTACIÓN DE TESIS, CALIFICADO COMO MUY BUENA**; quedando en consecuencia los candidatos **aptos** para ejercer la profesión de Biólogo, previo otorgamiento del título profesional por la autoridad universitaria competente y, su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalmente, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 11.20 am. horas y en fe de lo cual, todos los integrantes suscriben la presente acta de sustentación por sextuplicado.


Blga. Teresa de Jesús Mori del Águila, Dra.
PRESIDENTE


Blga. Julia Bardales García, M.Sc.
MIEMBRO


Blga. Mildred Magdalena García Dávila, Dra.
MIEMBRO

Dirección: Plaza Serafin Filomeno S/N, Iquitos, Perú
Teléfono: 236121

www.unapiquitos.edu.pe
e – mail: fccbb@unapiquitos.edu.pe

DEDICATORIA

A nuestras amadas madres: Sulema Arévalo Aspajo y Elvigia Ochavano Nuñez por su apoyo absoluto e incondicional en nuestro crecimiento personal y profesional.

A todas aquellas personas que aún, a pesar de las adversidades que presenta la vida, no se rinden y siguen luchando por sus sueños.

AGRADECIMIENTO

A Dios por la vida, la protección y el cuidado durante todos los días de nuestra existencia.

Agradecemos al Centro de Investigaciones de Recursos Naturales (CIRNA) de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, por facilitarnos los laboratorios de Microbiología y Fito-química, durante la ejecución de la presente investigación.

Agradecimientos sinceros a nuestros asesores: Mblgo. Álvaro B. Tresierra Ayala Dr, Blga. María E. Bendayán Acosta MSc, Ing. Wilfredo Ruiz Mesía Dr., por la comprensión, dedicación, y la calidad profesional brindada durante todo el proceso de ejecución de la presente tesis.

INDICE

ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	iv
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo General	3
2.2. Objetivo Especifico	3
III. REVISION DE LITERATURA.....	4
3.1. Antecedentes	4
3.2. Generalidades de la muestra fúngica	5
3.2.1. Familia Polyporaceae	5
3.2.2. Género Trametes	6
3.2.3. Clasificación taxonómica	6
3.2.4. Descripción de la especie.....	6
3.2.5. Hábitat:.....	7
3.2.6. Valor medicinal	7
3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
3.3.1. Problemas en la salud humana	8
3.3.2. Factores de riesgo	9
3.3.3. Mecanismo de resistencia	9
3.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	10
3.4.1. Epidemiología.....	11
3.4.2. Patogenia	11
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	13
4.1. Descripción del área de estudio	13
4.2. Área de colecta del hongo	13
4.3. Materiales	13
4.3.1. Material fúngico (extracto).....	13
4.3.2. Material bacteriológico	14
4.3.3. Medios de cultivo.....	14
4.3.4. Soluciones y reactivos	14

4.3.5.	Equipos	14
4.3.6.	Otros.....	15
4.4.	Métodos	16
4.4.1.	Recolección de <i>Trametes versicolor</i>	16
4.4.2.	Obtención del pulverizado fúngico.....	16
4.4.3.	Obtención del extracto etanólico.....	16
4.4.4.	Obtención del extracto acuoso.....	17
4.4.5.	Evaluación de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar 17	
4.4.6.	Preparación de la solución stock de cada extracto fúngico	17
4.4.7.	Preparación de los discos de sensibilidad	17
4.4.8.	Determinación de la sensibilidad de cepas bacterianas a los extractos fúngicos 18	
4.4.9.	Determinación de la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de los extractos fúngicos con actividad antibacteriana.....	19
4.5.	TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	21
4.5.1.	POBLACIÓN.....	21
4.5.2.	MUESTRA	22
4.5.3.	PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	22
V.	RESULTADOS.....	23
5.1.	Actividad antibacteriana de los extractos fúngicos de <i>Trametes versicolor</i> frente a cepas de <i>P. aeruginosa</i> y <i>S. aureus</i>	23
5.2.	Grado de Sensibilidad del diámetro de las cepas bacterianas en estudio frente a los extractos acuoso y etanólico.....	24
a.	Sensibilidad de cepas de <i>P. aeruginosa</i>	24
b.	Sensibilidad de cepas de <i>S. aureus</i>	25
5.3.	Concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de los extractos fúngicos.....	26
a.	Extracto acuoso.....	27
b.	Extracto etanólico.....	28
VI.	DISCUSIÓN	29
VII.	CONCLUSIONES	32
VIII.	RECOMENDACIONES	33
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
X.	ANEXOS.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 01: Sensibilidad de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, frente a los extractos acuoso y etanólico de *Trametes versicolor*.....25

Figura N° 02: Sensibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente a los extractos acuoso y etanólico de *Trametes versicolor*.....26

LISTA DE CUADROS

Cuadro N° 01: Sensibilidad de las cepas bacterianas en estudio representado en número y porcentaje (%).....	23
Cuadro N° 02: Halos de inhibición de los extractos fúngicos de <i>Trametes versicolor</i> en <i>Pseudomonasaeruginosa</i>	24
Cuadro N° 03: Halos de inhibición de los extractos fúngicos de <i>Trametes versicolor</i> en <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Cuadro N° 04: Concentración inhibitoria mínima y Concentración bactericida mínima de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> frente al extracto acuoso de <i>Trametes versicolor</i>	27
Cuadro N°05: Concentración inhibitoria y Concentración bactericida mínima de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> frente al extracto etanólico de <i>Trametes versicolor</i>	28

LISTA DE ANEXO

Anexo 01: Área de estudio	31
Anexo 02: Determinación de la sensibilidad de cepas bacterianas a los extractos fúngicos.....	39
Anexo 03: Determinación de la concentración inhibidora mínima (CIM).....	40
Anexo 04: Determinación de la concentración bactericida mínima (CBM).....	41
Anexo 05: Colecta de <i>Trametes versicolor</i>	42
Anexo 06: Pulverizado del hongo <i>Trametes versicolor</i> --.....	42
Anexo 07: Obtención de los extractos, acuoso y etanólico	42
Anexo 08: Extracto acuoso y etanólico.....	43
Anexo 09: Siembra de bacterias.....	43
Anexo 10: Preparación de los discos de sensibilidad.....	43
Anexo 11: Aplicación de los discos de sensibilidad.....	44
Anexo 22: Concentración inhibitoria mínima (CIM).....	44

RESUMEN

Los hongos son una fuente importante de moléculas bioactivas, compuestos o fracciones específicas que podrían ser utilizados para obtener nuevas drogas o compuestos antimicrobianos y así solucionar los problemas de resistencia bacteriana; por ello en el presente trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos fúngicos de *Trametes versicolor* frente a diez cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, mediante el método de Difusión en agar. El 60 % de las cepas de *P. aeruginosa* y el 20 % de las cepas de *S. aureus* fueron sensibles al extracto acuoso, mientras que para el extracto etanólico sólo presentaron sensibilidad el 40 % de las cepas de *P. aeruginosa*. El valor de la Concentración Inhibitoria Mínima del extracto acuoso para *P. aeruginosa* fue de 250 mg/ml y para *S. aureus* el valor fluctuó entre 62.5 a 3.9 mg/ml; el extracto etanólico sólo tuvo en *P. aeruginosa* a 125mg/ml. En las condiciones empleadas en este estudio no se registraron valores de Concentración Bactericida Mínima. Los resultados obtenidos demuestran que los basidiomicetos que crecen en nuestra región pueden ser fuente de productos con potencial farmacológico y una alternativa de solución frente a bacterias multidrogorresistentes.

Palabras claves: Moléculas bioactivas, Concentración inhibitoria mínima
Concentración bactericida mínima, Multidrogorresistente.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema de salud pública que ocurre cada vez con más frecuencia tanto en el ámbito hospitalario como en el comunitario, con fuertes impactos en términos de morbilidad, mortalidad y costos ⁽¹⁾.

Las bacterias son capaces de desarrollar varios mecanismos de resistencias, que consisten fundamentalmente en la producción de enzimas bacterianas que inactivan los antibióticos o en la aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana ⁽¹⁾.

En particular *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, a lo largo de la historia se han adaptado y suelen ser resistentes frente a los medicamentos de uso para su control; de igual manera, se han convertido actualmente en un problema, puesto que ocasionan infecciones nosocomiales o sencillamente son oportunistas, y por lo tanto, un riesgo significativo para la salud de la población, tanto en los países en vía de desarrollo como en los desarrollados ⁽²⁾. Por ello, a nivel mundial muchos laboratorios están abocados a la búsqueda de nuevas sustancias o alternativas de las ya conocidas.

La creciente demanda de productos farmacéuticos de origen natural ha obligado a intensificar la investigación en cuanto al descubrimiento y desarrollo de nuevas alternativas para el tratamiento de diversas infecciones causadas por agentes bacterianos. En este sentido, la obtención de metabolitos secundarios producidos por algunos organismos se ha convertido en una de estas alternativas, entre las cuales se pueden considerar a los basidiomicetos, debido a que son fuentes de productos naturales y ofrecen grandes

posibilidades para la obtención de nuevas estructuras biológicamente activas⁽³⁾.

