





Constancia de Número
 Número Internacional Normalizado del Libro
 Agencia Mexicana del ISBN
 AGENCIA Mexicana ISBN
 www.indautor.gob.mx
 No Radicación 368854

Fecha de Solicitud: 2019-03-25

Tipo de Obra		Información del Título	
ISBN Obra Independiente: 978-607-95228-9-6		Título: Desarrollo Científico en México	
ISBN Volumen:		Título:	
ISBN Obra Completa:		Título:	
Sello Editorial: Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. (607-95228)			
Subtítulo			
Subtítulo Obra Independiente:			
Subtítulo Obra Volumen:			
Subtítulo Obra Completa:			
Tema			
Materia: Educación, investigación, temas relacionados con la tecnología		Tipo de Contenido: Libros Universitarios	
Colección:	No Contenido:	Serie:	
IDIOMAS			
Español			
Colaboradores y Autor(es)			
Nombre	Nacionalidad	Del	

DECLARACIÓN LEGAL

EDITORES:

Gloria Verónica Vázquez García

Amalia Martínez García

Cristina E. Solano Sosa

María Eugenia Sánchez Morales

Eva Liliana Ramos Guerrero

ISBN: 978-607-95228-9-6

El contenido de los artículos es responsabilidad de los autores.

EDITORIAL

Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. (607-95228) D.R.
Loma del Bosque 115 Col. Lomas del Campestre,
C.P.37150 León, Guanajuato, México

Hecho en México

ANÁLISIS MICOQUÍMICO Y POTENCIAL TERAPÉUTICO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

Jhenifer Daniela Carrillo Lara, Rubén Octavio Méndez Márquez, Patrocinio del Pilar Miranda Delgado, Rosalinda Gutiérrez Hernández, Claudia Araceli Reyes Estrada.

Universidad Autónoma de Zacatecas "Francisco García Salinas".

RESUMEN

Los hongos comestibles pueden ser una alternativa terapéutica para infecciones causadas por bacterias, debido a sus propiedades farmacológicas reportadas; un ejemplo de éstos son los basidiomicetos que han demostrado ser relevantes en la producción de metabolitos secundarios. Nuestro objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de extractos de *Pleurotus ostreatus*. Se obtuvieron tres extractos mediante el uso de: Metanol (M), Cloroformo (C) y Agua (A); mezclando en diferentes proporciones: Extracto 1) 3(A):1(M):1(C), Extracto 2) 2(M):2(C):1(A), y Extracto 3) A, mediante un procedimiento a base de secado y macerado, posteriormente se realizaron pruebas colorimétricas para la identificación de metabolitos secundarios. El análisis micoquímico evidenció para el extracto acuoso la presencia de alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, quinonas y saponinas; para el extracto 1 se evidenciaron alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, flavonoides, glucósidos cardiacos y quinonas; y para el extracto 2 sólo se identificó la presencia de alcaloides. La actividad antibacteriana se evaluó mediante difusión en placa por medio del método de Kirby-Bauer.

INTRODUCCIÓN

La amplia resistencia bacteriana es un fenómeno que tiene por característica la ineficacia del tratamiento farmacológico contra el microorganismo, generada principalmente por el uso inapropiado de antibióticos (Fuentes, 1993).

En la actualidad, la Organización Mundial de la Salud, reporta al menos 12 familias de bacterias que han sido catalogadas como multiresistentes, entre las señaladas se incluyen Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, y Gram positivas como *Staphylococcus aureus* (OMS, 2017).

Los hongos macromicetos comestibles han demostrado ser un alimento con alto valor nutricional, lo que les confiere importantes aplicaciones medicinales (Valencia del Toro *et al.*, 2008; Cohen R. *et al.*, 2002), una aplicación relevante es la actividad antibacteriana, que se le atribuye a la producción de compuestos orgánicos llamados metabolitos secundarios, que tienen funciones de mecanismo de defensa contra plagas y enfermedades y pueden ser una alternativa para la obtención de nuevos biofármacos (Valencia del Toro *et al.*, 2012).

En la actualidad, las especies de *Pleurotus* han demostrado tener un importante potencial farmacológico, por ejemplo: efecto antimicrobiano, antiviral e hipoglucemiante, además de participar en procesos de la modulación del sistema inmune, prevención de la hipertensión arterial y procesos inflamatorios (Gregori *et al.*, 2007).

