بررسی اثر ضد میکروبی عصاره قارچ گانودرمالوسیدوم، بر روی کاندیدا آلبیکنس جدا شده از نمونه ریوی

ساناز رستمی نژاد[۱]، محمد دخیلی*[۲] سیدعلی رضایی[۳]

چکیده

عفونت کاندیدیایی بر اثر رشد بیش از حد گونه‌های کاندیدا، به ویژه گونه آلبیکنس درافراد نقص ایمن دستگاه بروز می‌کند. این عفونت ممکن است به درمان مقاوم شود و گاهی نیز به صورت مزمن درآید. با افزایش روز افزون مصرف گیاهان دارویی در درمان طبی، این شاخه از طب مکمل، جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌ها پیدا کرده است. هدف از این مطالعه، مقایسه اثر عصاره قارچ گانودرمالوسیدوم بر رشد قارچ کاندیداآلبیکنس جداشده از عفونت ریوی، در شرایط آزمایشگاهی و مقایسه آن با سوش استاندارد است

در این مطالعه تجربی ، قارچ گانودرمالوسیدوم از بخش قارچ شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و سپس خشک و به روش تقطیر با بخار آب عصاره گیری شد. قطر هاله مهاری و حداقل غلظت مهارکننده از رشد(MIC)، ایزوله‌های بالینی کاندیدا آلبیکنس مورد مطالعه قرار گرفت.

در روش دیسک دیفیوژن، عصاره گانودرمالوسیدوم، با ایجاد هاله عدم رشد به قطر ۳٤ میلی متر در برابر ایزوله بالینی کاندیدا آلبیکنس، نسبت به هاله عدم رشد ۲۵ میلی متری فلوکونازول در برابر همین ایزوله، عملکرد مناسب‌تری بروز داد. طبق روش میکرودایلوشن، عصاره گانودرمالوسیدوم بر ایزوله کاندیدا آلبیکنس تأثیر مناسبی داشت وحداقل غلظت مهار کنندگی در برابر ایزوله بالینی ۰.۳۱۲۵ میلی گرم / میلی لیتر بود.

نتیجه و تحقیق پیش رو، این‌که عصاره قارچ گانودرمالوسیدوم، تأثیرات ضد قارچی علیه کاندیدا آلبیکانس را نشان داد و می‌توان از آن به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک، در درمان این نوع عفونت استفاده کرد.

واژگان کلیدی: عصاره گانودرمالوسیدوم ،کاندیدا آلبیکنس، آثار ضد قارچی، عفونت ریوی.

۱. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.

۲. * استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

نویسنده مسئول: محمد دخیلی، دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران،

تلفن: ۰۹۱۲٤٥۳۲٤٥٤ dr_dakhili@yahoo.com

۳. دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.

مقدمه

با گسترش روزافزون مقاومت دارویی در بین میکروارگانیسم‌ها و وجود عوارض جانبی مصرفی آنتی‌بیوتیک، تهیه داروهای جدید از منابع طبیعی، به خصوص قارچ‌های دارویی در درمان بیماری‌ها، مورد توجه محققان قرار گرفته است(۱). مطالعات متعددی، تأثیر ضد میکروبی عصاره قارچ‌های دارویی، از جمله قارچ گانودرما را به اثبات رسانده است. این قارچ از سال‌های دور به عنوان قارچ دارویی شناخته شده و فاقد عوارض سمی و جانبی است(۲). با توجه به گرایش روزافزون بشر به درمان، توسط مواد طبیعی، قارچ‌ها می‌توانند منبعی مناسب برای تأمین این نیاز باشند(۳). مؤثر و ارزان بودن و سهولت تهیه و مصرف قارچ‌ها از مزایای آن‌ها در تولید دارو به شمار می رود (۴).یکی از قارچ‌هایی که به لحاظ دارا بودن خواص درمانی متعدد به عنوان بهترین قارچ دارویی و مؤثرترین قارچ دارویی نام گذاری شده است؛ قارچ Ganoderma lucidum می‌باشد (۵و۶). در کشورهای ژاپن و چین با توجه به تأثیر این قارچ بر سلامتی و افزایش طول عمر، معالجه سرطانف و بازدارندگی از بیماری‌ها از این قارچ استفاده می‌شود. در هیمالیا، از این قارچ به منظور مبارزه با بیماری‌های طولانی مدت استفاده می‌کنند. هندی‌ها به طور سنتی این قارچ را در چای به کار می‌برند تا از بیماری‌های معمول مختلف دور باشند(۷ و۸)؛ به این معنا که آن را می‌توان بدون هیچ گونه عوارض جانبی، به طور مداوم استفاده کرد. این دارو برای پیشگیری و همچنین درمان بیماری‌های مختلف، مانند هپاتیت مزمن، نفریت، فشار خون بالا، برونشیت و بیماری‌های تومورنژیک از زمان باستان استفاده شده و یک محرک فوق‌العاده ایمنی است که به شدت از کل بدن محافظت می‌کند(۹ و۱۰). این قارچ اخیراً در امریکای شمالی و در بسیاری از مناطق دیگر، در افراد آلوده به ایدز استفاده می‌شود. یک گروه پیچیده از پلی ساکاریدها از این قارچ‌ها جدا شده است که گزارش شده سیستم ایمنی بدن را کنترل می‌کنند. از این قارچ، گانودریک اسید جدا شده است که بر خون تأثیر ضد انعقاد دارد و باعث سطح کلسترول پایین‌تر در خون می‌شود(۱۲-۱۵).