Diversos investigadores consideran a los hongos como una fuente importante de moléculas bioactivas, compuestos o fracciones específicas que podrían extraerse para producir antibióticos o drogas farmacéuticas. Los cuerpos fructíferos y el micelio de diversos hongos contienen compuestos con actividad antibacteriana, las cuales son fuentes ricas de antibióticos naturales donde algunos de sus metabolitos secundarios actúan frente a bacterias, hongos y virus⁽⁵⁾.

Actualmente, el uso de los macromicetos con fines medicinales se ha extendido alrededor del mundo; como sucede en países como Corea, China y Japón, así mismo, en Rusia, Estados Unidos y Canadá han incorporado estos hongos en el tratamiento de diversas enfermedades, debido a que se han descubierto que poseen notables propiedades medicinales⁽⁴⁾. Sin embargo, el número de especies de macromicetos investigadas es relativamente baja, considerando el conocimiento del gran potencial de estos organismos para la producción de fármacos, la experiencia en el uso etnomedicinal de los hongos superiores y su capacidad de estos para producir metabolitos secundarios bioactivos⁽⁵⁾.

Por lo tanto, la presente investigación consistió en determinar de la actividad antibacteriana de *Trametes versicolor* frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; y de esa manera proponer nuevas alternativas para el tratamiento o prevención de enfermedades infecciosas causados por estos agentes bacterianos, y a la vez, contribuir a minimizar el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana de extractos fúngicos de *Trametes versicolor* en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

2.2. Objetivo Especifico

- Obtener los extractos fúngicos acuoso y etanólico de *Trametes versicolor*.
- Determinar la capacidad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de *Trametes versicolor* frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.
- Determinar cuál de estas cepas bacterianas serán más sensibles a los extractos fúngicos acuoso y etanólico con actividad antibacteriana.
- Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM).

III. REVISION DE LITERATURA

3.1. Antecedentes

Los hongos representan una fuente ilimitada de polisacáridos, lectinas, complejos polisacárido-péptidos o polisacárido-proteínas con propiedades, antitumorales e inmunoestimulantes, ejerciendo sus efectos a través de la activación de varios tipos de células efectoras del sistema inmune. Estos polisacáridos biológicamente activos se pueden encontrar en los cuerpos fructíferos, en el micelio cultivado e incluso ser extraídos del medio donde se cultivan ^{(6) (7) (8)}.

Rowan *et al* ⁽⁹⁾, en un estudio del hongo *Trametes versicolor*, en la Universidad de Strathclyde-Inglaterra, descubrió la existencia de dos compuestos muy interesantes, un complejo polisacárido-proteína soluble en agua, el Polisacárido-K (PSK), de nombre comercial krestino, y un polisacárido-péptido (PSP) ambos obtenidos de su micelio, y con una extraordinaria actividad inmunopotenciadora y anticancerígena.

Jong & Yang; ⁽¹⁰⁾ Yeung ⁽¹¹⁾, en el Simposio Internacional de Medicina Tradicional China y el cáncer realizado en Hong Kong, demostraron que la forma polivalente en el que PSP actúa para proteger las células del hígado y los mecanismos de desintoxicación, demuestra la utilidad potencial de los extractos de *T. versicolor*, para evitar daños a partir de compuestos reactivos que pueden ser agentes cancerígenos.

En la práctica clínica de la medicina tradicional china, *T. versicolor* se recomienda para los distintos tipos de hepatitis crónica, e infecciones del aparato respiratorio, urinario, digestivo y vías urinarias superiores ^{(10) (12)}.

Investigaciones en China de Zou & Zhu ⁽¹³⁾, han demostrado que este hongo tiene actividad antiviral contra el virus de ectromelia y las infecciones por citomegalovirus (90) y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

En China, *T. versicolor* se llama Yun Zhi (que significa "como nube de hongo"). Las investigaciones han descubierto que este hongo tiene actividad frente a las bacterias. ^{(14) (15)}

Leung *et al* ⁽¹⁶⁾ en el Instituto de Medicina China han demostrado que los extractos obtenidos a partir de *Trametes versicolor* son propensos a tener efectos estimulantes sobre el sistema inmunológico e inhibir el crecimiento de células cancerosas. Debido a estas propiedades, *Trametes versicolor* es considerado un modificador de la respuesta biológica (BRM).

Cai *et al*; ⁽¹⁷⁾ Wasser; ⁽¹⁸⁾ Wasonga *et al* ⁽¹⁹⁾, mencionan que los extractos acuosos de *T. versicolor* han sido empleados en la medicina oriental por sus efectos medicinales, especialmente en el tratamiento del cáncer.

3.2. Generalidades de la muestra fúngica

3.2.1. Familia Polyporaceae

Esta familia tiene el Himenio indefinido, formado por poros de distintas formas, abiertos en la carne del carpóforo raramente carnoso,

generalmente suberosos, coriáceos o leñosos. La mayoría crece sobre madera, generalmente con formas de repisa ⁽²⁰⁾.

3.2.2. Género *Trametes*

El género *Trametes* frecuentemente tiene su receptáculo estacionario, la trama espesa y clara; los tubos huecos son de dimensiones considerables, frecuentemente lameloides, separados por tabiques algo espesos. Sus esporas son hialinas, lisas y sin cistides ⁽²¹⁾.

3.2.3. Clasificación taxonómica

Reino	:	Fungi
División	:	Basidiomycota
Clase	:	Basidiomycetes
Orden	:	Aphylophorales
Familia	:	Polyporaceae
Género	:	<i>Trametes</i>
Especie	:	<i>Trametes versicolor</i> (L. ex Fri) Pillat (1921)

3.2.4. Descripción de la especie

Trametes versicolor antes conocido como *Coriolus versicolor* o *Polyporus versicolor* presenta pie sésil y Carpóforo, de 3 a 10 cm de longitud, con formas de abanicos semicirculares o riñón, delgados y con borde fino y ondulado de color blanco-crema. Crecen en grupos sobre madera muerta, con sombreros imbricados. Cutícula tomentosa o aterciopelada, seca, en

la cual se aprecian bandas concéntricas con anchuras variables y colores diferentes que pueden ir desde los tonos pardos, negruzcos, azulados, marrones, rojizos u ocre. La parte inferior del sombrero está formada por tubo cortos de color blanco o crema con poros pequeños de igual color que los tubos, los cuales amarillean con el tiempo. Carne muy delgada de 1-3mm de textura, coriácea y blanca, flexible en invierno y dura en verano (22).

3.2.5. Hábitat:

Es una especie que fructifica sobre madera de árboles planifolios, coníferas, e incluso sobre algunos frutales, provocando en el árbol una podredumbre blanca. Es un hongo muy frecuente y extendido que puede hacer acto de aparición en cualquier época del año si las condiciones ambientales son adecuadas. El hongo se produce todas las zonas templadas boscosas de Asia, Europa y América (23).

3.2.6. Valor medicinal

Las setas han sido tradicionalmente apreciadas en Asia por sus cualidades nutricionales y medicinales. *Trametes versicolor* o “cola de pavo”, ha sido investigada por numerosos laboratorios en animales y humanos. La mayor parte de estos estudios han atribuido a la “cola de pavo” actividad antimicrobiana, antiviral y antitumoral usada como complemento de quimioterapia y/o radioterapia (24).

3.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (PA) es el principal patógeno oportunista de la familia *Pseudomonadaceae* y se identifica por ser un bacilo gramnegativo ligeramente curvado que crece en aerobiosis, es muy versátil nutritivamente y *no fermenta hidratos de carbono, pero produce ácido a partir de azúcares como la glucosa*. Etimológicamente, “*Pseudomonas*” significa “falsa unidad”, del griego “*Pseudo*” que significa “falso” y “*monas*” que significa “unidad simple”. El nombre fue usado inicialmente en la historia de la microbiología como sinónimo de gérmenes: *aeruginosa* que significa “el color del cobre oxidado”, reflejando el característico color azul verdoso que presentan las colonias de los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*⁽²⁵⁾.

P. aeruginosa se caracteriza por estar ampliamente distribuida en la naturaleza formando parte de la microbiota *normal* del hombre. La tierra, plantas, agua corriente pueden actuar como reservorio con clara predilección de los ambientes húmedos tolerando un amplio rango de temperatura de crecimiento (hasta 50⁰C). La facilidad para crecer en la naturaleza como a nivel nosocomial le permite ser una de las principales causas de infecciones hospitalarias graves⁽²⁶⁾.

3.3.1. Problemas en la salud humana

A nivel nosocomial puede ser causa de infecciones en casi todas las partes del cuerpo o coloniza casi cualquier sitio que esté expuesto. Es causante de diferentes cuadros clínicos, entre los que destacan, infección del tracto respiratorio en forma de neumonía relacionada con la

ventilación mecánica o con menor frecuencia con la comunidad y también infecciones crónicas ya sea en pacientes con fibrosis quística (FQ) o con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). *P. aeruginosa* se adapta a las vías respiratorias de los humanos y sigue siendo su localización más frecuente ⁽²⁷⁾.

