

Odkrivanje novih protimikrobnih učinkovin v lesnih glivah

Discovery of new antimicrobial compounds in wood-colonising fungi

Damjan Janeš

Povzetek: Človeštvo se v 21. stoletju sooča z odpornostjo patogenih mikroorganizmov na nekoč zelo uspešne protimikrobne učinkovine. Odporni sevi ogrožajo življenja bolnikov, še posebej tistih z oslabiljenim imunskim sistemom. Za uspešno terapijo je nujen konstanten razvoj novih protimikrobnih učinkovin, saj so dosedanje izkušnje pokazale, da so zaradi pojava vedno novih odpornih sevov tudi najnovejše učinkovine uspešne v časovno zelo omejenem obdobju. Zelo pomemben pristop k razvoju novih protimikrobnih učinkovin je iskanje spojin vodnic z reševanjem različnih organizmov. Glive so zaradi svojega raznolikega metabolizma zanimiv vir učinkovin, vendar lesnih gliv kot virov protimikrobnih učinkovin še niso intenzivno sistemsko raziskovali. Članek podaja pregled dosedanjih študij protimikrobnega delovanja lesnih gliv.

Ključne besede: protimikrobne učinkovine, lesne glive, odpornost mikroorganizmov

Abstract: In the 21st century mankind faces with the resistance of pathogenic microorganisms to recently successful antimicrobial compounds. Resistant strains endanger lives especially of patients with impaired immune system. There is constant need for development of new antimicrobial compounds because even the latest antimicrobial compounds are successful for a limited period of time. To combat that, different approaches are necessary, among them screening various organisms for antimicrobial activity is very important. Due to their diverse metabolic pathways, fungi are very interesting source of antimicrobial compounds, but wood-colonising fungi have not been extensively and systematically studied so far. This article reviews antimicrobial investigations of wood-colonising fungi.

Keywords: antimicrobial compounds, wood-colonising fungi, microbial resistance

1 Kratka zgodovina protimikrobnih učinkovin

Narava je že tisočletja vir zdravilnih učinkovin. Mnogo spojin, ki jih danes uporabljamo v terapevtske namene, so raziskovalci izolirali iz naravnih virov, pri tem pa so velikokrat sledili izkušnjam tradicionalne medicine. Že stari Grki so uporabljali praprot (*Aspidium* sp.) kot antihelmintik, podobno kot Azteki metliko (*Chenopodium* sp.). Antični hindujci so zdravili gobavost s čolmugro (*Hydnocarpus* sp.). Stoletja so ljudje uporabljali različne plesni za zdravljenje okuženih ran (1).

Zgodovina racionalne kemoterapije se je začela leta 1906, ko je Ehrlich razvil in poimenoval kemoterapijo na osnovi opazovanj selektivne toksičnosti anilinskih barvil za bakterije. Temu je sledilo odkritje antimalarikov pamakina in mepakrina in nato sulfonamidov. Domagkove sistematične študije sulfonamidov in njegovi dramatični uspehi pri zdravljenju sepse, pljučnice in meningitisa so povzročili revolucijo v znanosti in medicini (1). V prejšnjem stoletju pa so najpomembnejšo vlogo pri odkrivanju novih zdravilnih učinkovin odigrali mikroorganizmi, ki sintetizirajo antibiotike. Flemingovo odkritje penicilina v čopičasti plesni - *Penicillium notatum* (*Penicillium chrysogenum*) leta 1929 in prva širša terapevtska uporaba

omenjenega antibiotika v 40. letih prejšnjega stoletja sta začela novo obdobje medicine, t.i. »zlati dobo antibiotikov«. Izjemen uspeh penicilina je sprožil intenzivno iskanje bioaktivnih učinkovin v naravnih virih. Rezultati dolgoletnih raziskav gliv so danes spojine, ki sodijo med najpomembnejše izdelke farmacevtske industrije: protibakterijske učinkovine kot so penicilini iz *Penicillium* sp., cefalosporini iz *Cephalosporium acremonium*, aminoglikozidi, tetraciklini in poliketidi iz *Streptomyces* sp. ter antihelmintiki in učinkovine proti parazitom, npr. ivermektini iz *Streptomyces* sp. (2).

