



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE *Ganoderma lucidum*
EN BACTERIAS DE CAVIDAD ORAL.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

SOFÍA MONTSERRAT RANGEL HERNÁNDEZ

TUTORA: Mtra. ISABEL MARTÍNEZ SANABRIA

ASESORA: Dra. ADRIANA PÉREZ SORIA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Agradezco a Dios.

A mis padres Isidro, en especial a mi mamá Tere Hernández Mercado, por todo su apoyo y esfuerzo de cada día, esas palabras de aliento, motivación, enseñanzas, sus valores, por ser un gran ser humano y ejemplo a seguir, por sus consejos y amor incondicional a lo largo de toda mi vida. Gracias por hacer esto posible.

A mis hermanos Luis Omar y Ricardo, por su gran apoyo incondicional, risas, comprensión, enseñanzas, motivación y compañía desde siempre.

A mi abuelita Tere gracias por tu motivación y cariño.

A mis tías y tíos. Wil, Federico, Lolita, Elia, Armando, por todo su apoyo y motivación, al igual que a mis primas y primos.

A todas mis amigas y amigos, que me han acompañado a lo largo de mi carrera, en especial a Oli y Lulu, por esos momentos de risas, estrés, aprendizaje, consejos, éxitos, fracasos y apoyo.

A mi tutora Mtra. Isabel Martínez Sanabria.

A mi asesora Dra. Adriana Pérez Soria.

Por su gran apoyo, enseñanza, tiempo y guiarme a lo largo de la elaboración de esta tesina. Aprendí mucho, gracias.

A cada uno de los profesores y doctores que fueron participes de mi aprendizaje a lo largo de mi carrera.

Por último y no menos importante, a mi segunda casa la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Odontología.



ÍNDICE

INTRODUCCION.....	5
OBJETIVO GENERAL.....	6
OBJETIVO ESPECÍFICO.....	6
CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE <i>Ganoderma lucidum</i>	7
1.1 El hongo de la longevidad.....	7
1.2 <i>G. lucidum</i> . y su importancia en países asiáticos.....	8
1.3 Civilizaciones antiguas y su relación con los hongos.....	8
1.4 Localización geográfica de <i>G. lucidum</i>	10
CAPÍTULO 2 NOMENCLATURA, TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA	12
2.1 <i>Microorganismos Fungi</i>	12
2.2 <i>Ganoderma lucidum</i>	12
2.3 <i>Características generales de Ganoderma lucidum</i>	13
2.4 <i>Métodos de identificación</i>	14
CAPÍTULO 3 PRINCIPAL COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DE <i>G. lucidum</i>	17
3.1 <i>Triterpenos</i>	17
3.1.1 <i>Acido ganodérico A y Acido ganodérico B</i>	19
3.1.2 <i>Ganoderol B, Ganodermanontriol y Ganodermanondiol</i>	19
3.2 <i>Polisacáridos</i>	23
3.2.1 <i>Propiedades terapéuticas de G. lucidum</i>	25
CAPÍTULO 4 EFECTO ANTIMICROBIANO DE <i>Ganoderma lucidum</i>	26
4.1 <i>Mínima Concentración Inhibitoria MIC</i>	28
4.2 <i>Estudios “in vitro” analizando efecto antimicrobiano de G. lucidum</i>	29
4.3 <i>Bioactividad de los componentes de G. lucidum</i>	30
4.4 <i>Evidencias antimicrobianas “in vitro”</i>	31
4.5 <i>Actividad antimicrobiana de los polisacáridos</i>	34
4.6 <i>Prueba de susceptibilidad antimicrobiana</i>	36



4.7 Bacterias y hongos susceptibles a la acción antimicrobiana de <i>Ganoderma lucidum</i>	40
4.7.1 <i>Micrococcus luteos</i>	40
4.7.2 <i>Proteus vulgaris</i>	40
4.7.3 <i>Escherechia Coli</i>	40
4.7.4 <i>Enterococcus faecalis</i>	41
4.7.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	41
4.7.6 <i>Salmonella typhymurium</i>	41
4.7.7 <i>Aspergillus glaucus</i>	41
4.7.8 <i>Trichoderma viride</i>	42
4.7.9 <i>Aspergillus niger</i>	42
4.7.10 <i>Pseudomonas aureginosa</i>	42
4.7.11 <i>Bacillus subtilis</i>	43
4.7.12 <i>Prevotella intermedia</i>	43
4.7.13 <i>Candida albicans</i>	43
CONCLUSIONES.....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46



INTRODUCCIÓN

Ganoderma lucidum (*G. lucidum*) es un hongo macroscópico, de origen oriental (China y Japón). Desde hace más de 2000 años se tiene registro de su uso medicinal y de los beneficios que aporta para la salud reconociéndose coloquialmente como “hongo de la inmortalidad”. A *G. lucidum* se le han atribuido diferentes propiedades como agente: inmunomodulador, antioxidante, hepatoprotector y por su acción antimicrobiana.

A lo largo del tiempo, su aplicación se utilizó en la cosecha e industria; hoy en día los estudios científicos buscan identificar los componentes químicos, aislarlos e investigar su acción farmacéutica. En el presente trabajo, se describe de forma general la morfología, taxonomía y nomenclatura; así como la historia, del *G. lucidum*. Además se describen los microorganismos susceptibles a los componentes de *G. lucidum*, entre los cuales se encuentran algunas especies particulares de bacterias y hongos.



OBJETIVO GENERAL.

Conocer las propiedades de *Ganoderma lucidum*, así como los principales componentes bioactivos con efectos antimicrobianos, reportados.

OBJETIVO ESPECÍFICO.

- Narrar el origen de los fitoquímicos.
- Puntualizar sobre la historia de *G. lucidum*.
- Referir los fitoquímicos antimicrobianos de *G. lucidum*, más estudiados.
- Describir los microorganismos de tipo bacteriano y fúngico; susceptibles a los componentes antimicrobianos de *G. Lucidum*.



CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE *Ganoderma lucidum*

El primer libro totalmente dedicado a la descripción de las hierbas y su valor medicinal fue *Shen Nong Ben Cao Jing*, escrito en la dinastía oriental Han, en China. Este libro es también conocido como "Clásico de la Materia Médica" o "Clásicos Herbales de Shen-nong" escrito por el emperador Shen Nung (2700 a.C.).^{15,2}

Describe los efectos y beneficios de varias setas, con una referencia al hongo medicinal *Ganoderma lucidum* (*G. lucidum.*), así como una recopilación de sustancias botánicas, zoológicas y minerales, bajo el seudónimo de "Shen-Nung agricultor". A quien se le atribuye haber fundado la farmacología pues se sabe que reunió gran cantidad de remedios herbolarios y los probó en sí mismo. El mito popular decía que tenía estómago de cristal para observar los efectos del medicamento.^{15, 2}

1.1 El hongo de la longevidad.

Existe una leyenda sobre *G. lucidum*, haciendo referencia a que el hongo sagrado, creció en el hogar de los inmortales en los "tres pasillos del blest" de la costa de China. Su reputación como panacea puede haber sido ganada más en virtud de su distribución irregular, rareza y uso por los miembros ricos y privilegiados de la sociedad China, que por sus efectos reales.¹⁵

Las especies de *Ganoderma* siguen siendo una medicina tradicional popular en Asia y su uso está creciendo en Occidente, al igual que los estudios



científicos sobre sus propiedades. Se han identificado muchos componentes bioactivos de sus cuerpos frutales, micelios, esporas y medios de cultivo.¹⁵

1.2 *G. lucidum*. y su importancia en países asiáticos.

A través de los años, el mundo de los hongos o setas ha estado en contacto con la humanidad, teniendo múltiples usos y fines. Inicialmente se utilizó como alimento, en el afán del ser humano, de encontrar nuevas fuentes nutricionales, fuentes terapéuticas y en ocasiones también como elementos de ornato.¹

Ganoderma lucidum (*G. lucidum*.) es un hongo macroscópico, de origen Oriental, su nombre se deriva del griego γανός-γανός-"brillo, lustre" se refiere a la apariencia barnizada y textura leñosa de la superficie del hongo y δερμα-"piel", y "*lucidum*" que proviene del latín, significa brillante.¹⁵

En Japón se nombra "Reishi" o "Mannentake", y en coreano Yeongji. También llamado "Lingzhi" en China, representa una combinación de potencia espiritual y esencia de inmortalidad. Es considerado como la "hierba de la potencia espiritual", el éxito, bienestar, y longevidad, debido a sus propiedades medicinales.^{15, 10}

"Lingzhi" ha sido reconocido como un hongo medicinal por más de 2000 años, por lo cual también se le nombra hongo milenario.¹⁵

1.3 Civilizaciones antiguas y su relación con los hongos.

En diversas civilizaciones como la griega, romana e hindú, los hongos se consideran "alimentos sagrados". Gracias a la obra de Fray Bernardino de Sahagún y libros como el Popol Vuh y el Chilam Balam, sabemos que las



culturas asentadas en México, tanto en la náhuatl como en la maya, los hongos adquirieron un rango elevado y se consideraron también “comida de dioses o reyes” tal vez en Mesoamérica esto tenga que ver con los hongos alucinógenos que con los alimenticios.¹

Otro ejemplar de gran prestigio médico, titulado "Shinnou Honzou Kyo", sitúa al “Reishi” en la categoría superior o "Shàng" por sus efectos benéficos. En diversos diccionarios y publicaciones japoneses, se define el “Reishi” bajo el epíteto "Maboroshi", cuya traducción podríamos interpretar como "misteriosa, rara, valiosa y difícil de conseguir"¹⁵

