

VILNIAUS UNIVERSITETAS  
GAMTOS TYRIMŲ CENTRO  
BOTANIKOS INSTITUTAS

JURGITA ŠVEDIENĖ

*CANDIDA* Berkhout GENTIES MIELIŲ PAPLITIMAS, BIOLOGINIAI  
SAVITUMAI IR PREVENCINIŲ PRIEMONIŲ PRIEŠ JAS PAIEŠKA

Daktaro disertacija  
Biomedicinos mokslai, biologija (01 B)  
Mikrobiologija, bakteriologija, virusologija, mikologija (B 230)

Vilnius, 2012

Disertacija rengta 2005–2012 metais Botanikos institute

Moksliniai vadovai:

habil. dr. Regina Varnaitė (Botanikos institutas, biomedicinos mokslai, biologija 01 B, mikrobiologija, bakteriologija, virusologija, mikologija (B 230) mokslinis vadovas 2005–2006 metais

dr. Algimantas Paškevičius (Gamtos tyrimų centro Botanikos institutas, biomedicinos mokslai, biologija 01 B, mikrobiologija, bakteriologija, virusologija, mikologija (B 230) mokslinis vadovas 2006–2012 metais

## TURINYS

Įvadas.....	5
1. Literatūros apžvalga .....	9
1.1. <i>Candida</i> mielių taksonomija .....	9
1.2. <i>Candida</i> mielių paplitimas gamtiniuose substratuose .....	13
1.2.1. <i>Candida</i> mielių paplitimas dirvožemyje.....	13
1.2.2. <i>Candida</i> mielių paplitimas augalų filosofijoje.....	16
1.2.3. <i>Candida</i> mielių paplitimas vandenyje .....	15
1.3. <i>Candida</i> mielių paplitimas maisto produktuose .....	17
1.4. <i>Candida</i> mielių paplitimas gyvenamųjų ir darbo patalpų ore .....	21
1.5. <i>Candida</i> mielės – žmogaus patogenai .....	22
1.6. Antigrybinių preparatų ir dezinfekcinių medžiagų poveikis <i>Candida</i> mielėms .....	26
1.7. Biologinės kilmės fungicidai <i>Candida</i> mielėms slopinti.....	30
2. Tyrimo metodika .....	35
2.1. <i>Candida</i> mielių išskyrimas iš įvairių substratų.....	35
2.1.1. Mielių išskyrimas iš dirvožemio.....	35
2.1.2. Mielių išskyrimas iš vandens .....	37
2.1.3. Mielių išskyrimas iš augalų filosofijos .....	38
2.1.4. Mielių išskyrimas iš įvairių maisto produktų .....	38
2.1.5. Mielių išskyrimas iš gyvenamųjų ir darbo patalpų oro .....	40
2.1.6. Mielių išskyrimas iš patologinės medžiagos .....	41
2.2. <i>Candida</i> mielių identifikavimo metodai .....	42
2.2.1. Mielių morfologinių požymių tyrimas.....	42
2.2.2. Mielių lytinio proceso charakteristika .....	43
2.3. Mielių rūšinės priklausomybės nustatymas diagnostinėmis sistemomis ir polimerazės grandininės reakcijos metodu.....	43
2.3.1. Mielių identifikavimas diagnostinėmis sistemomis.....	43
2.3.2. Mielių rūšinės priklausomybės nustatymas polimerazės grandininės reakcijos metodu.....	46
2.4. <i>Candida</i> mielių fiziologinių požymių nustatymas.....	47
2.4.1. Mielių gebėjimas fermentuoti angliavandenius.....	48
2.4.2. Mielių gebėjimas asimiliuoti anglies šaltinius.....	48
2.4.3. Mielių gebėjimas asimiliuoti nitritus ir nitratus.....	49
2.4.4. Mielių augimas terpėje be vitaminų .....	50
2.4.5. Mielių augimas įvairiose temperatūrose.....	50
2.4.6. Mielių gebėjimas augti osmosinėmis sąlygomis .....	51
2.5. <i>Candida</i> mielių biocheminių savitumų tyrimai.....	51
2.5.1. <i>Candida</i> mielių proteolitinio aktyvumo nustatymas.....	51
2.5.2. <i>Candida</i> mielių lipazinio aktyvumo nustatymas .....	52
2.5.3. Mielių gebėjimas formuoti junginius panašius į krakmolą.....	52
2.5.4. <i>Candida</i> mielių gebėjimas produkuoti organines rūgštis .....	52
2.6. <i>Candida</i> mielių ūmaus patogeniškumo ir toksiškumo pelėms nustatymas .....	53
2.7. <i>Candida</i> mielių jautrumo eteriniams aliejams, cheminėms dezinfekcinėms ir plovimo priemonėms nustatymas .....	54
2.8. <i>Candida</i> mielių jautrumo antigrybiniams preparatams tyrimai.....	57
2.9. Bakterijų izoliatų poveikio <i>Candida</i> mielėms nustatymas .....	59

2.10. Tyrimo duomenų statistinis apdorojimas.....	60
3. Tyrimų rezultatai .....	61
3.1. <i>Candida</i> mielių paplitimas gamtiniuose substratuose .....	61
3.2. <i>Candida</i> mielių paplitimas maisto produktuose .....	67
3.3 <i>Candida</i> mielių paplitimas gyvenamojoje ir darbo aplinkoje.....	71
3.4. <i>Candida</i> mielių paplitimas tarp sergančiųjų dermatomikozėmis .....	74
3.5 Diagnostinių sistemų ir polimerazės grandininės reakcijos PGR metodo taikymas mielių identifikacijoje .....	78
3.6 <i>Candida</i> mielių morfologiniai savitumai.....	81
3.7 <i>Candida</i> mielių fiziologiniai ir biocheminiai savitumai.....	97
3.7.1. <i>Candida</i> mielių vykdoma įvairių angliavandenių fermentacija.....	97
3.7.2. <i>Candida</i> mielių vykdoma įvairių anglies ir azoto šaltinių asimiliacija .....	98
3.7.3 <i>Candida</i> mielių augimas terpėje be vitaminų ir osmotinėmis sąlygomis .	103
3.7.4. <i>Candida</i> mielių augimas skirtingose temperatūrose .....	105
3.7.5. <i>Candida</i> mielių biocheminių savitumų įvertinimas.....	105
3.7.6. <i>Candida</i> mielių ūmus oralinis ir ūmus injekcinis toksiškumas/patogeniškumas pelėms .....	106
3.8. Cheminės kilmės fungicidinėmis savybėmis pasižyminčių medžiagų poveikis <i>Candida</i> mielėms .....	109
3.8.1. <i>Candida</i> mielių jautrumas antigrybiniams preparatams .....	109
3.8.2. Dezinfekcinių ir plovimo priemonių poveikis <i>Candida</i> mielėms.....	116
3.9. Biologinės kilmės fungicidinėmis savybėmis pasižyminčių medžiagų paieška prieš <i>Candida</i> mieles .....	119
3.9.1. Augalų eterinių aliejų poveikis <i>Candida</i> mielėms.....	119
3.9.2. Bakterijų padermių, slopinančių <i>Candida</i> mielių augimą, paieška .....	125
Apibendrinimas .....	131
Išvados.....	138
Mokslinių darbų sąrašas.....	140
Literatūros sąrašas .....	143

## ĮVADAS

Šiuo metu pasaulyje aprašyta daugiau kaip 1500 mielių rūšių, priklausančių 100 genčių. *Candida* genčiai priskiriama apie 200 rūšių. Ši gentis labai nevienalytė, jos sudėtyje yra pilno ir nepilno vystymosi rūšių. Tarp *Candida* mielių esama tolerantiškų osmosui, augančių ekstremaliomis bei anaerobinėmis sąlygomis. *Candida* mielės kaip komensalai aptinkami ant žmogaus ir gyvūnų odos, gleivėse bei virškinamajame trakte. Plačiausiai ištirtas *Candida* mielių kaip ligų sukėlėjų paplitimas (DRAGO ir kt., 2000; STAHMANN ir kt., 2000; SUH ir kt., 2005; KURTZMAN, PIŠKUR, 2006; SCHIRMER-MICHEL ir kt., 2008; TOFALO ir kt., 2009; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2010; NAVARATHNA, ROBERTS, 2010). Tačiau trūksta duomenų apie jų gausumą ir rūšių įvairovę gamtiniuose substratuose, žmogų supančios gyvenamosios ir darbo aplinkos ore.

Šios genties rūšys naudojamos biotechnologijoje, žemės ūkyje, maisto bei chemijos pramonėje. *Candida* mielės sėkmingai naudojamos augalų patogenų biokontrolei. *Candida intermedia* sintetina medžiagas, kurios slopina patogeninių bakterijų augimą (GOTCHEVA ir kt., 2002; YEHUDA ir kt., 2003; WUCZKOWSKI, PRILLINGER, 2004; CHENG ir kt., 2005; MASSART ir kt., 2005; GOERGES ir kt., 2006; JACQUES, CASAREGOLA, 2008; KUNZE ir kt., 2009). Platesnis *Candida* mielių biocheminių ir fiziologinių savybių pažinimas svarbus tiek naujų rūšių pritaikymo galimybių paieškoms, tiek jų biokontrolei.

*Candida* mielės gali būti pagrindinės odos ir gleivinių infekcijų, oportunistinių ir sisteminių mikozių sukėlėjos. Pasaulyje nuo 1963 m. *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ir *C. guilliermondii* aprašomos kaip mediciniškai svarbios, o 1995 m. šis sąrašas išaugo jau iki 17 rūšių. JAV ligoninėse *Candida* mielės yra ketvirtoje vietoje tarp visų kraujo infekcijų sukėlėjų (HAZEN, 1995; ABIA-BASSEY, UTSALO, 2006; TORTORANO ir kt., 2006; PHALLER, DIEKEMA, 2007; WEIG, BROWN, 2007). Lietuvoje sergančių įvairiomis *Candida* mielių sukeltomis ligomis skaičius taip pat didėja (PAŠKEVIČIUS, 2001; REINGARDIENĖ, 2002; ADUKAUSKIENĖ ir kt., 2009).

Spartus *Candida* mielių sukeliamų ligų plitimas skatina kurti naujus vaistus ir jų formas bei tobulinti gydymą. Šiuo metu susintetinta daug efektyvių vaistinių medžiagų skirtų mikozeis gydyti. Tačiau didžioji dalis gydymui skirtų vaistinių preparatų yra chemiškai susintetinti. Cheminiai preparatai turi neigiamą šalutinį poveikį vartotojui be to skatina atsparių mikroorganizmų padermių išsivystymą. Todėl vienas iš pagrindinių šių dienų uždavinių rasti dabartiniams antigrybiniais preparatams biologinės kilmės pakaitalus. Alternatyva minėtiems preparatams gali tapti peptidai pasižymintys antigrybinio poveikiu, prieskoniniuose ir aromatiniuose augaluose aptinkamos medžiagos, eteriniai aliejai ir jų komponentai, mikocigeninių mielių padermių produkuojami metabolitai, bei iš pinčių pagaminti ekstraktai (GOLUBEV, 1998; SHAO ir kt., 2007; SOBRINO-LÓPEZ, MARTÍN-BELLOSO, 2008; SKOURI-GARGOURI, GARGOURI, 2008; MATUSEVIČIUS ir kt., 2008; VIUDA-MARTOS ir kt., 2008; EL-AMRAOUI ir kt., 2010). Duomenų apie Lietuvoje augančių augalų eterinių aliejų, antagonistinių mikroorganizmų panaudojimą kovai su *Candida* mielėmis nėra daug.

**Darbo tikslas.** Nustatyti *Candida* mielių paplitimą įvairiuose substratuose ir žmogų supančioje aplinkoje, išaiškinti jų biologinius savitumus, prevencines priemones užterštumui sumažinti.

**Darbo uždaviniai:**

1. Išaiškinti *Candida* mielių paplitimą gamtinės kilmės substratuose, maisto produktuose ir žmogų supančioje aplinkoje.
2. Išskirti ir identifikuoti žmogui patogenines ir sąlyginai patogenines *Candida* mieles.
3. Nustatyti išskirtų mielių morfologinius, fiziologinius, biocheminius savitumus.
4. Ištirti dažniausiai išskiriamų *Candida* mielių patogeniškumą šiltakraujams gyvūnams.

5. Atlikti cheminės ir biologinės kilmės fungicidinių medžiagų paiešką prieš patogenines ir sąlyginai patogenines *Candida* mieles.

**Mokslinio darbo naujumas.** Darbe pateikiami duomenys apie *Candida* mielių paplitimą gamtiniuose substratuose, maisto produktuose, žmogaus patologinėje medžiagoje bei jį supančioje gyvenamojoje ir darbo aplinkoje. Pirmąkart Lietuvoje atliktas kompleksinis *Candida* mielių išskirtų iš įvairių substratų morfologinių, fiziologinių ir biocheminių savitumų vertinimas. Buvo išskirtos 26 *Candida* rūšys, iš jų 4 naujos Lietuvos mikobiotai – *C. magnoliae*, *C. saitoana*, *C. oleophila* ir *C. sorboxylosa*.

Atliktas 11 dezinfekcinių priemonių ir 8 antigrybinių preparatų poveikio patogeninėms *Candida* mielėms įvertinimas. Pirmą kartą Lietuvoje atlikti *Thymus pulegioides*, *Carum carvi* eterinių aliejų poveikio *Candida* mielėms tyrimai. Nustatytas *Pantoea citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>), *Streptomyces* sp. (U<sub>x</sub>, U<sub>x308</sub>) išskirtų iš dirvožemio ir spontaninių vaisių – uogų raugų poveikis *Candida* mielėms. Įvertintas *C. albicans* (C.A.4) ir *C. parapsilosis* (C.P.1), išskirtų iš maisto produktų, vienkartinių dozių ūmus toksiškumas/patogeniškumas *per os* ir intraperitonealiai šiltakraujams gyvūnams.

