

576.88.281.095.49.095.15

DLOUHODOBÉ PŘEŽÍVÁNÍ CANDIDA ALBICANS ZA RŮZNÝCH TEPLOTNÍCH PODMÍNEK

† Podplukovník MUDr. Jaromír CHLUP

Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP v Hradci Králové

Kvasinkovité houby jsou běžně přítomny na pokožce a některých sliznicích člověka i některých zvířat. V přírodě se často vyskytují na ovoce, v potravinách, na stéblech trav, na listech. *Candida albicans*, (Robin) Berkhout 1923, patří mezi kvasinkovité houby a označovaná jako nejčastější původce kandidózy, byla izolována ze všech uvedených substrátů. Pozitivní izolace je možná i z půdy (7).

Candida albicans patří mezi kvasinkovité houby odolné proti nepříznivým vlivům zevního prostředí, a to i za podmínek *in vitro*. Castellani (3) zjistil životaschopnost *Candida albicans* i dalších druhů po dobu jednoho roku při pokojové teplotě bez přeočkování. Elinov (4) uchovával *Candida albicans* na agarových blocích při 4–5 °C po dobu 8–9 měsíců, některé laboratorní kmeny až 10 měsíců. Manych (6) prokázal zvýšenou záchytnost *Candida* sp. z materiálu od nemocných, pokud byl před kultivací exponován při 4 °C. Ludva (5) zjistil v destilované vodě v lékařské distribuci obsah různých mikrobů, mimo jiné také kvasinkovité houby z rodu *Candida*. Autor neudává dobu skladování vody. Ata a Steib (2) udržoval kvasinkovité houby 30 měsíců při –20 °C ve fyziologickém roztoku. Celkem sledoval 75 kmenů. Životaschopnost zůstala zachována za uvedených podmínek u 7 druhů. Nejodolnější byly kmeny *Candida albicans*, *C. tropicalis* a *Rhodotorula mucilaginosa*. Stejní autoři (1) zjistili, že nepříznivý vliv nízkých teplot na životaschopnost kvasinkovitých hub je možno zmírnit přidáním vitamínů skupiny B, některých cukrů (rhamnóza, laktóza), methioninu, argininu, valinu, alaninu, ale také odstředěného mléka a glycerínu.

V naší práci jsme se pokusili stanovit kvantitativní rozsah úbytku životaschopnosti definovaného počtu kvasinkovitých buněk *Candida albicans* v čase za různých teplotních podmínek.

Materiál a metodika

Kmen *Candida albicans* byl izolován z klinického materiálu a měl zachovány všechny hlavní diagnostické znaky rodu.

K přípravě suspenze bylo použito 48 hod. kultury *Candida albicans*, kultivované na Sabouraudově glukózovém agaru (Oxoid — CM 41 — Sabouraud dextrose agar) s přidáním penicilínu a streptomycinu při 37 °C. Z uvedené kultury byla připravena suspenze ve fyziologickém roztoku o denzitě $6,4 \times 10^6$ buněk v 0,1 ml (stanoveno metodou kvantitativní kultivace). Suspenze byla rozdělena ve stejném množství do sterilních lahviček se skleněnými perlami. Takto byly vytvořeny 3 skupiny vzorků. Vzorky 1. skupiny byly uchovávány při +4 °C v chladnici, vzorky 2. skupiny v laboratoři při teplotě 20–22 °C, vzorky 3. skupiny v termostatu při 37 °C. Pro vyšetření v příslušném časovém odstupu byla vždy použita suspenze z jiné lahvičky. Vzorek suspenze v množství 0,1 ml jsme ředili geometrickou řadou a v množství 0,1 ml od každého ředění jsme očkovali na 3 Petriho misky se Sabouraudovým glukózovým agarem. Po inkubaci za 48 hod. při 37 °C jsme stanovili průměrný počet kolonií v přepočtu na 0,1 ml výchozí neředěné suspenze.

Schopnost přežívání jsme sledovali po dobu 10 měsíců.

Výsledky

Tabulka 1

Vzorky 1. skupiny: +4 °C

Čas	Průměrný počet kolonií při ředění							Počet kolonií v 0,1 ml neředěné suspenze
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	
0					+	58	7	6400×10^3
10 dnů					+	21	3	2500×10^3
20 dnů					+	14	1	1200×10^3
4 měs.	+	920	80					8600
6 měs.	+	121	12					1200
8 měs.	70	6						650
10 měs.	0	0						0

Tabulka 2

Vzorky 2. skupiny: +22 °C

Čas	Průměrný počet kolonií při ředění							Počet kolonií v 0,1 ml neředěné suspenze
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	
0					+	58	7	6400 × 10 ³
10 dnů					+	57	7	6300 × 10 ³
20 dnů					+	60	5	5500 × 10 ³
4 měs.		+	19	3				2500
6 měs.	0	0	0					0
8 měs.	0	0	0					0
10 měs.	0	0	0					0

Tabulka 3

Vzorky 3. skupiny: +37 °C

Čas	Průměrný počet kolonií při ředění							Počet kolonií v 0,1 ml neředěné suspenze
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	
0					+	58	7	6400 × 10 ³
10 dnů					+	48	6	5400 × 10 ³
20 dnů					+	50	4	4500 × 10 ³
4 měs.				+	156	20		1700 × 10 ³
6 měs.				+	74	7		720 × 10 ³
8 měs.			+	172	18			170 × 10 ³
10 měs.			+	31	3			30 × 10 ³

Závěr

V naší studii jsme vystavili kmen *Candida albicans* účinku různých teplot. Fyziologický roztok poskytoval příznivé podmínky jen pokud jde o osmotické poměry a potřebnou vlhkost prostředí. Byly tedy vytvořeny pouze základní podmínky pro existenci buněk.