TEORÍA

Enfermedades bacterianas

El organismo humano mantiene una relación estable con diversos microorganismos, lo cual constituye la microbiota normal, esto debido a que se encuentran adaptados. La microbiota normal habita en superficies externas como la piel y superficies internas, por ejemplo el tracto intestinal (Ingraham, 1998). La microbiota es indispensable para el correcto crecimiento corporal, el desarrollo de la inmunidad y la nutrición (Icaza, 2013).

La homeostasis del organismo humano tiene como finalidad mantener la salud a través de respuestas adaptativas, sin embargo cuando se genera un desequilibrio homeostático, ya sea por carácter intrínseco o extrínseco, el organismo se ve afectado por enfermedades (Hardy, 1979), sin embargo algunos de los desencadenantes pueden ser diferentes agentes etiológicos, ya sea por virus, hongos, parásitos o bacterias.

En particular las Bacterias son microorganismos con características que las diferencian de otros organismos celulares, son extremadamente pequeñas, en su mayoría presentan diámetros que van

desde los 0.5 a 1.0 μm , se caracterizan por su fácil crecimiento y reproducción, ya que utilizan los nutrimentos del ambiente en el que se localicen (García, 2004).

Farmacología antimicrobiana

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias son tratadas con una serie de medicamentos llamados antibióticos, sustancias químicas que tiene diferentes orígenes, el natural o biológico: obtenidos de cultivos de microorganismos como bacterias u hongos; y el semisintético: a partir de un núcleo básico de agentes obtenidos de formas naturales, con modificaciones químicas para mejoras de actividad, espectro de acción, disminución de efectos adversos, etc. (Pardes, *et al.*, 2004).

La penicilina fue descubierta por Alexander Fleming en 1928, al estudiar cultivos de bacterias que presentaban estados de lisis, debido a la contaminación de un hongo filamentoso llamado *Penicillium notatum*, resultando uno de los principales antibióticos en la historia (Lozano, 1998).

Resistencia bacteriana en México

La resistencia bacteriana es un fenómeno que tiene por característica una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico, generado principalmente por usos inapropiados (Fuentes, 1993).

La multiresistencia representa un reto terapéutico que deja pocas posibilidades para el tratamiento de estas infecciones, ya que los mecanismos que utilizan las bacterias para defenderse de los antibióticos están en constante evolución (Tafur, 2008).

La resistencia antimicrobiana en países como México resulta alarmante, algunos de los factores que deben ser considerados para abordar ésta problemática son, la ausencia de cuerpos regulatorios que controlen eficazmente el uso y la venta de antimicrobianos y la automedicación (SSA-INSP, 2015). Algunas de las bacterias con farmacoresistencia que se han reportado en México se muestran en las tablas 1 y 2 al igual que los medicamentos hasta el momento evaluados.

Tabla 1. Resistencia antibiótica de bacterias Gram Negativas presentes en México.

BACTERIA	RESISTENCIA	REFERENCIA
<i>Escherichia coli</i>	Colistina Novobiocina Doxiciclina	(Sánchez <i>et al.</i> 2014)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Amikacina Ciprofloxacino Gentamicina	(Ortiz <i>et al.</i> 2007)

Tabla 2. Resistencia antibiótica de bacterias Gram Positivas presentes en México.

BACTERIA	RESISTENCIA	REFERENCIA
<i>Staphylococcus aureus</i>	Metiiciclina Eritromicina Ciprofloxacino	(Miranda, 2011) (Velázquez-Guadarrama <i>et al.</i> 2010)

Productos naturales y su potencial uso antimicrobiano

La integración del uso de productos naturales en la terapéutica tiene no solo una base histórica, sino que ambas comparten una base química, radicada en la estructura de los principios activos, independientemente de que sean de origen natural o sintético. Una cantidad importante de fármacos empleados actualmente en la terapéutica de las enfermedades deriva de productos naturales de manera directa o indirectamente, ya que muchos de los principios activos fueron aislados de las plantas para posteriormente ser sintetizados en laboratorio. Se han estudiado diversos tipos de compuestos que a partir de diversos mecanismos de acción realizan su efecto terapéutico.

Esta gran variedad de compuestos producidos en la naturaleza se ve reflejada en cerca de 23,000 metabolitos secundarios microbianos conocidos, el 42% los producen hongos, 32% actinomicetos y el resto son producidos por bacterias (Lazzarini *et al.*, 2000).

Estudios recientes demuestran que el género *Pleurotus* encierra especies comestibles de elevado valor nutricional, destacadas por sus propiedades medicinales (Morris, 2012).