3.3.2. Factores de riesgo

Relacionados con el ámbito hospitalario. La realización de procedimientos diagnósticos o terapéuticos. Tanto la ventilación mecánica invasiva como la no invasiva está relacionada con la adquisición de *P. aeruginosa* y neumonía nosocomial por *P. aeruginosa* multidrogoresistente ⁽²⁸⁾ ⁽²⁹⁾, la utilización de sonda nasogástrica ⁽³⁰⁾ y el sondaje vesical ⁽³¹⁾. Una estancia hospitalaria prolongada, está en relación con mayor probabilidad de colonización por bacterias resistentes ya sea por transmisión cruzada o por la selección de mutantes resistentes secundarios a la presión antibiótica (mediante pacientes o personal sanitario) o a través del ambiente hospitalario ⁽³²⁾. Existen casos de infecciones por *P. aeruginosa multiresistentes* en muestras ambientales ⁽³³⁾, aunque existen casos relacionados con la “asistencia sanitaria” o directamente adquiridos en la comunidad ⁽³⁴⁾.

3.3.3. Mecanismo de resistencia

P. aeruginosa presenta un alto nivel de resistencia, por un lado, resistencia intrínseca o natural a los antibióticos y por otro lado una

extraordinaria capacidad para adquirir mecanismos de resistencia, generalmente mediante mutaciones. Esta resistencia está dada en gran medida por su membrana externa, probablemente el factor más importante sea la presencia de bombas de expulsión sobre todo MexAB-OprM, con capacidad para expulsar antibióticos betalactámicos, tetraciclina, cloranfenicol, macrólidos, fluoroquinolonas, sulfonamidas y trimetropi ⁽³⁵⁾.

3.4. *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5µm, agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogston ⁽³⁶⁾ introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego “*staphyle*” que significa “racimo de uvas”, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. La mayoría de los estafilococos producen catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos ⁽³⁷⁾ ⁽³⁶⁾. *S. aureus* crece bien en medios de cultivos no selectivos, como el agar sangre, agar chocolate, cerebro corazón infusión agar (BHI, por sus siglas en inglés) y medios líquidos para hemocultivo donde se recupera fácilmente ⁽³⁸⁾.

3.4.1. Epidemiología

S. aureus es uno de los patógenos más importantes a nivel mundial, bacteria oportunista que forma parte de la microflora humana: poco después del nacimiento, los neonatos son colonizados por *S. aureus*, los sitios de colonización incluyen el muñón del cordón umbilical, el área perineal, la piel y, a veces, el tracto gastrointestinal. También puede contaminar la vestimenta y la ropa de cama. La colonización más frecuente por *S. aureus* es la mucosa nasal, el principal reservorio lo constituye el hombre enfermo o el portador. Es más frecuente la colonización en el hospital, especialmente en pacientes con hemodiálisis, diabéticos tipo1, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados con VIH y adictos a las drogas⁽³⁹⁾.

Algunos de los aspectos más importantes en los últimos años son las infecciones por *S. aureus* que han reemergido debido a que la bacteria se ha tornado resistente a diversos antibióticos con los que normalmente se les trata. Durante varias décadas se han reportado un gran número brotes epidémicos de *S. aureus* a nivel mundial, sobre todo en los hospitales, centros de atención, clínicas y recientemente ha surgido en la comunidad. Actualmente, estos brotes se dividen como infecciones nosocomiales e infecciones adquiridas en la comunidad⁽³⁹⁾.

3.4.2. Patogenia

Entre 20 y 50% de la población mundial es portadora de *S. aureus* en fosas nasales y 30% de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal. Cuando las barreras mecánicas se rompen, esta bacteria puede alcanzar

los tejidos más profundos y producir enfermedad. Los pacientes con infecciones por *S. aureus* suelen infectarse con la misma cepa que coloniza sus fosas nasales, la colonización también permite la transmisión entre individuos del hospital como en la comunidad. Para una adecuada supervivencia e invasión del huésped todo este sistema de factores de virulencia debe de estar dentro de un sistema de comunicación célula-célula conocido como *quorum sensing* (QS). Este sistema QS está mediado por pequeñas proteínas producidas por las bacterias que se denominan autoinductoras, y dependiendo de factores ambientales, pueden activar un gran número de genes que contienen los factores de virulencia. El sistema QS más estudiado es el de *S. aureus*, denominado regulador de genes accesorios o *agr*⁽⁴⁰⁾.

Durante varias décadas, el análisis molecular y genético de *S. aureus* ha revelado la presencia de adhesinas de superficie que median la adherencia y colonización de las células blanco, la secreción de enzimas y toxinas, responsables de la invasión, así como ser la causa de enfermedades distantes del foco inicial. El desarrollo de la genómica y la disponibilidad que se tiene de la secuencia completa de nucleótidos del genoma de *S. aureus*, ha ayudado a entender mejor su patogénesis⁽⁴¹⁾.

A demás *S. aureus* contiene un ADN exógeno, móvil, constituido por secuencias de inserción, transposones, bacteriófagos e islas de patogenicidad, que contienen determinantes específicos responsables del desarrollo de la enfermedad y resistencia a múltiples antibióticos^{(41) (37) (36)}.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Descripción del área de estudio

La presente investigación se realizó en la ciudad de Iquitos, provincia de Maynas, departamento de Loreto. Iquitos geográficamente se encuentra entre las coordenadas 3°49'40" latitud sur y 72°22'39" longitud oeste, con una altitud aproximada de 124.4 m.s.n.m. (www.google/maps.com) ⁽⁴²⁾

Los ensayos bacteriológicos se ejecutaron en el laboratorio de microbiología, del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonía (CIRNA – UNAP), ubicado en el Psje. Los Paujiles s/n AA.HH. Nuevo San Lorenzo, distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas.

4.2. Área de colecta del hongo

La colecta de *Trametes versicolor* se realizó en el centro de investigación y enseñanza forestal (CIEFOR) Puerto Almendra; el cual tiene aproximadamente una superficie de 2000 has; geográficamente se encuentra en las coordenadas 3° 49'40" latitud sur y 73° 22'30" longitud oeste, a una altitud aproximada de 122 m.s.n.m. (www.siamazonia.org.pe) ⁽⁴³⁾

4.3. Materiales

4.3.1. Material fúngico (extracto)

Trametes versicolor.

4.3.2. Material bacteriológico

Proporcionado por el Laboratorio de Microbiología del CIRNA – UNAP.

10 cepas de *Staphylococcus aureus*

10 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

4.3.3. Medios de cultivo

- Agar Müller Hinton.
- Agar tripticasa de soya.
- Caldo tripticasa de soya.

4.3.4. Soluciones y reactivos

- Etanol.
- Agua destilada
- Alcohol industrial.
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Discos de Tetraciclina

4.3.5. Equipos

- Estufa----- Memmert
- Refrigerador-----Coldex
- Criopreservador-----Sanyo
- Autoclave-----Famarel
- Cabina de Flujo laminar---- Labconco

- Horno Esterilizador-----Mettler

4.3.6. Otros

- Algodón
- Asas bacteriológicas
- Cocina eléctrica
- Frascos de vidrio pequeños
- Guantes descartables
- Hisopos estériles
- Mandil
- Mascarillas
- Mechero de alcohol
- Micropipetas 100uL y 1000uL
- Microscopio óptico
- Papel filtro Whatman N° 3
- Perforador convencional
- Pipetas volumétricas de 1ml, 5ml y 10ml
- Placas Petri
- Tubos de ensayo

4.4. Métodos

4.4.1. Recolección de *Trametes versicolor*

Antes de la colecta del hongo se anotó las características más sobresalientes que nos ayudaron a su identificación, seguidamente se colectaron los ejemplares de *Trametes versicolor* con la ayuda de un puñal y navajas, desprendiéndolo con mucho cuidado del sustrato en el que se encontró; a su vez se realizó tomas fotográficas de los diferentes ejemplares colectados, con el propósito de conservar las características originales de campo; y finalmente los hongos colectados se colocaron en un termo hermético para su transporte.

4.4.2. Obtención del pulverizado fúngico

Los ejemplares colectados de *Trametes versicolor* se trasladaron al laboratorio para ser pesados, cortados y secados por un periodo de 8 días a temperatura ambiente; terminado el tiempo de secado, se procedió a pesar y moler con un molinillo manual de acero inoxidable, seguidamente se pesaron y se colocaron los pulverizados homogéneamente en diferentes recipientes para la obtención de los extractos.

4.4.3. Obtención del extracto etanólico

Para la preparación del extracto fúngico se empleó el método de maceración, con etanol a temperatura ambiente por un periodo de 15 días, con renovación del solvente cada 5 días, hasta agotamiento; seguidamente el solvente se eliminó mediante presión reducida a 55 °C,

el extracto obtenido se pesó y fue conservado en frasco de vidrio a -10 °C para su posterior uso.

4.4.4. Obtención del extracto acuoso

La muestra seca y molida se extrajo por cocción en agua por un periodo de 20 minutos, seguidamente se dejó enfriar, luego se filtró y eliminó el agua. El solvente fue eliminado mediante presión reducida a 55 °C y el extracto obtenido fue pesado y conservado en frasco de vidrio a -10 °C para su posterior uso.