El Catedrático japonés de la Universidad de Agricultura de Kyoto, Takeo Hayami, en 1937 trató, aunque sin éxito, el cultivo del “Reishi”. Sin embargo, fue en China en 1972 donde se consiguió cultivar por primera vez el *Ganoderma lucidum*.¹⁵

En la década de los setenta, el “Reishi” se cultivan artificialmente en bases de harina de arroz, salvado, madera, etc. y así iniciándose su comercialización en el mercado chino. Los japoneses continuaron la investigación y búsqueda de nuevos métodos que reprodujeran el proceso de crecimiento y desarrollo natural de la seta, siendo la implantación de los micelios en maderas de roble, haya y ciruelo viejo, una de las principales fórmulas que constituyeron el éxito de los nuevos avances.¹⁵

Después en la década de los ochenta, diferentes universidades, facultades y centros de investigación de China y Japón, estudiaron el “Reishi” con el fin de desarrollar su aplicación en los campos de la medicina y de la farmacología. Fruto de estas investigaciones se publicaron libros, algunos de los cuales han llegado a adquirir fama internacional, como los escritos por el Dr. Shigeru Arichi, el Dr. Jing Cheng o el Dr. Kubo Michitoku.¹⁵



Los avances tecnológicos y las investigaciones realizadas en esta década, posibilitan la difusión y conocimiento del “Reishi”.

Así, el consumo del *G. lucidum* toma un carácter relevante en el mercado Oriental, iniciándose su producción y comercialización en otros países.

Existiendo la necesidad de una adecuada producción del “Reishi”, conjugando los requisitos imprescindibles para su correcto desarrollo, en talla, color, grosor, propiedades intrínsecas y medio ambiente.¹⁵

A principios de la década de los noventa, el gobierno japonés declara oficialmente el *Ganoderma lucidum*, como "planta adyuvante en tratamientos contra el cáncer". La naturaleza adaptógena del “Reishi” se comienza a conocer en círculos más amplios, abriéndose camino en el continente Europeo y Americano. Simultáneamente, las investigaciones científicas en torno a *G. lucidum* continúan para tratar de averiguar propiedades farmacológicas y principios activos no identificados.¹⁵

1.4 Localización geográfica de *G. lucidum*.

Es nativo de las montañas Wuyi, ubicada en el norte de la provincia de Fujian en China, sus notables efectos han sido documentados en compendios antiguos.

Antes de que fuera cultivado, fue utilizado solo por la nobleza, debido a su dificultad para ser cosechado y recolectado, ya que crecía en zonas de difícil acceso, boscosas y húmedas, principalmente al pie de troncos, como robles y arces.¹⁵



Figura 1 *G. lucidum* recolectado en antigua China: Se muestra imagen representativa de la cosecha del *G. lucidum* como nutriente en la dieta asiática



Figura 2. *Ganoderma lucidum*.
Fotografía que muestra el hongo en su forma silvestre.

CAPÍTULO 2: NOMENCLATURA, TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA

2.1 Microorganismos Fungi

La Micología es la rama de la Biología que tiene por objetivo el estudio de los hongos. Con algunas excepciones, los integrantes del reino Fungi poseen las siguientes características: Son eucariontes, aerobios, macro o microscópicos, heterótrofos, la nutrición la efectúan mediante la secreción de enzimas (exoenzimas) que digieren la materia orgánica antes de ingerirla (absorción) y es almacenada en forma de glucógeno, poseen crestas mitocondriales en placa, membrana celular constituida por ergosterol, quitina como principal componente de la pared celular, la síntesis de la lisina la efectúan por el intermediario ácido alfa-amino-adípico (AAA) y se reproducen por propágulos denominados esporas.³

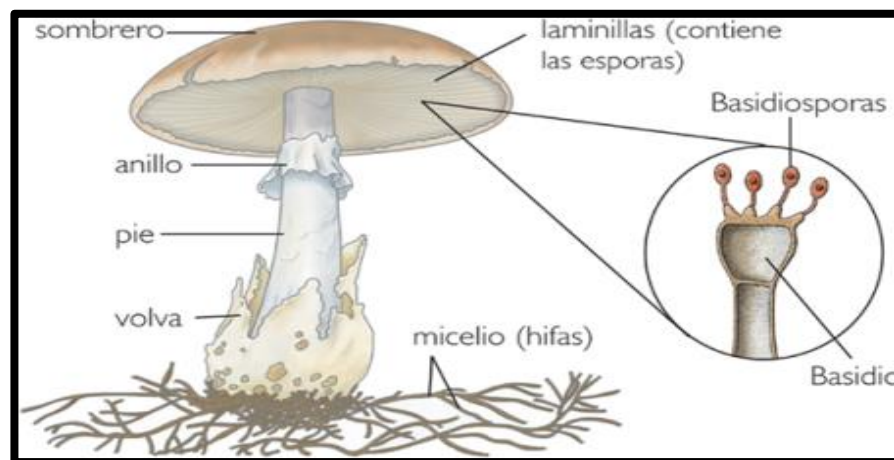


Figura 3 Morfología de los hongos: Se muestra el esquema de los componentes estructurales generales de los hongos.⁵

2.2 *Ganoderma lucidum*.

G. lucidum pertenece a la familia *Ganodermataceae*: son hongos poliporoides basidiomicetos que tienen basidiosporas de doble pared.



Los basidiocarpos de este género tienen una superficie lacada (brillante) que se asocia con la presencia de una matriz extracelular de melanina.¹⁵ Su taxonomía se presenta en la tabla 1.

Filo	<i>Basidiomycota</i>
Clase	<i>Agaricomycetes</i>
Subclase	<i>Inn. sed.</i>
Orden	<i>Polyporales</i>
Familia	<i>Ganodermataceae</i>
Genero	<i>Ganoderma</i>
Especie	<i>G.lucidum</i>

Tabla 1 Taxonomía de *Ganoderma lucidum*.

En la tabla se muestra la taxonomía del hongo *G. lucidum*.⁸

2.3 Características generales de *Ganoderma lucidum*.

En total, existen 219 especies dentro de la familia que han sido asignadas al género *Ganoderma*.⁴

- Color: tinciones rojizas, marrón y claras, superficie lacada o brillante.
- Nutrición: vive en simbiosis en la base del tronco de los árboles.
- Sustrato: madera, ubicado en la base de los árboles y de forma industrial o estudio científico, aserrín y paja de trigo.
- Origen: principalmente Oriental, ubicado en China y Japón, además Europa, Inglaterra y América.^{4,15,14}



- Reproducción sexual: Basidiosporas.

Se encuentran en todo el mundo, y se utilizan diferentes características como la forma y el color de cuerpo de la fruta para identificarlos, así como el origen geográfico de la especie.

2.4 Métodos de identificación.

Las características morfológicas están sujetas a variaciones como resultado, por ejemplo: distintos lugares geográficos de cultivo, bajo diferentes condiciones climáticas y en el desarrollo genético natural, como mutación o recombinación de especies individuales. En consecuencia, el uso de características macroscópicas ha dado como resultado un gran número de sinónimos y una taxonomía confusa, superpuesta y poco clara para este hongo.⁴ Algunos taxonomistas también consideran que las características macro morfológicas tienen un valor limitado en la identificación de *Ganoderma. spp* debido a su alta plasticidad fenotípica. Las características morfológicas más fiables para *Ganoderma. spp* es la producción y forma de clamidosporas, los estudios enzimáticos y la medida óptima de temperatura en el crecimiento.^{14,15} También se han utilizado enfoques bioquímicos, genéticos y moleculares en la taxonomía de *Ganoderma spp*. Las metodologías basadas en el ámbito molecular son adoptadas para identificar las especies de *Ganoderma* incluyendo la secuenciación recombinante (rDNA), ADN-PCR polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD, PCR significa reacción en cadena de la polimerasa), entre otras técnicas.¹⁵