Potvrdili jsme obecněji známé teplotní optimum pro většinu mikroskopických hub v pásmu pokojové (laboratorní) teploty, tj. 20–22 °C.

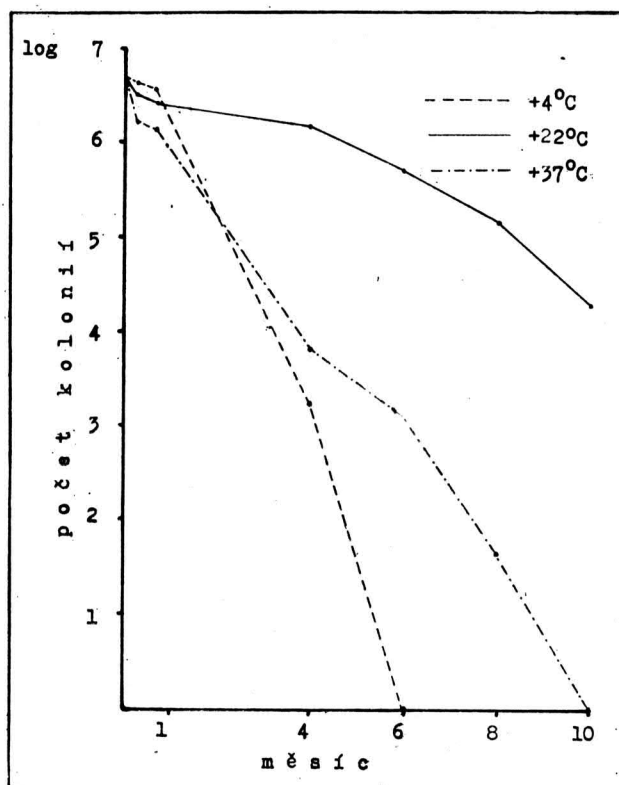
V mykologické praxi (při práci s *Candida albicans*) se může uplatnit toto zjištění:

— Pro krátkodobé uchovávání kmene (suspenze) je výhodné prostředí s teplotou +4 °C. Po 20 dnech byl zaznamenán pokles počtu reprodukce schopných buněk o 14,1 %. Ve stejném období byl zjištěn pokles o 29,7 % při teplotě 22 °C, o 81,3 % při teplotě 37 °C.

— Pro dlouhodobé uchovávání kmene je výhodné teplotní rozmezí kolem 22 °C. Počet reprodukce schopných buněk *Candida albicans* činil po 8 měsících ještě 2,6 %. Za tutéž dobu byla zjištěna nulová hodnota při +4 °C (již od 6. měsíce), při 37 °C hodnota pouze 1 promile.

Na grafu 1 je znázorněn průběh poklesu počtu kolonií *Candida albicans* v rozmezí 10 měsíců v závislosti na různých podmínkách uchovávání kmene.

Graf 1



Zjištěné počty kolonií *Candida albicans* za různých podmínek uchovávání uvádí v procentuálním přehledu tabulka 4.

Tabulka 4

Pokles počtu kolonií C. albicans v procentech

Čas	Počet kolonií v %		
	[Suspenze při teplotě]		
	+4 °C	+22 °C	+37 °C
0	100	100	100
10 dnů	98,4	84,3	39,0
20 dnů	85,9	70,3	18,7
4 měs.	0,03	28,5	0,1
6 měs.	0	11,2	0,01
8 měs.	0	2,6	0,001
10 měs.	0	0,4	0

Souhrn

Suspenze buněk *Candida albicans* ve fyziologickém roztoku byla uchovávána po dobu 10 měsíců při různých teplotách (+4 °C, 22 °C, 37 °C). Metodou kvantitativní kultivace byla stanovena dynamika poklesu reprodukce schopných buněk v průběhu sledované doby. Z výsledků byly vyvozeny závěry pro laboratorní mykologickou praxi.

Literatura

- Ata, S., Staib, F.: Der Einfluss der Vitamine des B-Komplexes auf *Candida albicans* während des Gefrierprozesses. Internat. Z. für Vitaminforschung, 28, 1957, 1—2:157—160.
- Ata, S., Staib, F.: Kälteeinfluss auf Hefen und hefeartige Pilze. Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankh. und Hyg., Abt. 2, 1957, 21—25: 659—673.
- Castellani, A.: Viability of some pathogenic fungi in distilled water. J. Trop. Med. and Hyg. 42, 1939, 15: 225—226.
- Eliniv, N. P.: Patogennyye drožepodobnyye organizmy. Moskva, Medicina 1964.
- Ludva, J.: Mikrobiologická kontrola destilovaných vod v lékárnách. Čs. farmacie, 16, 1967, 1: 46—47.
- Manych, J.: Příspěvek k hodnocení kandidové flóry v dýchacích cestách. ČEMI, 7, 1958, 5: 349—352.
- Pokorný, J., Pokorná, V.: Příspěvek k výskytu fosfobakterií v povrchové vodě. Čs. hygiena, 8, 1963, 9: 527—533.