2 Odpornost mikrobov proti protimikrobnim učinkovinom

Nedvomno so bili odkrivanje, razvoj in klinične študije novih protimikrobnih učinkovin, ki so močno zaznamovali medicino 20. stoletja, uspešni koraki v boju z mikrobi, vendar se v 21. stoletju človeštvo sooča z zelo veliko težavo, z odpornostjo patogenih mikroorganizmov na nekoč zelo uspešne protimikrobne učinkovine (3). Odpornost je neizogiben odgovor evolucije na uporabo protimikrobnih učinkovin. Že v prvih letih uporabe penicilina se je pojavil velik delež odpornih sevov *Staphylococcus aureus*. Temu so sledile tudi druge vrste bakterij, ki so zaradi uporabe novih in novih

antibiotikov razvile odpornost proti večini le-teh. V začetku je farmacevtska industrija z velikim številom novih antibiotikov še lahko sledila pojavu odpornosti, v zadnjih dveh desetletjih pa so razvili zelo malo novih protimikrobnih učinkovin. Med mikroorganizme, ki imajo izraženo odpornost proti večini antibiotikov ter povzročajo resne okužbe, uvrščamo: na meticilin odporne seve *Staphylococcus aureus* (MRSA - Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), na vankomicin odporne seve enterokokov (VRE - Vancomycin-resistant Enterococci), na penicilin odporne seve pnevmokokov ter po Gramu negativne bakterije, kot so *Escherichia coli*, *Klebsiella* in *Enterobacter* sp. in *Pseudomonas aeruginosa* (4). Odpornost se ne pojavlja samo pri bakterijah, temveč tudi pri glivah, virusih in parazitih (5). Izbor učinkovin proti parazitom ni dovolj velik, da bi lahko uspešno zdravili protozojske, parazitske infekcije kot so malarija, lešmanioza, tripanosomoza in filarioza, čeprav verjetno vsako leto terjajo več življenj kot katerakoli druga skupina infekcijskih bolezni (6).

Za uspešno zdravljenje je nujen konstanten razvoj novih protimikrobnih učinkovin, saj so dosedanje izkušnje pokazale, da so zaradi pojava vedno novih odpornih sevov tudi najnovejše učinkovine uspešne v časovno zelo omejenem obdobju. Odpornost se slej kot prej razvije proti vsaki učinkovini, zato moramo nujno uporabiti druge pristope, še posebej pri zdravljenju infektivnih bolezni v bolnišnicah (7). V zdravljenje lahko posegamo z uvajanjem novih analogov dosedanjih učinkovin, z uporabo kombinacij različnih učinkovin, z novimi pristopi k zdravljenju ter z uporabo novih spojin, ki imajo drugačen mehanizem delovanja (8), predvsem pa je nujno, da omejimo pojavnost in širitev odpornih sevov, da bomo lahko še pravočasno odkrili in razvili nove protimikrobne učinkovine (9).

3 Preizkušanje protimikrobnih učinkovin in vitro

Posamezni bakterijski sevi so različno občutljivi na protimikrobne učinkovine, zato so takšni podatki zelo pomembni pri zdravljenju in iskanju novih protimikrobnih učinkovin. Za preizkušanje občutljivosti danes največkrat uporabljamo disk-difuzijski, agar-dilucijski in bujon-dilucijski test.

Disk-difuzijski test uporabljamo za kvalitativno ali semikvantitativno oceno občutljivosti določenega bakterijskega seva na protimikrobne učinkovine. Pri tej metodi merimo premer inhibicijskega območja okoli diska, prepojenega z raztopino učinkovine, po inkubaciji na agarju, ki je premazan s suspenzijo izbranega bakterijskega seva.

Za kvantitativno vrednotenje občutljivosti uporabljamo agar-dilucijski ali bujon-dilucijski test. Pri tej metodi pripravimo serijo redčitev protimikrobne učinkovine v agarju ali bujonu in po inkubaciji opazujemo bakterijske kolonije na agarju ali zamotnitev tekočega gojišča zaradi rasti bakterij. Najnižja koncentracija učinkovine v agarju ali bujonu, ki prepreči rast bakterij je minimalna inhibitorna koncentracija (MIK). Bujon-dilucijsko metodo je možno tudi avtomatizirati, pri čemer motnost gojišča ovrednotimo denzitometrično (10).