**Praktinė reikšmė.** Gauti *Candida* mielių paplitimo įvairiuose substratuose (dirvožemyje, vandenyje, maisto produktuose, gyvenamojoje ir gamybinėje aplinkoje, patologinėje medžiagoje) tyrimų rezultatai yra svarbūs siekiant įvertinti mielių rūšių įvairovę Lietuvoje. Sukaupti kompleksiniai duomenys apie *Candida* mielių morfologines, fiziologines ir biochemines savybes gali būti panaudoti biologiškai aktyvių medžiagų gamybai bei biopreparatams kurti. Įvairių augalų eterinių aliejų, *Pantoea citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) ir *Streptomyces* sp. (U<sub>x</sub>, U<sub>x308</sub>) poveikio *Candida* mielėms tyrimai svarbūs farmacijoje, kuriant naujos kartos natūralius antigrybinius preparatus arba profilaktines priemones. Dezinfekcinių medžiagų poveikio *Candida* mielėms tyrimų rezultatai panaudoti sprendžiant maisto perdirbimo ir kitų gamybos įmonių sanitarijos ir higienos problemas.

## Disertacijos ginami teiginiai

- *Candida* mielės dažniausiai yra aptinkamos maisto produktuose, žmogų supančioje aplinkoje ir tarp sergančiųjų paviršinėmis mikozėmis. Iš įvairių substratų išskirtos *Candida* mielės pasižymi skirtingais morfologiniais, fiziologiniais ir biocheminiais savitumais.
- Iš maisto produktų išskirtų *Candida albicans* (C.A.4) ir *C. parapsilosis* (C.P.1) suspensijų vienkartinės dozės *per os* ir intraperitonealiai pelėms yra netoksiškos ir nepatogeniškos.
- Azolų grupės (ketokonazolas ir klotrimazolas) antigrybiniai preparatai pasižymi stipriu fungicidiniu poveikiu *Candida* mielėms. Efektyviausiai *Candida* mieles naikina dezinfekcinės priemonės, kurių veikioji medžiaga peracto rūgštis.
- Stipriu fungicidiniu veikimu *Candida* mielėms pasižymi *Mentha x piperita* 'Zgadka', *Thymus pulegioides* timolio (T) ir geraniolio (G/G/N) chemotipų eteriniai aliejai. Bakterijos *Pantoea citrea* (T<sub>1</sub>x, T<sub>2</sub>x, T<sub>3</sub>x), *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) pasižymi fungicidiniu poveikiu *Candida* mielėms.

**Darbo aprobavimas ir publikacijos.** Disertacijos medžiaga buvo pristatyta 4 tarptautinėse ir 5 Lietuvos konferencijose. Tyrimų rezultatai paskelbti 11 mokslinių straipsnių bei 9 konferencijų tezėse.

**Disertacijos struktūra.** Disertacijos rankraštį sudaro: įvadas, literatūros apžvalga, tyrimo metodai, tyrimo rezultatai, apibendrinimas, išvados, 350 literatūros šaltinių sąrašas, mokslinių publikacijų sąrašas. Disertacijos apimtis – 178 puslapiai, 37 lentelės, 55 paveikslai. Disertacija parašyta lietuvių kalba, santrauka – anglų kalba.



# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. *Candida* mielių taksonomija

Taksonominiu požiūriu mielės yra dirbtinė vienaląsčių grybų grupė, labai plačiai paplitusi visame pasaulyje. Pirmasis mielių ląsteles pamatė ir aprašė A. Levenhukas 1680 m., tačiau jo darbai liko neįvertinti. Vėliau ryšį tarp mielių ir vyno fermentacijos nustatė L. Pasteras bei 1876 m. aprašė išleistoje knygoje „Etudes sur la biere“. Pirmieji mielių rūšių aprašymai buvo padaryti tik XIX a. pradžioje. Beveik tuo pat metu mieles tyrė K. Laturas (1838 m.), T. Švanas (1837 m., 1839 m.) ir F. Kiutcingas (1837 m.). Šių mokslininkų darbų dėka, mielės buvo priskirtos grybų karalystei.

Mielių taksonomijos raidoje yra išskiriami 3 pagrindiniai laikotarpiai, kiekvienas iš jų išsiskiria naujomis idėjomis, mokslo bei technologijų naujovėmis. Pirmojo laikotarpio metu (iki 1960 m.) pagrindinis dėmesys skiriamas mielių ląstelių morfologijai, lyginamajai fiziologijai ir tradicinei genetikai. Pagrindiniai šio laikotarpio mokslininkai: M. Reess analizavo mielių morfologiją, E. C. Hansen dirbo ties grynų kultūrų išskyrimu ir fiziologija, A. J. Kluyver – mielių fiziologija, L. J. Wickerham, V. I. Kudriavtsevas ir K. V. Kosikovas – mielių fiziologija, genetika, ekologija, A. Guilliermond, Ö. Winge ir C. C. Lindegren – genetika, mielių sistematika domėjosi A. G. Konokotina, G. A. Krasilnikovas ir G. A. Nadsonas. V. I. Kudriavtsevo (1954 m.) išleista knyga apie aukšliagybiams priskiriamas mieles ir L. J. Wickerhamo „*Taxonomy of Yeasts*“ sudaro pirmąjį „*The Yeasts. A taxonomy study*“ leidimą. Iki 1970 m. mielės buvo klasifikuojamos remiantis keliais pagrindiniais požymiais: a) ląstelių forma ir dydžiu; b) ląstelės sienelės struktūra; c) nelytinio dauginimosi būdu; d) lytinio dauginimosi būdu (jeigu toks yra); e) gebėjimu asimiliuoti ir fermentuoti įvairius junginius (BOEKHOUT & PHAFF, 2003). XX a. pabaigoje įvairių šalių mokslininkai suvienija jėgas bendros mielių klasifikacijos sukūrimui ir 1970 m. pasirodo antrasis „*The Yeasts. A*

*taxonomy study*“ leidimas, redaguojamas J. Lodder ir 13 bendraautorių. Knygoje aprašoma 360 mielių rūšių priklausančių 39 gentims (1 lentelė).

1 lentelė. J. Lodder su bendraautoriais paskelbta mielių klasifikacija (J. LODDER, 1970)

<i>Endomycetales</i>	<i>Ustilaginales</i>	<i>Sporobolomycetales</i>	Mielių gentys, kurių lytinė stadija neišaiškinta
<i>Citeromyces</i> (1)* <i>Coccidiascus</i> (1) <i>Debaryomyces</i> (8) <i>Dekkera</i> (2) <i>Endomycopsis</i> (10) <i>Hanseniaspora</i> (3) <i>Hansenula</i> (25) <i>Kluyveromyces</i> (18) <i>Lipomyces</i> (3) <i>Lodderomyces</i> (1) <i>Metschnikowia</i> (5) <i>Nadsonia</i> (2) <i>Nematospora</i> (1) <i>Pachysolen</i> (1) <i>Pichia</i> (35) <i>Saccharomyces</i> (41) <i>Saccharomycodes</i> (1) <i>Saccharomycopsis</i> (1) <i>Schizosaccharomyces</i> (4) <i>Schwanniomyces</i> (4) <i>Wickerhamia</i> (1) <i>Wingea</i> (1)	<i>Leucosporidium</i> (7) <i>Rhodosporidium</i> (2)	<i>Bullera</i> (3) <i>Sporidiobolus</i> (2) <i>Sporobolomyces</i> (9)	<i>Brettanomyces</i> (7) <i>Candida</i> (81) <i>Cryptococcus</i> (17) <i>Kloeckera</i> (4) <i>Oosporidium</i> (1) <i>Pityrosporum</i> (3) <i>Rhodotorula</i> (9) <i>Schizoblastosporion</i> (1) <i>Sterigmatomyces</i> (2) <i>Torulopsis</i> (36) <i>Trichosporon</i> (8) <i>Trigonopsis</i> (1)

\* rūšių skaičius

Antrojo laikotarpio metu (nuo 1960 iki 2000 m.) pritaikius elektroninės mikroskopijos metodus tęsiami mielių ląstelių morfologiniai tyrimai, be to padedami pagrindai mielių molekuliniais tyrimams, pradedami vykdyti vandens mielių tyrimai. Transmisiniu elektroniniu mikroskopu atlikti ląstelės pertvaros ultrastuktūriniai tyrimai leido išskirti mieles į du skyrius aukšliagybius ir papėdgrybius. Įvairūs biocheminiai požymiai: ląstelės sienelės ar kapsulės angliavandenių sudėtis, ląstelės sienelės protonų magnetinio rezonanso spektras, izopreno kiekis koenzime Q, citochromų ir riebalų rūgščių sudėtis, izofermentų modeliai ir šiandien naudojami klasifikuojant mieles. XX a. pabaigoje pradėti vykdyti lyginamosios DNR

tyrimai leido objektyviai įvertinti taksonus evoliuciniu požiūriu (BOEKHOUT, PHAFF, 2003). Šiuo laikotarpiu beveik vienas po kito pasirodo du mielių identifikavimui skirti žinynai. J. A. Barnett, R. W. Payne, D. Yarrow 1979 m. „A guide to identifying and classifying yeasts“, kuriame aprašomos 57 mielių gentys. N. Kreger-van Rij 1984 m. išleidžia trečiąją *The Yeasts: a Taxonomic Study*, leidimą, jame aprašydama 52 mielių gentis. 1998 m. C. P. Kurtzmanas ir J. W. Fellas išleidžia ketvirtąją *The Yeasts: a Taxonomic Study*, leidimą, kuriame aprašoma 700 mielių rūšių priklausančių 100 genčių. C. P. Kurtzmano su bendraautoriais 2011 m. išleistame penktame *The Yeasts: a Taxonomic Study*, leidime aprašyta 149 mielių gentys ir 1500 mielių rūšių.

Trečiasis laikotarpis mielių taksonomijoje prasideda, kai paskelbiama apie galutinį *Saccharomyces cerevisiae* genomo sekvenavimą ir tęsiasi iki šių dienų. Vėliau buvo sekvenuoti *Eremothecium (Ashbya) gossypii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* genomai (BOEKHOUT, PHAFF, 2003).

*Candida* mielių genties pavadinimą pasiūlė Kristina Berkhout 1923 m. savo disertacijoje „De Schimmelgeslachten *Monilia*, *Oidium*, *Oospora* en *Torula*“. Taip pat naujai aprašė 9 šios genties rūšis ir prijungė visas esamas *Monilia* rūšis. 1932 m. M. Langeron ir R. Talice prie naujai sukurtos *Candida* genties priskyrė *Blastodendron*, *Myceloblastanon*, *Geotrichoides*, *Mycocandida*, *Mycotoruloides*, *Mycokluyveria* neturinčias lytinės stadijos ir formuojančias pseudomicelį. Vėliau 1952 m. J. Lodder ir N. Kreger-van Rij prie *Candida* prijungė dar 22 rūšis iš *Torulopsis* genties. 1970 m. J. Lodder visas žinomas mieles suskirstė į 4 dideles grupes, *Candida* mielės atsidūrė grupėje, kurių pilnas vystymosi ciklas nėra aiškus (1 lentelė). Vėliau 1978 m. D. Yarrow ir S. Meyer likusias 66 *Torulopsis* rūšis prijungė prie *Candida*. Tokiu būdu *Candida* gentyje rūšių skaičius viršijo 150 (BARNETT, 2004). Tobulėjant identifikavimo ir klasifikavimo metodams, *Candida* rūšių sisteminė padėtis nuolat keitėsi (2 lentelė).

2 lentelė. *Candida* mielių sisteminės padėties kaita

Karalystė	Skyrius	Klasė	Eilė	Šeima	Autoriai
Fungi	<i>Deuteromycotina</i>	<i>Blastomycetes</i>		<i>Cryptococcales</i>	N. J. W. Kreger-van Rij (1984)
	<i>Ascomycota</i>	<i>Hemiascomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Candidaceae</i>	C. P. Kurtzman, J. W. Fell (1998)
	<i>Ascomycota</i>	<i>Hemiascomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Candidaceae</i>	J. A. Barnett, R.W. Payne, D. Yarrow (2000)
	<i>Eumycota</i>	<i>Hemiascomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Candidaceae</i>	T. Boekhout, V. Robert (2003)
	<i>Ascomycota</i>	<i>Saccharomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i> incertae sedis		C. P. Kurtzman, J. W. Fell ir kt. (2011)

*Candida* genčiai buvo duotas „taksonominės duobės“ pavadinimas (ODDS, 1987), atspindintis į ją ieinačių organizmų kilmės ir požymių įvairovę. Genties klasifikacija dažnai keitėsi, kaip ir jos atstovų sudėtis: rūšys buvo įtraukiamos, pašalinamos ir pervadinamos. Dauguma šių atstovų buvo giminingi tarpusavyje, tačiau jų požymiai labai skyrėsi ir jie nesudarė biocheminiu požiūriu homogeniškos grupės. Tinkamą jų klasifikavimą itin apsunkina jų potencialus variavimas, ypač medicininio požiūriu svarbių rūšių. Variavimas gali pasireikšti genetinėse, biocheminėse ar morfologinėse charakteristikose (WICKES ir kt., 1992).

Kitas besitęsiančių ginčų šaltinis yra tai, kad *Candida* gentis naudojama kaip savotiškas sąvartynas, į kurią metamos visos pumpuruojančios mielės, kurios neformuoja aukšliasporių. Dabartinės apimties gentyje esančios rūšys pasiskirsto per beveik visas teleomorfų filogenetinio medžio atšakas. Filogenetine analize paremtas *Candida* genties išskirstymas į daugelį monofiletinių genčių nežavi taksonomų, nes tokiu atveju dauguma jų bus neatpažįstamos iš fenotipo (SUH ir kt., 2006).

Kitų mokslininkų manymu, ši daug rūšių apimanti gentis išties yra beprasmė: a) rūšys, kurų lytinis ciklas nėra pastebimas, sumaišytos su rūšimis, kurių lytinės stadijos nebuvimas įrodytas, b) dauguma *Candida* mielių turi tiek teleomorfą, tiek ir anomorfą ir gali būti vadinamos pagal teleomorfos vardą, c)

gentyje yra filogenetiškai negiminingų rūšių, pvz., *C. albicans* ir *C. glabrata*. *Candida* rūšys dažniausiai asocijuojamos su patogeniškumu, nes į ją įeina kelios žinomos patogenų rūšys (BARNES ir kt., 1991; JACQUES, CASAREGOLA, 2008).