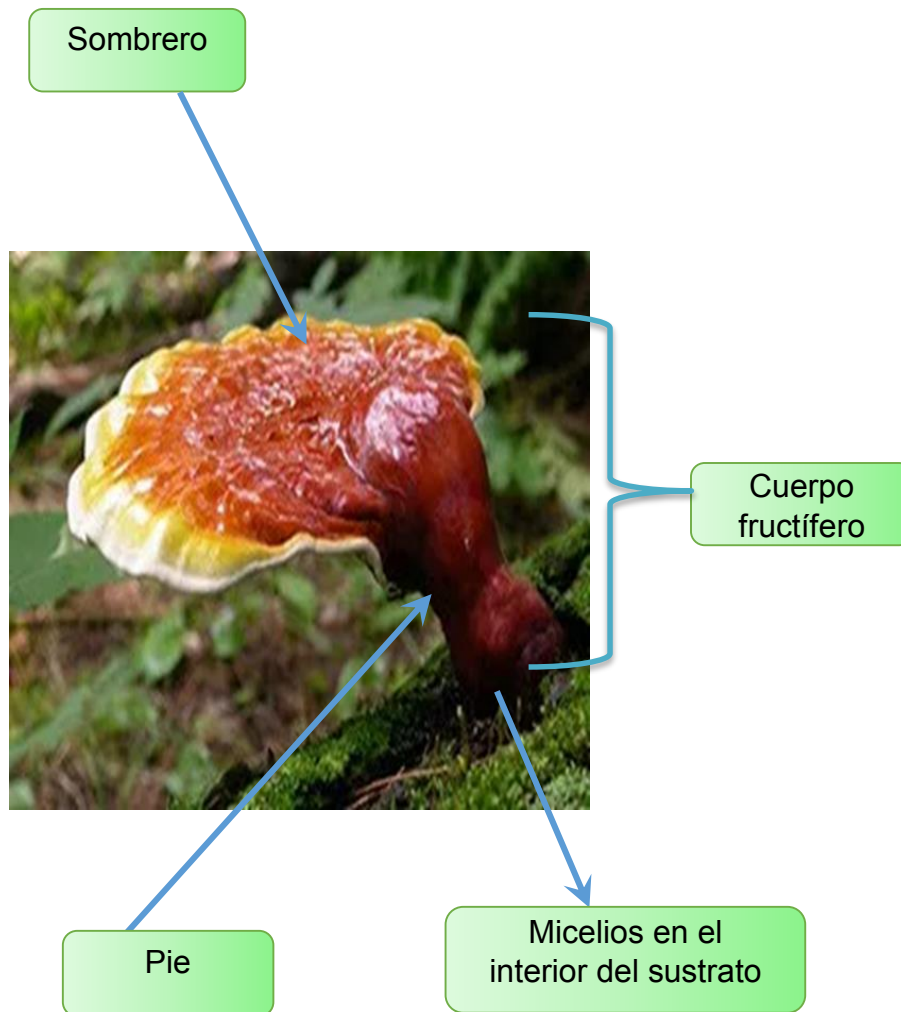


Figura 4. Morfología general de *G. lucidum*.: Se muestran los componentes macroscópicos estructurales del *G. lucidum*.

El hongo se encuentra en diversas zonas geográficas, y esto puede contribuir a nuevas proposiciones de la clasificación taxonómica, del género Ganoderma, aún en discusión.



Por ejemplo: el nombre *G. lucidum* se ha utilizado, para nombrar un espécimen encontrado en Inglaterra, y posteriormente se aplicó a una especie de *Ganoderma* diferente, encontrada en Asia. A pesar de la controversia taxonómica, la popularidad de “Lingzhi” ha aumentado en todo el mundo. Hoy es una industria multimillonaria en la que “Lingzhi”, se cultiva o recoge de la naturaleza y se consume como un té, cápsulas, extracto y como un nutracéutico, que aporta múltiples beneficios para la salud. El consumo de nutracéuticos ha crecido y es importante que los ingredientes activos, se identifiquen y estudien ampliamente. Debido a sus múltiples beneficios para la salud, *Ganoderma lucidum*, tiene con una tasa global anual con valor de mercado más de \$ 1.5 mil millones.¹⁵



CAPÍTULO 3: PRINCIPAL COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DE *G. lucidum*.

La composición química de la mayoría de las setas, es alrededor del 90% agua, el 10% restante consiste en 10-40% de proteínas, 2-8% de grasas, 3-28% de carbohidratos, 3-32% de fibra, 8-10% de vitaminas y minerales, como potasio, calcio, fósforo, magnesio, selenio, hierro, zinc y cobre, lo que representa la mayor parte del contenido mineral.¹⁵

También contienen una amplia variedad de moléculas bioactivas, tales como terpenoides, esteroides, fenoles, nucleótidos y sus derivados, glicoproteínas y polisacáridos. Las proteínas del hongo, contienen todos los aminoácidos esenciales y son especialmente ricas en lisina y leucina. Los polisacáridos y triterpenos, son constituyentes principales fisiológicamente activos en *G. lucidum*.¹⁵

3.1 Triterpenos.

Los triterpenos están constituidos por 30 átomos de carbono, son compuestos naturales, que se construyen a partir de seis unidades de isopreno, que es un hidrocarburo de 5 átomos de carbono. Los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y desempeñan un papel importante en la naturaleza. Desde una perspectiva biológica, se asume que los esqueletos del oleanano, ursano y lupano son las más importantes dentro de los triterpenos, Fig 5.⁷

Las mencionadas estructuras policíclicas pueden encontrarse, ya sea en su estado libre o en forma de glicósidos y presentan una gran diversidad estructural. Además diferentes especies de plantas, sintetizan triterpenos como parte de su programa normal de crecimiento y desarrollo. También contienen grandes cantidades de triterpenos en su látex y resinas, y se cree que estas contribuyen a la resistencia de enfermedades.⁷

Hasta ahora, se conocen más de 130 a 150 triterpenoides con diferentes características estructurales a partir de *G. lucidum*^{11,12}.

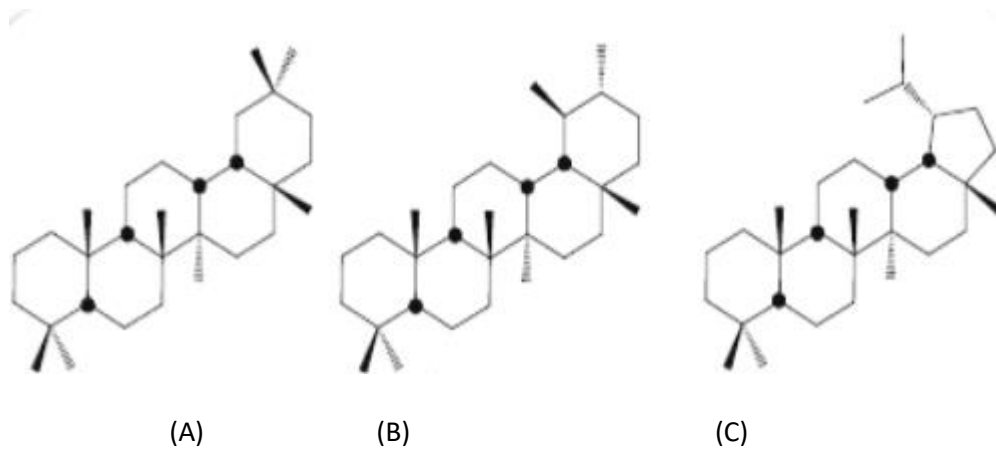


Figura 5 Estructura molecular de triterpenoides básicos en la naturaleza (A) olaneano, (B) ursano y (C) lupano.⁵

Los efectos biológicos correspondientes a este tipo de compuestos son muy diversos por ejemplo: antineoplásicos, antiinflamatorios, inmunomoduladores, antimicrobianos, cardioprotectores, analgésicos, antimicóticos, entre otros.⁷ Los primeros triterpenos aislados de *G. lucidum* son los ácidos ganodéricos A y B, que fueron identificados por Kubota 1982. Aunque la gran mayoría de los triterpenos aislados de *G. lucidum* son ácidos ganodéricos y lucidénicos, pero también se han identificado otros triterpenos tales como: ganodéricos, ganoderioles y ácidos ganodéricos, *G. lucidum* tiene un sabor amargo, que se le adjudica a su composición de triterpenos y la cantidad de ellos fluctúa, en cada etapa de crecimiento de la seta.¹⁵

La extracción de triterpenos, se realiza habitualmente, por medio de sustancias como el metanol, etanol, acetona, cloroformo, éter o una mezcla de estos disolventes y los extractos pueden purificarse adicionalmente mediante diversos métodos de separación. Sin embargo el conocimiento de la biosíntesis de los compuestos triterpenoides sigue en vías de desarrollo.¹⁵

3.1.1 Acido ganodérico A y Acido ganodérico B.

Se han estudiado los efectos terapéuticos que tienen los triterpenoides en el tratamiento de cierto tipo de cáncer, por ejemplo: El carcinoma nasofaríngeo (CPN) es una enfermedad maligna que amenaza la salud de los seres humanos. Para encontrar agentes eficaces para la inhibición de la infección por el virus de Epstein-Barr (EBV), que está asociada con NPC, se realizó una investigación fitoquímica de *Ganoderma lucidum* ⁹

En el cual los estudios fitoquímicos sobre el extracto de *G. lucidum* condujeron al aislamiento de cinco compuestos naturales. Todos los compuestos mostraron resultados positivos a través de la reacción de Liebermann-Burchard. Sus estructuras se identificaron como: Ácido ganodérico (compuesto 1), Àcido ganodérico (compuesto 2) los cuales se observan en la Fig.6, *Ganoderol B*, Fig. 7, *Ganodermanontriol*, y *Ganodermanondiol*. Fig 8.⁹

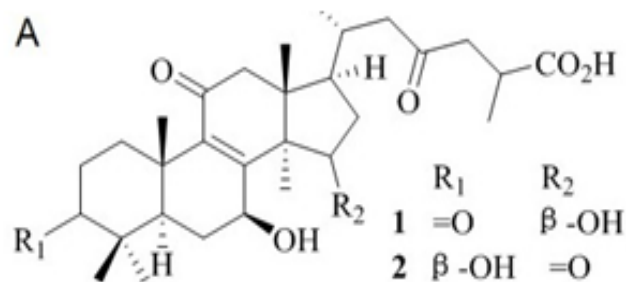


Figura 6 Estructura molecular de Ácido ganodérico A (compuesto 1) y Àcidoganodérico A (compuesto 2)

En el análisis de nucleares, los espectros de resonancia magnética y la comparación de los datos con la literatura existente. Todos los triterpenoides

mostraron efectos inhibitorios significativos tanto en EBV VEA y CA de activación a 16 nmol. En 3,2 nmol, todos los compuestos inhibieron moderadamente la activación de estos antígenos.⁹