Bujon-dilucijski test je možno izvesti tudi v zelo majhnem volumnu (100 µL). Tako imenovani mikrodilucijski test je danes standardna referenčna metoda za preizkušanje občutljivosti aerobnih bakterij na

protimikrobne učinkovine. S to metodo lahko kvantitativno opredelimo *in vitro* učinkovitost spojine na izbranem bakterijskem sevu (11). Metodo uporabljamo kot zanesljivo orodje za odkrivanje protimikrobnih učinkovin z novim kemizmom in kar je zelo pomembno, test lahko prilagodimo za preizkušanje ekstraktov (12).

Druga zanimiva metoda za preizkušanje protibakterijske učinkovitosti spojin in ekstraktov je test z morsko, bioluminiscentno bakterijo *Vibrio fischeri* (Beijerinck) Lehm. & Neumann. Test temelji na pojavu, da vsako zaviranje celičnega metabolizma zmanjša tvorbo svetlobe, ki jo bakterija v normalnih pogojih emitira. Ta pojav lahko izkoristimo za kvalitativno in kvantitativno proučevanje učinkov različnih spojin. Metodo z bakterijo *Vibrio fischeri* sicer intenzivno uporabljajo za preizkušanje toksičnosti različnih spojin, saj so dokazali, da so celice teh bakterij dovzetne za toksične učinke določenih spojin podobno kot sesalske celice. Povsem nova pa je uporaba *Vibrio fischeri*-bioluminiscentnega testa za reševanje ekstraktov lesnih gliv s ciljem iskanja protibakterijskega delovanja (13).

4 Lesne glive

Večino gliv uvrščamo v samostojno kraljestvo gliv (Fungi), ki poleg živali (Animalia), rastlin (Plantae), protoktistov (Protoctista), kamor sodijo alge in evglenoidi ter prokariotov (Monomera ali Prokaryotae) tvorijo sistem petih kraljestev. Glive razvrščamo v pet razredov, vendar pa so iz stališča lesnih gliv pomembne predvsem naslednji trije:

- Ascomycotina (zaprtotrosnice),
- Basidiomycotina (prostotrosnice) in
- Deuteromycotina ali Fungi imperfecti (nepopolne glive).

Leta 1983 so ocenili, da je bilo odkritih 64000 vrst gliv, v letu 1995 se je število poznanih vrst povzpelo na 72000. Letno odkrijejo približno 700 novih vrst, verjetno pa je število poznanih vrst le majhen delež vseh vrst organizmov, saj so intenzivno proučevali le maloštevilne regije in življenjska okolja. Glede na to, da poznamo približno 270000 vrst cvetnic, ocenjujejo, da utegne biti število vrst gliv okoli 1600000 (14, 15).

Glive so na prvi pogled zelo podobne rastlinam, saj se ne gibljejo in črpajo hranila iz okolja. Kljub svoji podobnosti z rastlinami pa se od njih v ključnih pogledih razlikujejo. Glive so evkariotski, heterotrofni, absorptivni organizmi, ki razvijajo difuzno, razvejano tubularno telo in se razmnožujejo s pomočjo spor. Za njih je značilno da:

- so brez klorofila,
- glavna skeletna snov celičnih sten je hitin,
- zalogo hrane predstavlja glikogen,
- način prehranjevanja je heterotrofen (lizotrofija) in
- se prehranjujejo na tri načine (kot zajedavci, gniloživke ali pa so simbionti) (14, 15).

Glive so sestavljene iz prehranjevalnega in razmnoževalnega dela. Prehranjevalni del sestavljajo neorganiziran splet nitk ali hif, ki pa tvorijo micelij ali podgobje. Celice hif izločajo encime, s katerimi glive razkrajajo les, nato pa posrkajo vase produkte, ki jih potrebujejo za

rast in razmnoževanje. Skozi podgobje glive črpajo hrano in vodo ter se širijo na še neokužen les. Na rast in razvoj gliv vplivajo vlaga, temperatura, svetloba, hrana, zrak in vrednost pH (16).