Lietuvos grybų įvairovės mokslinis pažinimas prasidėjo XVIII a. pabaigoje – XIX a. pradžioje. Botanikos pradininkai Vilniaus universiteto profesoriai Ž. E. Žiliberas, S. B. Jundzilas ir J. Jundzilas pirmieji savo darbuose pateikė duomenų apie Lietuvos grybus. Iki XIX a. pabaigos Lietuvoje buvo žinoma apie 400 grybų rūšių. XX a. antrojoje pusėje Lietuvos mikobiotos tyrimai dar labiau išsiplėtė, tapo sistemingesni ir visapusiškesni. Šiuo metu jie atliekami Gamtos tyrimų centre, Vilniaus universitete, Lietuvos žemės ūkio universitete, Lietuvos žemdirbystės institute, Lietuvos sodininkystės ir daržininkystės institute ir kitose įstaigose. Grybų įvairovės tyrimus tiesiogiai ar netiesiogiai dabartiniu metu vykdo apie 40 specialistų (KUTORGA, 2004). Mielių rūšių įvairovės, ekologinių ir biologinių ypatumų tyrimus atlieka A. Paškevičius (Gamtos tyrimų centras), I. Mačionienė (KTU Maisto institutas), J. Rudejevienė (Klimaitė) (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas. Veterinarijos akademija) ir kiti mokslininkai.

## **1.2. *Candida* mielių paplitimas gamtiniuose substratuose**

### **1.2.1. *Candida* mielių paplitimas dirvožemyje**

Dirvožemis sudarytas iš įvairaus dydžio mineralinių ir organinių dalelių ir kai kurioms mielių rūšims – yra pagrindinis augimo ir dauginimosi substratas. Pavienės mielių ląstelės dirvožemyje aptinkamos rečiau, dažniau jos yra susijusios su augalais, gyvūnais ar žmogumi (SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 2003). Mielių dirvožemyje gali visiškai nebūti arba jų kiekis gali svyruoti nuo kelių iki keleto tūkstančių mielių ląstelių viename dirvožemio grame. Gausnis mielių skaičius nustatomas vasaros sezono metu. Daugiausia mielių aptinkama viršutiniame dirvožemio sluoksnyje (iki 10 cm), kur jų gali būti mažiau negu  $10^6$  arba daugiau negu  $10^6$  gyvybingų ląstelių 1g sauso

dirvožemio. Bendras dirvožemio mielių skaičius yra mažas, palyginus su bakterijomis ir mikroskopiniais grybais (ROSE, HARRISON, 1987; EL-TARABILY, SIVASITHAMPARAM, 2006; BOTHA, 2011). Kiek gausnis mielių skaičius aptinkamas kopūstų, kukurūzų, cukrinių runkelių ir avižų rizosferoje. Daugiausiai mielių išskiriama iš vaismedžių sodų dirvožemio iki  $2,4 \times 10^5$  ksv/g (FRACCHIA ir kt., 2003; EL-TARABILY, SIVASITHAMPARAM, 2006). Mielių skaičių dirvožemyje priklauso nuo jame esančių maisto medžiagų kiekio, dirvožemio tipo, pH, kritulių kiekio, geografinės padėties, klimato sąlygų, taip pat dirvožemio „užimtumo“, t.y. natūralus (miškas, pieva) ar dirbama žemė (auginamos grūdinės kultūros, vynuogynas, vaismedžių sodas ir t.t.). Didžioji dalis dirvožemyje aptinkamų mielių rūšių yra nefermentuojančios (aerobai). (ROSE, HARRISON, 1987; SPENCER, SPENCER, 1997; SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 2003; EL-TARABILY, SIVASITHAMPARAM, 2006).

Daugelio autorių duomenimis dažniausiai iš dirvožemio išskiriamos *Candida* ir kitų genčių mielės. Pietų Amerikoje, Brazilijos Roraimo valstijoje dirvožemyje dominuoja *Candida etchellsii*, *C. famata*, *C. robusta*, *C. rugosa*, *C. valida* (VITAL ir kt., 2002). Žemės ūkio paskirties dirvožemyje vyrauja *Candida maltosa* bei *Cryptococcus*, *Metschnikowia* ir *Sporobolomyces* rūšys (SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 2003). Iš sauso smėlio išskiriamos *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. catenulata*, *C. naeodendra* ir kitų genčių mielės. Drėgname smėlyje esama *Candida catenulata*, *C. tropicalis*, *C. ishiwadae* bei kitų mielių (VOGEL ir kt., 2007). Brazilijoje, Amazonės baseino dirvožemio ėminiuose dominuoja *Candida glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. albicans*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis* (MOK ir kt., 1984). *Candida psychrophila* ir kitų genčių mielės išskiriamos iš Antarktidos dirvožemių ėminių (ADAMS ir kt., 2006). Kitų mokslininkų duomenimis *Candida* mielių dirvožemyje nėra gausu (WUCZKOWSKI ir kt., 2003; WUCZKOWSKI, PRILLINGER, 2004).

Mielės yra svarbios dirvožemio mitybinių medžiagų apykaitos ciklui, tačiau dažniausiai jas nustelbia mikroskopiniai grybai ir bakterijos (BABJEVA,

ZENOVA, 1989; BA ir kt., 2000; BOTHA, 2011), be to mielėmis minta dirvožemyje gyvenantys vabzdžiai ir gyvūnai (BYZOV ir kt., 1993).

Lietuvoje dirvožemių mikrobiotos tyrimai atliekami Gamtos Tyrimų Centre, Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centre. Daugiau dėmesio skiriama dirvožemio bakterijoms ir mikroskopiniams grybams. Lietuvos dirvožemių mielių rūšių sudėtis ištirta menkai, o duomenų apie *Candida* mielių paplitimą įvairios paskirties dirvožemyje beveik nėra.

### 1.2.3. *Candida* mielių paplitimas vandenyje

Mielės aptinkamos tiek gėlo, tiek sūraus vandens telkiniuose (ROTH ir kt., 1962; GADANHO ir kt., 2003). Mielių skaičius ir rūšių sudėtis vandenyje priklauso nuo vandens tipo, švarumo, maistinių medžiagų prieinamumo, atstumo nuo kranto bei aeracijos. Mielės gali būti aptinkamos ir iki 4000 m gylyje. Iš tokio gylio dažniausiai išskiriamos *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Candida* mielės (LIBKIND ir kt., 2003; KUTTY, PHILIP, 2008). Mielių skaičius vandenyje svyruoja nuo kelių ląstelių/ml neužterštame vandenyje iki daugiau negu milijono ląstelių/ml nuotekose (SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 1997; SPENCER, SPENCER, 1997; GADANHO ir kt., 2003). Ežerų ir upių vandenyje mielių kiekis atokiose vietovėse būna apie 0,02 ksv/ml, poilsiavietėse 300–400 ksv/ml, šalia miesto esančiuose vandenyse 0,4 ksv/ml. Tekančiame vandenyje mielių skaičius ties miesto zona siekia apie 126 ksv/ml ir greitai mažėja pasroviui nuo miestų ir miestelių. Negyvenamose vietovėse mielių kiekis vandenyje svyruoja apie 20–30 ksv/ml ir išlieka nepakitęs keletą kilometrų. Mielių rūšių sudėtis ežerų ir upių vandenyje yra panaši. Gėlame vandenyje aptinkamos mielės priklauso *Candida* ir kitoms gentims (SPENCER, SPENCER, 1997; MEDEIROS ir kt., 2008). Vienoje didžiausių Europos upių Dunojuje mielių kiekis svyruoja nuo 0,1 ksv/ml iki 21,1 ksv/ml. Šios upės vandenyje vyrauja *Candida maltosa*, *C. krusei* ir kitų genčių mielės (SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 1997). Lenkijoje Ščecino įlankos nuosėdose ir vandens pavyzdžiuose vyrauja *Candida* bei kitų genčių mielės (BOGUSŁAWSKA-WAŚ, DĄBROWSKI, 2001).

Jūrose ir vandenynuose mielių kiekio padidėjimas fiksuojamas dumblių žydėjimo metu, rudadumblių ir *Spartina alterniflora* augimvietėse. Duomenų apie *Candida* mielių paplitimą sūriame vandenyje nėra daug. Iš sūraus vandens išskirtos tokios *Candida* rūšys: *C. aaseri*, *C. albicans*, *C. atlantica*, *C. haemulonii*, *C. quercitrusa*, *C. intermedia*, *C. maris*, *C. maritima*, *C. membranifaciens*, *C. norvegica*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. torresii*, *C. tropicalis*, *C. rugosa* ir *C. zeylanoides* (WANG ir kt. 2008). Labai sūriuose vandens telkiniuose (Negyvojoje jūroje, Enrikiljo ir Didžiajame Druskų ežeruose) aptikta *Candida parapsilosis* ir kitų rūšių mielių (BUTINAR ir kt., 2005). Iš vandens ir nuosėdų išskirtos *Candida krusei* ir *C. lambica* pasižymi kileriniu aktyvumu (VADKERTIOVÁ, SLÁVIKOVÁ, 1995). Žuvų žarnyne aptinkama *Candida tropicalis* (GATESOUBE, 2007; KUTTY, PHILIP, 2008). Užteršto vandens bioindikatoriais yra laikomos *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon* mielės (DYNOWSKA, 1997).

Lietuvoje mikrobiologiniai vandens tyrimai atliekami Nacionalinėje visuomenės sveikatos priežiūros laboratorijoje, vandens grybai tiriami Gamtos Tyrimų Centre. Mielių rūšių sudėtis Lietuvos vandenyse ištirta menkai, o duomenų apie *Candida* mielių paplitimą beveik nėra.

### **1.2.2. *Candida* mielių paplitimas augalų filosferoje**

Antžeminės augalų dalys: stiebas, lapai, žiedai, vaisiai sudaro filosferą, o ją kolonizuojančios įvairios mikroorganizmų bendrijos vadinamos epifitais. Didžioji dalis mikroorganizmų yra išskiriama nuo augalų lapų, tačiau kai kurios rūšys gali būti išskiriamos iš vidinių augalo audinių, ir tokios rūšys vadinamos endofitais (LINDOW, BRANDL, 2003). Epifitų bendrijos dažniausiai yra sudarytos iš skirtingų bakterijų, mikromicetų, mielių, dumblių, kartais jose aptinkama įvairių pirmuonių ir nematodų rūšių. Tokiose bendrijose dominuoja bakterijos, kurių aptinkama  $10^6$ – $10^7$  ląstelių/cm<sup>2</sup> (ANDREWS, HARRIS, 2000). Mikroskopiniai grybai ir mielės yra tipinė ir pagrindinė filosferos mikroorganizmų grupė. Mielės aptinkamos ne tik ant augalų lapų, bet ir ant vaisių, stiebo, vainiklapių ir kitose žiedo dalyse. Augalų lapų apatinėje pusėje



mielių paprastai būna 2 kartus daugiau negu viršutinėje pusėje. Papėdgrybių skyriui priklausančios mielės dominuoja vidutinio klimato juostos augalų filosoferoje. Šių mielių paplitimą augalų lapų paviršiuje lemia jų sugebėjimas greitai įsisavinti angliavandenius, kurie įeina į lapų eksudato sudėtį (SPENCER, SPENCER, 1997; GLUŠAKOVA, ČERNOV, 2005; INÁCIO ir kt., 2005; PAŠKEVIČIUS, 2005; ALLEN ir kt., 2006; GLUSHAKOVA, CHERNOV, 2010). Filosoferoje aptinkamos mielės pasižymi plačiu anglies šaltinių asimiliacijos spektru, be to daugelis yra stiprūs antagonistai (mikocinogeniniai kamieniai) (BUZZINI, MARTINI, 2000; SLÁVIKOVÁ ir kt., 2007; MIDDELHOVEN, 1997).

Įvairių augalų rūšių filosoferoje mielės aptinkamos tiek vidutinio, tiek tropinio klimato zonose (INÁCIO ir kt., 2002). Ant cukranendrių be kitų genčių mielių aptinkamos *Candida tropicalis* ir *C. pseudointermedia* (OLASUPO ir kt., 2003). Kiminų (*Sphagnum*) ir kitų pelkėse augančių augalų filosoferoje esama *Candida membranaefaciens*, *C. oleophila*, *C. sake*, *C. zeylanoides* ir kitų genčių mielių (KACHALKIN ir kt., 2008). Tropikų regiono augalų filosoferoje aptinkamos *Candida apis*, *C. bombicola*, *C. fructus*, *C. krusei*, *C. sorbosa* pasižymi kileriniu aktyvumu (ABRANCHES ir kt., 1997). Nuo augalų lapų išskirta *Candida sake* slopina *Botrytis cinerea* augimą (SALIGKARIAS ir kt., 2002).

Lietuvoje filosoferos mikobiotos tyrimai atliekami Gamtos Tyrimų Centre. Mielių rūšių sudėtis Lietuvoje augančių augalų fitosferoje iširta menkai, o duomenų apie *Candida* mielių paplitimą beveik nėra.

### **1.3. *Candida* mielių paplitimas maisto produktuose**

Nuo neatmenamų laikų mielės yra patys svarbiausi mikroorganizmai maisto gamyboje. Be jų neįmanomas duonos, alaus bei vyno rūgimas, sūrių brandinimas (BELÉN MAYORAL ir kt., 2005). Maisto produktai dėl jiems būdingų cheminių-fizikinių savybių yra vienas tinkamiausių substratų mielėms augti: optimali temperatūra, žemos pH reikšmės ir vandens aktyvumas. Be to jų sudėtyje esama mielėms laisvai prieinamų medžiagų: įvairių angliavandenių,

druskų. Dažniausiai maisto produktuose yra aptinkamos *Candida* ir kitų genčių mielės (BOEKHOUT, ROBERT, 2003; SALO, WIRTANEN, 2005).