3.1.2 Ganoderol B, Ganodermanontriol y Ganodermanondiol.

La actividad de la telomerasa fue inhibida por estos triterpenoides a 10 μ M. Estos resultados proporcionaron evidencia para la aplicación de estos triterpenos de *G. lucidum* en el tratamiento de CNP.⁹

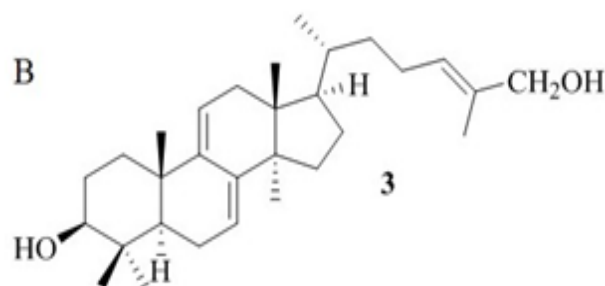


Figura 7 Estructura molecular de *Ganoderol B* (compuesto 3)

El acoplamiento molecular demostró que el compuesto (1) era capaz de inhibir la telomerasa como un ligando. Además, las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos se calcularon para elucidar sus propiedades similares a fármacos. Estos resultados proporcionaron evidencia para la aplicación de estos triterpenoides y *G. lucidum* completo en el tratamiento de NPC.⁹

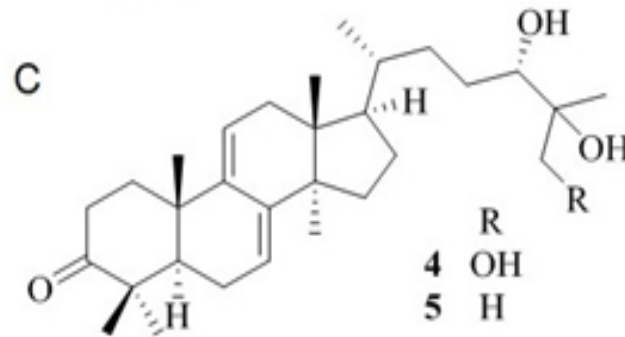


Figura 8 Estructura molecular de *Ganodermanontriol* (compuesto 4) y *Ganodermanondiol* (compuesto 5)

Además, se informó que las esporas de *G. lucidum* contiene una mezcla de varios ácidos grasos de cadena larga que pueden contribuir a la actividad antitumoral del hongo.⁹

Su estructura química se basa en el lanosterol, que es un importante intermediario en la biosíntesis de esteroides y triterpenos en microorganismos y animales.¹²

Han identificado que la bioactividad de los componentes de *G. lucidum* es mucho mayor en los micelios que en los cuerpos fructíferos y esporas. Y uno de los objetivos de acelerar y optimizar el crecimiento de micelios de *G. lucidum*, es aumentar la producción de triterpenoides y polisacáridos por medio de la fermentación sumergida.¹⁰

En la siguiente tabla se presentan algunas propiedades de los triterpenos sintetizados de *G. lucidum*. Tabla 2.^{10,12}



Tabla 2. Propiedades bioactivas de los triterpenos de *G. lucidum*.

Propiedad	Características
Sabor amargo.	No se ha encontrado relación entre la amargura y ningún efecto farmacológico, ésta atrae la atención como una sustancia marcadora para la evaluación farmacológica y calidad química. El hongo produce amargor durante la fructificación.
Citotoxicidad.	Los triterpenos citotóxicos son agentes anticancerígenos potenciales. Se han reportado que los ácidos ganodéricos Z, Y, X, del micelio, mostraron actividades citotóxicas “ <i>in vitro</i> ” en células de hepatoma.
Inhibición de la agregación plaquetaria	El ácido ganodérico S mostró un efecto anfipático en la agregación plaquetaria.
Actividad hepatoprotectora	Hirotsu y Furuya (1986) encontraron que los ácidos ganodéricos R y S del micelio mostraron una fuerte actividad antihepatotóxica cultivados.
Efectos hipoglicémicos.	Los triterpenos <i>Ganoderma</i> A, B y C, aislados de los frutos de <i>G. lucidum</i> , han demostrado poseer fuertes efectos hipoglicémicos. Los efectos colaterales de medicamentos, para la diabetes, podrían minimizarse con productos complementarios de <i>Ganoderma</i> .



3.2 Polisacáridos.

Las setas contienen una gran variedad de estructuras de polisacáridos, con alto peso molecular y los poliglicanos bioactivas, se encuentran en todas las partes del hongo. Los polisacáridos representan macromoléculas biológicas, estructuralmente diversas, con amplias propiedades fisicoquímicas. Se extraen del cuerpo de la fruta, esporas y también son producidos por los micelios del hongo, cultivados en fermentadores que pueden diferir en sus composiciones de azúcar, péptidos y peso molecular, por ejemplo: *ganoderans A, B Y C*.¹⁵

Los polisacáridos de *G. lucidum* (GL-PS) presentan una amplia gama de bioactividades, por ejemplo: antiinflamatorios hipoglucémicos, antitumorígenos e inmunomoduladores.^{15,13}

Además, estos polisacáridos se obtienen regularmente de la seta, por extracción con agua caliente, seguida de precipitación con etanol o metanol e incluso se pueden extraer con agua y álcali. También contiene una matriz de polisacárido *quitina*, que es en gran parte indigerible por el cuerpo humano y se le adjudica la dureza física del hongo.¹⁵

Análisis estructurales indican que la glucosa es su principal componente de azúcar. Sin embargo, los GL-PS son heteropolímeros y también pueden contener xilosa, manosa, galactosa y fucosa en diferentes conformaciones, incluyendo sustituciones β y α -D (o L) enlazadas por 1-3, 1-4 y 1-6. Numerosas preparaciones de polisacáridos refinados extraídas de *G. lucidum*, se comercializan como nutraceuticos¹⁵



Tabla 3 Características de los oligosacáridos.

1.	No estimulan un incremento de la glucosa sanguínea o en la secreción de insulina, porque se disuelven en el intestino para formar un gel viscoso, que disminuye la absorción de la glucosa liberada.
2.	Aportan pequeñas cantidades de energía, aproximadamente 0-3 Kcal/g de sustituto de azúcar.
3.	No son cariogénicos.
4.	Mejoran el medio intestinal y cambian la microbiota de tal modo que es dominada por bacterias saludables como resultado de un medio intestinal ácido.
5.	Estimulan la absorción intestinal de minerales como calcio, magnesio y hierro. Más aún el consumo de oligosacáridos funcionales reduce el riesgo de enfermedades tales como enfermedad cardiovascular, cáncer de colon y obesidad. Los oligosacáridos funcionales se utilizan en alimentos, productos farmacéuticos o cosméticos como estabilizadores, agentes inmunoestimulantes o compuestos prebióticos.



3.2.1 Propiedades terapéuticas de *G. lucidum*.

Varios extractos de *Ganoderma lucidum* también tienen propiedades antioxidantes, que podrían atribuirse a sus polisacáridos, péptidos y compuestos fenólicos. Numerosos estudios demostraron que *Ganoderma lucidum* extractos tienen un potencial anticancerígeno significativo. Compuestos responsables de la actividad son los polisacáridos, que regulan la expresión de los genes del cáncer y mejorar el sistema inmune mediante proliferación de linfocitos y los triterpenoides que suprimen la proliferación del células de cáncer por apoptosis y detención del ciclo celular.⁶

Los polisacáridos de los hongos sintetizados en diferentes condiciones de crecimiento pueden exhibir diferentes efectos biológicos. Los métodos de extracción también pueden afectar a los polisacáridos obtenidos de *G. lucidum* del cuerpo fructífero, que podrían contener β -1,3-glucanos o α -1,4-enlazados de poliamidas.⁶

Se han reportado propiedades antibacterianas, antimicóticas fuertes del extracto de *G. lucidum*, incluso mejor que los estándares de ampicilina y estreptomycin en algunos casos. Por lo tanto, los polisacáridos aislados de esta especie deben ser analizados ampliamente.⁶



CAPÍTULO 4: EFECTO ANTIMICROBIANO DE *Ganoderma lucidum*.