En la actualidad, el género *Pleurotus* ha confirmado tener un importante potencial farmacológico, por ejemplo: efectos antioxidantes, antivirales, antimicrobiano, participación en la modulación del sistema inmune y actividad hipoglucemiante, entre otras (Gregori *et al.*, 2007).

Los hongos macromicetos han demostrado tener producción de una amplia gama de productos naturales, mismos que le confieren las propiedades medicinales (Valencia del Toro, 2012). Algunos de los compuestos bioactivos con propiedades antibióticas reportadas a partir de *Pleurotus* spp. según estudios realizados por Cohen y colaboradores en 2002, son los polisacáridos y para *Pleurotus ostreatus* con actividad antioxidante se ha reportado compuestos fenólicos, flavonoides y β -carotenos (Robaszkiewicz *et al.*, 2010).

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de esporomas de Pleurotus ostreatus

Se realizó la siembra y cosecha de setas, con base en la metodología planteada por Gaitán Hernández y colaboradores en el "Manual Práctico de cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción" en 2006.

Obtención del extracto de Pleurotus ostreatus

Cosechados los esporomas se realizó la identificación taxonómica para la corroboración de la especie y se llevó a cabo el secado en estufa Felisa II a 70°C, posteriormente se pulverizó la muestra y se sometió a proceso de maceración. Se establecieron condiciones experimentales para la obtención de tres extractos, utilizando solventes de diferente naturaleza, agua destilada (A), metanol (M) y cloroformo (C), en los que se usaron las siguientes proporciones:

Extracto no. 1= 3(A):1(C):1(M), Extracto no. 2= 2(M):2(C):1(A) y Extracto no. 3= Acuoso.

Manejo de los extractos naturales

Obtenidos los extractos de *Pleurotus ostreatus*, se partió de las concentraciones madre para la preparación de diluciones seriadas (Tabla 3).

Tabla 3. Diluciones realizadas a diferentes extractos. A: Agua, M: Metanol, C: Cloroformo.

Extracto	Concentración Inicial (mg/ml)	Diluciones (mg/ml)			
		1	2	3	4
3(A):1(C):1(M)	98.75	49.375	24.68	12.34	6.17
2(A):2(C):1(M)	98.75	49.375	24.68	12.34	6.17
A	23.33	11.66	5.83	--	--

Análisis Micoquímico

Se sometieron las muestras de extracto obtenidas a una serie de reacciones colorimétricas, para identificar la presencia de alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, flavonoides, glucósidos cardíacos, glucósidos cianógenos, quinonas, saponinas, taninos y sesquiterpenlactonas.

Pruebas de Susceptibilidad

Material biológico: Se usaron cepas de referencia ATCC, correspondientes a las bacterias Gram Negativas como *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y Gram Positivas como *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Vaciado en placa y extendido: Se tomó con un asa calibrada previamente esterilizada, muestra de cada bacteria a evaluar, y cada una se inoculó en un tubo con agar para Métodos Estándar, se incubaron por 24 horas. Posteriormente en 4 tubos con tres mililitros de agua inyectable se le agregó muestra de los microorganismos para ser ajustados al 0.5 de concentración en escala de McFarland (1.5×10^8 células por mL³) paso que se repitió en cada bacteria para la obtención de la misma concentración celular; a partir de ésta última preparación se tomó con un hisopo estéril y se inoculó por estría masiva en cajas de Petri con agar Mueller Hinton, a las cuales se les agregaron sensidiscos impregnados de las concentraciones de extracto realizadas y una caja control con diferentes

antibióticos. Se incubaron por 24 horas y se observaron para identificar la presencia de halos de inhibición.

Escala Nefelométrica McFarland: Los patrones de 0.5 de McFarland fueron utilizados para la preparación de los inóculos bacterianos, para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, se preparó la muestra y se observó el cambio de turbidez, en seguida se realizaron lecturas a 625 nm en Jenway 6715 uv/vis Spectrophotometer, de esa manera se inoculó en cada paso la misma concentración celular.

RESULTADOS

Obtención de esporomas de Pleurotus ostreatus

Para la obtención de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* se recolectaron los hongos de la primera cosecha, los cuales fueron procesados posteriormente (Figura 1).



Figura 1. Esporomas de *Pleurotus ostreatus*. A y B. hongo en fresco; C. hongo deshidratado.