Mikroorganizmų bendrijoms formuotis ir vystytis pieno produktai yra specifinė terpė. Piene bei jo produktuose gausu įvairių baltymų, angliavandenių, riebalų ir organinių rūgščių. Mielės, pasižyminčios stipriu proteolitininiu bei lipolitiniu aktyvumu, fermentuojančios ir/ar asimiliuojančios laktozę, kaip vienintelį anglies šaltinį, naudojančios citrinų, pieno ir gintaro rūgštis, gali būti aptinkamos pieno produktuose (LOPANDIC ir kt., 2006). Dažniausiai piene ir jo produktuose aptinkama *Candida* ir kitų genčių mielės (VILJOEN, 2001). Ožkų piene dominuoja *Candida zeylanoides*, be to aptinkama *C. parapsilosis*, *C. catenulata*, *C. intermedia*, *C. inconspicua*, *C. pararugosa*, *C. lipolytica*, *C. kefyr*, *C. krusei* ir kitų mielių (CALLON ir kt., 2007; FADDA ir kt., 2010). Iš buivolų pieno buvo išskirtos *C. sake*, karvių pieno – *C. glabrosa*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides* (CORBO ir kt., 2001). Pasterizuotame piene, grietinėje, svieste ir leduose vyrauja *C. famata*, jogurte dominuoja *C. parapsilosis*, *C. maltosa* ir kitų genčių mielės (MOREIRA ir kt., 2001; VILJOEN ir kt., 2003). Iš tradicinio lenkiško Rokpol sūrio išskiriamos *Candida famata*, *C. spherica* ir *C. intermedia* (WOJTATOWICZ ir kt., 2001). Pietų Italijoje nokinamame Pecorino Crotonese sūryje aptinkama *Candida intermedia*, *C. inconspicua* ir kitų mielių (GARDINI ir kt., 2006). Kamemberto ir Brie tipo sūriuose esama *C. catenulata*, *C. intermedia*, *C. rugosa*, *C. sake*, *C. versatilis* ir *C. zeylanoides*, Gouda tipo – *C. catenulata*, Fetos sūryje dominuoja *C. zeylanoides*, Brinzoje – *C. inconspicua*, *C. silvae*, Danablu vyrauja *C. famata* ir *C. catenulata*, kiek rečiau sutinkamos *C. lipolytica*, *C. krusei*, *C. humicola*, *C. rugosa* ir kitos mielės (VAN DEN TEMPEL, JAKOBSEN, 1998; WELTHAGEN, VILJOEN, 1998; BETTS ir kt., 1999; VILJOEN ir kt., 2003; LAURENČÍK ir kt., 2008; RANTSIOU ir kt., 2008). Sardinijos regione Fiore Sardo sūrio gamybai naudojamame avių piene esama *Candida zeylanoides*, *C. lambica* ir kitų rūšių mielių (FADDA ir kt., 2004).

Mėsa ir jos produktai yra viena iš mielių ekologinių nišų. Į mėsos produktus mielės gali patekti nuo gyvūnų kailio, odos, skerdenų. Vytinti mėsos

gaminiai tinkamas substratas mielėms augti. Šiuose produktuose konkuruojančių Gram-neigiamų bakterijų veikla yra stabdoma žemomis pH reikšmėmis, pieno rūgštimi, nitratų buvimu arba žemu vandens aktyvumu (ENCINAS ir kt., 2000). Mėsoje ir jos produktuose aptinkama *Candida* ir kitoms gentims priklausančių rūšių (DILLON, BOARD, 1991; OSEI ABUNYEWA ir kt., 2000). Avienoje ir jos produktuose dominuoja *Candida* mielės (DILLON ir kt., 1991). *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces* ir *Yarrowia* mielių randama tiek šviežioje, tiek sugedusioje paukštienoje. Paukštienos skerdenoje dominuoja *Yarrowia lipolytica* ir *Candida zeylanoides* (ISMAIL ir kt., 2000). Esama duomenų apie patogeninių *Candida tropicalis* ir *C. parapsilosis* buvimą mėsos produktuose (STAIB ir kt., 1980; TORNAI-LEHOCZKI ir kt., 2003). Nustatyta, kad dešrelių gamybos metu vyrauja *Candida zeylanoides* ir kitos mielės (COCOLIN ir kt., 2006). Parmos kumpio vytinimo metu aptinkama *Candida zeylanoides*, *C. famata*, *C. catenulata*, *C. guilliermondii*, *C. edax* ir kitų genčių mielių (SIMONCINI ir kt., 2007). *Candida zeylanoides* ir kitos mielės vyrauja Norvegijoje tirtuose mėsos produktuose (ASEFA ir kt., 2009). Mėsos fermentacijos metu dominuoja *Candida* ir kitų genčių mielės (COCOLIN ir kt., 2006). Aptinkama *Candida intermedia/curvata*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides* ir kitų mielių (ENCINAS ir kt., 2000). Sausai sūdomuose mėsos produktuose aptinkama *Candida zeylanoides* ir kitų rūšių mielių (ANDRADE ir kt., 2006; ANDRADE ir kt., 2009). Literatūroje esama duomenų apie Lietuvoje parduodamų mėsos produktų (fasuotos mėsos, virtos ir rūkytos dešros, paukštienos vyniotinio, kepenų pašeto) mikrobiologinę būklę. Minėtuose produktuose buvo aptiktos *Candida lipolytica*, *C. zeylanoides* ir kitų genčių mielių (PAŠKEVIČIUS, MAČIONIENĖ, 2003).

Vaisiai ir uogos yra svarbi terpė daugeliui mielių. Jų sudėtyje gausu angliavandenių bei kitų laisvai prieinamų maisto medžiagų, be to vandens aktyvumas yra tinkamas mielių augimui (TRINDADE ir kt., 2002; BOEKHOUT, ROBERT, 2003; TOURNAS, KATSODAS, 2005). Vaisių paviršiuje mielių kiekis svyruoja  $10^2$ – $10^6$  ksv/cm<sup>2</sup>. Ant vynuogių kekių aptinkama *Candida* ir kitų genčių mielių (RASPOR ir kt., 2006). Citrusinių vaisių paviršiuje esama

*Candida oleophila*, *C. sake* ir kitų mielių (FLEET, 2003). Vaisių sultyse (obuolių, apelsinų, morkų, greipfrutų, vynuogių ir t.t.) mielės yra dominuojanti mikrobiota, dažniausiai išskiriamos *Candida lambica*, *C. sake* ir kitos mielės (TOURNAS ir kt., 2006). Citrusinių vaisių sultyse dominuoja *Candida parapsilosis*, *C. stellata* ir *C. intermedia*, obuolių sultyse – *C. krusei* ir kitos mielės (ARIAS ir kt., 2002; BRUGNONI ir kt., 2007). Libijoje tirtose įvairių vaisių sultyse (obuolių, vynuogių, citrinų, mango, apelsinų, persikų, ananasų) aptikta *Candida albicans* (GHENGHESH ir kt., 2005).

Kakavos pupelės yra pagrindinė žaliava šokolado gamybai. Kakavos pupelių fermentacija yra pirmoji šokolado gamybos stadija, kurios metu aptinkamos *Candida tropicalis* ir kitos mielės (ARDHANA, FLEET, 2003).

Boza – tradicinis Balkanų šalių gėrimas, pagamintas fermentuojant miežius, avižas, soras, kukurūzus, kviečius ar ryžius. Bozoje aptinkama *Candida diversa*, *C. inconspicua*, *C. pararugosa*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ir kitų mielių (BOTES ir kt., 2007).

Maisto produktų ir gėrimų sugedimas dažniausiai yra įvairių mikroorganizmų gyvybinės veiklos padarinys. Maisto produktų ir gėrimų pramonė patiria didžiulių ekonominių nuostolių dėl netinkamų vartojimui maisto produktų (LOUREIRO, 2000). Be bakterijų, pagrindinės maisto produktų gadinamosios yra mielės, gebančios geriau prisitaikyti prie ekstremalių aplinkos sąlygų nei bakterijos (NIELSEN ir kt., 2008; RENARD ir kt., 2008). Ilgą laiką mielių vaidmuo mėsos produktų gedimui buvo laikomas nereikšmingu, nes nedidelis jų pradinis skaičius ir lėtas augimas esant žemai temperatūrai, neleidžia joms konkuruoti su psichrotrofinėmis bakterijomis. Tačiau mielės tampa pagrindinėmis mėsos produktų gadinančiomis, kai bakterijų augimas yra slopinamas arba sustabdomas (SANZ ir kt., 2005). Iš įvairių sugedusių maisto produktų dažniausiai išskiriamos *Candida* ir kitų genčių rūšys (SOUZA ir kt., 2007; MARTORELL ir kt., 2007). Paukštienos skerdenoje dominuoja ir gedimą sukelia *Candida* mielės (HINTON ir kt., 2007). Pieno produktų kokybė dažniausiai priklauso nuo *Candida* (*C. sphaerica*) ir kitoms gentims priklausančių mielių buvimo galutiniam produkte (SAVOVA, NIKOLOVA,

2000). Mielės ir mikroskopiniai grybai šviežiame piene aptinkami dažnai, tačiau po pasteurizacijos jie žūva. Jų buvimas pasteurizuotame piene ir kituose pieno produktuose sukelia pakartotinį užkrėtimą gamybos metu. Pieno produktų užkrėtimas, ypač sūrių, galimas dėl gamyklų aplinkos: brandinimo patalpų sienų, lentynų, oro, įrangos, vandens, pieno, sūrymo (GODIČ TORKA, VENGUŠT, 2008). Dėl gebėjimo greitai daugintis kai kurios mielių rūšys yra pagrindinės pieno produktų gadintojos. Pagrindinės mielių sukeltos maisto produktų ydos yra spalvos, skonio ir tekstūros pasikeitimai (VASDINYEI, DEÁK, 2003).

Lietuvoje gaminamuose pieno produktuose aptikta *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Trichosporon* ir *Torulaspora* mielių (MAČIONIENĖ ir kt., 2003). Iš varškės produktų išskirtos *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Trichosporon*, *Torulaspora* ir *Geotrichum* mielės (ŠALOMSKIENĖ ir kt., 2003).

#### **1.4. *Candida* mielių paplitimas gyvenamųjų ir darbo patalpų ore**

Žemę supančioje atmosferoje esama įvairių mikroorganizmų. Dauguma jų natūraliai paplitę dirvožemyje, vandens telkiniuose, susiję su augalais, gyvūnais ar žmogumi. Pramoninė ir žemės ūkio veikla, nuotekų valymas bei atliekų perdirbimas papildo atmosferą įvairių mikroorganizmų pradais (DI GIORGIO ir kt., 1996; ABDEL HAMEED ir kt., 2009). Atmosferoje vyrauja *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* bei *Alternaria* mikromicetai, tačiau kai kurie mokslininkai ir mieles priskiria prie dominuojančių oro mikroorganizmų (ISMAIL ir kt., 1999; SU ir kt., 2001; HERBARTH ir kt., 2003). Mielės atmosferos ore gali būti aptinkamos iki 3000 m aukštyje, darbo ir gyvenamųjų patalpų viduje ir išorėje, kaimo bei miesto vietovių ore (SANDHU, WARAICH, 1981). Mielių, lyginant su kitomis mikroorganizmų grupėmis, atmosferoje nėra daug, dažniausiai ląstelių skaičius neviršija 50 ksv/m<sup>3</sup> (RANTIO-LEHTIMÄKI, 1988). Mielių rūšių sudėtis ir ląstelių kiekis atmosferos ore kinta priklausomai nuo metų laiko. Didžiausias mielių kiekis aplinkos ore (daugiau negu 2000 ksv/m<sup>3</sup>) aptinkamas vasaros sezono metu (HÝSEK ir kt., 1991).

Gyvenamųjų kambarių aplinkos ore esama įvairių buveinių, kuriose gali vystytis mikroorganizmai (GOSTINČAR ir kt., 2011). Vienas iš pagrindinių substratų yra dulkės. Dulkės – savitas antropogeninis substratas, sudarytas iš organinių ir neorganinių dalelių (dirvožemio ar audinių dalelių, maisto likučių, žmogaus ir gyvūnų epidermio ląstelių, plunksnų, plaukų ir t.t.). Maskvoje tirtų 25 butų dulkių pavyzdžiuose aptikta *Candida* (*C. catenulata*, *C. guilliermondii*, *C. haemulonii*, *C. maltosa*, *C. rugosa*, *C. tropicalis* ir kitų genčių mielių (GLUŠAKOVA ir kt., 2004).

Specializuotų patalpų, pvz. pensionate esančių kambarių ore (Krokuva, Lenkija) *Candida* mielės išskirtos vasaros, rudens ir žiemos sezonais. *C. albicans* buvo aptinkama ištisus metus visose tirtose patalpose (GNIADK ir kt., 2005).

Gydymo patalpų ore dažniausiai aptinkamos *Candida parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* ir kitos mielės (MARTINS-DINIZ ir kt., 2005; CORDEIRO ir kt., 2010). Gamybinių patalpų ore aptikta *Candida* ir įvairių mikroskopinių grybų rūšių (SHARMA ir kt., 2010). Iš prekiaujančių vaisiais parduotuvių patalpų oro išskirtos *Candida albicans* ir *C. tropicalis* (KAKDE ir kt., 2001). *Candida* rūšys dominavo Operos teatro ir Policijos Departamento (Kaire) patalpų aplinkos ore (HASSANEIN, 2004). Pieno perdirbimo įmonių patalpų ore aptinkamos *Candida catenulata* ir kitų rūšių mielės (WELTHAGEN, VILJOEN, 1999). Mielės yra išskiriamos iš lentpjūvių patalpų oro (DUCHAINE, MÉRIAUX, 2000).

Lietuvoje pieno perdirbimo įmonių patalpų ore aptiktos *Candida scotii* ir kitos mielės (ŠALOMSKIENĖ ir kt., 2003). Iš Lietuvoje esančių žuvies perdirbimo įmonių oro išskirtos *Candida glabrata* ir kitų rūšių mielės (PAŠKEVIČIUS, VARNAITĖ, 2010).