Lesne glive povzročajo v lesu številne kemijske in fizikalne spremembe, ki se kažejo v razkroju lesa (trohnenje), zaradi česar les izgublja naravne lastnosti. Okužba lesa z glivami se najprej pokaže v spremembi naravne barve lesa. Na osnovi določenih značilnih poškodb lesa lahko določimo skupine gliv, ki te spremembe povzročajo. Delimo jih na:

- glive povzročiteljice rjave ali destruktivne trohnobe,
- glive povzročiteljice bele ali korozivne trohnobe in piravosti,
- glive mehke trohnobe,
- modrivke in
- glive plesni, povzročiteljice površinskih sprememb barv.

Glive, ki povzročajo rjavo trohnobo, označujemo za prave razkrojevalke lesa in spadajo v pododdelek Basidiomycotina. Pogosteje okužijo les iglavcev kot listavcev, kjer razgrajujejo celulozo in hemicelulozo, medtem ko ostane lignin skoraj nerazkrojen. Les, zaradi presežka oksidiranega lignina, postane rdečkasto rjave do temno rjave barve. Glive, ki povzročajo belo trohnobo, so sposobne razgradnje lignina. Zaradi tega les postaja vse svetlejši in se začne vlaknasto cepiti. Na mikromorfološki in kemijski stopnji bi lahko ločili glive povzročiteljice bele trohnobe ter glive povzročiteljice tako imenovane »sočasne trohnobe«. Glive bele trohnobe razgradijo najprej lignin in hemicelulozo, medtem ko povzročiteljice sočasne trohnobe hkrati v enakem obsegu razgradijo lignin, hemicelulozo in celulozo. Glive povzročiteljice bele trohnobe pogosteje okužijo les listavcev kot iglavcev.

Glive, povzročiteljice mehke trohnobe, sodijo v skupino zaprtotrosnic (Ascomycotini) in skupino nepopolnih gliv (Fungi imperfecti). Hranijo se predvsem s celulozo in hemicelulozo, lahko pa tudi z ligninom. Okužba se pojavi, kadar zaradi različnih dejavnikov (previsoke vlažnosti, slabih zračnih pogojev) okužba bolj aktivnih in tekmovalnih gliv iz skupine Basidiomycotini ni mogoča. Površina okuženega lesa je mehka in izrazito temne barve (kadar je les moker). Pri suhem lesu se pojavijo podobne razpoke kot pri rjavi trohnobi, le da so bolj plitke; notranjost lesa ostane nepoškodovana.

Glive modrivke povzročajo globinsko obarvanje beljave iglavcev (smreka, bor) in listavcev (topol, breza, lipa). Trosi gliv modrivk se razvijejo, le če padejo direktno na beljavo ali če jih določeni insekti (predvsem podlubniki) vnesejo v les. Modrivke se hranijo s škrobom, beljakovinami in sladkorji, zato ne vplivajo na mehanske lastnosti lesa. Plesni povzročajo le površinsko obarvanje lesa v najrazličnejših barvah (črna, modra, zelena, rdeča, rožnata in siva). Značilna je tudi oblika in globina obarvanih madežev. Obarvanja, ki nastanejo zaradi plesni, so največkrat neenakomerno pikčasta, pegasta ali razporejena v madežih. Le redko se zgodi, da bi bila obarvana celotna površina lesa. Plesni ne predstavljajo velike ekonomske škode, saj je les tudi po njihovi okužbi še vedno uporaben. Z brušenjem ali skobljanjem lesa lahko madeže delno ali v celoti odstranimo (16).

5 Dosedanje študije protimikrobnega delovanja

Glive so zaradi svojega raznolikega metabolizma zanimiv vir protimikrobnih učinkovin, vendar so lesne glive slabo raziskane. Edino sistemsko študijo, v kateri so preverjali protibakterijsko delovanje 72 vrst omenjenih gliv, so naredili z uporabo bioluminiscentne bakterije *Vibrio fischeri* (13). Rezultate omenjene študije so potrdili z referenčnim mikrodilucijskim testom (17, 18). Pregled rezultatov dosedanjih študij protimikrobnega delovanja lesnih gliv podaja **preglednica 1**, strukturne formule izoliranih učinkovin pa so na **sliki 1**.