El análisis taxonómico evidenció las siguientes características: basidiomas clitociboides o pleurotoides, estipitados. Píleo de 50 a 150 mm de diámetro aunque puede alcanzar dimensiones mucho mayores, infundibuliforme, circular o semicircular, higrófono con superficie húmeda, blanca, blanquecina a color crema, blanco grisáceo o de color café grisáceo a veces con reflejos azulados. Margen delgado y enrollado del mismo color que el píleo, a veces más amarillento al envejecer. Láminas blancas en un principio pasando a crema al madurar, éstas son muy decurrentes, muy juntas y con lamélulas. Estípite de 30 a 120 mm aunque puede alcanzar dimensiones mucho mayores dependiendo de cuestiones del ambiente, lateral, en su mayoría excéntrico aunque puede ser central. Contexto de color blanco con algunos tonos crema cuando se moja, correosa y algo dura en la parte del estípite. Olor y sabor fúngicos, a veces algo dulce.

Basidiosporas de (7-) 8 -9 (-10) de largo x (2.5-) 3 – 4 (-5) de ancho en μm , hialinas y lisas, puede llegar a observar material orgánico. Basidios (30.48-) 35.56 x 43.18 (-45.72) tetraspóricos, claviformes y largos. Cistidios no observados. Cutícula con presencia de fíbulas.

Reacción inamiloide con Melzer y con KOH al 5% no presenta cambios significantes.

Análisis Micoquímico

El análisis micoquímico evidenció para el extracto acuoso la presencia de compuestos alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, quinonas y saponinas; para el extracto 3(A):1(M):1(C) se evidenciaron alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, flavonoides, glucósidos cardíacos y quinonas, y por último para el extracto en proporción 2(M):2(C):1(A) sólo se identificó la presencia de alcaloides, como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados del análisis micoquímico.

Micompuesto (Reactivo)	Resultados		
	3:1:1	2:2:1	Acuoso
Alcaloides (Mayer/Wagner)	+	+	+
Azúcares Reductores (Fehling/Benedict)	+	-	+
Cumarinas (Erlich/NH ₄ OH)	+	-	-
Flavonoides (Shinona/NaOH)	+	-	+
Glucósidos Cardiacos (Baljet)	+	-	-
Glucósidos Cianógenos (HCl/Grignard)	-	-	-
Quinonas (NH ₄ OH/H ₂ SO ₄ /Borntrauger)	+	-	+
Saponinas (H ₂ O/Rosenthaler)	-	-	+
Sesquiterpenlactonas (NH ₂ OH•HCl)	-	-	-
Taninos (Gelatina)	-	-	-

Pruebas de Susceptibilidad

Una vez obtenidos los resultados del análisis micoquímico de los extractos, se realizaron las pruebas de susceptibilidad en cada una de las cepas bacterianas. Las pruebas en cajas control, muestran que *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* presentan resistencia a Penicilina y Ampicilina, sin embargo para *Staphylococcus epidermidis* se observó resistencia a Oxiclina, y para *Staphylococcus aureus* solamente hay sensibilidad a Imipenem, como se pueden observar en la tabla 5.

Los antibiogramas que se realizaron con las diversas concentraciones de cada extracto, muestran halos de inhibición de diámetros con un rango de 0.6 a 0.8 cm, o la ausencia total de inhibición bacteriana, como se muestra en la tabla 6 y 7.

Tabla 5. Antibiogramas control para bacterias Gram Negativas y Gram Positivas.

S= Susceptibilidad, R=Resistencia.

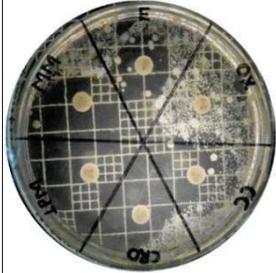
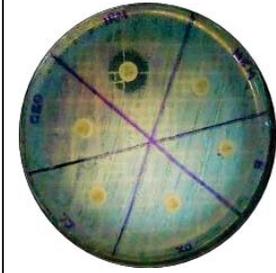
Gram Negativas	Evidencia fotográfica	Gram Positivas	Evidencia fotográfica
<i>Escherichia coli</i> Amikacina (AK) Gentamicina (CN) Ciprofloxacino (CIP) Penicilina (P) Ampicilina (SAM) Imipenem (IPM)	S S S R R S 	<i>Staphylococcus epidermidis</i> Oxiclina (OX) Clindamicina (CC) Ceftriaxona (CR) Imipenem (IPM) Meropenem (MEM) Eritromicina (E)	R S S S S S 
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Amikacina (AK) Gentamicina (CN) Ciprofloxacino (CIP) Penicilina (P) Ampicilina (SAM) Imipenem (IPM)	S S S S R R S 	<i>Staphylococcus aureus</i> Oxiclina (OX) Clindamicina (CC) Ceftriaxona (CR) Imipenem (IPM) Meropenem (MEM) Eritromicina (E)	R R R R S R R 

Tabla 6. Antibiogramas para bacterias Gram Negativas.