El objetivo de la investigación en el tratamiento de infecciones virales y bacterianas es el descubrimiento de agentes que inhiben específicamente la multiplicación viral y bacteriana sin afectar a las células normales. Los efectos secundarios no deseados de los antibióticos, antivirales y la aparición de cepas resistentes o mutantes, hacen que el desarrollo de nuevos agentes sea una necesidad urgente.¹⁵

Esto ha llevado a los científicos a investigar la actividad antibacteriana y antiviral de las plantas medicinales y hongos.¹⁵

Para evaluar los efectos antibacterianos del hongo, se realizaron varios estudios, en animales, “*in vitro*” e “*in vivo*” utilizando *G. lucidum*. Por ejemplo: en un estudio, se inyectaron ratones con extracto de *G. lucidum* (2 mg / ratón) 1 día antes de la infección con *Escherichia Coli*, mostraron notablemente mejoras en las tasas de supervivencia > 80% en comparación con 33% en los controles.¹⁵

En un estudio “*in vitro*” que utilizó el ensayo en disco y se investigó un extracto de cloroformo de *G. lucidum*, por su efecto antibacteriano sobre bacterias gram-positivas como *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y bacterias gram-negativas como *E. coli*, y *Pseudomonas Aeruginosa*. Los resultados mostraron que el extracto tiene efectos inhibidores del crecimiento en dos de las bacterias gram-positivas con una concentración inhibitoria mínima (MIC) de 8 mg / ml para *S. aureus* y *B. subtilis*.¹⁵



Se han identificado polisacáridos antimicrobianos en otros hongos y se ha reportado que los terpenos de las plantas tienen actividad antimicrobiana. También existe la implicación de que la terapia en combinación puede ser más segura, ya que pueden utilizarse cantidades menores de fármacos antivirales y antibacterianos citotóxicos, con una disminución en el riesgo de efectos secundarios. Sin embargo, esto necesitan investigaciones adicionales en términos de estudios “*in vitro*” e “*in vivo*”.¹⁵



4.1 Mínima Concentración Inhibitoria MIC.

El grado de potencia de un antibiótico se mide en términos de la concentración mínima de ese agente requerido para inhibir por completo la multiplicación de una cepa bacteriana.¹⁷

Concentración Mínima inhibitoria (CMI o MIC) por sus siglas en inglés, puede medirse en $\mu\text{g/mL}$, pueden medirse de manera precisa creando una serie de soluciones de antibiótico, por lo común en incremento del doble, en un medio de cultivo determinado por la especie en particular que se examina y agregando a estas soluciones un número predeterminado de células bacterianas por ejemplo 10⁵ por solución, tras lo cual se incuban las soluciones inoculadas a una temperatura y por un tiempo por lo general de 24 a 48hrs, también determinado por la especie en estudio. Si una prueba dada las bacterias son capaces de multiplicarse en soluciones que contienen 1, 2, 4, y 8 $\mu\text{g/MI}$.¹⁷ Del antibiótico pero no en soluciones que contienen 16, 32, 64 o 128 $\mu\text{g/mL}$, entonces la MIC de esa sustancia en particular se informaría como 16 $\mu\text{g/mL}$ MIC es una medida de la concentración de antibiótico requerida para prevenir la multiplicación de los microorganismos de prueba, pero no indica la concentración de antibiótico necesaria para destruir la cepa es decir la concentración bactericida mínima (MBC) o si el antibiótico es bactericida en cualquier concentración. Para determinar el valor de MBC se utilizan alícuotas de los cultivos, a partir de los cuales se leyó la MIC, se subcultivan en cajas de Petri que contienen medio de agar sin antibiótico o la sustancia a estudiar. Las placas se incuban por 24 a 48 hrs, dependiendo de la cepa y se examinan en busca de colonias bacterianas.¹⁷



4.2 Estudios “*in vitro*” analizando efecto antimicrobiano de *G. lucidum*.

En un estudio se revisaron informes sobre siete hierbas chinas, las cuales se mencionan en la tabla 4. Con énfasis en sus actividades inmunomoduladoras y antimicrobianas, mientras que algunas tienen un efecto inhibitorio directo sobre organismos microbianos, observaron que cada especie tiene al menos un compuesto que modifica selectivamente las células del sistema inmunológico. La derivación exitosa de compuestos bioactivos puros de *Ganoderma lucidum*, *ginseng* y *Zingiber officinale*, apoya la práctica tradicional de utilizar estas plantas para estimular el sistema inmunológico.²⁴

Nombre científico	Nombre común
<i>Umbelliferae</i>	Angélica
<i>Astragalus membranaceus</i>	Huang qi
<i>Ganodermataceae</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>
<i>Araliaceae</i>	<i>Panaxginseng</i>
<i>Lamiaceae</i>	<i>Scutellaria</i>
<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberofficinale</i>
<i>Aloaceae</i>	<i>Aloe vera</i>

Tabla 4 Nomenclatura de plantas medicinales: Se presentan 7 plantas y hongos que fueron estudiadas en su acción antimicrobiana e inmunomoduladora.

Dado que muchos medicamentos actuales a menudo están inspirados en los fitoquímicos, estudiar la influencia de cada compuesto sobre las células inmunitarias y los microorganismos puede proporcionar información útil para el desarrollo de nuevos agentes farmacológicos potencialmente útiles.²⁴



4.3 Bioactividad de los componentes de *G. lucidum*.

De diferentes especies de hongos se pueden sintetizar varias sustancias antibacterianas, antifúngicas y antivirales, que se puede purificar y aplicar en la práctica clínica. Se ha reportado que los componentes responsables de su acción antimicrobiana son polisacáridos, triterpenoides, lectinas, proteínas, enzimas bacteriológicas y aceites esenciales, además su capacidad depende de los métodos de extracción y purificación para obtener los componentes.³⁰

En un estudio se decidió comparar la bioactividad de los extractos de *G. lucidum*, cultivados en sustrato alternativo, utilizando paja de trigo, con los cultivados comercialmente utilizando aserrín de roble. Obteniendo extractos de cepas de *G. lucidum*, cultivados en el sustrato alterno, BEOFB 431-*G. lucidum*, BEOFB 432- *G.lucidum* y BEOFB 434-*G. lucidum*. Recolectando los cuerpos fructíferos del bosque de Bojcin cerca de Belgrado (Serbia), China e Igalo (Montenegro), respectivamente, y mantenidas en medio de agar de malta en la colección de cultivos del Instituto de Botánica, Facultad de Biología, Universidad de Belgrado (BEOFB) y cuerpos fructíferos de la variedad comercial.³⁰



4.4 Evidencias antimicrobianas “*in vitro*”

Los *basidiocarpos* de *Ganoderma lucidum* secos y pulverizados (10,0 g) se extrajeron con 300,0 ml de etanol al 96% mediante agitación, en un agitador magnético (150 rpm) durante 72 h. Los extractos resultantes se centrifugaron (20 °C, 3000 rpm, 10 min) y sobrenadantes filtrado a través del papel de filtro Whatman n°4. Las especies bacterianas probadas fueron aislados clínicos de: *Bacillus Cereus*, *Micrococcus flavus* ATCC10240, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, Después de 24 horas incubación de placas a 37 °C, el diámetro de la zona de bacterias se midió la inhibición del crecimiento. Se realizaron tres repeticiones para cada concentración de extracto. La mezcla sin extracto fue usado como control negativo, mientras que el control positivo contenía antibióticos comerciales (estreptomocina y ampicilina) o fungicidas (ketoconazol y fluconazol) *Ganoderma lucidum* BEOFB 431 tuvo el mayor rendimiento de extracción de 8.85% en comparación con la cepa comercial y *Ganoderma lucidum* BEOFB 434 con los rendimientos más bajos de 6.38% y 6.64%, respectivamente, mientras que en la cepa BEOFB 432 el rendimiento fue 7.52%. Sin embargo, ninguna de estas diferencias en la eficiencia de la extracción entre las cepas fue significativo ($p < 0.05$).³⁰

El bajo rendimiento de extracción de *Ganoderma spp. Basidiocarpos* podría atribuirse al alto contenido de fibras brutas en su composición, en contraste con el micelio del cual el rendimiento de la extracción aumenta hasta el 40%.

Obteniendo como resultado que el extracto de *G. lucidum* BEOFB 434 inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en la zona de 10.7 mm, y en *Escherichia coli* un volumen de 20.0 mL (400.0 mg de extracto) no tuvo efecto. Extracto de *Ganoderma lucidum* BEOFB 434 fue el más efectivo con un diámetro de zona inhibidora 14.2 mm en *Staphylococcus aureus*, mientras que en general extractos de la cepa comercial tuvo el efecto más débil (10.4-



12.0 mm) Extractos de cepas BEOFB 431 y BEOFB 434 mostró el mayor potencial antibacteriano con un MIC para ambas cepas de 1,0 mg / ml para *Staphylococcus aureus* y *Myotis flavus*, mientras que los extractos de la cepa comercial y cepa BEOFB 434 tuvo el efecto más débil (MIC de 2.7 mg / mL) contra *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Un efecto bactericida se notó para todos los extractos. Los fenoles están presentes en extractos de hongos y son los principales portadores de actividad antibacteriana. También menciona la actividad inhibidora de *G. lucidum* contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus spp.* de las cepas BEOFB 431 y BEOFB 434.³⁰

En capacidad antifúngica todos los extractos a una concentración de 0.5 mg / mL inhibieron el crecimiento de *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus strictum* y *Trichoderma Viride* cuya concentración fungicida fue también mínimo (1.2-1.7 mg / mL) para extracto de BEOFB 434 *G. lucidum*.³⁰

El estudio se compara con la actividad registrada de *Ganoderma lucidum* con extracto de metanol que tenía actividades antifúngicas altas contra *Trichoderma Viride* y *Penicillium Funiculosum*, con valores MIC de 0.005 mg / mL y 0.09 mg / mL, respectivamente y su alto efecto fungicida contra *Candida albicans* ya aplicación encontrada en el enriquecimiento de pasta de dientes.³⁰

Los resultados de este estudio mostraron claramente que los cuerpos fructíferos producido en uno de los cultivos más accesibles y más baratos residuos, paja de trigo, son mejores antimicrobianos, antioxidantes y agentes citotóxicos que los cuerpos fructíferos obtenidos en convencionales sustratos, en aserrín de roble. Los extractos de *G. lucidum*. BEOFB 431 y BEOFB 434 tenían particularmente prometedoras actividades para futuras investigaciones que deben ir en la dirección de la purificación de compuestos que son portadores de su considerable bioactividad y su estudio “*in vivo*”.³⁰