4.4.5. Evaluación de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar

Se trabajó por duplicado, es decir, dos ensayos por cepa para determinar la capacidad antibacteriana de los extractos fúngicos frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

4.4.6. Preparación de la solución stock de cada extracto fúngico

Se pesó 400 mg de cada extracto, luego se disolvió en 400 µl de agua destilada estéril para la obtención de la solución stock (1 mg/µl), a partir de la cual se preparó los discos de sensibilidad.

4.4.7. Preparación de los discos de sensibilidad

Se empleó un perforador convencional con el que se confeccionaron los discos de papel de filtro Whatman; estos se esterilizaron en horno a

180°C por 1 h y 30 min. Posteriormente se le agregó a cada uno de ellos 15 µl de la solución stock de extractos fúngicos; y se los dejó secar a 37 °C por espacio de 24 h a temperatura ambiente. Se empleó como control, discos de antibióticos de tetraciclina para *S. aureus* y cefepime para *P. aeruginosa*.

4.4.8. Determinación de la sensibilidad de cepas bacterianas a los extractos fúngicos

4.4.8.1. Aplicación del inóculo

Las cepas bacterianas conservadas en Caldo Tripticasa de Soya (TSB) se replicaron en placas con Agar Tripticasa de Soya (TSA) e incubó por espacio de 18 a 24 h, para obtener cultivos jóvenes.

Luego se procedió a preparar las suspensiones bacterianas en suero fisiológico al 0,8 %, ajustándose la turbidez al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland (aprox. 1.5×10^8 UFC/ml).

4.4.8.2. Sensibilidad de las cepas bacterianas a los extractos fúngicos

Se realizó por duplicado, es decir, dos ensayos por cepa, colocando 0.1 ml de la suspensión bacteriana en la superficie de cada placa con agar Mueller Hinton y se diseminó sobre la superficie con la ayuda de un hisopo estéril. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido. Luego,

se aplicó el método de difusión en disco (Kirby – Bauer).

4.4.8.3. Aplicación de los discos

Los Discos impregnados con los extractos fúngicos y el disco de antibiótico control, se colocaron sobre la superficie del agar, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro para evitar la superposición de las zonas de actividad. Se incubaron las placas en posición invertida a 37° C por 18 a 24 horas. Transcurrido dicho periodo, se registró la actividad en función a la presencia o ausencia de un halo alrededor de cada disco. La lectura se efectuó midiendo el diámetro de los halos obtenidos.

4.4.9. Determinación de la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de los extractos fúngicos con actividad antibacteriana.

4.4.9.1. Preparación de la suspensión bacteriana

Las cepas bacterianas se cultivaron en el medio Agar tripticasa de Soya (TSA) durante 18 h, posteriormente se realizó suspensiones en solución salina fisiológica estéril hasta alcanzar la densidad bacteriana equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de McFarland (aproximadamente 1.5×10^8 UFC/ml). A continuación, se realizó una dilución al 1/100 (aproximadamente 1.5×10^6 UFC/ml) transfiriendo 100 μ L (0.1 ml) de la suspensión bacteriana a 9.9 ml de caldo tripticasa de soya (TSB).

4.4.9.2. Macrodilución en caldo

Se tuvo listos 10 tubos con 1 ml de Caldo tripticasa de soya para cada prueba (tubo N°1 al tubo N°10). Por otro lado, se preparó una solución madre de cada extracto fúngico a una concentración de 500 mg/ml. Se añadió 1ml de la solución madre del extracto al tubo N° 1 que contenía 1ml de Caldo tripticasa de soya (concentración del extracto en este tubo es 250 mg/ml), se mezcló bien con la ayuda de un vórtex. A partir de este tubo, se preparó diluciones dobles seriadas, para lo cual se tomó 1 ml y se transfirió al tubo N°2 (concentración del extracto = 125 mg/ml), después de mezclar bien el contenido, se pasó 1 ml al tercer tubo, del cual la concentración de extracto fué 62.5 mg/ml y así sucesivamente hasta el tubo N° 10, del cual se tomó y descartó 1 ml; de este modo se obtuvo diluciones dobles de cada extracto desde 250 mg/ml hasta 0.48mg/ml.

4.4.9.3. Aplicación del inóculo (cepa bacteriana)

Posteriormente, se añadió a cada tubo con el extracto (Tubo N° 1 al 10), 1 ml del inóculo preparado de la cepa bacteriana que contuvo aproximadamente 1.5×10^6 UFC/ml, esto suponía un inóculo final aproximado de 7.5×10^5 UFC/ml y las concentraciones finales de los extractos fueron desde 125 mg/ml hasta 0.24mg/ml. Los tubos fueron incubados a 37 °C durante 18 horas.

4.4.9.4. Concentración inhibitoria mínima (CIM)

Se procedió a calcular la CIM, considerándolo como la concentración correspondiente al tubo con menor concentración del extracto donde no hubo crecimiento bacteriano.

4.4.9.5. Determinación de la concentración bactericida mínima (CBM)

A partir de cada uno de los tubos sin desarrollo bacteriano, se inoculó 0.1 ml en placas con Agar tripticasa de soya y con un asa de vidrio se dispersó en toda la superficie del agar en tres direcciones, las que se incubaron a 37 °C durante 18 horas. Finalmente, para determinar la CBM se contó el número de colonias en las placas, considerándose dicha CBM como la menor concentración del extracto cuyo subcultivo produce un número de colonias menor al 0.1% del inóculo original (7.5×10^5 UFC/ml), es decir, un número menor a 750 UFC/ml, y como se inoculó la décima parte de 1 ml (0.1 ml), entonces se consideró la CBM al subcultivo que produjera menos de 75 colonias.

4.5. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación fue de diseño experimental de tipo descriptivo

4.5.1. POBLACIÓN

Hongos de la especie *Trametes versicolor* del Centro de Investigación y Enseñanza Forestal (CIEFOR) Puerto Almendra.

4.5.2. MUESTRA

2 kg del hongo *Trametes versicolor*.

4.5.3. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Los resultados se evaluaron mediante estadística descriptiva, utilizando el programa estadístico EXCEL 2013

V. RESULTADOS

En la presente investigación se trabajó con los extractos fúngicos acuoso y etanólico de *Trametes versicolor* y se puso a prueba diez cepas bacterianas de *P. aeruginosa* y *S. aureus* respectivamente.

5.1. Actividad antibacteriana de los extractos fúngicos de *Trametes versicolor* frente a cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus*

El cuadro N° 01 indica el número y porcentaje de cepas bacterianas que presentaron sensibilidad a los extractos fúngicos; el 60% de *P. aeruginosa* y el 20% de *S. aureus*, presentaron sensibilidad al extracto acuoso, mientras que para el extracto etanólico sólo fue sensible *P. aeruginosa* en un 40%.

Cuadro N° 01: Sensibilidad de las cepas bacterianas en estudio representado en número y porcentaje (%).

Sensibilidad de las cepas bacterianas en número y porcentaje				
Especies Bacterianas	E. Acuoso		E. Etanólico	
	n° cepas	%	n° cepas	%
<i>P. aeruginosa</i>	10	60% (6)	10	40% (4)
<i>S. aureus</i>	10	20% (2)	10	0% (0)

5.2. Grado de Sensibilidad de las cepas bacterianas en estudio frente a los extractos acuoso y etanólico.

a. Sensibilidad de cepas de *P. aeruginosa*

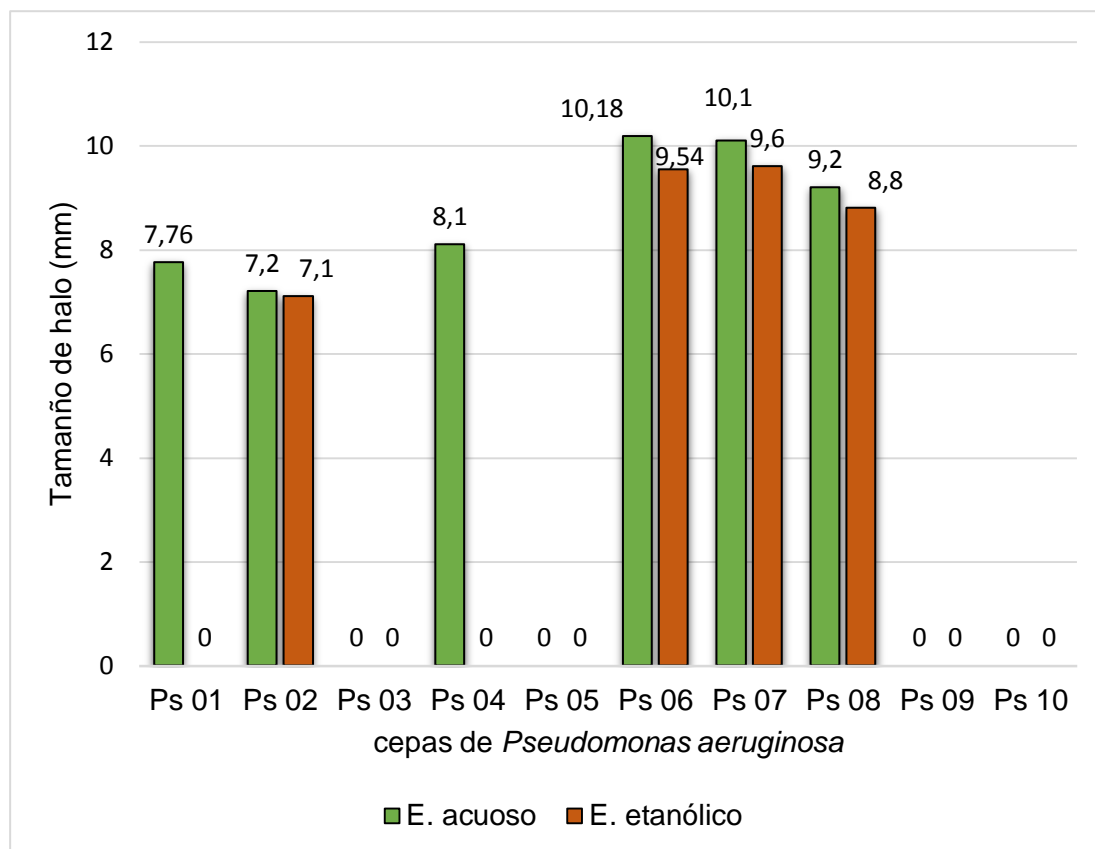
Se obtuvo 6 cepas de *P. aeruginosa* con sensibilidad al extracto acuoso, cuyos diámetros de los halos fluctuaron entre 7.2 – 10.18mm; y 4 cepas de *P. aeruginosa* sensibles al extracto etanólico con valores que fluctuaron entre 7.1 – 9.54mm; mientras que las otras cepas mostraron sensibilidad para ambos extractos, siendo los de mayor sensibilidad las cepas *P. aeruginosa* 06 y *P. aeruginosa* 07 (Cuadro N° 02 y Figura N° 01).