مطالعات منتشر شده، تأثیر تعدیل روی فشار خون، سطح لیپید و سطح گلوکز خون را نشان می‌دهند. مطالعه در مورد موش در مرکز علوم سلامتی تگزاس نشان می‌دهد که پودر یا عصاره‌های اتر این قارچ، تأثیر ضد آلودگی قابل مقایسه با هیدروکورتیزول دارد (۱۶-۱۸).

اغلب یک قارچ نمی‌تواند همزمان خاصیت تحریک‌کننده ایمنی و خاصیت ضد آلودگی داشته باشد؛ زیرا این نکته قابل توجه است که مواد ضد آلودگی، معمولاً از عملکردهای ایمنی جلوگیری می‌کنند و آن را افزایش نمی‌دهند. در فعالیت گانودرما، این نکته قابل توجه است که این قارچ تعدیل‌کننده ایمنی است، نه تحریک‌کننده آن (۱۹).

طبق مطالعات، این قارچ می‌تواند سرطان سندروم خستگی کرونیک، دژنره شدن کبد، بی‌نظمی‌های خون و خیلی از ناخوشی‌های کلیه انسان را درمان کند. چینی‌های بومی در طب سنتی اعتقاد دارند که این قارچ به مردها، مخصوصاً در افراد مسن‌تر قدرت جنسی می‌دهد؛ ولی هیچ مستند پزشکی در این زمینه وجود ندارد. آثار ضدمیکروبی این قارچ تا حدودی مطالعه شده؛ لذا آثار ضد قارچی عصاره آن کم‌تر مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۰-۲۲). هدف از این مطالعه، بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره قارچ گانودرمالوسیدوم بر کاندیدا آلبیکنس جدا شده از نمونه ریوی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های بالینی ریه بر روی محیط سابرو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل کشت داده شدند. سپس به منظور آزمایش مستقیم، از کلنی‌های حاصل، لام تهیه کرده و پس از رنگ‌آمیزی ، از لحاظ مخمری و یا میسلیوم‌بودن مورد بررسی قرار گرفتند (زینی و همکاران، ۱۳۸۸). نمونه‌ها سپس با تست لوله زایا، بررسی ایجاد کلامیدوکنیدی در محیط کرون میل آگار، بررسی رنگ کلنی در محیط کروم آگارکاندیدا، بررسی رنگ در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد، بررسی جذب قندهای ترهالوز و گزیلوز، نمونه‌های کاندیدا آلبیکنس شناسایی و بر روی محیط سابرو دکستروزآگار کشت داده شدند.

در این مطالعه، قارچ گانودرما لوسیدوم از بخش قارچ شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. پس از خشک‌کردن قارچ در سایه، آن را به وسیله آسیاب برقی به پودر تبدیل گردید و برای تهیه عصاره مورد استفاده واقع شد. برای عصاره‌گیری، از روش تقطیر با بخار آب باک مک دستگاه سوکسله استفاده شد. در این روش، ۱۰ گرم از اندام خشک و پودر شده قارچ در یک پارچه قرار داده و ۳۰۰ میلی لیتر اتانل بالن ریخته و به مدت ۳ ساعت در دستگاه سوکسله با سرعت تقطیر یک میلی لیتر در دقیقه عصاره‌گیری و سپس عصاره به دست آمده در دستگاه روتاری قرار داده شد تا حلال اضافی آن حذف شود. بازده عصاره بر اساس وزن خشک نمونه محاسبه گردید. عصاره در دمای یخچال در ظروف شیشه ای تیره که با فویل آلومینیومی پوشیده شده بود، نگهداری شد.