En otro estudio realizado por Ranganath N, se evaluó la actividad antimicrobiana del polvo de esporas de *Ganoderma lucidum* en *Prevotella intermedia* aislado de la placa subgingival de 20 pacientes diagnosticados con periodontitis crónica. En el cual la sensibilidad al extracto de *G. lucidum* se probó desde 500 a 1 mcg / ml. Trece muestras fueron sensibles a 16 mcg / ml, doce muestras demostraron sensibilidad a 8 mcg / ml, doce muestras a 4 mcg / ml, ocho muestras a 2 mcg / ml y cinco muestras tuvieron sensibilidad incluso a 1 mcg / ml. El valor medio de MIC de polvo de esporas de *G. lucidum* para *P. intermedia* obtenido fue de 3,62 mcg / ml.²²

Comparando el estudio con el registro obtenido por Yoon, donde se evaluó la actividad antimicrobiana de *G. lucidum* en bacterias gram-positivas, siendo las más destacada *Micrococcus luteus* a una MIC de 0,75 mg / m y en 10 especies de bacterias gram-negativas se mostró la actividad antibacteriana más fuerte contra *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli*, a valores de MIC de 1,25 mg / ml y 1,75 mg / ml, respectivamente. En otro estudio por Nayak se analizó el efecto antibacteriano del extracto acuoso de las esporas en polvo de *G. lucidum* contra las cepas estándar de *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis* y *Klebsiella pneumoniae*, donde se demostró que los microorganismos eran sensibles y el valor de MIC para *S. aureus* fue de 125 mcg / ml, para *E. coli* de 125 mcg / ml, para *E. faecalis* fue de <2 mcg / ml.²²

De acuerdo con el investigador Gao, *G. lucidum* y otras especies de *Ganoderma*, en combinación con agentes quimioterapéuticos se han utilizado para tratar diversas enfermedades bacterianas y encontraron que los polisacáridos eran los principales componentes bioactivos, que desempeñan un papel importante en la actividad antibacteriana.²²



También se observó la actividad antibacteriana máxima de metil-australato, un derivado de *G. lucidum* contra *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* seguido de *S. aureus* y la zona de inhibición más baja se registró para especies de *Bacillus spp.*²²

Klaus y Miomir han estudiado la influencia de varios extractos aislados de *G. lucidum* en *E. coli* especies de *Bacillus*, *S. aureus* y especies de *Salmonella*. El extracto del cuerpo fructífero mostró la zona máxima de inhibición contra especies de *Bacillus*, mientras que la zona mínima de inhibición se informó para especies de *E. coli* y *Salmonella*.²²

Cowan informó que los componentes más activos presentes en el hongo son generalmente insolubles en agua, esperando que los solventes orgánicos de baja polaridad produzcan un extracto más activo. En el estudio “*in vitro*” del polvo de esporas de *G. lucidum* contra *Prevotella intermedia*, se utilizó un extracto acuoso, sin un disolvente orgánico, y se demostró actividad antimicrobiana con un valor MIC a partir de 1 mcg / ml. Sin embargo debido a que *G. lucidum* tiene actividad inmunomoduladora, su eficacia podría ser clínicamente mejor y en los estudios “*in vivo*” se demostraría un mejor control de las infecciones por sus acciones sinérgicas.²²

4.5 Actividad antimicrobiana de los polisacáridos.

Se observó en un estudio la actividad antimicrobiana de los polisacáridos de los cuerpos fructíferos de *G. lucidum*, en treinta y seis muestras que fueron analizadas. Se cultivaron cuatro cepas de *G. lucidum* (GL01, GL02, GL03 y GL04) en los sustratos de crecimiento de tres tipos diferentes de serrín de abedul, arce y aliso modificado con salvado de trigo en tres concentraciones diferentes: 10, 20 y 30%. Se observó mayor cantidad de polisacáridos en la cepa GL01, y los rendimientos más altos de los polisacáridos se observaron en la muestra GL04 (112.82 mg / g de peso seco).³²



La actividad antibacteriana de los polisacáridos se determinó “*in vitro*”, utilizando el método de caldo de microdilución. Se utilizó un panel de ocho cepas bacterianas de referencia y todos los polisacáridos ensayados mostraron una actividad antibacteriana moderada. La cepa *Micrococcus luteus* fue la más sensible con concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de 0,63 a 1,25 mg / ml. Sin embargo, los polisacáridos analizados exhibieron efectos inhibidores contra todas las cepas bacterianas probadas, con un valor MIC que varían de 0,62 a 5,0 mg / ml. Las concentraciones bactericidas mínimas (MBC) de las muestras fueron comparables (2,5 o 5,0 mg / ml) y se observaron ligeras diferencias entre MIC y MBC de las muestras de polisacáridos obtenidas de las cepas del *G. lucidum*. Las bajas relaciones entre MBC y MIC sugieren que los polisacáridos actuaron como agentes bactericidas. Los polisacáridos probados ejercieron el efecto inhibitor más fuerte para *M. luteus* (MIC 0.62 o 1.25 mg / mL)³²

En otro estudio, se extrajeron polisacáridos de *G. lucidum* con agua hirviendo y se evaluó su actividad antimicrobiana contra tres patógenos de plantas (*Erwinia carotovora*, *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea*) y cinco microorganismos perjudiciales para la salud y comida (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus nigricans*).³²

Los resultados mostraron que el líquido de polisacárido tenía un alto efecto inhibitor sobre *E. carotovora*, un efecto inhibitor medio sobre *P. digitatum*, un efecto mínimo sobre *B. cinerea*, para los patógenos de las plantas. Con respecto a los microorganismos dañinos a los alimentos y la salud, el extracto de polisacáridos tuvo un mayor efecto inhibitor sobre *B. subtilis* y *B. cereus*, un débil efecto inhibitorio sobre *E. coli* y *A. niger*, y un efecto casi no inhibitorio sobre *R. nigricans*.³²

También se han realizado observaciones sobre otra especie de *Ganoderma*, como los polisacáridos extracelulares obtenidos del medio de cultivo de *Ganoderma formosanum* los cuales fueron separados en tres fracciones.³²



principales, PS-F1, PS-F2 y PS-F3, en función de su tamaño molecular. Aunque la composición de los diferentes monosacáridos en cada fracción, D-manosa fue el principal constituyente entre todas las fracciones, y en las dos fracciones principales PS-F2 y PS-F3, el segundo azúcar más abundante fue D-galactosa, seguido de D-glucosa. *G. formosanum* sintetiza así una forma diferente de polisacárido en comparación con otras especies de *Ganoderma* por ejemplo: *Ganoderma lucidum*, en las que D-glucosa es generalmente el componente principal.³²

En el estudio de la actividad antibacteriana del exopolisacárido (EPS) a partir del medio basal y el medio de malta obtenido de diferentes hongos, *G. lucidum* EPS mostró la mayor actividad contra el crecimiento de *Bacillus cereus* entre otras especies bacterianas (23 ± 0.61 mm y 18 ± 0.38 mm, respectivamente).³²

4.6 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana.

También en otro estudio in vitro se analizó el caldo de cultivo sumergido de *G. lucidum* que fue proporcionado por el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, de la Universidad de Guadalajara. Trabajando con las siguientes cepas ATCC (American Type Culture Collection): *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus aureus* ATCC 51811, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, y *Micrococcus luteus* ATCC 9341. Además se manejaron cepas de *Salmonella* spp., que forman parte del cepario del laboratorio de Inocuidad Alimentaria, previamente aisladas de alimentos y que en estudios previos mostraron resistencia a distintos antibióticos, entre los que se encuentra la estreptomycinina.²⁶

El análisis científico consistía en realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, determinando el valor de MIC (Concentración Mínima



Inhibitoria), como control positivo se probó un tubo con 1,240 $\mu\text{g/mL}$ de estreptomocina, así mismo en otro tubo se probó la viabilidad de las bacterias colocándolas sin antibiótico y sin caldo de cultivo sumergido.²⁶

Después de cultivar las bacterias se mezclaron con el caldo de cultivo sumergido, durante 24 hrs a 35 °C. Se comprobó el crecimiento bacteriano en los tubos de caldo MH por su turbidez y se consideró inhibición del crecimiento en aquellos tubos que no presentaban dicha turbidez. De dichos tubos se sembraron las bacterias en agar sangre, en las pruebas de confirmación de los resultados²⁶.