### **1.5. *Candida* mielės – žmogaus patogenai**

Įvairios *Candida* rūšys yra sveikų žmonių odos, gleivinių, virškinamojo trakto, išeinamosios angos bei lytinių organų komensalai (DRAGO ir kt., 2000; SOLL, 2002; KAM, XU, 2002; KADIR ir kt., 2005; KADOSH, JOHNSON, 2005;

KUMAMOTO, VINCES, 2005; WARGO, HOGAN, 2006; OHNEMUS ir kt., 2007; LUQUE ir kt., 2008; PASQUALOTTO, 2009; NAVARATHNA, ROBERTS, 2010). Žmogaus organizme *Candida* mielių skaičius yra reguliuojamas kitų kolonizuojančių mikroorganizmų, ypač bakterijų. Burnos gleivinėje *Candida* mielių aptinkama 26–40% sveikų žmonių (DRAGO ir kt., 2000; OHNEMUS ir kt., 2007), infekuotų ŽIV virusu – net 95%, o sergančiųjų tarpe – 47% (SOLL, 2002). Burnos gleivinėje be *Candida albicans* dar aptinkamos *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondi*, *C. inconspicua* (SIQUEIRA, SEN, 2004; LUQUE ir kt., 2008). Išeinamosios angos srityje *Candida* mielių aptinkama 26% tiriamųjų, o sergančiųjų tarpe – 34% (SOLL, 2002). Išskiriamos tokios *Candida* rūšys: *C. albicans* (73%), *C. parapsilosis* (23%), *C. tropicalis* (45%) (MIRANDA ir kt., 2009). Sveikų moterų makštyje *Candida* mielių aptinkama – 10% tirtų moterų, sergančiųjų – 23%, dažniausiai išskiriamos *C. albicans* (70%), *C. glabrata* (7%) ir *C. tropicalis* (7%) (SOLL, 2002). *C. parapsilosis* aptinkamos ant sveikų žmonių rankų odos (OLIVEIRA ir kt., 2010).

*Homo sapiens* ir *Candida* rūšys visada „taikiai“ gyvavo kartu. Žmogaus kūno kolonizacijos dinamika šios genties mielėmis yra daug sudėtingesnė nei gali atrodyti iš pirmo žvilgsnio. Žmogus su *Candida* mielėmis susiduria dar iki gimimo (LOTT ir kt., 2005). Nėštumo metu *Candida* rūšys yra aptinkamos 30–40% sveikų moterų (FERRER, 2000; HAY, CZEIZEL, 2007). Paskutiniajame nėštumo trimestre 30% moterų fiksuojamas *Candida* mielių padidėjimas, iš jų 85% moterų *Candida* mieles perduoda naujagimiams (XU, SOBEL, 2004; PASQUALOTTO, 2009). Naujagimiams *Candida* mielės nėštumo metu motina perduoda per virškinamąjį arba urogenitalinį traktą (BENDEL, 2003), net 7,1% vaikų gimsta turėdami *Candida* ar kitų rūšių mieles, 96% jomis užsikrečia per pirmąjį gyvenimo mėnesį (KUMAMOTO, VINCES, 2005). Naujagimių burnos gleivinės kolonizavimo mielėmis galimi keli šaltiniai: slenkant gimdymo takais arba nuo ligoninės medicininio personalo bei tėvų rankų (REEF ir kt., 1998; PASQUALOTTO, 2009). Literatūroje nurodoma jog, tarp 300 tirtų vaikų, kurie buvo maitinami tik motinos pienu, burnos gleivinėje *Candida* mielių

neaptinkama, o kūdikiai kurie be motinos pieno, gaudavo pieno mišinių ar kitų skysčių, *Candida* mielių aptinkama – 18,5% dažnumu (KADIR ir kt., 2005). Mažesnio negu 2500 g svorio naujagimiai yra linkę susirgti kandidemija (SAIMAN, 2002; SMITH ir kt., 2005). *Candida albicans* ir *C. parapsilosis* yra pagrindinės naujagimių sisteminės kandidozės sukėlėjos (ROWEN, 2001; SRIVASTAVA, SHETTY, 2007). *Candida* mielės aptinkamos vaikų grupėje nuo 0–5 amžiaus 17% tiriamųjų, 6–8 metų – 50,8%, 9–12 metų – 27,9%. Didžiausias *Candida* mielių aptinkamumas 6–8 metų amžiaus vaikų grupėje yra siejamas su dantų kaita (KADIR ir kt., 2005). *C. albicans* yra dažniausiai aptinkama rūšis visose amžiaus grupėse, antrą vietą suaugusiųjų grupėje užima *C. glabrata*, o vaikų grupėje *Candida parapsilosis* (GUALCO ir kt., 2007).

Normalios mikrobiotos disbalansas, gleivinių ar sisteminio imuniteto nebuvimas, įvairios ligos gali inicijuoti komensalinių *Candida albicans* vartimą patogeniškomis (KAM, XU, 2002). Dimorfizmas, fenotipinis nepastovumas, tarplastelinių proteazių arba fosfolipazių sekrecija, pseudohifų ir hifų buvimas, gebėjimas formuoti bioplėvelę tokios virulentiškumo savybės leidžia *Candida albicans* prisitaikyti ir išgyventi žmogaus organizme (LIU 2002; CHAVES ir kt., 2004; NAVARATHNA, ROBERTS, 2010; KHAN ir kt., 2010). *Candida albicans* yra itin sėkmingo žmogaus patogeno pavyzdys (HUBE, 2004; TAVANTI ir kt., 2006; PANÁČEK ir kt., 2009). Daugiau negu 95% visų grybinių infekcijų yra susiję su *C. albicans*, *Aspergillus fumigatus* ir *Cryptococcus neoformans* (KHAN ir kt., 2010). Kandidemija – *Candida* mielių nustatymas kraujyje, ketvirta pagal dažnumą hospitalinė infekcija JAV ir kitose išsivysčiusiose šalyse (PAPPAS ir kt. 2009). Lietuvoje kandidemiją dažniausiai sukelia kitos *Candida* mielės – 51,2% pacientų, *C. albicans* aptinkamos 48,8% pacientų (ADUKAUSKIENĖ ir kt., 2009).

*Candida* mielės geba kolonizuoti ir formuoti bioplėvelę ant visų medicininės paskirties aparatų: širdies vožtuvų, dializės vamzdelių bei intraveninių kateterių, kontaktinių lęšių bei dantų protezų (DOUGLAS, 2003; DALLEAU ir kt., 2008). *Candida* rūšys sukelia ne tik paviršinius odos ir gleivinių pakitimus, bet yra ir invazinių susirgimų sukėlėjos (LÓPEZ-



MARTÍNEZ, 2010). Su *Candida* mielių sukeltomis ligomis bent vieną kartą per gyvenimą susiduria apie 70–75% vaisingo amžiaus moterų, iš jų 40–50% moterų susirgimai kartojasi (MAFFEI ir kt., 1997; SOBEL, 2007; AHMAD, KHAN, 2009). Pasikartojančius susirgimus dažniausiai sukelia ne *Candida albicans*, o kitos *Candida* rūšys, dažniausiai yra išskiriamos *C. glabrata*, kurios aptinkamos 14% sergančių moterų (VERMITSKY ir kt., 2008).

*C. parapsilosis* taip pat yra žmogaus odos ir gleivinių komensalai, tačiau pasižymi žymiai mažesniu patogeniškumu negu *C. albicans*. JAV, Kanadoje ir Lotynų Amerikoje, taip pat kai kuriose Europos ligoninėse *Candida parapsilosis* ligonių kraujyje dažniau aptinkama negu *Candida albicans* (GÁCSEK ir kt., 2007). Kauno medicinos universiteto klinikose atliktų tyrimų metu nustatyta, jog įvairiose tiriamosiose medžiagose (šlapime, centriniuose venų kateteriuose, bronchų išplovose, trachėjos sekrete, pūliuose, burnos gleivinėje, ausų sekrete) dažniausiai 65,5% atvejų aptinkama *C. albicans*, iki 50% atvejų kraujyje dažniau aptinkama *C. parapsilosis* (SKRODENIENĖ ir kt., 2006). Kūdikams ir vaikams įvairius mikozinius susirgimus sukelia *C. glabrata* (GUALCO ir kt., 2007).

Vilniaus universiteto Santariškių klinikų Dermatovenerologijos klinikoje 1996–2000 metais atliktų tyrimų rezultatai rodo, jog *Candida* mielės sudaro 20,0% išskiriamų mikozijų sukėlėjų. Sergantiesiems grybinėmis odos ligomis dažniausiai aptinkamos *C. albicans* (52,7%), *C. parapsilosis* (26,4%), *C. krusei* (16,4%), *C. tropicalis* (2,7%), *C. guilliermondii* (0,9%), *C. lusitaniae* (0,9%) (PAŠKEVIČIUS, 2001).

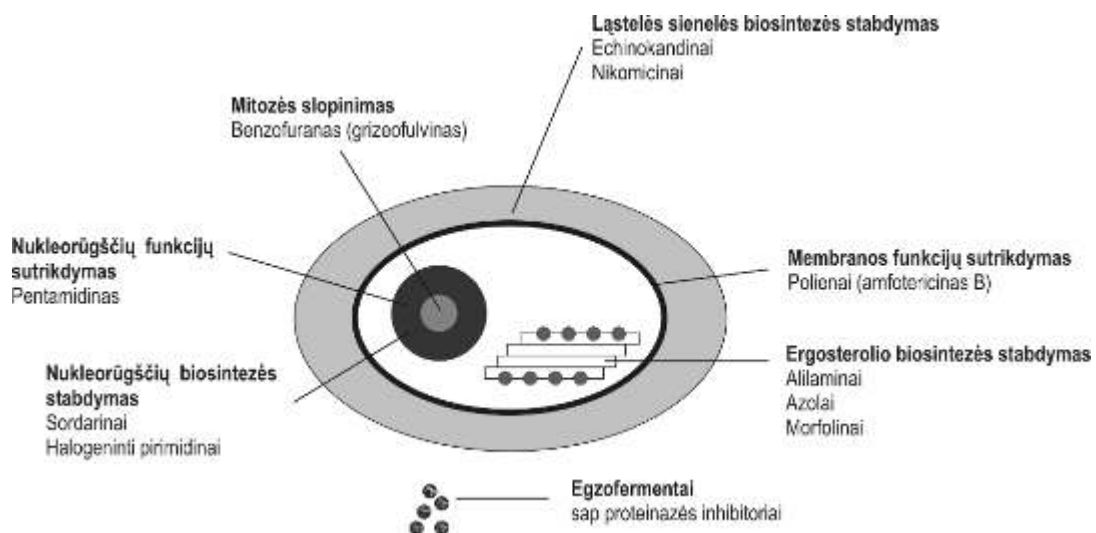
Manoma, jog vienas iš galimų *Candida* mielių šaltinių žmogaus organizme yra maistas arba gėrimai, kuriems atsidūrus virškinamajame trakte, mielių ląstelės gali patekti į kraują ir sukelti kandidemiją (LO CASCIO ir kt., 2007; ASEFA ir kt., 2009; COSTA ir kt., 2010). Dažniausiai tiriamas iš pataloginės medžiagos išskirtų *Candida albicans* ir kitų *Candida* rūšių virulentiškumas ir patogeniškumas *in vivo*. Tyrimų metu nustatyta, jog padermės kurioms būdingas fenotipinis nepastovumas dažniau sukelia įvairius mikozinius

susirgimus (LIU 2002; CHAVES ir kt., 2004). Tačiau kitų *Candida* rūšių, ypač aptiktų ne patologinėje medžiagoje patogeniškumas mažai tirtas.

### 1.6. Antigrybinių preparatų ir dezinfekcinių medžiagų poveikis *Candida* mielėms

Pastaruoju metu pasaulyje sparčiai daugėja sergančiųjų grybinėmis ligomis. Dažniausiai tai siejama su ŽIV viruso išplitimu ir intensyviu vaistų vartojimu (KATRITZKY ir kt., 2008; PANÁČEK ir kt., 2009; NCHU ir kt., 2010). Nuo 1980 m. sergamumas grybinėmis ligomis bei mirtingumas užima pirmą vietą tarp užsikrėtusių ŽIV/sergančiųjų AIDS, tuberkulioze, onkologinėmis ligomis bei pacientų, kuriems transplantuoti organai.

Labai plačiai naudojami antigrybiniai preparatai žmonių ir gyvūnų gydymui, žemės ūkyje augalų ir sėklų bei medienos apsaugai, maisto pramonėje (OUHDOUCH ir kt., 2001; KATRITZKY ir kt., 2008). Grybiniai susirgimai gydomi preparatais, priklausančiais įvairioms antigrybinių preparatų klasėms, turinčioms skirtingą poveikį ir taikini (1 pav.).



1 pav. Įvairių antigrybinių preparatų poveikis mielių arba grybo ląstelei (BASTERT ir kt., 2001; ODDS ir kt., 2003).

Šiuo metu naudojami antigrybiniai preparatai suskirstyti į 10 grupių: alilaminai, benzofuranai, echinokandinai, hidroksipiridonai, imidazolai,

morfolinai, polienai, pirimidinai, tiokarbamatai, triazolai (AHMAD ir kt., 2010; MORSCHHÄUSER, 2010). Daugelio antigrybinių preparatų tikslas yra sustabdyti ergosterolio biosintezę. Ergosterolis yra vienas iš pagrindinių grybinės ląstelės membranos komponentų. Be sterolių, grybų ląstelės membraną sudaro fosfolipidai, riebalų rūgštys ir sfingolipidai – tipiniai eukariotinės ląstelės komponentai (MATUSEVIČIUS ir kt., 2008). Kito tipo antigrybinių preparatų veikimo pobūdis susijęs su ląstelės membranos pokyčiais, amino rūgščių arba ląstelės sienelės sintezės stabdymu (BORELLI ir kt., 2008).

Alilaminai (terbinafinas, naftifinas, butenafinas) buvo atrasti 1970 m., yra sintetiniai preparatai (GEORGOPAPADAKOU, 1998). Terbinafinas yra pagrindinis alilaminų grupės vaistinis preparatas, išsiskiriantis plačiu veikimo spektru prieš daugelį dermatofitų ir grybų, tačiau silpnai veikiantis mieles (GHANNOUM, RICE, 1999; ODDS ir kt., 2003; BORELLI ir kt., 2008).