حلال‌های آلی مختلفی به عنوان عوامل حل کننده به کار می‌روند که از آن جمله می‌توان به استون، اتانل، دی متیل سولفوکساید (DMSO) و هگزان اشاره کرد. بهترین حلال، حلالی است که عصاره را بدون داشتن آثار ضد میکروبی چشم‌گیر در خود حل کند از این‌رو، از ماده دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان حلال استفاده شد و با انجام دادن آزمایش‌های متناوب، بهترین میزان حلالیت برای عصاره قارچ به ترتیب زیر به دست آمد: ۱۰۰ میکرو * ۹۰۰ میکرولیتر DMSO.

به منظور اجرای مطالعه حاضر، از سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس (candida albicans ATCC 10231) که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شده بود؛ استفاده گردید. سپس بر روی محیط

سابرودکستروزآگارکشت داده ودر دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، به مدت ۲ روز انکوبه شدند.

تعیین خاصیت ضد قارچی ، قارچ گانودرما لوسیدوم با استفاده از روش انتشار دیسک (Disk Diffusion)

دیسک‌های ضد قارچی فلوکونازول، از شرکت‌های هایمدیا خریداری و دیسک‌ها در یخچال، در دمای ۴ درجه سانتی گراد و پایین‌تر نگهداری شدند. کاندیدا آلبیکنس را ۴۸ ساعت قبل از شروع آزمایش کشت داده و ۲ کلنی از آن را به سرم فیزیولوژی استریل افزودیم و سپس ۲-۳ کلنی از آن را به سرم فیزیولوژی استریل اضافه کردیم و کدورت آن، معادل نیم مک فارلند تنظیم گردید. از سوسپانسیون مورد نظر، با سوآپ استریل روی محیط سابرودکستروزآگار کشت داده؛ سپس ازدیسک‌های ۶ میلی متری حاوی ۲۰ میکرولیترعصاره،که در حلال دی متیل سولفوکساید حل شده و استوک ۱۰% تهیه شده بود، استفاده کردیم. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند و قطر هاله عدم رشد برحسب میلی متر اندازه‌گیری گردید.

جدول۳-۳. استاندارد CLSI (دیسک دیفیوژن) نسبت به داروهای ضد قارچی

داروی ضد قارچی	مقاوم	نیمه حساس	حساس
فلوکونازول ۲۵	≤ 14 mm	15-18 mm	≥ 19 mm

به منظور تعیین MIC عصاره قارچ گانودرمالوسیدوم، از روش میکرودایلوشن استفاده شد. در این روش، با استفاده از میکروتیترپلیت ۹۶خانه، غلظت‌های مختلف عصاره را در مقابل قارچ قرار گرفت و رشد قارچ‌ها در مقابل عصاره گانودرما لوسیدوم بررسی شد؛ به این صورت که در ابتدا درون چاهک اول ۱۰۰میکرولیترمحیط سابرودکستروز براث حاوی غلظت ۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر ریخته شد. از چاهک ۲ تا ۱۰ به هر چاهک نیز ۵۰ میکرولیتر مولر هینتون براث اضافه گردید و سپس ۵۰ میکرولیتر از چاهک اول به دوم و تا آخر به صورت تهیه رقت پیش برده و از چاهک ۱۰ نیز ۵۰ میکرولیتر خارج و در این حالت، غلظت چاهک اول ۱۰، چاهک دوم ۵، چاهک سوم ۲/۵، و همین طور تا آخر غلظت نصف می‌شود. پس از تهیه رقت از عصاره‌ها، به هر چاهک به میزان مساوی، مقدار ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچی، معادل 10^4 سلول / میلی لیتر اضافه شد و میکروپلیت به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد داخل انکوباتور قرار گرفت. آن گاه کدورت چاهک‌ها خوانده شد و رشد یا عدم رشد قارچ در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. چاهک قبل از چاهک رشد که در آن رشدی دیده نمی‌شود، MIC محسوب می‌شود. چاهک ۱۱، کنترل منفی حاوی محیط و عصاره و چاهک ۱۲، محیط همراه باکتری و کدورت می‌باشد.