Gram Negativas	Extracto 3:1:1	Extracto 2:2:1	Extracto Acuoso
<p><i>Escherichia coli</i></p> <p>Se observa halo de inhibición sólo para extracto 3:1:1 en concentración 1= [98.75 mg/mL]. Para extracto 2:2:1 y acuoso, se puede observar resistencia bacteriana.</p>			
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>Se puede observar que a cada concentración de extracto utilizado, se presenta resistencia bacteriana.</p>			

Tabla 7. Antibiogramas para bacterias Gram Positivas.

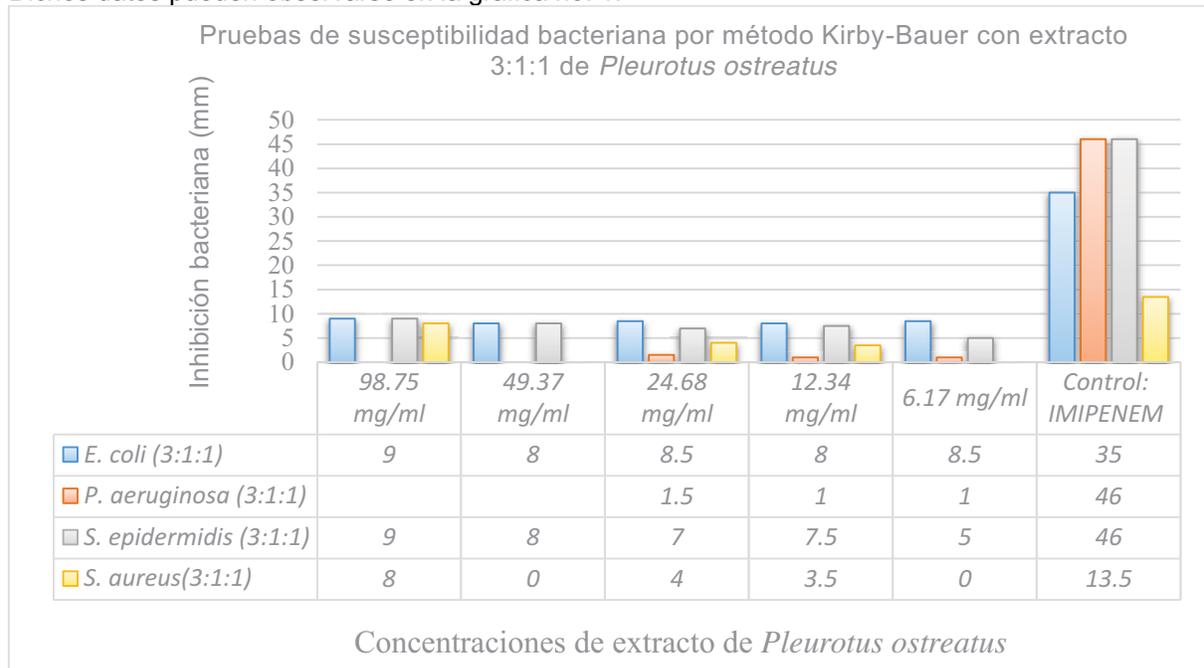
Gram Positivas	Extracto 3:1:1	Extracto 2:2:1	Extracto Acuoso
<p><i>Staphylococcus epidermidis</i></p> <p>Se aprecian halos de inhibición con la concentración 1= [98.75 mg/mL] y 3= [24.68mg/mL] para extracto 3:1:1, sin embargo para extracto 2:2:1 y acuoso se presenta resistencia bacteriana.</p>			
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Se aprecia que a las concentraciones 1= [98.75 mg/mL] de extracto 3:1:1 y 1= [23.33 mg/mL] de extracto acuoso se presentan halos de inhibición. Para extracto 2:2:1 no se observa actividad.</p>			

Análisis comparativo de extractos usados en pruebas de susceptibilidad

En los resultados obtenidos para las pruebas control de susceptibilidad, el antibiótico con mayor alcance antibacteriano es el Imipenem, mostrando mayor inhibición en la bacteria *P. aeruginosa* y *S. epidermidis*, seguidas de *E. coli* y por último *S. aureus*.