Benzofuranas (griseofulvinas) vienas iš seniausiai naudojamų antigrybinių preparatų. Griseofulviną sintetina *Penicillium griseofulvum* ir kitos *Penicillium* rūšys. Hidroksilintas benzofuranas – cicerfuranas pirmą kartą išskirtas iš laukinio avinžirnio (*Cicer bijungum*) šaknų. Griseofulvinas išskirtinai veikia tik dermatofitus (ASLAM ir kt., 2006; BORELLI ir kt., 2008).

Echinokandinai yra grybų antrinės kilmės metabolitai ir veikia daugelį sisteminės mikozės sukėlėjų (BASTERT ir kt., 2001). Kaspofunginas ir mikafunginas fungicidiškai veikia *Candida* mieles (MASUBUCHI ir kt., 2003).

Azolų grupės (imidazolai, triazolai ir bistriazolai) antigrybiniai preparatai yra plačiausiai naudojami medicinoje ir žemės ūkyje. Grybinių susirgimų gydymui imidazolai pritaikyti nuo 1960 m. Imidazolai (mikonazolas, ekonazolas) ir triazolai (flukonazolas, itrakonazolas, vorikonazolas, ravukonazolas, posakonazolas, albakonazolas) inhibuoja ergosterolio sintezę (GHANNOUM, RICE, 1999; CARRILLO-MUÑOZ ir kt., 2006; MORSCHHÄUSER, 2010; VAN MINNEBRUGGEN ir kt., 2010).

Polienai (amfotericinas B, nistatinas) susijungia su ergosteroliu, taip pažeisdami ląstelės membraną ir suformuodami specifines polienines poras,

sudarytas iš mažų preparato segmentų (BORELLI ir kt., 2008; MORSCHHÄUSER, 2010).

Halogenintas pirimidinas (5-flucitozinas) yra struktūrinis citozino analogas. Gydant 5-flucitozinu greitai išsivysto atsparumas ir monoterapijoje jis nenaudojamas (ODDS ir kt., 2003; BORELLI ir kt., 2008; MORSCHHÄUSER, 2010).

Polioksinai (nikkomicinai) yra aptinkami natūraliai, juos išskiria *Streptomyces* bakterijos. Nikkomicinai inhibuoja chitino sintezę (GEORGOPAPADAKOU, 1998).

Sordarinai stabdo baltymų sintezę, blokuodami vieną iš transliacijos etapų – elongaciją (ODDS ir kt., 2003).

Veiksmingos ir greitai veikiančios dezinfekcijos priemonės plačiai naudojamos medicinos įstaigose, maisto pramonėje, buityje, žemės ūkyje galimai patogeninių mikroorganizmų naikinimui nuo įvairių paviršių, įrangos, įrankių, darbo drabužių, gali būti pilamos į nuotekas. Šių priemonių fungicidinis veiksmingumas priklauso nuo: mikroorganizmų rūšies, pH, temperatūros, vandens kietumo, naudojamos koncentracijos, organinių medžiagų ant paviršiaus buvimo. Dezinfekcinės medžiagos fungicidiškai veikia įvairias mikroorganizmų grupes (MCDONNELL, RUSSELL, 1999; GARCÍA-DE-LOMAS ir kt., 2008; VERNER-JEFFREYS ir kt., 2009; SIMÕES ir kt., 2010). Maisto pramonėje dažniausiai naudojamos dezinfekcinės priemonės, kurių veikliosios medžiagos yra alkoholiai, chloro junginiai, ketvirtiniai amonio junginiai, oksidantai (peracto rūgštis, vandenilio peroksidas, ozonas), persulfatai (WIRTANEN, SALO, 2003).

Pagrindinės cheminių medžiagų grupės, kurios naudojamos antiseptikų ir dezinfekcinių priemonių gamyboje yra: alkoholiai, aldehydai, anilino dariniai, biguanidai, bisfenoliai, diamidai, halogenų dariniai, halofenoliai, sunkiųjų metalų dariniai, peroksidai, fenoliai ir krezoliai (MCDONNELL, RUSSELL, 1999).

Alkoholiai išsiskiria greitu ir plačiu veikimo spektru prieš vegetatyvines bakterijas (įskaitant mikobakterijas), virusus ir grybus, tačiau sporoms jokio

poveikio neturi. Dažniausiai naudojami etilo alkoholis, izopropanolis bei propan-2-olis. Daugelis priemonių pagamintų alkoholių pagrindu, savo sudėtyje turi nedidelį kiekį ir kitų biocidų. Aukšliasporės gali būti atsparios ir 70% etanoliui (SALO, WIRTANEN, 2005).

Glutaraldehydas yra pagrindinis dialdehydas naudojamas dezinfekantų ir antiseptikų gamyboje. Glutaraldehydai pasižymi plačiu veikimo spektru prieš bakterijas ir jų sporas, grybus ir virusus (MCDONNELL, RUSSELL, 1999).

Anilidai buvo kuriami kaip antiseptikai, tačiau vieni yra retai naudojami. Triklokarbanas yra žinomiausiai anilidas, tačiau daugiausiai jis yra naudojamas gaminant muilus ir dezodorantus. Triklokarbanas yra aktyvus prieš gram-teigiamas bakterijas, mažiau aktyvus prieš gram-neigiamas bakterijas ir grybus (MCDONNELL, RUSSELL, 1999).

Biguanidams priklausantis chlorheksidas yra plačiausiai naudojamas biocidas, ne tik rankų plovimui-dezinfekcijai, bet kaip dezinfekcinė priemonė pasižyminti plačiu veikimo spektru (MCDONNELL, RUSSELL, 1999).

Diamidai dažniau naudojami kaip antibakterinės priemonės, efektyviai veikia *Pseudomonas aeruginosa* ir *Enterobacter cloacae* (MCDONNELL, RUSSELL, 1999).

Chloro ir jodo dariniai yra reikšmingiausi biocidai naudojami tiek sveikatos priežiūros įstaigose, tiek buityje. Halo genų dariniai pasižymi plačiu veikimo spektru prieš bakterijas ir jų sporas, grybus ir virusus (MCDONNELL, RUSSELL, 1999).

Sidabras ir jo dariniai nuo seno naudojami kaip dezinfekcijos priemonės. Efektyviai veikia *Pseudomonas aeruginosa*, *Cryptococcus neoformans* ir kitus mikroorganizmus.

Vandenilio peroksidas kaip veiklioji medžiaga plačiai naudojamas dezinfekcijoje ir sterilizacijoje. Peracto rūgštis pasižymi stipresniu fungicidiniu poveikiu nei vandenilio peroksidas. Nedidelė peracto rūgšties koncentracija (0,3%) pasižymi sporocidiniu, baktericidiniu, antivirusiniu ir fungicidiniu poveikiu (LAUBSHER, VILJOEN 1999).

Fenoliai ir krezoliai naudojami jau ilgą laiką, kaip dezinfekcijos, antiseptinė ir konservavimo priemonės. Pasižymi fungicidiniu ir antivirusiniu poveikiu (MCDONNELL, RUSSELL, 1999).

Naujos kartos dezinfekcinės priemonės turėtų būti plataus fungicidinio veikimo spektro, bioskaidžios, netoksiškos ir neerzinančios (BALTCH ir kt., 2000). Be to mikroorganizmai gali prisitaikyti prie dezinfekcinių priemonių poveikio, todėl būtina periodiškai kontroliuoti jų efektyvumą norint išvengti atsparių padermių išsi-vystymo (PAP ir kt., 2006).

Įvairių cheminės kilmės medžiagų fungicidinio poveikio įvairiems mikroorganizmams tyrimai atliekami Gamtos tyrimų centre, KTU Maisto institute. Duomenų apie cheminės kilmės medžiagų poveikį *Candida* mielėms nėra daug.

### **1.7. Biologinės kilmės fungicidai *Candida* mielėms slopinti**

Biologiškai aktyvios medžiagos yra antrinės kilmės metabolitai, kuriuos organizmas išskiria tam tikromis sąlygomis, pvz. pasikeitus mitybai, esant infekcijai, konkuruojant dėl gyvenamosios vietos ir t.t. (HARVEY, 2008). Antrinės kilmės metabolitai paprastai yra mažos molekulinės masės medžiagos, kurios nėra būtinos organizmo augimui ar vystymuisi. Šios medžiagos pasižymi toksiniu ar inhibuojančiu poveikiu kitiems organizmams (SHWAB, KELLER, 2008). Biologiškai aktyvių medžiagų galima aptikti daugelyje gyvų organizmų: augaluose, grybuose, pirmuonyse, vabzdžiuose ar gyvūnuose (POLONELLI ir kt., 1991; STROHL, 2000; RANČIĆ ir kt., 2006; HARVEY, 2008).

Pagrindinis biologiškai aktyvių medžiagų šaltinis yra augalai ir mikroorganizmai. Augalai, kurie tradiciškai naudojami grybelinių infekcijų ir su jomis susijusių negalavimų gydymui, gali tapti žaliava naujiems, saugiems bei bioskaidiems antigrybiniais vaistiniams preparatams gaminti (HAMZA ir kt., 2006). Pasaulyje šiuo metu aprašyta apie 30 000 aukštesniųjų augalų rūšių, kuriose aptikta daugiau negu 20 000 įvairių biologiškai aktyvių medžiagų (DEMAIN, 1999; WU, CHAPPELL, 2008). Augalinės kilmės biologiškai aktyvios

medžiagos tiriamos ir naudojamos ligų gydymui nuo žmonijos atsiradimo. Iki XX a. taip vadinamos „Sintetinės eros“ pradžios, net 80% gydymui skirtų vaistų buvo augalinė produkcija (šaknys, lapai ir žievė) (RATES, 2001; GURIB-FAKIM, 2006; MCCHESENEY ir kt., 2007). Pritaikius šiuolaikines didelio našumo patikros (HTS) ir post-genomic technologijas daugiau negu 80% vaistų yra natūralios kilmės arba pagaminti iš natūralių medžiagų (CALDERON ir kt., 2009). Išsivysčiusiose šalyse augaline produkcija gydomi daugiau negu 60–80% žmonių (HARVEY, 2000; MASOKO ir kt., 2005).

Augalų produkuojamuose antriniuose metabolituose (alkaloiduose, flavanoiduose, terpenoiduose, steroiduose, eteriniuose aliejuose) aptinkama biologiškai aktyvių medžiagų (OSBOURN, 1996; VERPOORTE, MEMELINK, 2002; BAKKALI ir kt., 2008; RODRIGUES ir kt., 2008; CALDERON ir kt., 2009; DEMAIN, SANCHEZ, 2009). Pastaruoju metu didelis dėmesys skiriamas augalų eteriniams aliejams. Eteriniai aliejai – lakios, kvapnios medžiagos, esančios augalo žieduose, pumpuruose, sėklose, lapuose, šakelėse, žievėje, žolėje, medienoje, vaisiuose ir šaknyse. Eteriniai aliejai ir jų atskiri komponentai plačiai naudojami farmacijoje, liaudies medicinoje, maisto, kosmetikos bei parfumerijos pramonėje (STEVENSEN, 1998; KALEMBA, KUNICKA, 2003; PRABUSEENIVASAN ir kt., 2006; BAKKALI ir kt., 2008; TAVARES ir kt., 2008; VIUDA-MARTOS ir kt., 2008). Plačiai tiriamos įvairių augalų eterinių aliejų fungicidinės savybės (ADAM ir kt., 1998; HAMMER ir kt., 1999; GIORDANI ir kt., 2004; POZZATTI ir kt., 2010). Didžiausias dėmesys skiriamas biologiškai aktyvių medžiagų eteriniuose aliejuose paieškai prieš patogeninius grybus, mieles ir bakterijas (COX ir kt., 2000; KARAMAN ir kt., 2001; MANOHAR ir kt., 2001; LEMAR ir kt., 2002; BEZIĆ ir kt., 2003; HAMMER ir kt., 2003; SÖKMEN ir kt., 2003; GIORDANI ir kt., 2004; PEPELJNJAK ir kt., 2005; KOSALEC ir kt., 2005; CAVALEIRO ir kt., 2006; GHAFAROKHI ir kt., 2006; SARTORELLI, 2007; AGARWAL ir kt., 2010). Esama duomenų apie eterinių aliejų poveikį iš maisto produktų išskirtoms *Candida* mielėms (SKOČIBUŠIĆ ir kt., 2006; RUPASINGHE ir kt., 2006; SOUZA ir kt., 2007). Biologiškai aktyvių medžiagų, slopinančių *C. albicans* ir bakterijų augimą, aptinkama uogose: avietėse, juoduosiuose

serbentuose, spanguolėse bei gervuogėse (CAVANAGH ir kt., 2003). Daugelis augalų, apsaugai nuo patogeninių mikroorganizmų sintetina mažo molekulinio svorio biologiškai aktyvius peptidus: tioninus, defenzinus (BROEKAERT ir kt., 1997; SELITRENNIKOFF, 2001). Iš pupų (*Vicia faba* L.) išskirtas fabatinas, priklausantis tioninams, stabdo Gram-neigiamų ir Gram-teigiamų rūšių bakterijų augimą, tačiau *Saccharomyces cerevisiae* ir *Candida albicans* jokio poveikio neturi (ZHANG, LEWIS, 1997). Iš vienmečių paprikų (*Capsicum annuum* L.) sėklų išskirti antimikrobiniai peptidai stabdo *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ir kitų mielių rūšių augimą (RIBEIRO ir kt., 2007).

Be augalų, biologiškai aktyvių medžiagų aptinkama įvairiose mikroorganizmų grupėse. 2002 metų pabaigoje buvo žinoma apie 20 000 medžiagų, išskirtų iš įvairių mikroorganizmų (BÉRDY, 2005). Daugiausiai 45% išskirtų biologiškai aktyvių medžiagų aptikta aktinomicetų tarpe, 38% – grybuose ir 17% – bakterijose (DEMAIN, 1999; DEMAIN, SANCHEZ, 2009). Grybų karalystė sudaro vieną svarbiausių gyvosios gamtos grupių, kur aptinkama daugybė aktyvių medžiagų, kurios yra šiuolaikinės farmacijos varomoji jėga (JIANG, AN, 2000; SURYANARAYANAN ir kt., 2009). Grybų produkuojami sudėtingi antriniai metabolitai yra nedidelės molekulės, kurios nėra būtinos jų augimui ar vystymuisi (ROHLFS, CHURCHILL, 2011). Šios biologiškai aktyvios medžiagos yra naudojamos gaminant antibiotikus, citotoksines medžiagas, insekticidus, preparatus skatinančius ar stabdančius augimą, atraktantus ar repelentus (KISHORE ir kt., 2007; FOX, HOWLETT, 2008; SHWAB, KELLER, 2008; BRAKHAGE, SCHROECKH, 2011).