یافته‌ها

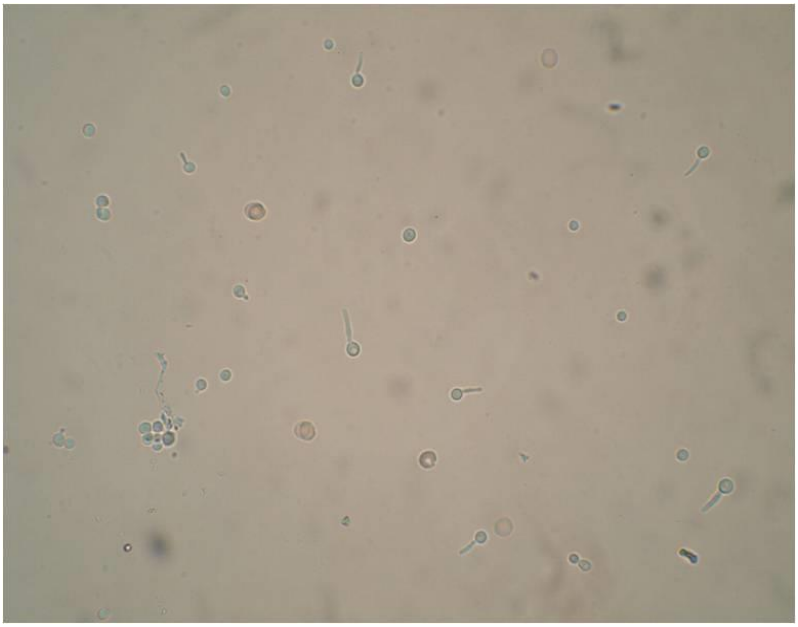
ایزوله بالینی در کنار سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس با تست‌های بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت(جدول ۱).

از محیط کرموژنیک و تست تولید جرم تیوپ و کلامیدوکنیدی، به منظور اثبات گونه آلبیکنس استفاده شد(شکل ۱،۲،۳).

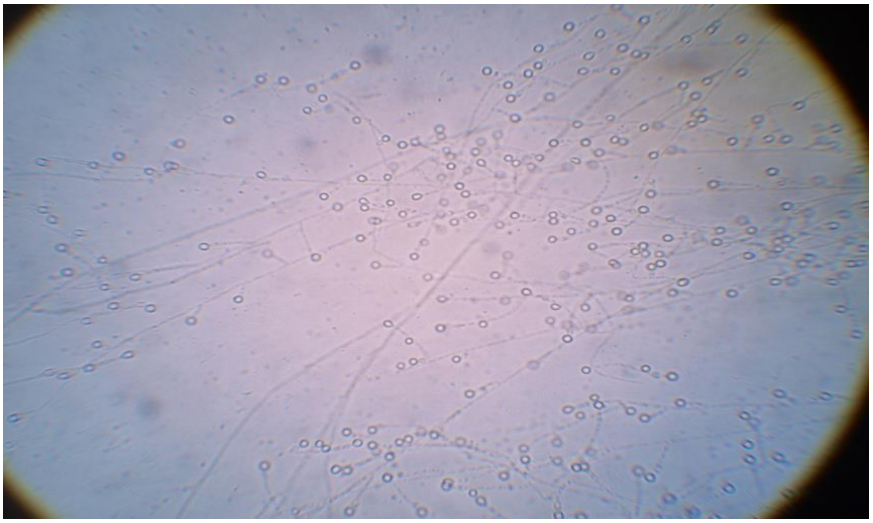
جدول ۱. تست تشخیصی جدایه کاندیدا آلبیکنس در کنار سوش استاندارد

کاندیدا جدا شده	تیوب سویه ی	کلامدیوکونیدی تولید جرم	آگار تولید	روی محیط کروم	رنگ کلنی گلوکز	مالتوز	سکروز	لاکتوز	تری هالوز	سلوبیوز	جنس کاندیدا/
۱	+	+	+	سبز	+	+	+	−	+	−	آلبیکنس
۲	+	+	+	سبز	+	+	+	−	+	−	۱۰۲۳۱

شکل ۱. محیط کروموژنیک کاندیدا رنگ کلونی کاندیدا البیکنس به رنگ سبز است



شکل ۲: تست تولید لوله زایا در تایید ایزوله کاندیدا آلبیکنس



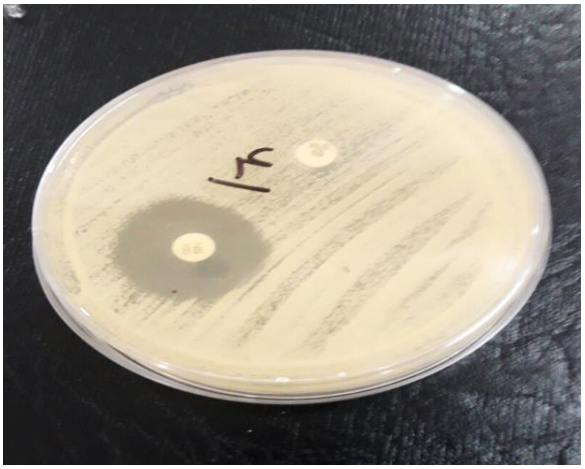
شکل ۳. تست تولید هیف کاذب و کلامیدوکنیدی به منظور شناسایی کاندیدا البیکنس

تست آنتی بیوگرام در کنار دیسک کنترل فلوکونازول نشان از حساسیت ایزوله کاندیدا آلبیکنس دارد (شکل٤).