Extracto 3:1:1

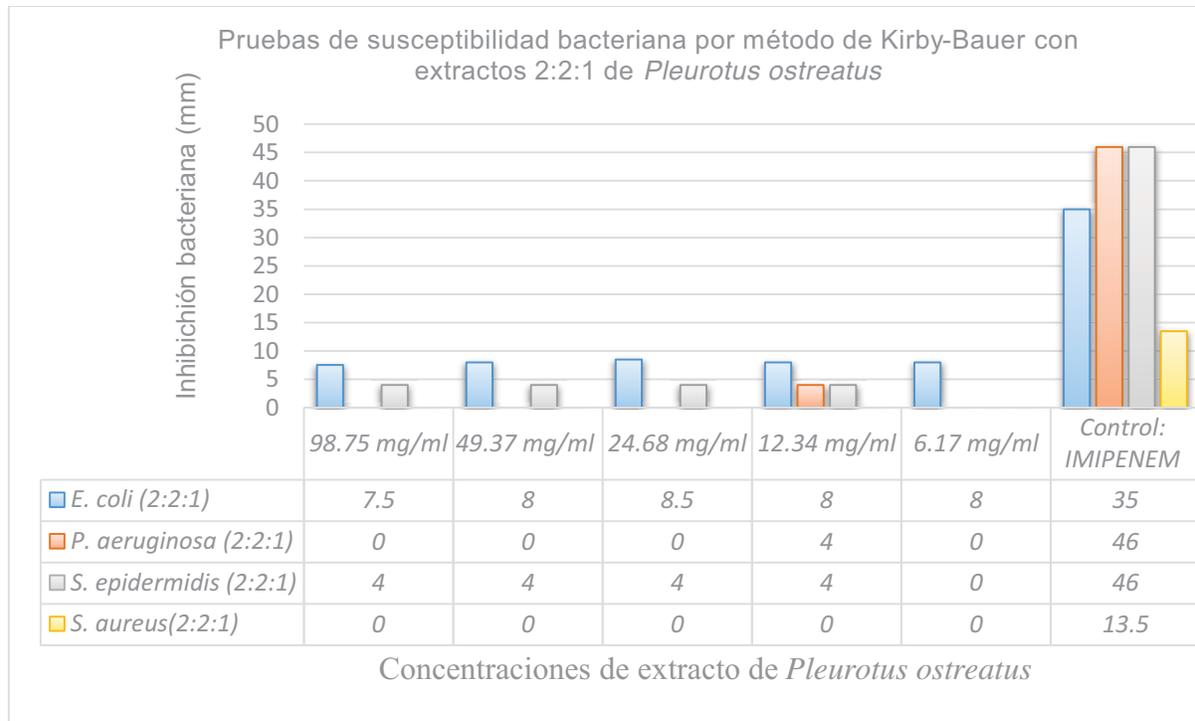
- Las bacterias con mayor susceptibilidad al extracto 3:1:1 fueron *E. coli*, y *S. epidermidis* a todas las concentraciones utilizadas.
 - Para *S. aureus*, sólo se observó inhibición a 3 de las concentraciones utilizadas.
 - Para *P. aeruginosa*, se observa inhibición bacteriana de menor mm.
- Dichos datos pueden observarse en la gráfica no. 1.



Gráfica 1. Análisis comparativo para extracto 3:1:1 con cepas bacterianas de referencia.

Extracto 2:2:1

- Para *E. coli* la concentración con mayor actividad es 24.68 mg/ml, con 8.5 mm de inhibición.
 - *S. epidermidis* tuvo un comportamiento similar para todas las concentraciones usadas.
- Como se puede observar en la gráfica 2.