Med aktivnimi sekundarni metaboliti lesnih gliv so protibakterijske, protivirusne in protiglivne učinkovine z zelo raznovrstnimi strukturami in spektrom delovanja. Protibakterijsko delujoče spojine so:

- *seskviterpeni*
hirsutinska kislina in
komplikatinska kislina ter
koriolin;
- *steroidne spojine*
lanostanoidni derivati iz vrste *Fomitopsis pinicola*,
steroli iz vrste *Ganoderma applanatum* in
favolon, neobičajni ergosteron s *cis* položajem obroča B in C;
ganomicin A in B, hidrokinona s farnezično stransko verigo;
beauvericin, nenavadni ciklični oligoamid/ester;
merulinska kislina A, B in C poliketidnega izvora;
- *hlapni alkoholi*,
- *aldehidi*,
- *ketoni in kisline iz vrste Pleurotus ostreatus*;
- *cinabarin*,
- *rdeče obarvani fenoksazini*;
- *poliacetilenske spojine iz vrste Serpula lacrymans*;
- *rumeno obarvane fenolne spojine*
kserokominska in
variegatinska kislina ter
variegatorubin;
- *aromatski acetilenovi derivati*
frustulozin in
frustulozinol, aromatska acetilenova derivata.

Učinkovin filtrata kulture, ekstraktov plodišča vrste *Lentinula edodes* (19) ter ekstraktov plodišča vrste *Phellinus linteus* (20) in *Ganoderma lucidum* še niso odkrili (21, 22).

6 Zaključek

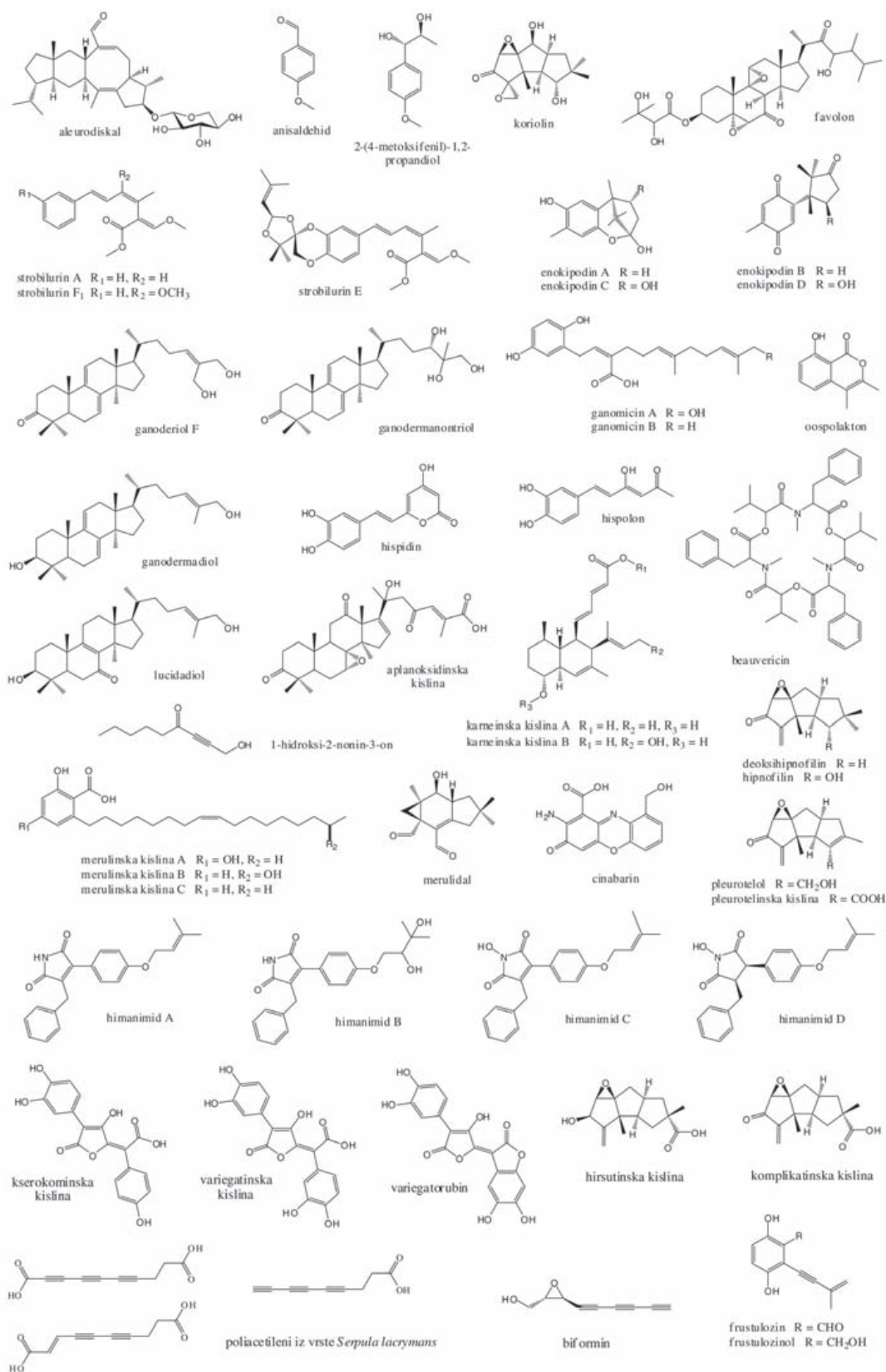
V današnjem času, ko odporni mikroorganizmi ogrožajo zdravje človeka, je iskanje novih virov in razvoj novih protimikrobnih učinkovin izrednega pomena. Lesne glive so obetaven vir novih učinkovin ali spojin vodnic, saj so že dosedanje raziskave pokazale raznovrstnost in veliko protimikrobno učinkovitost njihovih sekundarnih metabolitov. Nedvomno bodo rezultati sodobnih raziskav tudi številne terapevtsko uporabne učinkovine.