Pastaruosiu metu didelis dėmesys skiriamas neįprastiems mikroorganizmų metabolitams, kurie kaip pagrindas gali būti naudojami naujiems vaistams ar fungicidams gaminti (LEVENFORS ir kt., 2004). Didžioji dalis bakterijų ir archėjų produkuoja toksiškus baltymus, kurie dažniausiai yra įvardinami kaip bakteriocinai. Bakterijų karalystėje aptinkama daugybė įvairių rūšių bakteriocinų. Bakteriocinai priklauso ribosominės sintezės peptidų klasei. Nuo įprastinių antibiotikų bakteriocinai skiriasi tuo, kad yra sintetinami ribosomose,



o antibiotikai yra antrinės kilmės metabolitai. Be to bakteriocinams būdingas siauras veikimo spektras, dažniausiai jie veikia tik vienos rūšies arba filogenetiškai susijusiais patogenines bakterijų padermes (GHRAIRI ir kt., 2008). Šie antimikrobiniai baltymai gali būti veiksmingi prieš kitas bakterijas, tos pačios rūšies (siauro veikimo spektro bakteriocinai) arba skirtingų genčių bei rūšių bakterijas (plataus veikimo spektro bakteriocinai) (MARÓTI ir kt., 2011). Daugelio bakterijų rūšių išskiriami metabolitai, įskaitant ir haterumalidus, priklauso poliketidiniais dariniams, turintiems platų farmacinį veikimą ir pasižymintiems kaip antibiotikai, imunosupresantai, priešvėžiniai, antiparazitiniai preparatai (RILEY, WERTZ, 2002; LEVENFORS ir kt., 2004). *Lactobacillus* bakterijos pasižymi slopinančiu poveikiu *Candida* mielėms (ADEBAYO, ADERIYE, 2011). Bakterijos *Pseudomonas aeruginosa* išskirtos iš intensyvios terapijos pacientų, produkuoja pyrolnitriną ir pseudomoninę rūgštį, kurios pasižymi fungicidiniu poveikiu *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* ir *C. tropicalis* (KALELI ir kt., 2006). Iš augalų patogeninės bakterijos *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* išskirti baltymai (syringomycinas E, syringotoksinas B ir syringostatinas A) atliktuose tyrimuose *in vitro* pasižymi fungicidiniu poveikiu patogeninėms *Cryptococcus*, *Candida* ir *Aspergillus* rūšims (SORENSEN ir kt., 1996). *Pseudomonas syringae* sintetina pseudomycinus – antimikrobinis peptidus, kuriems būdingas stiprus fungicidinis poveikis *Candida albicans* (HARRISON ir kt., 1991). *Helicobacter pylori* baltyminis darinys HP (2-20) pasižymi stipriu fungicidiniu aktyvumu prieš daugelį grybų tame tarpe ir *Candida albicans* (LEE ir kt., 2002). *Streptomyces tendae* produkuojamas baltymas nikkomicinas Z yra aktyvus prieš daugelį patogeninių grybų ir mielių rūšių, įskaitant ir *Candida albicans* (LI, RINALDI, 1999). Cianobakterijos produkuoja įvairius antrinius metabolitus, kurie pasižymi biologiniu, anti-grybiniu ir anti-virusiniu aktyvumu. Iš *Nodularia harveyana* ir *Nostoc insulare* išskirtos 4,4'-dihidroksibifenilas ir norharmanas-HCl; biologiškai aktyvios medžiagos pasižymėjo fungicidiniu poveikiu prieš *Candida albicans* (VOLK, FURKERT, 2006; VOLK, 2008).

Vandenyje gyvenančiuose organizmuose aptinkama biologiškai aktyvių medžiagų. Ekstraktai pagaminti iš pinčių (*Cliona viridis*, *Cinachyrella tarentine* ir *Haliclona viscosa*), surinktų Atlanto vandenyne ties Maroko pakrante, pasižymi fungicidiniu veikimu prieš *Candida albicans* ir *C. tropicalis* (EL-AMRAOUI ir kt., 2010).

Lietuvoje naujų biologinės kilmės medžiagų, pasižyminčių fungicidinėmis savybėmis paieška atliekama Lietuvos sveikatos mokslų institute, Gamtos tyrimų centre. Tačiau duomenų apie biologinės kilmės medžiagų poveikį *Candida* mielėms nėra daug.

## 2. TYRIMO METODIKA

### 2.1. *Candida* mielių išskyrimas iš įvairių substratų

*Candida* mielių paplitimas tirtas: 1) dirvožemyje; 2) augalų filosferoje; 3) vandenyje; 4) gyvenamųjų ir darbo patalpų ore; 5) maisto produktuose; 6) žmonių pataloginėje medžiagoje.

#### 2.1.1. Mielių išskyrimas iš dirvožemio

Dirvožemio mielėms išskirti ir jų kiekiui apskaičiuoti naudotas suspensijos praskiedimo metodas. Dirvožemio mėginiai buvo imti 0 – 20 cm gylyje. Steriliu kastuvėliu paimama 100–200 g dirvožemio ir patalpinama į paruoštą tarą. Prieš imant kitą mėginį kastuvėlis dezinfekuojamas. Paimti mėginiai apdorojami per 2-3 dienas po mėginių paėmimo. Dirvožemis sijojamas per 2–4 mm sieta. Iš gerai sumaišyto mėginio atsveriamas 10 g dirvožemio, patalpinama į kolbutę su 90 ml sterilaus vandentiekio vandens ir kratoma 10 min. Pirmasis skiedimas atitinka 1:10 skiedimą. Gauta suspensija skiedžiama pernešant 1 ml suspensijos į mėgintuvėlį su 9 ml sterilaus vandens. Taip paruošiama keletas praskiedimų 1:100, 1:1000. Iš 1:1000 praskiedimo po 1 ml pilama į Petri lėkštelę ir užpilama 45°C mitybinėmis Saburo terpe su bengališkuoju rožiniu (Liofilchem, Italija) bei levomicetinu (0,5 g/l) ir gliukozės-amonio (BABJEVA, GOLUBEV, 1979) terpėmis. Užpylus terpe Petri lėkštelė kraipoma, kad terpė susimaišytų su suspensija ir vienodai pasiskleistų lėkštelės dugne. Gliukozės-amonio terpės sudėtis: gliukozė – 2 g; mielių ekstraktas – 0,3 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,1 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,02 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,01 g;  $\text{MgSO}_4$  – 0,02 g;  $\text{NaCl}$  – 0,02 g;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  – 0,01 g; agaras – 2 g;  $\text{H}_2\text{O}$  – 100 ml.

Dirvožemio mėginiai sėjami 3 pakartojimais. Lėkštelės su pasėliais inkubuojamos termostate 2–4 paras esant 26–28°C temperatūrai. Suskaičiuojamos išaugusių mielių kolonijos ir apskaičiuojamas jų pradų kiekis 1 g absoliučiai sauso dirvožemio (a.s.d.). Išaugusios mielių kultūros gryninamos ir identifikuojamos (BILAJ, 1982; LST ISO 10381-6, 1998). 2006–2007 metais mielės buvo išskiriamos iš Lietuvos agrarinių ir miškų mokslo

centro Vokės filialo priesmėlio paprastajame išplautžemyje (Idp) vykdomų skirtingų sėjomainų bei taikomų skirtingų agrotechnikos variantų (3 lentelė) (BAKŠIENĖ ir kt., 2009). Kiti dirvožemio mėginiai tyrimams imti iš įvairių vietovių Lietuvoje (3 lentelė).

3 lentelė. Tirti gamtiniai substratai

Substratas	Mėginių paėmimo vieta	Vietovė	Mėginių skaičius
Dirvožemis	Ekologinė žemdirbystės sistema	Trakų Vokė, Vilnius	16
	Tausojamoji žemdirbystės sistema	Trakų Vokė, Vilnius	16
	Intensyvi žemdirbystės sistema	Trakų Vokė, Vilnius	16
	Vaismedžių sodai	Molėtų, Vilniaus ir Zarasų rajonai	3
	Mišakai	Vilniaus, Varėnos ir Zarasų rajonai	3
	Ariamas dirvožemis	Vilniaus, Molėtų, Varėnos ir Zarasų rajonai.	4
	Kultūrinė pieva	Varėnos ir Zarasų rajonai	2
	<b>Iš viso:</b>		
Vanduo	Ežerai	Molėtų, Zarasų, Trakų rajonai	27
	Upės	Varėnos, Pakruojo, Panevėžio, Širvintų ir Zarasų rajonai. Vilniaus ir Kauno miestai.	27
	Kiti vandens telkiniai	Zarasų ir Varėnos rajonai	6
	<b>Iš viso:</b>		
Augalų lapai	Medžių lapai	Vilnius	22
	Krūmų ir puskrūmių lapai	Vilnius	22
	Žolių lapai	Vilnius	40
	<b>Iš viso:</b>		
<b>Iš viso tirta gamtinių substratų mėginių:</b>			<b>205</b>

Dirvožemio sausam svoriui nustatyti atsveriamas  $1,0 \pm 0,001$  g tiriamo dirvožemio, patalpinamas į stiklinius biuksus ir džiovinamas  $105^{\circ}\text{C}$  temperatūroje iki pastovaus svorio, t.y. kai dirvožemis, išdžiovintas krosnyje ir atvėsintas eksikatoriuje, toliau džiovinamas 4 val. nepraranda daugiau kaip 0,1% pradinės masės. Tai paprastai pasiekama per 4 džiovavimo valandas. Mielių skaičius apskaičiuojamas pagal formulę:

$$n=abc/d$$

n – mielių pradų skaičius 1 g absoliučiai sauso dirvožemio (a.s.d.);

a – vidutinis kolonijų skaičius lėkštelėje;

b – praskiedimas;

c – pasėtos suspensijos kiekis (ml);

d – sauso dirvožemio svoris (g).

Vidurkis apskaičiuojamas iš trijų pakartojimų (BILAJ, 1982).

Mielių aptikimo dažnis (AD) įvairiuose substratuose (dirvožemyje, vandenyje, maisto produktuose, gyvenamųjų ir gamybinių patalpų ore) apskaičiuotas pagal formulę:

$$AD=b/c \times 100,$$

b – mėginių skaičius kuriuose mielių rūšis buvo aptikta;

c – bendras mėginių skaičius.

### 2.1.2. Mielių išskyrimas iš vandens

Tirti vandens mėginiai ir jų kiekis nurodytas 3 lentelėje. Iš kiekvieno vandens telkinio imami 3 vandens mėginiai. Vandens mėginiai imti į sterilią stiklinę tarą. Paimti vandens mėginiai laikomi šaldytuve +5°C temperatūroje ir tirti per 12 h nuo jų paėmimo. Tiriama vandens 1 ml be jokio specialaus apdoravimo skiedžiama taip pat kaip ir tiriant dirvožemio mieles. Iš 1:1000 skiedimo 1 ml suspensijos pilama į Petri lėkštelę ir užpilama sterilia 45°C Saburo terpe su bengališkuoju rožiniu (Liofilchem, Italija) ir levomicetinu (0,5 g/l). Kol terpė nesustingusi, lėkštelė kraipoma, kad terpė susimaišytų su vandeniu ir vienodai pasiskleistų lėkštelėje. Petri lėkštelės su pasėliais inkubuojamos termostate 2–4 paras 26–28°C temperatūroje. Suskaičiuojamos išaugusių mielių kolonijos ir apskaičiuojamas jų pradų kiekis 1 ml vandens. Mielių skaičius 1 ml vandens apskaičiuojamas pagal formulę:

$$S=a \times 10^n/V$$

S – ląstelių skaičius 1 ml;

a – vidutinis kolonijų skaičius užsėjus atitinkamo atskiedimo substratą;

10 – atskiedimo koeficientas;

n – substrato atskiedimo laipsnis;

V – užsėtos suspensijos tūris, ml.

Mielių aptikimo dažnis vandenyje apskaičiuojamas taip pat kaip ir skaičiuojant dirvožemio mieles. Išaugusios mielių kultūros gryninamos ir identifikuojamos (KVASNIKOV, ŠČELOKOVA, 1991).

### **2.1.3. Mielių išskyrimas iš augalų filosoferos**

*Candida* mielių paplitimui išsiaiškinti mielės buvo išskiriamos nuo Verkių regioninio parko teritorijoje augančių 42 rūšių augalų lapų (3, 11 lentelė). Augalai apibūdinti, naudojantis augalų pažinimo vadovu (LEKAVIČIUS, 1989).

Mielės nuo augalų lapų išskiriamos ant mitybinės sterilios Saburo terpės (Liofilchem, Italija) su levomicetinu (0,5 g/l) taikant atspaudų metodą. Paruošta terpė išpilstoma į Petri lėkšteles. Rekomenduojama Petri lėkšteles pasiruošti iš anksto, iki bandymo likus 1–2 paroms, kad terpė apdžiūtų ir jos paviršiuje neliktų vandens lašelių. Tiriamas augalo lapas uždedamas ant terpės paviršiaus ir Drigalskio sklaidytuvu prispaudžiamas. Tokiu būdu padorami viršutinės ir apatinės lapų pusių atspaudai. Bandymas atliekamas 3 pakartojimais. Petri lėkšteles su pasėliais kultivuojamos termostate 2–3 paras 26–28°C temperatūroje. Išaugusios mielių kultūros gryninamos ir identifikuojamos (KVASNIKOV, ŠČELOKOVA, 1991).

### **2.1.4. Mielių išskyrimas iš įvairių maisto produktų**

Mielės išskirtos iš įvairios sudėties maisto produktų. Tirtos maisto produktų grupės ir mėginių skaičius pateikiamas 4 lentelėje.