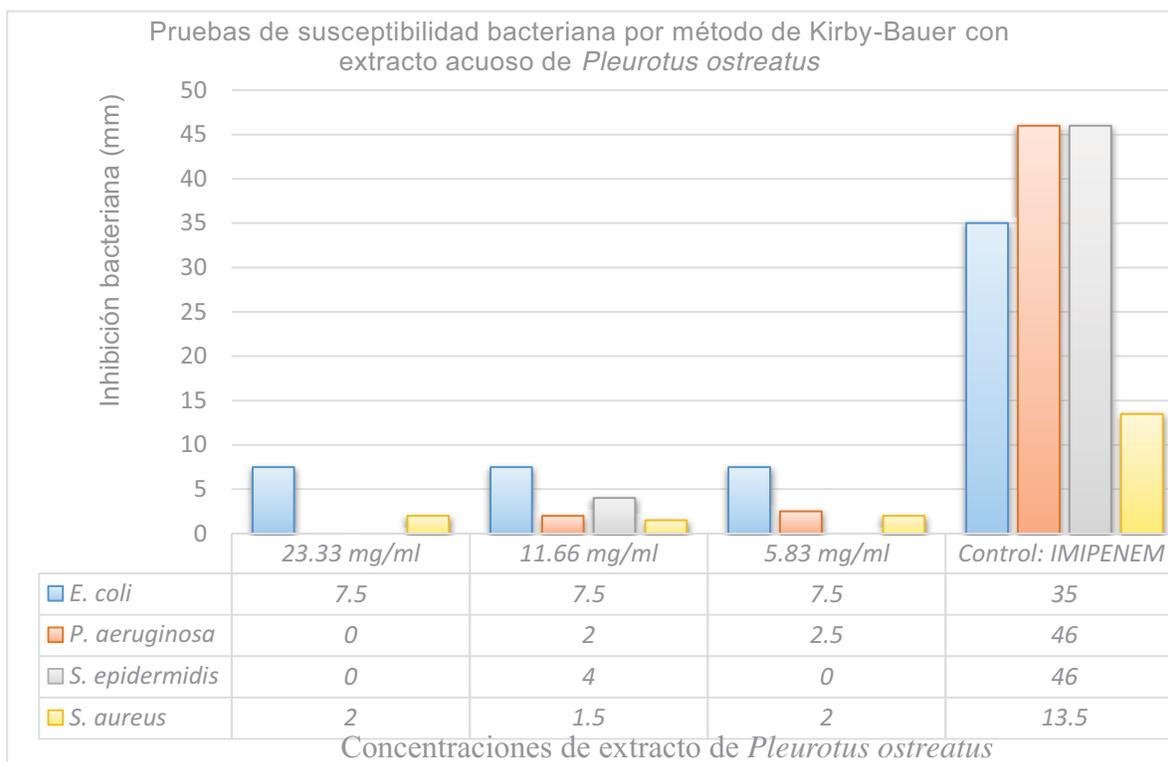


Gráfica 2. Análisis comparativo para extracto 2:2:1 con cepas bacterianas de referencia.

Extracto Acuoso:

- Se muestra actividad similar para *E. coli* a todas las concentraciones.
- *S. aureus* muestra inhibición bacteriana a las 3 concentraciones usadas.
- *P. aeruginosa*, muestra inhibición a dos concentraciones y *S. epidermidis* a una.

Como se puede observar en la gráfica 3.



Gráfica 3. Análisis comparativo para extracto acuoso con cepas bacterianas de referencia.

CONCLUSIONES

De acuerdo al análisis micoquímico, la presencia de compuestos bioactivos como los alcaloides y flavonoides favorece sus efectos antibacterianos.

Las pruebas de susceptibilidad muestran halos de inhibición bacteriana de diversas magnitudes, demostrando que no hay crecimiento del microorganismo, de ésta manera se comprueba el potencial antibacteriano de los extractos de *Pleurotus ostreatus*.

Es fundamental dar continuidad a esta clase de estudios para contar con un mayor conocimiento sobre los principios activos que puedan estar presentes en hongos basidiomicetos y su posible utilización en el campo de la nutrición y la farmacología principalmente.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Gregori, M. Svagel, J. Pohleven. "Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp". Food technol. Biotechnol. 45: 2007. pp 238-249.
2. A. Gutiérrez, A. Estéves. "Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el S. XXI". Rev. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Vol. 103, 2, 2009. pp 409-419.
3. A. Lazzarini , L. Cavaletti , G. Toppo, F. Marinelli. "Rare potential producers of new antibiotics". Antonie Van Leeuwenhoek. Vol. 78, 2000. pp 399-405.
4. A. Ortiz Camacho, G. R. Acosta Beltrán, F. H. Rositas Noriega, J. L. Canizalez Oviedo. "Resistencia antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* en un Hospital de enseñanza del norte de México". ENF INF MICROBIOL. Vol. 27,2, 2007. pp 44-48.
5. A. Robaszekiewicz, G. Bartosz, M. Lawrynowicz and Soszynski. "The role of Polyphenols, β -carotene and Lycopene in the antioxidative action of the extracts of dried edible mushrooms". J Nutr Metab. 2010. pp 1-9.