A partir de esporas de *G. lucidum* se realizaron pruebas con un extracto acuoso, que se preparó mezclando las esporas a razón de 1 gr/mL de agua. Se dejaron reposar 24 hrs a 4 °C y se centrifugaron a 2,500 revoluciones por minuto durante 10 minutos y el sobrenadante se utilizó para llevar a cabo el análisis con las bacterias. ²⁶

De los tubos en donde se colocó el inóculo, más el caldo total del cultivo sumergido de *G. lucidum*, y que no presentaron turbidez después de la incubación, se inoculó una alícuota en agar sangre, el cual se incubó a 35 °C durante 24 hrs, para confirmar si existe o no la presencia de bacterias sobrevivientes en los tubos de caldo MH y donde no se observó turbidez a simple vista. De tal manera que los resultados obtenidos mostraron las cantidades del caldo de cultivo sumergido en el que se encuentra inhibición total del crecimiento bacteriano.²⁶

Los resultados obtenidos en las pruebas experimentales mostraron que el caldo de cultivo sumergido de *G. lucidum* se encontró su efectividad a partir de una concentración de 50 μL (5% del volumen total en el medio de cultivo bacteriano), en todas las cepas de prueba, este resultado es similar a estudio en el cual se investigó el efecto antimicrobiano por medio del método de micro dilución del extracto de *G. lucidum*, que mostró susceptibilidad de



cepas como *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Echerichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. También coincide con lo reportado en otro estudio en el cual menciona que existe actividad bactericida del extracto etanólico de *G. lucidum* sobre una bacteria gram positiva como lo es *S. aureus* y una gram negativa con *E. coli*.²⁶

Tratando de separar los distintos componentes bioactivos para probar su efecto antibacterial de *G. lucidum*, se utilizaron métodos de separación molecular, como fue centrifugación donde se encontró un efecto antibacteriano con menor cantidad, lo que indica que las moléculas que proporcionan dicho efecto son de bajo peso molecular y que se conserva su estructura química, al menos para inhibir el desarrollo bacteriano. Según reportes previos dichas moléculas en este tipo de cultivo corresponden a alcaloides, terpenoides y de naturaleza fenólica, así como algunos metabolitos secundarios que inclusive muestran efecto contra *Pseudomonas aeruginosa*.²⁶

En el caso de los triterpenoides de *G. lucidum* son los principales metabolitos secundarios, difíciles de identificar dada su similitud. La mayoría de los triterpenoides de *Ganoderma spp.* exhiben un extenso rango de actividades biológicas en las que incluyen la actividad antimicrobiana.

Las limitantes para lograr su obtención a escala de laboratorio, son su baja abundancia, los procedimientos complejos de extracción y purificación, además de la preparación de los triterpenoides de alta pureza a partir de *G. lucidum*.²⁶

Queda para estudios futuros la caracterización de dichas sustancias y su posible sinergismo. Obteniendo como resultado que el caldo de cultivo sumergido de *G. lucidum* presenta actividad antimicrobiana contra las cepas:



Bacillus subtilis ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 51811, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, y *Micrococcus luteus* ATCC 9341, así como cepas de *Salmonella*. Obteniendo un rango MIC, del caldo de cultivo sumergido de *G. lucidum* de 1.25 a 50 $\mu\text{L/ml}$, dependiendo del método de separación presentando acción antimicrobiana desde 1.25 μL del centrifugado, 25 μL del extracto filtrado y 10 μL del caldo de cultivo sumergido con peso molecular menor a 3,000 daltones.²⁶

G. lucidum ha recibido considerable atención por su amplia aplicación como ingrediente medicinal. Además de las sustancias mencionadas en los capítulos anteriores como los triterpenos y polisacáridos, también se ha adquirido un interés por estudiar sus metabolitos secundarios que exhiben una amplia gama de actividades antimicrobianas. En la búsqueda de compuestos microbiológicamente activos de *Ganoderma spp*, la mayoría de las investigaciones se han realizado sobre extractos de los cuerpos fructíferos y el micelio y hay estudios sobre la actividad antimicrobiana de fracciones aisladas o polisacáridos puros. La evaluación de la actividad antimicrobiana de los polisacáridos caracterizados químicamente es limitada. Se han podido observar que el (1-3)- β -D-glucano con (1-6)-D ramas podrían actuar como agente antimicrobiano. Las propiedades de *G. lucidum* son muy amplias y el efecto antimicrobiano es de suma importancia que siga en desarrollo de su investigación y así poder sintetizar de forma más precisa sus componentes bioactivos que desarrollan esta propiedad.¹²



4.7 Bacterias y hongos susceptibles a la acción antimicrobiana de *Ganoderma lucidum*.

En la siguiente tabla se observan las bacterias y hongos que mostraron susceptibilidad a los componentes químicos de *G. lucidum* de acuerdo a los estudios “*in vitro*” que se analizaron.

Tabla 5 Bacterias y hongos susceptibles a *G. lucidum* ^{29,18}

Microorganismos susceptibles a <i>Ganoderma lucidum</i> .	Características generales
<i>Micrococcus luteos.</i>	Bacteria gram (+), coccus, aerobio estricto, se encuentra en el suelo, el polvo, el agua y el aire, y como parte de la flora normal de la piel de los mamíferos, también presente en cavidad oral, mucosas, orofaringe y el tracto respiratorio superior, forma colonias amarillas brillantes en agar nutritivo y sobrevive en ambientes oligotróficos durante largos períodos de tiempo.
<i>Proteus vulgaris.</i>	Bacteria gram (-) con forma de bastón, se encuentra en los tractos intestinales de humanos y animales. Se puede encontrar en el suelo, el agua y la materia fecal. Se encuentra agrupado con <i>Enterobacteriaceae</i> y es un patógeno oportunista de los humanos, puede causar infecciones del tracto urinario.
<i>Escherichia Coli.</i>	Bacteria gram (-), aerobia-anaerobia facultativa, la mayoría de estas cepas viven en equilibrio con otros microorganismos, se encuentra en el tracto gastrointestinal de los seres humanos, Ayudan a sintetizar vitaminas K y complejo B y también ayudan en la digestión y absorción de alimentos. Pero en ocasiones pueden causar infecciones graves. Los principales



Continuación: Tabla 5 Bacterias y hongos susceptibles a *G. lucidum*

	descubrimientos en la comprensión de la fisiología y la genética bacteriana han sido habilitados por <i>E. coli</i>
<i>Enterococcus faecalis.</i>	Bacteria gram (+) anaerobia, puede causar infecciones potencialmente mortales en humanos, por lo regular su hábitat es el intestino, también se encuentra con frecuencia en los dientes con tratamiento de conductos con valores de prevalencia que van del 30% al 90% de los casos.
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Bacteria gram (+), cocos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas, forman parte de la microbiota de piel y mucosas, y se encuentran entre la flora del biofilm o biopelícula.
<i>Salmonella typhimurium.</i>	Anaerobios facultativos, entero bacterias, obtienen su energía de reacciones de oxidación y reducción utilizando fuentes orgánicas, son patógenos intracelulares facultativos. Muchas infecciones se deben a la ingestión de alimentos contaminados. Se pueden dividir en dos grupos: Salmonella tífos y no tifoideos. Los no tifoideos son más comunes y generalmente causan enfermedad gastrointestinal.
<i>Aspergillus glaucus.</i>	Hongos filamentosos y hialinos, se encuentran ampliamente distribuidos en el aire, agua, vegetación, muebles, polvo, despensas húmedas Se reproducen asexualmente, se relaciona con cuadros alérgicos o rinosinusitis alérgica.



Continuación. Tabla 5 Bacterias y hongos susceptibles a *G. lucidum*

Trichoderma viride.

Es un hongo y un biofungicida, produce esporas asexualmente, se utiliza para el tratamiento de semillas y suelos para la supresión de diversas enfermedades causadas por hongos patógenos. También es un patógeno en sí mismo, causando la putrefacción del moho verde de la cebolla. Parásito de los micelios y cuerpos fructíferos de otros hongos, incluidos hongos cultivados.

Aspergillus niger.

Hongo, generalmente asexuales, ampliamente distribuidos, es un saprofito que crece en hojas muertas, granos almacenados, pilas de composta y otras plantas en descomposición, se encuentra en el aire, agua, polvo etc, relacionado a cuadros alérgicos. Los usos principales son para la producción de enzimas y ácidos orgánicos por fermentación, producir ácidos orgánicos como el ácido cítrico y el ácido glucónico.

Pseudomonas aeruginosa.

Bacteria gram (-) del género *Pseudomonas*, es particularmente letal para individuos inmunodeprimidos, anaerobia facultativa. Es móvil a través de una cola o flagelos, y sobrevive tanto en el suelo como en los plásticos. Es un agente oportunista de infección, en pacientes con quemaduras graves, pacientes que reciben fármacos inmunosupresores y pacientes que se recuperan en la atención hospitalaria. Su capacidad para adherirse firmemente a las superficies en mallas adhesivas o *biofilms* lo convierte en un patógeno difícil de controlar. Es naturalmente resistente a las penicilinas y tiene una baja susceptibilidad a otros antibióticos.



Continuación: Tabla 5 Bacterias y hongos susceptibles a *G. lucidum*

Bacillus subtilis.

Bacteria gram (+), aerobio estricto o facultativo, se encuentra en el suelo, el tracto gastrointestinal de los rumiantes y seres humanos, con forma de barra, además utilizada como indicador biológico, ya que puede sobrevivir a condiciones ambientales extremas de temperatura y desecación.

Prevotella intermedia.

Bacteria gram (-) patógena, anaerobia estricta, implicada en infecciones periodontales como: gingivitis, periodontitis, gingivitis ulceronecrosante aguda y también en abscesos dentoalveolares,

Candida albicans.

Hongo oportunista en pacientes inmunodeprimidos, crece como levadura y células filamentosas, se encuentra en aparato digestivo, genital y cavidad oral, vive en equilibrio con otros microorganismos, pero su transformación a patógeno depende de la alteración de los mecanismos defensivos de la persona colonizada, así como el complejo potencial de factores de virulencia del hongo y el crecimiento excesivo produce candidiasis.



En la siguiente tabla se presentan las bacterias y hongos que resultaron ser susceptibles a los componentes antimicrobianos de *Ganoderma lucidum* con su respectiva referencia del experimento “*in vitro*” que se analizaron.

Tabla 6 Microorganismos susceptibles a *G. lucidum* y referencia de estudios “*in vitro*”.