جدول۲. نتایج حساسیت ضد قارچی عصاره مورد نظر، بر روی میکروارگانیسم‌های هدف

	عصاره کلروفرمی	عصاره اتانلی	عصاره DMSO	فلوکونازول
کاندیدا آلبیکنس بالینی	N*	N	۳٤ میلیمتر	**۲۵میلیمتر**
کاندیدا آلبیکنس ATCC10231	N	N	۳٦ میلیمتر	**۲۸میلیمتر**

*** N= No zone of inhibition**



شکل٤. هاله عدم رشد کاندیدا البیکنس در روش دیسک دیفیوزن

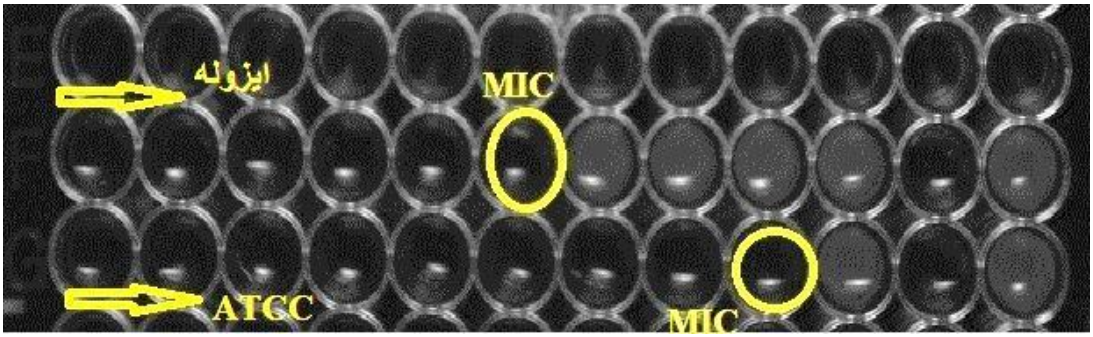
در روش میکرودایلوشن، عصاره مورد نظر بر ایزوله کاندیدا آلبیکنس و سوش استاندارد تأثیر خوبی داشت(جدول ۳)

حداقل غلظت مهار کنندگی در مورد ایزوله بالینی ۰/۳۱۲۵ میلی گرم / میلی لیتر بود و در مورد سویه استاندارد ۱۵٦۲۵/ ۰ میلی گرم/ میلی لیتر بدست آمد.(شکل۵)

چاهک / نمونه	۱	۲	۳	٤	۵	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	نتیجه MIC	غلظت MIC
کاندیدا آلبیکنس بالینی	-	-	-	-	-	– MIC	+	+	+	+	کنترل منفی	کنترل مثبت	چاهک ٦	0.3125 mg/ml
کاندیدا آلبیکنس ATCC10231	-	-	-	-	-	-	- MIC	+	+	+	کنترل منفی	کنترل مثبت	چاهک ۷	0.15625 Mg/ml

جدول۳. نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره بر روی میکروارگانیسم‌های هدف

علامت + : کدورت رشد؛ علامت - : عدم رشد



شکل۵. تصویر روش میکرو دایلوشن از ایزوله کاندیدا آلبیکنس در کنار سویه استاندارد

بحث و نتیجه‌گیری

قارچ‌ها با مکانیسم‌های متعدد، می‌توانند عامل عفونت‌های ریوی در انسان شوند. این قارچ‌ها در مناطق جغرافیایی خاصی یافت می‌شوند و معمولاً عفونت ملایم یا تحت بالینی ایجاد می‌کنند. بیماری اولیهٔ حاد یا مزمن ریوی بدون انتشار سیستمیك، گاهی می‌تواند باعث مرگ شود. عفونت‌های قارچی دستگاه تنفسی، مهم‌ترین عامل مرگ و میر در بیماران ایمونوساپرس است. این موضوع در افراد تحت درمان سیتوتوکسیك‌ها یا رادیوتراپی برای درمان بیماری‌های نئوپلاستیك، بیماران تحت پیوند مغز استخوان و یا پیوند عضو و یا در بیماران مبتلا به نقص ایمنی اکتسابی؛ مصداق بیش‌تری دارد (۱). در این مطالعه شایع‌ترین قارچ جدا شده از دستگاه تنفس ۷۴/۷% گونه‌های کاندیدا بودند.