Pregledni znanstveni članki - Review Scientific Articles

Preglednica 1: Dosedanje študije protibakterijskega, protiglivnega in protivirusnega delovanja lesnih gliv.

Table 1: Overview of studies of antibacterial, antifungal and antiviral activity of wood-colonising fungi.

IME GLIVE	UČINKOVINA/FRAKCIJA EKSTRAKTA	REFERENCA
Protibakterijsko delovanje		
<i>Coriolus consors</i>	koriolin	19
<i>Favolaschia</i> sp.	favolon	19
<i>Flammulina velutipes</i>	enokipodin A, B, C in D	23
<i>Fomitopsis pinicola</i>	lanostanoidni derivati	19
<i>Ganoderma applanatum</i>	steroli	19
<i>Ganoderma lucidum</i>	lipofilni ekstrakti	21
<i>Ganoderma lucidum</i>	vodni ekstrakt	22
<i>Ganoderma pfeifferi</i>	ganomicin A in B	19
<i>Hypoxylon carneum</i>	karneinska kislina A in B	24
<i>Laetiporus sulphureus</i>	beauvericin	19
<i>Lentinus edodes</i>	filtrat kulture	25
<i>Lentinus edodes</i>	kloroformski, etilacetatni in vodni ekstrakti plodišča	26
<i>Lentinus crinitus</i>	deoksihipnofilin in hipnofilin	19
<i>Merulius tremellosus</i>	merulinska kislina A, B in C	19
<i>Phellinus linteus</i>	metanolni ekstrakt plodišča in njegove frakcije	20
<i>Pholiota adiposa</i>	metanolni ekstrakt plodišča	27
<i>Pleurotellus hypnophilus</i>	pleurotelol in pleurotelinska kislina	19
<i>Pleurotus ostreatus</i>	hlapne spojine: alkoholi, aldehidi, ketoni in kisline	28
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	12 kDa ribonukleaza	29
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	cinabarin	19
<i>Serpula himantoides</i>	himanimid A, B, C in D	30
<i>Serpula lacrymans</i>	poliacetileni, kserokominska in variegatinska kislina, variegatorubin	30, 31, 32
<i>Stereum complicatum</i>	hirsutinska in komplikatinska kislina	19
<i>Stereum frustulosum</i>	frustulozin in frustulozinol	19
<i>Trichaptum biforme</i>	biformin	19
Protiglavno delovanje		
<i>Aleurodiscus mirabilis</i>	aleurodiskal	19
<i>Bjerkandera adusta</i>	anisaldehyd, 2-(4-metoksifenil)propan-1,2-diol	19
<i>Filoboletus</i> sp.	strobilurin A, E in F1 in njihovi derivati	19
<i>Flammulina velutipes</i>	enokipodin A, B, C in D	23
<i>Gloeophyllum sepiarium</i>	oospolakton	19
<i>Hypoxylon carneum</i>	karneinska kislina A in B	24
<i>Ischnoderma benzoinum</i>	1-hidroksi-2-nonin-3-on	19
<i>Lentinus crinitus</i>	deoksihipnofilin in hipnofilin	19
<i>Merulius tremellosus</i>	merulidal	19
<i>Pholiota adiposa</i>	metanolni ekstrakt plodišča	27
<i>Pleurotellus hypnophilus</i>	pleurotelol in pleurotelinska kislina	19
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	anisaldehyd, 2-(4-metoksifenil)propan-1,2-diol	19
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	12 kDa ribonukleaza	29
<i>Serpula himantoides</i>	himanimid A, B, C in D	31
<i>Trichaptum biforme</i>	biformin	19
Protivirusno delovanje		
<i>Fomes fomentarius</i>	filtrat kulture	19
<i>Fomitella supina</i>	vodni ekstrakt	19
<i>Ganoderma applanatum</i>	vodni ekstrakt	19
<i>Ganoderma lucidum</i>	ganoderiol F in ganodermanontriol	19
<i>Ganoderma pfeifferi</i>	ganodermediol, lucidadiol in aplanoksidinska kislina	19
<i>Inonotus hispidus</i>	hispolon in hispidin	19
<i>Inonotus obliquus</i>	vodotopni lignini	19
<i>Phellinus rhabarbarinus</i>	vodni ekstrakt	19
<i>Trametes cubensis</i>	vodni ekstrakt	19
<i>Trametes versicolor</i>	polisaharidne frakcije	19
<i>Trichaptum perrottotti</i>	vodni ekstrakt	19



Slika 1:
Strukturne formule protibakterijskih, protiglivnih in protivirusnih učinkovin iz lesnih gliv (19-32).

Figure 1:
Molecular structures of antibacterial, antifungal and antiviral compounds from wood-colonising fungi (19-32).