Microorganismos susceptibles a <i>G. lucidum</i>.	Estudios “<i>in vitro</i>”
<i>Micrococcus luteos</i>.	-Ranganath N.Nayak, P. -Barajas L, Reynoso R. -Ferreira I, Sandrina A. Heleno.
<i>Proteus vulgaris</i>.	Ranganath N. Nayak P.
<i>Escherichia coli</i>.	Cilerdzca J, Vukojevica J. y Wachetel S, Yuen J, John A.
<i>Enterococcus faecalis</i>.	Ranganath N. Nayak, P. y Barajas L, Reynoso R, Guerra F.
<i>Staphylococcus aureus</i>.	-Ranganath N. Nayak, P. - Cilerdzca J, Vukojevica J. - Barajas L, Reynoso R, Guerra F. -Wachetel S, Yuen J, John A.
<i>Salmonella typhimurium</i>.	Barajas L, Reynoso R, Guerra F. y Ranganath N. Nayak, P.
<i>Aspergillus glaucus</i>.	Cilerdzca J, Vukojevica J.
<i>Trichoderma viride</i>.	Cilerdzca J, Vukojevica J.
<i>Aspergillus niger</i>.	Cilerdzca J, Vukojevica J.
<i>Pseudomonas aureginosa</i>.	Ranganath N. Nayak, P. y Wachtel S, Yuen J.
<i>Bacillus subtilis</i>.	-Wachtel S, Yuen J. -Ferreira I, Sandrina A. Heleno. -Barajas L, Reynoso R.
<i>Prevotella intermedia</i>.	Ranganath N. Nayak P.
<i>Candida albicans</i>.	Cilerdzca J, Vukojevica J.



CONCLUSIONES.

- El efecto antimicrobiano de *G. lucidum*, se ha descrito a lo largo del tiempo en los estudios realizados “in vitro” en los cuales, los hallazgos encontrados identifican diferentes componentes bioactivos como los triterpenos, que se pueden purificar y que tienen un efecto antibacteriano, antifúngico y antiviral. Además se han identificado polisacáridos antimicrobianos que pueden utilizarse en cantidades menores a comparación de fármacos antivirales y antibacterianos citotóxicos. Se ha adquirido también un interés por estudiar los metabolitos secundarios que exhiben una amplia gama de acción bacteriostática. Y se han aislado 150 triterpenoides a los cuales se les atribuyen beneficios específicos de acción antioxidante e inmunomoduladora. El efecto antimicrobiano descrito en la mayoría de los artículos mencionan susceptibilidad en bacterias como *Bacillus subtilis*, *Prevotella intermedia*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*. Y además en algunos hongos como *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus glaucus* y *Trichoderma viride*. Es de suma importancia que los efectos antimicrobianos encontrados hasta el momento, se sigan estudiando para ampliar el conocimiento de las interacciones entre los compuestos bioactivos del *G. lucidum* y las células bacterianas en la búsqueda de contribuir al desarrollo de nuevos fitofármacos, para microorganismos que han desarrollado resistencia a fármacos químicos o bien, para mejorar el efecto antimicrobiano en beneficio de los pacientes, en el tratamiento de las enfermedades relacionadas a cavidad oral.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Bonifaz B. Micología Médica. 4ta edición: Mc Graw Hill Interamericana. 2012, Pp 3-11.
2. Espinosa T. Cadena S. Baires A. Farmacología y Terapéutica en Odontología: Fundamentos y guía práctica. 1ra edición. México: Médica panamericana 2012, Pp 3-5.
3. Urbarren T, Barzan E, Castañón L. Generalidades de micología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina: UNAM.<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/generalidades.html>
4. Park Y, Kim H, Kong W, Cho J. Taxonomic Position and Species Identity of the Cultivated Yeongji '*Ganoderma lucidum*' in Korea. Mycobiology. 2016 Mar; 44: 1.6. PubMed.
5. Setasdesiecha: <https://www.setasdesiecha.com/hongos.html>
6. Sharif S, Shahid M, Mushtaq M, Akram S. Wild Mushrooms: A Potential Source of Nutritional and Antioxidant Attributes with Acceptable Toxicity. Prev Nutr Food Sci. 2017 Jun; 22(2): 124–130. PubMed.
7. Cano Flores A. Biotransformación de triterpenos con diferentes microorganismos. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 44, núm.2, 2013, abril-junio, pp.7-16 Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C. Distrito Federal, México.
8. NCBI Taxonomy Browser NIH
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=939174&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
9. Zheng D, Chen L. Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* inhibit the activation of EBV antigens as telomerase inhibitors. Exp Ther Med. 2017 Oct; 14 (4):3273-3278, PubMed.
10. Cui M, Yang H, He G. Submerged fermentation production and characterization of intracellular triterpenoids from *Ganoderma*



- lucidum* using HPLC-ESI-MS, J Zhejiang Univ Sci B. 2015 Dec; 16(12): 998–1010.
11. Chen S, Xu J, Liu C, Zhu Y, Zhou N, Li C, Wang L, Guo X, Yongzhen Sun,¹ Luo H, Li Y, Song J, Henrissat B, Levasseur A, Qian J, Li J. Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*, Nature Communication. 2012 Jun 26; 3: 913, PubMed.
 12. You B, Tien N, Lee M, Bao B, Wu Y, Hu T, Lee H. Induction of apoptosis and ganoderic acid biosynthesis by cAMP signaling in *Ganoderma lucidum*, Sci Rep. 2017 Mar 23;7(1):318. PubMed.
 13. Boh B. *Ganoderma lucidum*: A Potential for Biotechnological Production of Anti-Cancer and Immunomodulatory Drugs, Journal Name: Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery, 2013 Volume 8 , Issue 3.
 14. Wang X , Li Y , Wang D , Yao Y .The Species Identity of the Widely Cultivated *Ganoderma*, '*G. lucidum*' (Ling-zhi), in China Published online 2012 Jul 20. PubMed
 15. Wachtel S, Yuen J, John A. Buswell, Benzie F. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. Chapter 9. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi) 2nd edition. 2011, editors. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, ISBN-13: 978-1-4398-0713-2, PubMed
 16. Lamont R, Hajishengallis G, Jenkinson H. Microbiología e inmunología oral. 1ra edición, México, 2015, Pp 403-404
 17. Kwon O, Park Y, Kim H, Kong W, Cho J, Lee C. Taxonomic Position and Species Identity of the Cultivated Yeongji '*Ganoderma lucidum*' in Korea. Mycobiology. 2016 Mar;44(1):1-6, PubMed
 18. Leibana J. Microbiología oral. 2da edición. Madrid: McGRAW-HIL INTERAMERICANA, 2002. Pp. 82-83, 483-490, 610-611, 307-310, 342-344..
 19. Benny K, Tan J. Vanitha, Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Some Traditional Chinese Medicinal Herbs: A Review, Journal Name: Current Medicinal Chemistry, Volume 11 , Issue 11 , 2004.
 20. TzeChen H, Joseph M. Suppression of proliferation and oxidative stress by extracts of *Ganoderma lucidum* in the ovarian cancer cell line



OVCAR-3, International journal of Molecular Medicine, September 1, 2011 Pages:1065-1069.

21. Cilerdzic J, Vukojević J, Stajić M, Stanojković T, Glamoclija J. Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. Journal of Ethnopharmacology Volume, Volume 155, Issue 1, 8 August 2014, Pages 312-319, ScienceDirect.
22. Ranganath N. Nayak, P. T. Dixitraj, AaratiNayak, and Kishore Bhat, Evaluation of anti-microbial activity of spore powder of *Ganoderma lucidum* on clinical isolates of *Prevotella intermedia*: A pilot study, Contemp Clin Dent. 2015 Sep;6 Suppl 1:S248-52, PubMed
23. <http://eol.org/pages/2486313/details>
24. Benny K, Tan J. Vanitha, Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Some Traditional Chinese Medicinal Herbs: A Review, Journal Name:Current Medicinal Chemistry, Volume 11 ,Issue 11. 2004
25. Bojana B. *Ganoderma lucidum*: A Potential for Biotechnological Production of Anti-Cancer and Immunomodulatory Drugs, Journal Name:Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery, Volume 8 , Issue 3 , 2013
26. Barajas L, Reynoso R, Guerra F, Efecto Antibacterial del Caldo de Cultivo Sumergido de *Ganoderma lucidum* en Bacterias Susceptibles y Resistentes a Estreptomina, Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias Biologicas y Agropecuarias División de Ciencias Biologicas y Ambientales. Julio 2015.
27. <http://www.micomedicina.com/author/micomedicina/page/5/>
28. Zhou L, Cao Y, Wub S, Vlasákc J, WeiLid D, JieLia M, Cheng Y. Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus phylogeny, Phytochemistry, Volume 114, June 2015, Pages 7-15, ScienceDirect.
29. Encyclopedia of life//eol.org
30. Cilerdzic J, Vukojević J, Staji M, Stanojkovic T, Glamoclija J. Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative



and commercial substrate, *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 155, Issue 1, 8 August 2014, Pages 312-319. *ScienceDirect*.

31. Cilerdzic J, Kosanic M, Stajić M, Vukojevic J, Ranković B, Species of Genus *Ganoderma* (Agaricomycetes) Fermentation Broth: A Novel Antioxidant and Antimicrobial Agent. *Int J Med Mushrooms*. 2016;18(5):397-404. *PubMed*.
32. Ferreira I, Sandrina A, Heleno Filipa S, Reis Stojkovic. Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. *Phytochemistry*. Volume 114, June 2015, Pages 38-55. *ScienceDirect*.