با توجه به بررسی اثر عصاره قارچ گانودرمالوسیدوم، نتایج تحقیق نشان می‌دهد که عصاره قارچ مورد نظر در روش دیسک دیفیوژن، در مقایسه با فلوکونازول، در برابر رشد مخمر کاندیدا آلبیکنس سویه استاندارد و ایزوله بالینی، اثر بازدارندگی بهتری از خود بروز داده است؛ به طوری که عصاره گانودرمالوسیدوم، با ایجاد هاله عدم رشد به قطر ۳٤ میلی متر در برابر ایزوله بالینی کاندیدا آلبیکنس، نسبت به هاله عدم رشد ۲۵ میلی متری فلوکونازول در برابر همین ایزوله؛ عملکرد مناسب‌تری بروز داده است. همچنین اثر بازدارندگی عصاره قارچ در برابر سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس با هاله عدم رشد ۳٦ میلی متر، نسبت به اثر مهار رشد فلوکونازول در برابر سویه استاندارد به قطر ۲۸ میلی متر؛ عملکرد بهتری نشان داده است. طبق روش میکرودایلوشن، عصاره گانودرمالوسیدوم بر ایزوله کاندیدا آلبیکنس و سوش استاندارد دارای تأثیر مناسبی بود. حداقل غلظت مهارکنندگی در برابر ایزوله بالینی ۳۱۲۵ میلی گرم / میلی لیتر بود و در مورد سویه استاندارد ۱۵٦۲۵ میلی گرم/ میلی لیتر به دست آمد. اورگان و همکارانش، در سال ۲۰۱۷ در ترکیه به بررسی اثر مهار کنندگی عصاره گانودرما لوسیدوم علیه برخی میکروارگانیسم‌هایی، مانند استافیلوکوکوس اورئوس، انتروکوکوس فیکالیس، لیستریا مونوسایتوژنز، اشرشیا

کلای، سودوموناس آئروژینوزا، کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا کروزئی پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها در برابر میکروارگانیسم‌های یاد شده نشان داد حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره قارچ مورد نظر ٤٠٠-٢٠٠ میلی گرم/میلی لیتر بوده که نتایج این مطالعه با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. با وجود پیشرفت‌های فراوان در صنعت دارو و تولید روز افزون داروهای سنتتیک با انواع جدید؛ هنوز برخی از آن‌ها نسبت به درمان برخی بیماری‌ها پاسخگو نیستند. از این جمله می‌توان به مقاومت آنتی بیوتیکی میکروارگانیسم‌ها اشاره کرد. در این میان، باکتری‌ها سهم عمده‌ای را به خود (مقاومت دارویی) اختصاص می‌دهند. از سویی، عواملی همچون مصرف خودسرانه دارو، به خصوص مصرف بیش از حد آنتی بیوتیک‌ها، مصرف آنتی بیوتیک‌ها در کشاورزی، صنعت دام و طیور و باغ‌های میوه، مقاومت آنتی بیوتیکی کشاورزی و محیط زیست را نیز تحت تأثیر خود قرار می‌دهد و در نهایت، از دیدگاه میکروبیولوژی، تشکیل یک الگوی قوی مقاومت آنتی بیوتیکی تهدید بزرگی به شمار می‌رود. با توجه به عملکردی که از عصاره‌های گیاهی در درمان بیماری‌ها و برخی عفونت‌های اشاره شد؛ این عملکرد ما را بر آن می‌دارد تا از این گونه عصاره‌ها علیه باکتری‌های بیماری‌زا استفاده کنیم. تحقیقاتی که در این زمینه در داخل کشور و یا خارج از آن صورت گرفته اند، نشان می‌دهند که اکثر گیاهان دارویی مورد استفاده، آثار مثبتی بر مهار رشد باکتری‌ها داشته‌اند. مطالعه در زمینه آثار عصاره این قارچ بر روی کاندیدا آلبیکنس محدود بود. لذا تعدادی مطالعه در مورد آثار ضد باکتریایی دیده شد. فاطیما و همکارانش در سال ٢٠١٦، آثار ضد باکتریایی عصاره را بر اشریشیاکلی، سودوموناس بررسی کردند که عصاره متانلی این قارچ هاله ٢٠ میلی متری را در اطراف سودوموناس و هاله ١٠ میلی متری را بر اشریشیاکلی نشان می دهد (٢٢). کورشی و همکاران در سال ٢٠١٠، آثار ضد باکتریایی عصاره قارچ گانودرما را بر باکتری اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی و سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه قرار دادند. تحقیق آن‌ها نشان می‌دهد که عصاره استونی بر روی باکتری‌ها دارای بهترین تأثیرات و از این بین، بهترین اثر به کلبسیلا پنومونیه مربوط بود که هاله ٣١ میلی متری دیده شد (٢١). کامبل نیز در سال ٢٠١١، آثار عصاره‌های مختلف استونی، متانلی، کلروفرمی، آبی قارچ گانودرما را بر روی باکتری‌های مختلف بررسی و عنوان کرد که در غلظت ١٠٠ میلی گرم / میلی لیتر آثار بهتری داشتند. البته عصاره آبی و متانلی بر روی سودوموناس بی تأثیر بود (١٩). مطالعات مختلف نشان داد که حلال مناسب در تأثیرات عصاره نقش به سزایی دارد و حلال DMSO مورد استفاده در این مطالعه، باعث استخراج بهتر ترکیبات مؤثر شده و در آثار ضد کاندیدایی عصاره دارای نقش بهینه‌ای است.