Cuadro N° 02: Halos de inhibición de los extractos fúngicos de *T. versicolor* en *P. aeruginosa*.

Cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>											
Extracto	Ps 01	Ps 02	Ps 03	Ps 04	Ps 05	Ps 06	Ps 07	Ps 08	Ps 09	Ps 10	Promedio
Acuoso	7.76	7.2	0	8.1	0	10.18	10.1	9.2	0	0	8.75
Etanólico	0	7.1	0	0	0	9.54	9.6	8.8	0	0	8.76

Ps: *Pseudomonas aeruginosa*

Figura N° 01: Sensibilidad de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, frente a los extractos acuoso y etanólico de *Trametes versicolor*.



b. Sensibilidad de cepas de *S. aureus*

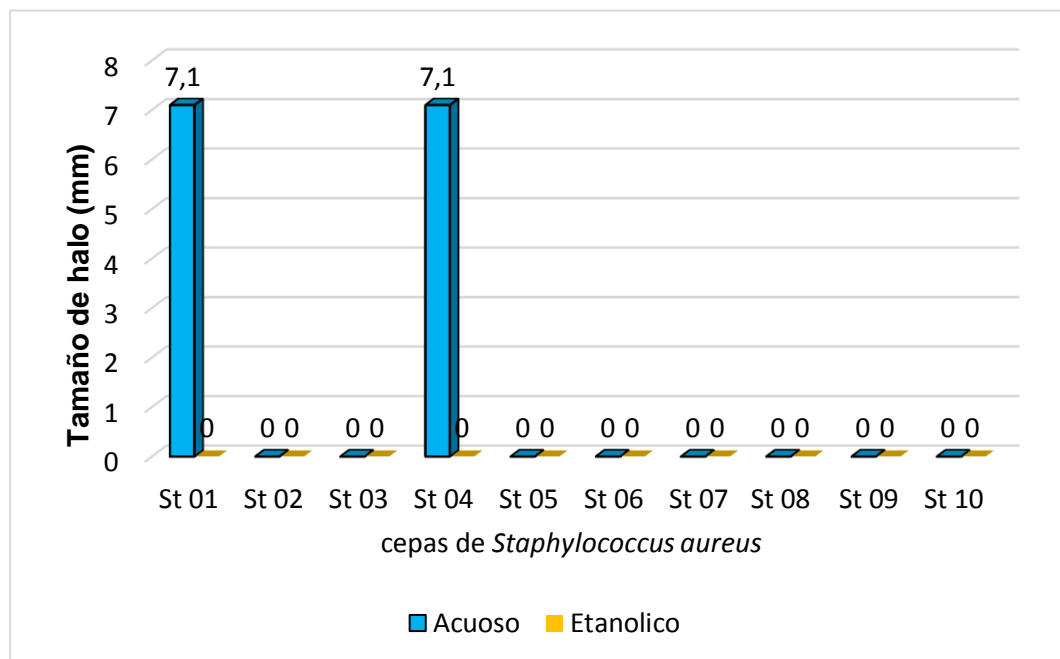
Sólo las cepas *Staphylococcus aureus* 01 y *Staphylococcus aureus* 04 fueron sensibles al extracto acuoso, cuyos diámetros de los halos fueron de 7.1mm para ambas cepas (Cuadro N° 03 y Figura 02).

Cuadro N° 03: Halos de inhibición de los extractos fúngicos de *T. versicolor* en *S. aureus*

Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>											
Extracto	St 01	St 02	St 03	St 04	St 05	St 06	St 07	St 08	St 09	St 10	Promedio
Acuoso	7.1	0	0	7.1	0	0	0	0	0	0	7.1
Etanólico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

St: *Staphylococcus aureus*

Figura N° 02: Sensibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente a los extractos acuoso y etanólico de *Trametes versicolor*.



5.3. Concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de los extractos fúngicos.

a. Extracto acuoso

Para la determinación de concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) del extracto acuoso, se utilizaron 06 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y 02 cepas de *Staphylococcus aureus*, que previamente habían mostrado sensibilidad a dicho extracto.

El valor de la concentración inhibitoria mínima de 04 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* fueron de 125 mg/ml; mientras que para *Staphylococcus aureus* los valores de la concentración inhibitoria mínima fluctuaron entre 31.2 mg/ml – 1.9 mg/ml. Para la concentración bactericida mínima (CBM), no se encontraron resultados favorables debido a que en la mayor concentración empleada se registró crecimiento bacteriano mayor a 75 colonias (Cuadro N° 04).

Cuadro N° 04: Concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* frente al extracto acuoso de *Trametes versicolor*

Extracto acuoso			
	Cepas	CIM (mg/ml)	CBM (m/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ps 01	125	S.A
	Ps 02	S.A	S.A
	Ps 04	S.A	S.A
	Ps 06	125	S.A
	Ps 07	125	S.A
	Ps 08	125	S.A
	St 01	31.2	S.A
	St 04	1.9	S.A

Ps: *Pseudomonas aeruginosa*, **St:** *Staphylococcus aureus*, **S.A:** Sin actividad

b. Extracto etanólico

Para la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) del extracto etanólico, se utilizaron 04 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, de los cuales solo 03 cepas presentaron CIM, cuyos valores fueron de 125 mg/ml. Con respecto a la CBM no se registró resultados positivos debido a que en la mayor concentración empleada se registró crecimiento bacteriano mayor a 75 colonias (Cuadro N° 05).

Cuadro N° 05: Concentración inhibitoria y bactericida mínima de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente al extracto etanólico de *Trametes versicolor*.

Extracto etanólico			
	Cepas	CIM (mg/ml)	CBM (m/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ps 02	S.A	S.A
	Ps 06	125	S.A
	Ps 07	125	S.A
	Ps 08	125	S.A

Ps: *Pseudomonas aeruginosa*, **S.A:** Sin actividad

VI. DISCUSIÓN

Los basidiomicetos son organismos que sintetizan desde componentes estructurales con actividad antitumoral e inmunológica hasta agentes antifúngicos, antivirales u otros antimicrobianos; los cuales pueden constituir una fuente importante de alternativas de solución para los problemas emergentes de salud; sin embargo, las investigaciones son escasas considerando la importancia de estos hongos.

En el presente estudio que trata sobre la evaluación de la actividad biológica mediante el método de difusión en agar, se observó que el extracto acuoso de *T. versicolor* tuvo efecto antibacteriano sobre el 60% de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y sobre el 20% de las cepas de *Staphylococcus aureus*, mientras que el extracto etanólico de dicho hongo sólo tuvo efecto sobre el 40 % de las cepas de *P. aeruginosa*. Al parecer, el tipo de solvente empleado influye sobre la actividad antibacteriana del extracto.

Urrutia (2010) demostró que el extracto acuoso del basidiomiceto *Pholiota nameko* tiene actividad frente a *Staphylococcus aureus*, mientras que el extracto de acetato de etilo no registró actividad. Por otra parte, Segovia (2017) demostró que el extracto etanólico de *Ganoderma lucidum* tuvo mayor efecto antimicrobiano que el extracto acuoso frente a *Staphylococcus aureus*. Esto podría atribuirse al método de extracción, a la solubilidad de los metabolitos secundarios, así como a la polaridad de los extractos fúngicos.

Los extractos apolares contienen la mayor parte de la síntesis de los metabolitos secundarios producidos por los hongos, ya que tienen alta afinidad a solventes de baja polaridad. El metabolismo secundario de los hongos

basidiomicetos es rico en terpenoides biológicamente activos, sustancias a las que se les atribuye gran parte de la actividad antimicrobiana, hasta fúngica (Brizuela *et al.*, 1998).