6. A.R. Sánchez, M. Del Pilar Castañeda y C.R. Cortés. "Resistencia Antimicrobiana de *E. coli* en México". 2014. En: El sitio Avícola. [En línea] 6 de Febrero del 2014, México [consulta del 10 de Abril del 2017] Disponible en:<http://www.elsitioavicola.com/articulos/2517/resistencia-antimicrobiana-de-e-coli-en-maxico/>
7. C. J. Ingraham. "Los microorganismos y la salud humana". En Introducción a la microbiología. México: Reverté, S.A. 1998. pp. 331-350.
8. D. Lozano, H. Larrondo, M. L. Herrera, E. Rivero, R. Zamora, L. J. Araújo. "Penicilinas". Acta médica. Vol. 8, 1. 1998, 28-39.
9. F. Pardes. J.J. Roca. "Acción de los antibióticos, perspectiva de la medicación antimicrobiana". Ámbito farmacéutico OFFARM: Vol. 6, 3, 2004. pp 116-124.
10. G. Valencia del Toro, M. E. Garín Aguilar, M.A. Tellez Jaimes, E. Duran Paramo. "Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de cepas de *Pleurotus djamo*". Rev. Mex. Mic vol.28 2008.
11. G. Valencia del Toro, M.E. Garín Aguilar, A. Cuadros Moreno, L. Aguilar Doroteo, E. Durán Páramo. "Actividad antibacteriana de extractos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus spp*". En: Hongos comestible y medicinales en Iberoamérica. 1ª ed. José Sánchez-Gerardo Mata editores. México. 2012.
12. H.J. Morris Quevedo, G. Llaurodo Maury, Y. Lebeque Pérez, R. Fontaine Álvarez, R.C. Bermudez Savón, N. García Odvarado, A. Gutiérrez Muñoz. "Otros usos de los macromicetos: Productos inmunocéuticos derivados del Hongo comestible-medicinal *Pleurotus spp*. Cultivado sobre pulpa de café en Cuba". En: Hongos comestible y medicinales en Iberoamérica. 1ª ed. José Sánchez-Gerardo Mata editores. México. 2012.
13. J. Fuentes. "Resistencia Bacteriana." Iatreia. Vol. 6,1. 1993, pp. 46-50.
14. J. D. Tafur, J. A. Torres, M.V. Villegas. "Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria". Centro Internacional de Investigaciones Médicas, CIDEIM. Vol. 12, 3. 2008. pp 223-233.
15. M.G. Miranda Novales. "Resistencia Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en México". Boletín Médico Del Hospital Infantil en México. Vol. 68, 4, 2011. 262-270.
16. M.E. Icaza-Chávez. "Gut microbiota in health and disease". Revista de Gastroenterología de México, 78, 2013, 240-248.
17. N. Velázquez-Guadarrama, G.J. Viguera, V.G. Escalona, G.J. Arellano, C.S. Giono, F.M. Nava. "Resistencia a Linezolid En *Staphylococcus Aureus* Resistente a Meticilina Y Enterococos con elevada resistencia a aminoglucósidos en un hospital pediátrico de tercer nivel." Boletín médico del Hospital Infantil de México. Vol. 67,1, 2010. pp 19-26.
18. R. Cohen, L. Persky, Y. Hadar. "Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushroom of the genus *Pleurotus*". Applied Microbiol Biotechnol. Vol. 8,1. 2002, 37-45.
19. R. Gaitán-Hernández, D. Salmones, R. Pérez Merlo, G. Mata. "Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción". Instituto de Ecología, Xalapa, Ver. México. 2006.
20. R.N. Hardy. "Homeostasis", Ed. Omega, colección Cuadernos de biología, Barcelona. 1979.
21. Resistencia Antimicrobiana. En: Instituto Nacional de Salud Pública, [En Línea] 9 de Octubre de 2015. México. [Consulta de 14 de Febrero de 2017]. Disponible en: <https://www.insp.mx/lineas-de-investigacion/medicamentos-en-salud-publica/investigacion/resistencia-antimicrobiana.html>
22. V. García. "Las bacterias". Introducción a la Microbiología. 2ª ed. 2004, pp 41-47.
23. World Health Organisation. "*E. coli*". 2017 En línea, Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>