منابع

1.Anaissie E, Kantarjian H, Ro J. The emerging role of Fusarium infections in patients with cancer. Medicine 1987; 67: 77-83.

2. Bao X, Duan J, Fang X, Fang J. Chemical modifications of the (1-->3)-alpha-D-glucan from spores of Ganoderma lucidum and investigation of their physicochemical properties and immunological activity. Carbohydr Res. 2001 Nov 8;336(2):127-40.

3. Bao X, Fang J, Li X. Structural characterization and immunomodulating activity of a complex glucan from spores of Ganoderma lucidum. Biosci Biotechnol Biochem. 2001 Nov;65(11):2384-91.

4. Bao XF, Wang XS, Dong Q, Fang JN, Li XY. Structural features of immunologically active polysaccharides from Ganoderma lucidum. Phytochemistry. 2002 Jan;59(2):175-81.

5. Berovic M, Habijanic J, Zore I, Wraber B, Hodzar D, Boh B, Pohleven F.Submerged cultivation of Ganoderma lucidum biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. J Biotechnol. 2003 Jun 12;103(1):77-86.

6. Carlos Andrés Zárate-Chaves, María Camila Romero-Rodríguez, Fabián Camilo Niño-Arias, Jorge Robles-Camargo, Melva Linares-Linares, María Ximena Rodríguez-Bocanegra, Ivonne Gutiérrez-Rojas. Optimizing a culture medium for biomass and phenolic compounds production using Ganoderma lucidum. Brazilian Journal of Microbiology 44, 1, 215-223 (2013) Copyright © 2013, Sociedade Brasileira de Microbiologia.ISSN 1678-4405 www.sbmicrobiologia.org.br.

7. Coiffier B, Frobert Y, Revoi L. Polymorphonuclear function in acute myeloblastic leukemia. Biomedicine 1977; 27: 94-6.

8. Darija Cör, Željko Knez and Maša Knez Hrnčič. Antitumour, Antimicrobial, Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Effect of Ganoderma Lucidum Terpenoids and Polysaccharides: A Review. Molecules 2018, 23, 649; doi:10.3390/molecules23030649.

9. Eo SK , Kim YS , Lee CK , Han SS . Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from Ganoderma lucidum. Journal of Ethnopharmacology [01 Dec 1999, 68(1-3):129-136]

10. Eo SK, Kim YS, Lee CK, Han SS. Possible mode of antiviral activity of acidic protein bound polysaccharide isolated from Ganoderma lucidum on herpes simplex viruses. J Ethnopharmacol. 2000 Oct;72(3):475-81.

11. Fraser P, Gener E, editors. Diagnosis of diseases of the chest. 3rd edition. New York: W.B. Saunders Co, 1988. p. 940-1022.

12. Haron E, Vartivat S, Annaissie E, Dekmezian R, Bodey GP. Primary candida pneumonia: experience at a large cancer center and review of the literature. Medicine 1993; 72: 137-42.

13. Hu H, Ahn NS, Yang X, Lee YS, Kang KS. Ganoderma lucidum extract induces cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cell. Int J Cancer. 2002 Nov 20;102(3):250-3.