Con respecto a la presente investigación, el extracto acuoso que tiene mayor polaridad que el extracto etanólico, presentó mayor actividad frente a las bacterias en estudio; resultado que difiere de lo anterior mencionado. Creemos que este resultado se debe a que el extracto acuoso pasa por un proceso de cocción y los metabolitos secundarios sufren modificaciones en su estructura, efectos que podrían ser los responsables de la actividad antibacteriana. De allí que para la realización de este tipo de estudios es conveniente precisar el solvente empleado para la preparación del extracto y de ser posible, analizar extractos elaborados con diversos solventes.

Por otro lado, entre otros factores que podrían influenciar sobre los resultados podría ser los ecológicos y ambientales, como el tipo de sustrato; en el caso de *Trametes versicolor* utilizado en el presente estudio, que fue colectado de *Alchornea treiplinervia* "zancudo caspi", tipo de boque, temperatura, humedad, etc, sobre el cual crece el hongo.

En el caso de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), los resultados mostraron que existe inhibición del crecimiento bacteriano con ambos extractos, resultado que demuestra el potencial inhibitorio de *T. versicolor*.

Tambekar *et al.*, (2006) reportaron que *Lentinula edodes* tiene compuestos como el ácido oxálico y la lentinamicina, los cuales son responsables del efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*. En otro estudio, Fan *et al.*, (2006) indicaron que algunos esteroides aislados de *Ganoderma applanatum* proveen

actividad contra un número de bacterias Gram positivas y negativas. Por otra parte, Jaramillo (2009) indicó que los extractos de los macromicetos contienen esteroides, cetosteroides y triterpenos a los cuales se le atribuye la acción antimicrobiana. En cuanto a *Trametes versicolor*, Jong *et al* (1993) y Rowan (2002), han sugerido que la actividad antibacteriana podría deberse a la presencia del Polisacárido-K (PSK) y del Polisacárido Péptido (PSP), ambos obtenidos de su micelio. Por ello se considera de gran importancia realizar la caracterización química de los componentes de los extractos y así determinar los principios activos responsables de la actividad antibacteriana.

Los resultados obtenidos acerca de la actividad antibacteriana de *Trametes versicolor* demuestra que los basidiomicetos que crecen en nuestra región pueden ser fuente de productos con potencial farmacológico y una alternativa de solución frente a bacterias multidrogorresistentes.

VII. CONCLUSIONES

- Se logró determinar la existencia de actividad antibacteriana de los extractos fúngicos de *Trametes versicolor* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- La mayoría de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* fueron sensibles a la actividad del extracto acuoso de *Trametes versicolor*, mientras que pocas fueron sensibles al extracto etanólico.
- El extracto acuoso de *Trametes versicolor*, fue escasamente activo contra las cepas de *Staphylococcus aureus* ensayadas, mientras que el extracto etanólico de este basidiomiceto no fue activo contra ninguna de estas cepas bacterianas.

VIII. RECOMENDACIONES

- Continuar con investigaciones sobre la actividad antibacteriana de *Trametes versicolor* frente a otros grupos de bacterias que podrían ser sensibles a los extractos de este hongo.

- Realizar estudios fitoquímicos a fin de determinar las sustancias activas con actividad antibacteriana presentes en dichos extractos.

- Realizar estudios sobre la actividad antibacteriana de *Trametes versicolor*, colectados de diferentes sustratos para determinar la influencia de estos en la actividad del hongo

- Investigar otras especies de basidiomicetos de nuestra Amazonía, ya que muchos tienen propiedades medicinales desconocidas.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Daza-Pérez, R. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud, 1998. 22: 57-67.
2. Pengelly, A. The constituents of medicinal plants. Cabi Publishing, 1996. Vol. 2nd Ed U.K. 115 pp.
3. Cruz, A. Evaluación de la actividad antibacteriana de cepas híbridas de *Pleurotus spp.* Tesis para optar el grado de Maestra en Ciencias en Bioprocesos. Instituto Politécnico Nacional. Mexico, D.F. 21 pp.
4. González, P; Garza, L; Salinas, M; Vera, M; Vera, L; Ramirez, X; Torres, O. Actividad antioxidante, antimicrobiana y citotoxicidad de dos especies mexicanas de *Suillus spp.* Red de Revistas Científicas de America Latina y el Caribe.España y Portugal, 2009. XII (001):62-70.
5. Barros, L; Calhelha, R.C; Vaz, J.A; Ferreira, Baptista, P; Estevinho L.M. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese Wild edible mushrooms methanolic extracts. European Food Research Tecnology. 225(2): 151- 156.
6. Wong, C. K; Leung, K. N; Fung, K. P and Choy, Y. M. Effects of *Pseudostellaria heterophylla* on proliferation and differentiation of murine bone marrow cells. Immunopharmacol Immunotoxicol, (1994a). 16, 71-84.
7. Wong, C. K; Leung, K. N; Fung, K. P; and Choy, Y. M. Immunomodulatory and anti-tumor polysaccharides from medicinal plants. J. Int. Med. Res, (1994b). 22, 299-312.

8. Wong, C. K; Leung, K. N; Fung, K. P.; and Choy, Y. M. The induction of cytokine gene expression in murine peritoneal macrophages by *Pseudostellaria heterophylla*. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, (1994c). 16, 347-357.
9. Rowan, N. J; Smith, J. E and Sullivan, R . Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. *Medicinal Mushrooms*. University Of Strathclyde / Cancer Research UK, 2002. 21-42.
10. Jong SC & Yang XT. PSP-un modificador de la respuesta biológica de gran alcance de la seta *Coriolus versicolor*. Yang, QY Simposio Internacional de Medicina Tradicional China y el cáncer: Desarrollo y validación-Los avances de investigación clínica en PSP, Asociación para el Cuidado de la Salud Ltd. Hong Kong, 1999. pp 16-28.
11. JHK Yeung. Los estudios metabólicos para investigar los efectos protectores del péptido de polisacárido (PSP) en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en la rata. Ed: En Yang QY (. Simposio Internacional de Medicina Tradicional China y el cáncer: Desarrollo y validación-Avanzadas de Investigación Clínica en la PSP . la Asociación para el Cuidado de la Salud Ltd. Hong Kong, 1999. pp 126-7.
12. JF, Li. Las características biológicas y las actividades farmacológicas de *Yun Zhi* y su aplicación. *J Auhui Ciencias Agrarias* , 2003. 31, 509-10.
13. Zou QG; Zhu L; W Wang; Xiang BR. avancesr en la investigación de polysaccharopeptides. *Medicina Tradicional China de Patentes* , 2003. 24, 578-80.

14. Jong SC, Birmingham JM. medicinales y valor terapéutico de la seta Shiitak. Adv APPL microbiana , 1993. 39, 153-84..
15. Ulrike L;THJ Niedermeyer; WD Jülich . El potencial farmacológico de las Setas, 2005. 2, 285-99..
16. Leung MYK, Liu C, Koon JCM, Fung KP. polisacárido modificadores de la respuesta biológica. Inmunología Cartas, 2006. 105, 101-14..
17. Cai X; Pi Y; Zhou X; Tian L; Oiao S; Lin J. Hepatoma cell growth inhibition by inducing apoptosis with polysaccharide isolated form Turkey tail medicinal mushrooms, *Trametes versicolor* (L:Fr) Lloyd (*Aphylophoromycetidae*. Inter J Med Mushrooms, 2010.
18. Wasser SP . History, current status, future trends and unsolved problems. Medicinal mushrooms Science: Inter J Med Mushrooms, 2010. 12(1):1-16.
19. Wasonga CG; Okoth SA; Mukuria JC; Omwandho CO. Mushroom polysaccharide extracts delay progression of carcinogenesis in mice. J Exp Ther Oncol, 2008. 7:147-52..
20. Cetto B. Los Hongos de Europa. volumen I, 2008.
21. Márquez Ortega A E. Determinación de Patrones de inducción de lacasas en el hongo *Trametes sp*. México, Marzo 2004.
22. Menendez V, J L. *Trametes versicolor*(L.)Pil. Asturnatura.com, 2006.
23. Cui J, Chisti Y. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production . New Zeland. 8 de enero del 2003.

24. MD Anderson Cancer Center. [En línea] www.mdanderson.org/education-and-research/resources-for-professionals/clinical-tools-and-resources/cimer/therapies/herbal-plant-biologic-therapies/coriolus-versicolor.htm. Houston, TX, USA.
25. Mandell G.L; Benett J.E; Dolin R. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. 70 Edición. Editorial Elseiver, 2010.
26. Harrison's. Principles of Internal Medicine. 17th ed *Pseudomonas aeruginosa* 202-208.
27. Berthelot P; Grattard F; Mahul P; *et al.* Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. Intensive Care Med, Mar, 2001. 27(3):503-12..
28. Ferrer M; Ionas M; Arancibia F; Marco MA; de la Bellacasa JP; Torres A. Microbial Airway colonization is associated with non invasive ventilation failure in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. Crit Care Med, 2005. 33: 2003-2009.
29. Rello J; Rodriguez A; Torres A, Joig J; Sole-Viola. Implications of COPD in patients admitted to the intensive care unit by community-acquired pneumonia. Eur Respir J, 2006. 27(6):1210-6.
30. Defez C; Fabbro-Peray P; Bouziges N, Gouby A; Mahamat A; Daures JP; Sotto A. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. J Hosp Infect, 2004. 57 (3): 209-16..
31. Iñigo Pestaña M. Caracterización de mecanismos de resistencia de aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* no sensible a

carbapenems y factores de riesgo asociados a sus adquisición. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra. 2012.