7 Literatura

- Farrington M. Chemotherapy of infections. In: Clinical Pharmacology, 9th ed. Bennett PN & Brown MJ, Churchill Livingstone, Edinburgh 2003: 201—213.
- Cragg GM, Newman DJ. Natural Product Drug Discovery in the Next Millennium. *Pharmaceutical Biology* 2001; 39 (Suppl.): 8—17.
- Thomson CJ, Power E, Ruebsamen-Waigmann H, Labischinski H. Antibacterial research and development in the 21st Century – an industry perspective of the challenges. *Curr Opin Microbiol* 2004; 7: 445—450.
- French GL. Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57 (10): 1514—1527.
- Levy SB. Antibiotic resistance—the problem intensifies. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57 (10): 1446—1450.
- Strobel GA. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes Infect* 2003; 5 (6): 535—544.
- van der Waaij D, Nord CE. Development and persistence of multi-resistance to antibiotics in bacteria; an analysis and a new approach to this urgent problem. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16 (3): 191—197.
- Silver LL, Bostian KA. Discovery and Development of New Antibiotics: the Problem of Antibiotic Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37 (3): 377—383.
- Andersson DI. Persistence of antibiotic resistant bacteria. *Curr Opin Microbiol* 2003; 6: 452—456.
- Chambers HF. Antimicrobial Agents: General Considerations. In: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th ed. Hardman JG & Limbird LE (Eds.), McGraw-Hill, New York, NY, 2001: 1143—1170.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard M7-A6*, 6th ed. 20 (2), NCCLS, Wayne, PA, 2003: 14—16.
- Zgoda JR, Porter JR. A Convenient Microdilution Method for Screening Natural Products Against Bacteria and Fungi. *Pharmaceutical Biology* 2001; 39 (3): 221—225.
- Berden Zrimec M, Zrimec A, Slanc P, Kac J, Kreft S. Screening for antibacterial activity in 72 species of wood-colonizing fungi by the *Vibrio fischeri* bioluminescence method. *J Basic Microbiol* 2004; 44 (5): 407—412.
- Carlile MJ, Watkinson SC, Gooday GW. The Fungi as a Major Group of organisms. In: *The Fungi*, 2nd ed., Academic Press, San Diego, CA, 2001: 1—9.
- Kendrick B. Kingdoms, Classification and Biodiversity. In: *The Fifth Kingdom*, 3rd ed., Focus publishing, Newburyport, MA, 2000: 1—8.
- Podlesnik B. Učinkovitost pripravkov na osnovi bora in etanolamina na lesne glive. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, 2007.
- Janeš D. Raziskave gliv kot virov novih protimikrobnih učinkovin. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za farmacevtsko biologijo, 2007.
- Janeš D, Umek A, Kreft S. Evaluation of antibacterial activity of extracts of five species of wood-colonizing fungi. *J Basic Microbiol* 2006; 46 (3): 203—207.
- Zjawiony JK. Biologically Active Compounds from Aphyllophorales (Polypore) Fungi. *J Nat Prod* 2004; 67: 300—310.
- Hur J-M, Yang C-H, Han S-H, Lee S-H, You Y-O, Park J-C, Kim K-J. Antibacterial effect of *Phellinus linteus* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia* 2004; 75 (6): 603—605.
- Ofodile LN, Uma NU, Kokubun T, Grayer RJ, Ogundipe OT, Simmonds MS. Antimicrobial activity of some *Ganoderma* species from Nigeria. *Phytother Res* 2005; 19 (4): 310—313.
- Yoon SY, Eo SK, Kim YS, Lee CK, Han SS. Antimicrobial activity of *Ganoderma lucidum* extract alone and in combination with some antibiotics. *Arch Pharm Res* 1994; 17 (6): 438—442.
- Ishikawa NK, Fukushi Y, Yamaji K, Tahara S, Takahashi K (2001). Antimicrobial Cuparene-Type Sesquiterpenes, Enokipodins C and D, from a Mycelial Culture of *Flammulina velutipes*. *J Nat Prod* 64, 932—934.
- Quang DN, Stadler M, Fournier J, Asakawa Y. Carneic Acids A and B, Chemotaxonomically significant Antimicrobial Agents from the Xylariaceous Ascomycete *Hypoxylon carneum*. *J Nat Prod* 2006; 69: 1198—1202.
- Hatvani N. Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinus edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17 (1): 71—74.
- Hirasawa M, Shouji N, Neta T, Fukushima K, Takada K. Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). *Int J Antimicrob Agents* 1999; 11 (2): 151—157.
- Dulger B. Antimicrobial activity of the macrofungus *Pholiota adiposa*. *Fitoterapia* 2004; 75 (3—4): 395—397.
- Garcia MJ, Estarron-Espinosa M, Ogura T. Volatile Compounds Secreted by the Oyster Mushroom (*Pleurotus osteratus*) and Their Antibacterial Activities. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 4049—4052.
- Ngai PHK, Ng TB. A ribonuclease with antimicrobial, antimutagenic and antiproliferative activities from the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. *Peptides* 2004; 25 (1): 11—17.
- Aqueveque P, Anke T, Sterner O. The Himanimides, New Bioactive Compounds from *Serpula himantoides* (Fr.) Karst. *Z Naturforsch* 2002; 57c: 257—262.
- Farrell IW, Keeping JW, Pellatt MG, Thaller V. Natural acetylenes. Part XLI. Polyacetylenes from fungal fruiting bodies. *J Chem Soc Perk T* 1 1973; 22: 2642—2643.
- Hearn MTW, Jones ERH, Pellatt MG, Thaller V, Turner JL. Natural acetylenes. Part XLII. Novel C₇, C₈, C₉, C₁₀ polyacetylenes from fungal cultures. *J Chem Soc Perk T* 1 1973; 22: 2785—2788.