14. JEAN-PAUL LATGE. Aspergillus fumigatus and Aspergillosis. Laboratoire des Aspergillus, Institut Pasteur, 75015 Paris, France. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, 0893-8512/99/04.0010. Apr. 1999, p. 310–350 Vol. 12, No. 2. Copyright © 1999, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

18. Ji-Woong Kim, Hong-Il Kim, Jong-Hyeon Kim, O-Chul Kwon, Eun-Suk Son, Chang-Soo Lee and Young-Jin Park. Effects of Ganodermanondiol, a New Melanogenesis Inhibitor from the Medicinal Mushroom Ganoderma lucidum. Int. J. Mol. Sci. 2016, 17, 1798; doi:10.3390/ijms17111798 www.mdpi.com/journal/ijms.

15. Jiang J, Slivova V, Valachovicova T, Harvey K, Sliva D. Ganoderma lucidum inhibits proliferation and induces apoptosis in human prostate cancer cells PC-3. Int J Oncol. 2004 May;24(5):1093-9.

16. Kibbler CC, Mackenzie DWR, Odds FC, editors. Principles and practice of clinical mycology. John Wiley & Sons Ltd; 1996.

17. Kuo MC, Weng CY, Ha CL, Wu MJ. Ganoderma lucidum mycelia enhance innate immunity by activating NF-kappaB. J Ethnopharmacol. 2006 Jan 16;103(2):217-22. Epub 2005 Sep 15.

18. Lupinetti FM, Giller RH, Trigg MF. Operative treatment of Fusarium fungal infection of the lung. Ann Thrac Surg 1990; 40(6): 991-2.

19. Müller CI, Kumagai T, O'Kelly J, Seeram NP, Heber D, Koeffler HP. Ganoderma lucidum causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells. Leuk Res. 2006 Jul;30(7):841-8. Epub 2006 Jan 19.

20. Mizushina Y, Takahashi N, Hanashima L, Koshino H, Esumi Y, Uzawa J, Sugawara

F, Sakaguchi K. *Lucidenic acid O and lactone, new terpene inhibitors of eukaryotic DNA polymerases from a basidiomycete,* Ganoderma lucidum. Bioorg Med Chem. *1999 Sep;7(9):2047-52.*

21. Panos RN, Barr LF, Walsh TJ, Silverman HJ. Factors associated with fatal hemoptysis in cancer patients. Chest 1988; 94: 1008-13.

22. Peterson PK, McGlave P, Ramsay NK, Rhame F, Cohen E, Perry GS, et al. A prospective study of infections diseases following bone marrow transplantation emergence of Aspergillus and cytomegalovirus as the major causes of mortality. Infect Control 1983; 4: 81-9.

Antifungal effect of ganoderma mushroom extract on Candida albicans isolated from pulmonary specimen

rostami nejad sanaz[1], Dakhili Mohammad[2*], Rezaei Seyed Ali

1.Microbiologiy, basic sciences, azad eslami, qom, iran.

[*]2. Department of Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, Qom Islamic Azad University, Qom, Iran.

3. Department of Microbiology, Basic Sciences, Qom Islamic Azad University, Qom, Iran.

dr_dakhili@yahoo.com[*]

Abstract

Introduction & Objective: Candida infection is caused by overgrowth of Candida species, especially albicans, in immunocompromised individuals. This infection may be resistant to the treatment and sometimes become chronic, as well as sometimes the patients will return to the infection after treatment. Pulmonary aspergillosis is also one of the most important causes of fungal infections in humans and animals and leads to pulmonary infection in immunocompromised individuals. With increasing drug resistance, an attempt to provide antifungal or antimicrobial drugs is needed. The increasing use of medicinal plants in medical treatment, this branch of complementary medicine, has a special place in the treatment of diseases. The aim of this study was to compare the effect of Ganodermalocidom fungus extract on the growth of Candida albicans isolated from pulmonary infections in laboratory conditions and compare them with the standard strain.

Materials and Methods: In this experimental study, Ganodermalocidum was collected from Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Then, the extracts were

dried and distilled with water vapor. Then, the inhibitory zone diameter and minimum inhibitory concentration of growth, clinical isolates of Candida albicans were studied.

Conclusion:. In disk diffusion method of extract of Ganoderma leucidum by producing 34 mm diameter growth zone against clinical isolate of Candida albicans, Compared to the 25-mm fluconazole inhibition zone against this isolate, it exhibited better performance.

According to the microdilution method, the extract of Ganodermalosidum had a good effect on Candida albicans isolate and the minimum inhibitory concentration against clinical isolate was 0.3125 mg / ml.

Keywords: Ganoderma mushroom extract, Candida albicans, Aspergillus fumigatus, antifungal effect