32. Lautenbach E. Antimicrobial resistance in gram-negative pathogens: crafting de tools necessary to negative the long ascent out of the abyss. Clin Infect Dis, 2009. 200: 838-40.

33. Breathnach A.S., Cubbon M.D, Karunaharan R.N. Pope C.F., Planche T. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in two hospital: association with contaminated hospital waste-water systems. Journal of Hospital Infection, (2012). 82 19-24.

34. Rodriguez-Baño J., Lopez-Cerero L., Navarro M.D., Dias de Alba P., Pascual A. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: Prevalence, risk factors and molecular epidemiology. J Antimicrob Chemother. (2008).62 (5): 1142.

35. Poole K. Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. J ol Microbiol Biotechnol, 2001. 3: 255-64..

36. Kloss WE, Schleir KH, Goirtz F. he genus *Staphylococcus*. In: Balows A, Truper HG, Dwoekin M, eds. The Prokaryotes. T 2nd Ed. New York, Springer-Verlag , 1992.

37. Kuroda M., Ohta T., Uchiyama I., Baba T. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 2001. 357: 1225-1240..

38. Compernelle V., Verscheraegen G., Claeys G. Combined Use of Pastorex staph-plus and either of two new chromogenic agars, MRSA ID and

chromagar MRSA for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 2007. 45: 154-158.

39. Von Eiff EC., Becker K., Machka K., Stammer H. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. N Engl J Med, 2001. 344: 11-16.

40. Voug C., Saenz HL., Gotz F., Otto M. Impact of quorum-sensing system to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis, 2000. 182: 1688-1693.

41. Washington Winn., Allen S., Janda W., Koneman E., Procop G. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Sixth Edition Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

42. www.google/maps.com.

43. www.siamazonia.org.pe.

44. Trinidad, B & Morales, E. Actividad antibacteriana de extractos fúngicos de *Ganoderma applanatum* sobre cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas del hardware de computadoras del hospital Cesar Garayar- Iquitos. Tesis de pregrado, 2016.

45. Tambekar, D., Khodke, M. y Khante, B. The novel antibacterials from two edible mushrooms: *Agaricus bisporus* and *Pleurotus sajor caju*. International journal of pharmacology. 2006. 2(5): 584-587.

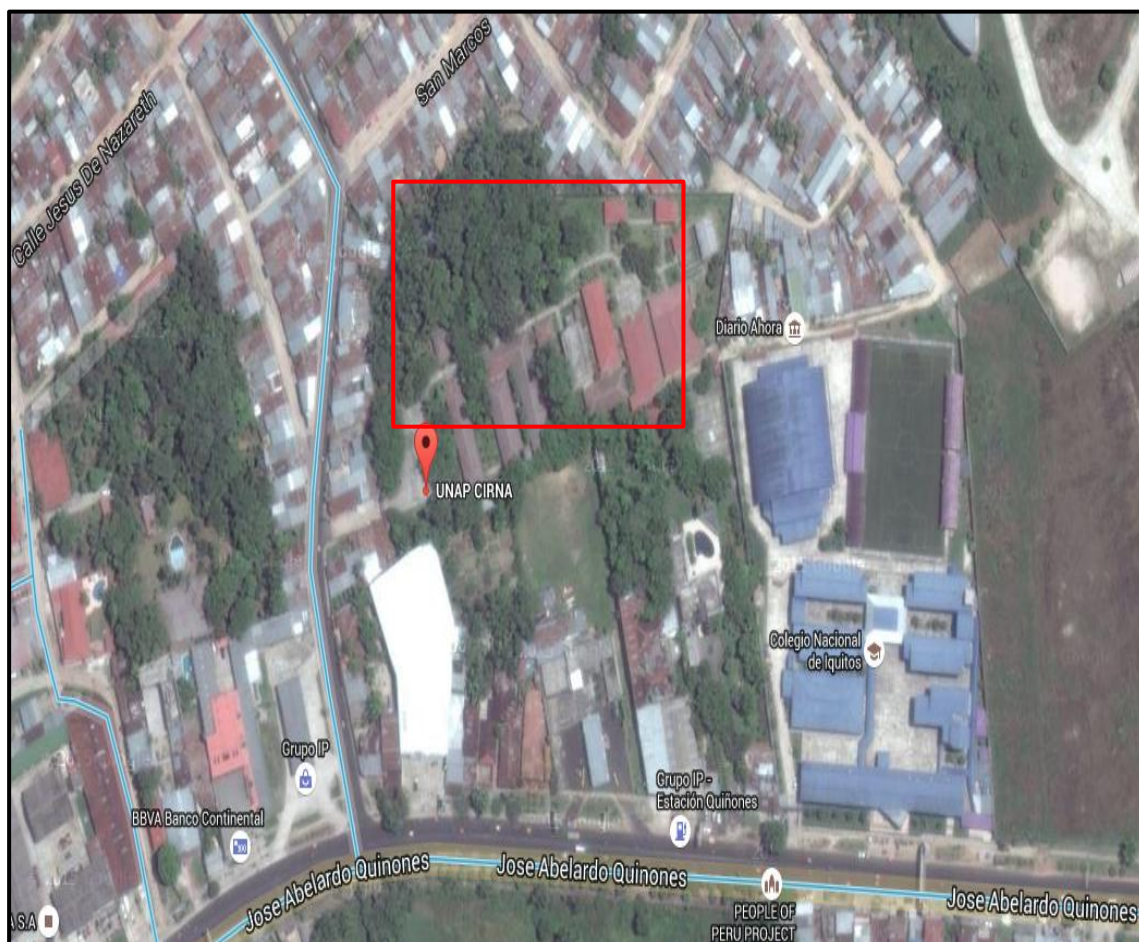
46. Fan L., Pan, H. y Soccol, A. Advances in Mushroom Research in the last decade. food Technol. Biotechnol. 2006. 44(3):303-311.

47. Urrutia, E. Extracción, separación y caracterización cualitativa de componentes químicos de cuerpos fructíferos de *Pholiota nameko* y evaluación de actividad antimicrobiana. Universidad Austral de Chile, 2010.
48. Segovia, L. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico obtenido de *Ganoderma lucidum* frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, 2017.
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/6408>.
49. Brizuela, M., Garcia, L., Perez, L. & Mansur, M. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios. Rev. Iberoam. Micol., (1998). 15: 69-74.
50. Jaramillo, M. Determinación estructural y de actividad antimicrobiana de los intra y exometabolitos secundarios triterpenoidales en *Ganoderma lucidum* obtenido en cultivo sumergido. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química, (2009). Sede Bogotá.

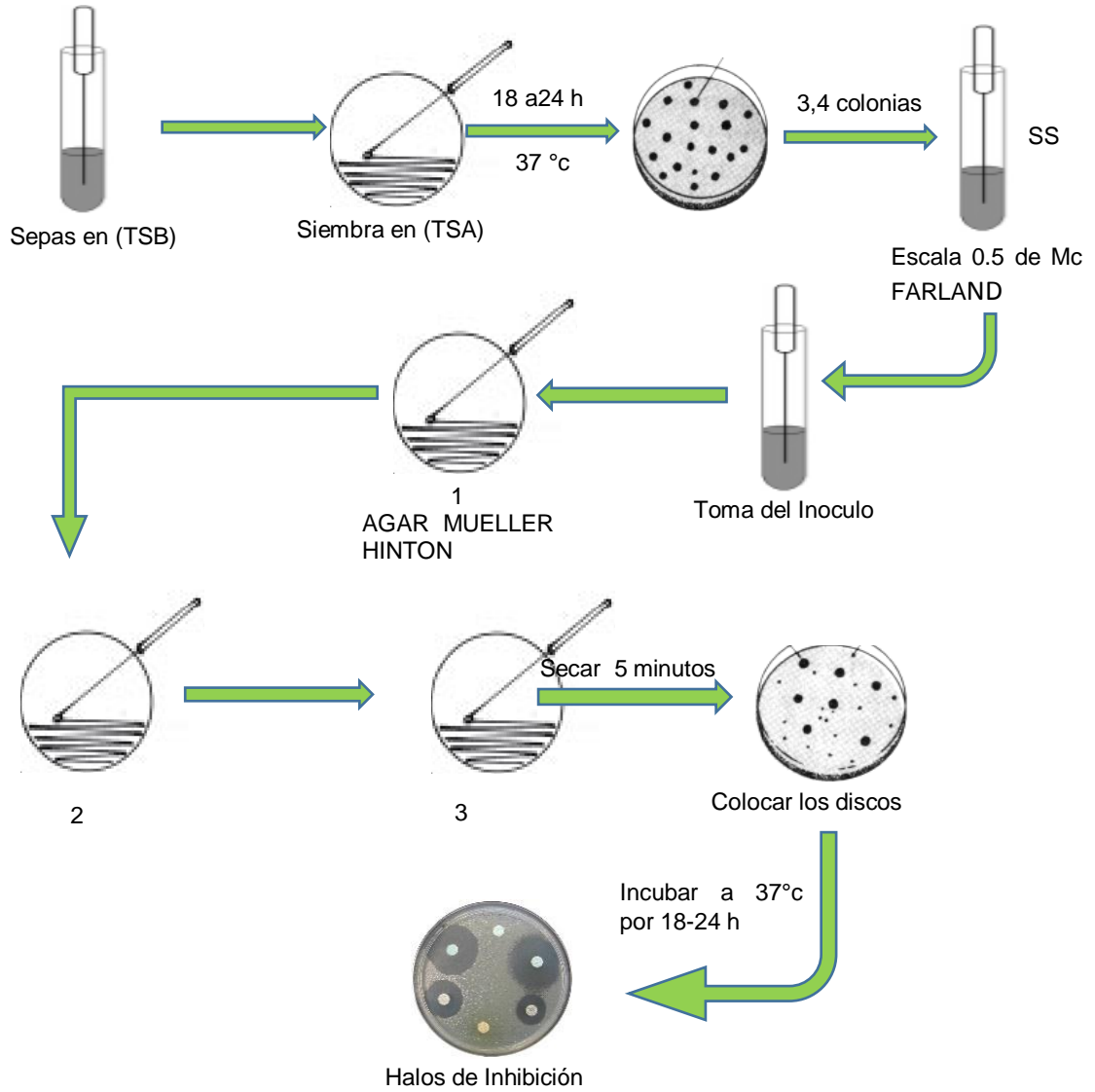
X. ANEXOS

Anexo N°0 1: Área de estudio

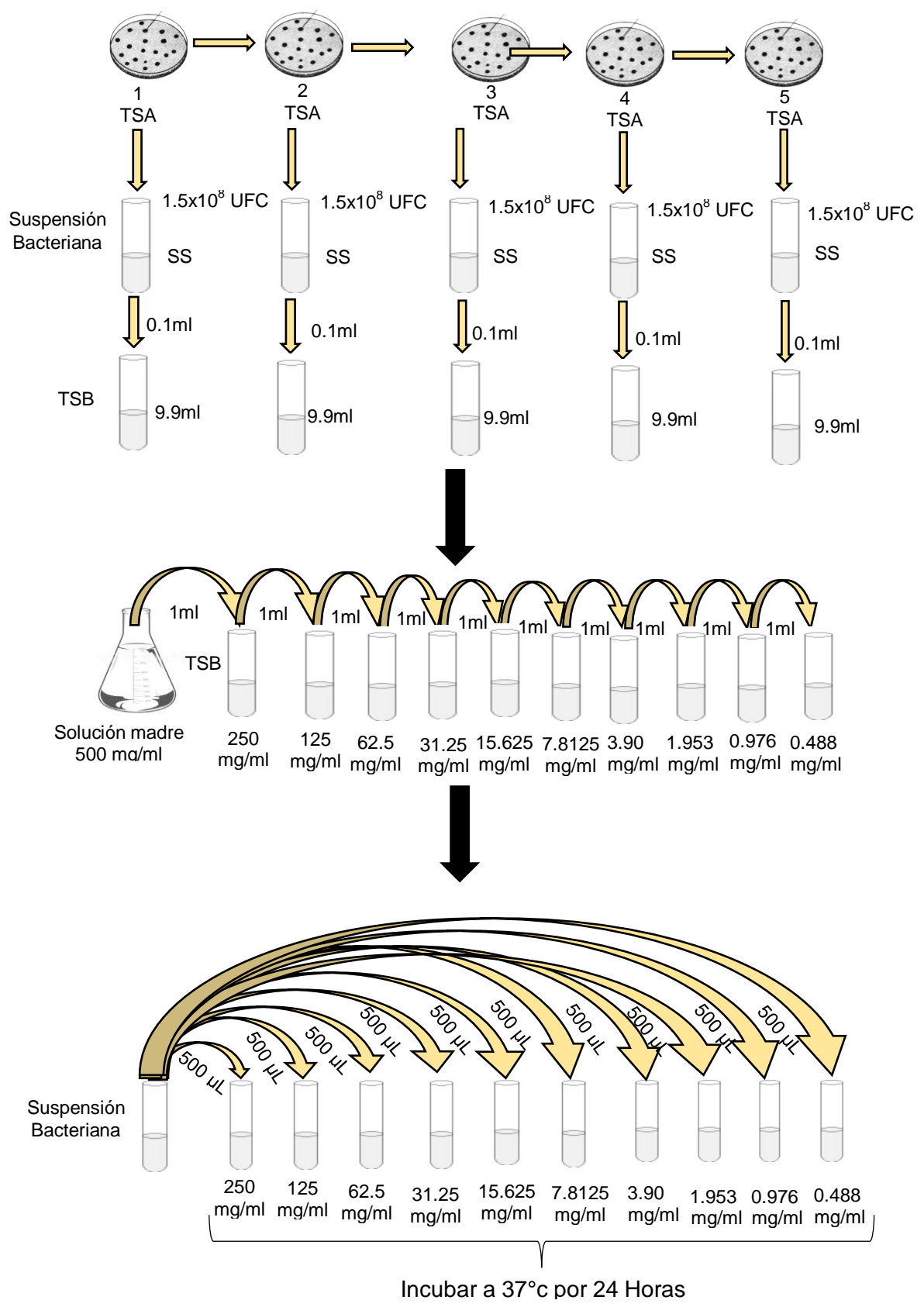
Centro de Investigaciones en Recursos Naturales de la Amazonia (CIRNA - UNAP)



Anexo N°0 2: Determinación de la Sensibilidad de Cepas Bacterianas a los Extractos Fúngicos



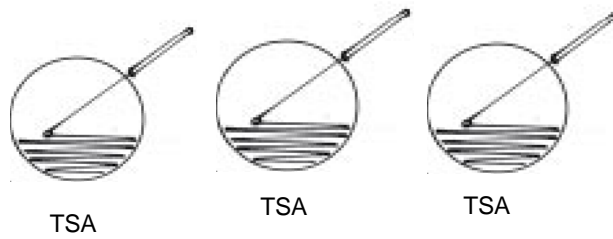
Anexo N° 3: Determinación de la Concentración Inhibidora Mínima (CIM)



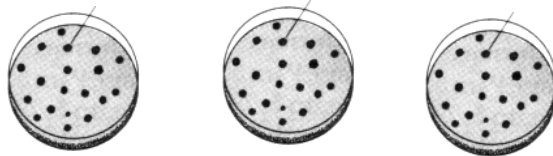
Anexo N°0 4: Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM)



Se plaqueará 0.1 ml de cada tubo que no presenta turbidez en TSB



Se Incubara por 24 horas



Se realizara el conteo en placa para determinar CBM

Anexo N°0 5: Colecta de *Trametes versicolor*



Anexo N°0 6: Pulverizado del hongo *Trametes versicolor*



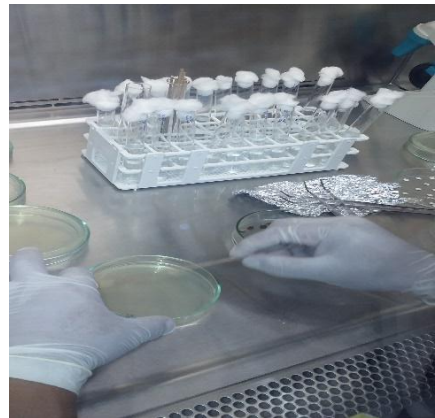
Anexo N°0 7: Obtención de los extractos, acuoso y etanólico



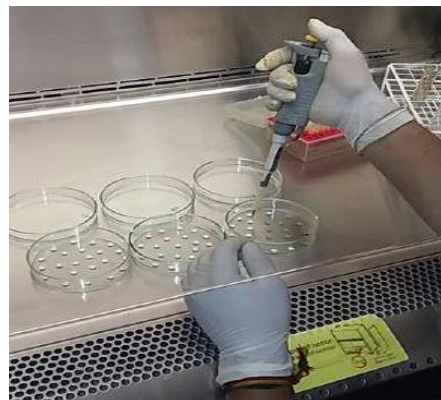
Anexo N° 8: Extracto acuoso y etanólico



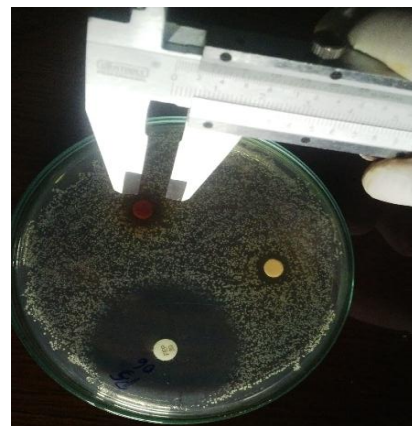
Anexo N° 9: Siembra de Bacterias



Anexo N° 10: Preparación de los discos de sensibilidad



Anexo N° 11: Aplicación de los discos de sensibilidad



Anexo N° 12: Concentración Inhibitoria mínima (CIM)