Mėsos ir pieno produktų mėginiai mikrobiologiniams tyrimams imti ir ruošti laikantis LST ISO 6887-2:2005 „Maisto ir pašarų mikrobiologija. Tiriamųjų mėginių, pradinės suspensijos ir dešimtkarčių skiedinių ruošimas mikrobiologiniams tyrimams. 2 dalis. Mėsos ir mėsos produktų ruošimo specialiosios taisyklės“, LST ISO 6611:2004 „Pienas ir pieno produktai. Mielių ir (arba) pelėsinų grybų kolonijas sudarančių vienetų skaičiavimas. Kolonijų skaičiavimo 25°C temperatūroje metodas“ ir LST ISO 8261:2001

„Pienas ir pieno produktai. Tiriamųjų mėginių, pradinių suspensijų ir dešimtkarčių skiedinių ruošimas mikrobiologiniams tyrimams. Bendrieji nurodymai“.

4 lentelė. Tirti maisto produktai

Produktų grupės	Produktų rūšis	Mėginių skaičius
Mėsos gaminiai	Termiškai apdoroti	36
	Termiškai neapdoroti	21
	<b>Iš viso:</b>	<b>57</b>
Pieno produktai	Pasterizuotas pienas	10
	Sutirštintas pienas	3
	Jogurtas	31
	Kefyras	4
	Varškė	40
	Grietinė	9
	Sviestas	7
	Sūriai	6
	Ledai	6
	<b>Iš viso:</b>	<b>110</b>
Sultys ir nealkoholiniai gėrimai	Obuolių sultys	6
	Apelsinų sultys	2
	Vynuogių sultys	3
	Ananasų sultys	4
	Nealkoholiniai gėrimai	5
	<b>Iš viso:</b>	<b>20</b>
Vaisiai ir uogos	Obuoliai	3
	Kriaušės	1
	Slyvos	2
	Vyšnios	2
	Serbentai	3
	<b>Iš viso:</b>	<b>11</b>
Daržovės	Morkos	3
	Kopūstai	4
	Agurkai	5
	Bulvės	3
	Burokėliai	2
	Pomidorai	6
	Cukinijos	2
	<b>Iš viso:</b>	<b>25</b>
<b>Iš viso ištirta maisto produktų mėginių:</b>		<b>223</b>

Mielės nuo vaisių, uogų ir daržovių išskiriamos ir ruošiamos tyrimams kaip ir dirvožemio mielės. Mielių aptikimo dažnis maisto produktuose apskaičiuojamas kaip ir skaičiuojant dirvožemio mieles.

### 2.1.5. Mielių išskyrimas iš gyvenamųjų ir darbo patalpų oro

Mielės iš oro išskiriamos aspiraciniu metodu, siurbiant orą specialiu prietaisu „Krotov•818“. Tirtos gyvenamosios ir gamybinės patalpos ir mėginių skaičius pateikiamas 5 lentelėje. Dalelės, kartu su oru, traukiamos pro siaurą plyšį, įgauna pagreitį ir yra nukreipiamos į agarizuota terpe užpildytos Petri lėkštelės paviršių, prie kurio prilimpa. Surinkimo metu aparate esanti lėkštelė su terpe sukasi 60–100 aps/min. greičiu. Tai užtikrina tolygų mielių pasiskirstymą terpės paviršiuje. Oras išmetamas pro specialų vamzdelį, sujungtą su manometru, rodančiu praėjusio pro aparatą oro kiekį. Darbo intensyvumas 25 dm<sup>3</sup>/min., darbo laikas 2 min. Lėkštelė išimama iš aparato, laikoma termostate 26–28°C temperatūroje 2–3 paras. Praėjus nustatytam laikui suskaičiuojamos išaugusios mielių kolonijos. Mielių pradų koncentracija išreiškiama kolonijas sudarančių vienetų (ksv) skaičiumi/m<sup>3</sup> oro (VOL'PE, KUCHERENKO, 1970; JENSEN ir kt., 1992; NEVALAINEN ir kt., 1993; CROOK, 1995).

$$x = \frac{a \cdot 1000}{v \cdot t}$$

$x$  – kolonijas sudarančių vienetų skaičius, ksv/m<sup>3</sup>;

$a$  – mielių kolonijų išaugusių lėkštelėje skaičius;

$v$  – prietaiso siurbimo našumas, dm<sup>3</sup>/min;

$t$  – siurbimo laikas, min.

Mielių aptikimo dažnis gyvenamųjų ir gamybinių patalpų ore apskaičiuojamas kaip ir skaičiuojant dirvožemio mieles.



5 lentelė. Tirtos gyvenamosios ir gamybinės patalpos

Patalpos	Mėginių paėmimo vieta		Mėginių skaičius
Gyvenamosios	Butai	Antakalnio mikrorajonas (E, F butai)	10
		Lazdynų mikrorajonas (A, B butai)	10
		Senamiesčio mikrorajonas (G, H butai)	10
		Šeškinės mikrorajonas (C, D butai)	10
		Žemųjų Panerių mikrorajonas (I, J butai)	10
	<b>Iš viso:</b>		<b>60</b>
Gamybinės	UAB „Žalmargės pienas“	Kazeino gamybos cechasis	3
		Lieso pieno cechasis	3
		Fasavimo cechasis	3
		Sviesto gamybos cechasis	3
		Aparatinė	3
		Buitinės patalpos	3
		Tunelis	3
	<b>Iš viso:</b>		<b>21</b>
	UAB „NB Europe“	Pūtimo cechasis	9
		Transporterio magistralė	9
		Ruošinių gamybos cechasis	9
		Gatavos produkcijos sandėlis	9
	<b>Iš viso:</b>		<b>36</b>
<b>Iš viso:</b>		<b>107</b>	

### 2.1.6. Mielių išskyrimas iš patologinės medžiagos

Bendradarbiaujant su VšĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Dermatovenerologijos klinikos darbuotojais *Candida* mielės buvo išskiriamos iš dermatomikozėmis sergančių ambulatorinių ir stacionarinių ligonių patologinės medžiagos. Mielių išskyrimui naudota Saburo terpė (Liofilchem, Italija) su levomicetinu (0,5 g/l). Patologinė medžiaga į agarizuotą terpę sėjama mikrobiologine adata 2–4 taškais, 2–3 cm atstumu, dviem pakartojimais. Kultūros inkubuojamos termostate 37±2°C temperatūroje. 2005 metais tirtas 31, o 2006 m. – 61 ligonis, kuriems pagrindiniais grybinės ligos

sukėlėjais diagnozuotos *Candida* mielės. Išskirtos iš pataloginės medžiagos *Candida* mielės buvo identifikuojamos „api® 20 C AUX“ (Biomérieux, Prancūzija) diagnostine sistema.

## **2.2. *Candida* mielių identifikavimo metodai**

Išskirtos iš įvairių substratų mielės buvo identifikuojamos remiantis C. P. Kurtzmano ir J. W. Fello (1998) ir Barnett J. A., Payne R. W., Yarrow D. (2000) teikiamomis metodinėmis rekomendacijomis. Prieš pradėdant išskirtų mielių identifikaciją buvo: 1) patikrintas kiekvienos mielių kultūros grynumas mikroskopuojant ir pasėjant ant agarizuotos salyklo terpės, 2) iš kiekvienos pradinės kultūros pasėjamas kontrolinis variantas, kuris saugomas visą identifikacijos laikotarpį.

Išskirtos iš įvairių substratų mielių rūšys buvo identifikuojamos, pagal morfologinius ir fiziologinius požymius bei lytinio proceso charakteristiką.

### **2.2.1. Mielių morfologinių požymių tyrimas**

Mielių morfologiniai požymiai skirstomi į mikro– ir makro–morfologinius.

Mielių mikromorfologiniai savitumai tiriami auginant jas ant mielių morfologinio agarų terpės (Yeast Morphologic agar, „Difco“, USA), drėgnos kameros metodu. Į Petri lėkšteles įdedamos stiklinės lazdelės ant jų uždedami objektiniai stikleliai ir įpilama vandens. Mielių morfologinio agarų terpė paruošiama pagal gamintojo teikiamas rekomendacijas. Ant paruoštų sterilių objektinių stiklelių dozatoriumi užnešami keli lašai paruošto mielių morfologinio agarų terpės. Terpei sustingus, pasėjama tiriamą mielių kultūrą ir uždengiama dengiamuoju stikleliu. Taip paruoštas objektinis stiklelis dedamas į Petri lėkštelę ir inkubuojamas termostate 2–3 paras 26–28°C temperatūroje. Praėjus nustatytam laikui preparatas mikroskopuojamas. Mikroskopuojant nustatomas atskirų mielių ląstelių dydis, forma bei micelio tipas. Mikroskopinis vaizdas mikroskopuojamas mikroskopu MOTIC BA300 (Taiwanas, Kinija) fotografuojamas Moticom 2300 kamera (Taiwanas, Kinija).

Makromorfologiniams požymiams nustatyti mielės auginamos ant agarizuotos mielių morfologinio agarų terpės ir skystos gliukozės-peptono terpės. Auginant mielių kultūras ant agarizuotos mielių morfologinio agarų terpės, aprašoma kolonijos krašto forma, spalva, konsistencija ir paviršiaus struktūra.

Kultivuojant mieles skystoje gliukozės – peptono (BABJEVA, GOLUBEV, 1979) terpėje nustatomas plėvelės, žiedo ar nuosėdų susidarymas. Gliukozės – peptono terpės sudėtis: gliukozė – 1 g; peptonas – 1 g; mielių ekstraktas – 0,5 g; NaCl – 0,5 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,3 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Pagaminta terpė išpilstoma į mėgintuvėlius po 5 ml ir sterilinama. Mėgintuvėliai su mielėmis inkubuojami termostate 4 savaites 26–28°C temperatūroje.

### **2.2.2. Mielių lytinio proceso charakteristika**

Aukšliasporių susidarymui nustatyti buvo naudojama modifikuota Gorodkovos terpė (BABJEVA, GOLUBEV, 1979). Gorodkovos terpė, kurios sudėtis: gliukozė – 0,1 g; peptonas – 1 g; NaCl – 0,5 g; agaras – 2 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Terpė sterilizuojama 112°C temperatūroje 25–30 min. ir išpilstoma į Petri lėkštes. Mielių kultūros sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai kultivuojami termostate iki 4 savaičių 26–28°C temperatūroje. Praėjus nustatytam laikui, iš išaugusių kolonijų daromi preparatai. Mikroskopuojant stebimi susidarę aukšliai su aukšliasporėmis.

## **2.3. Mielių rūšinės priklausomybės nustatymas diagnostinėmis sistemomis ir polimerazės grandininės reakcijos metodu**

### **2.3.1. Mielių identifikavimas diagnostinėmis sistemomis**

Šiuo metu pasiūloje esama įvairių mielių diagnostinių sistemų. Didžiojoje jų dalyje mielių rūšių identifikacija yra pagrįsta anglies šaltinių asimiliacijos rezultatais. Tyrimai atlikti su dažniausiai naudojamomis diagnostinėmis sistemomis: „Fungichrom®“ (International Microbio, Prancūzija), „Auxacolor® 2“ (Bio-Rad, Prancūzija), ir „api® 20 C AUX“ (Biomérieux, Prancūzija).

„Fungichrom®“ sistemoje mielių identifikacija atliekama plokštelės duobutėse esančioje skystoje terpėje. Reakcijos pagrįstos tam tikrų fermentų (peptidazės, oksidazės, fenoloksidazės) aktyvumu ir vertinama pagal indikatoriaus spalvos pasikeitimą. „Fungichrom®“ sistemos plokštelė turi 16 šulinėlių. Pirmasis šulinėlis – teigiama kontrolė, kurios sudėtyje yra gliukozė. Toliau sekantys trys šulinėliai su dažančiu substratu, pirmame – N-acetyl-β-D-galaktozaminidazė, antrame – L-proline-amidazė ir trečiame – cikloheksimidazė. Toliau 4 šulinėliai su dažančiu substratu skirti identifikuojamų padermių ureaziniam ir fenoloksidaziniam aktyvumui nustatyti. Likę šulinėliai skirti angliavandenių asimiliacijai: galaktozės, sacharozės, trehalozės, maltozės, celobiozės, rafinozės, laktozės. Identifikacijai naudojami 15 testų rezultatai, kurie paverčiami į skaičių kodą. „Fungichrom®“ sistemos rezultatų interpretavimas paremtas gaunamais skaičių kodais, kurie sulyginami su kodais pateikiamais su sistemos aprašymu. „Fungichrom®“ rinkinys suteikia galimybę identikuoti 25 mielių rūšis, kurios priklauso *Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Kloeckera* gentims.

„Auxacolor® 2“ sistemoje mielių identifikacija pagrįsta anglies šaltinių pasisavinimo principu. Mielių augimas nustatomas pagal pH indikatoriaus spalvos pokytį. Į rinkinį įeina ir trys fermentiniai testai. Rinkinį sudaro: neigiama kontrolė ir 13 anglies šaltinių: gliukozė, maltozė, sacharozė, galaktozė, laktozė, rafinozė, inozitolis, celobiozė, trehalozė, adonitolis, melezitozė, ksilozė, arabinozė. Kiekvienas anglies šaltinis yra dehidratuojamas su šarminiu tirpalu ir pH indikatoriumi – bromkrezolio rausvuju. Mielių augimas nustatomas pagal pH indikatoriaus spalvos pokytį iš mėlynos į geltoną ir pagal šulinėliuose atsiradusį drumstumą. Identifikacijai naudojami 16 biocheminių faktorių, paskirstytų į 15 šulinėlių (fenoloksidazės ir prolino arilamidazės tyrimai atliekami viename šulinėlyje). Surašius kiekvienos eilutės rezultatus atitinkančių skaičių sumą gaunamas penkiaženklis skaitmuo, kuris sulyginamas su rūšių sąrašu pateiktu „Auxacolor® 2“ sistemos aprašyme. Naudojant „Auxacolor® 2“ sistemą galima identikuoti 31 mielių rūšį, kurios priklauso *Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Kloeckera* gentims.

„api® 20 C AUX“ sistema skirta dažniausiai pasitaikančių rūšių mielių identifikavimui. „api® 20 C AUX“ sistemos juostelę sudaro 20 kamerų, turinčių dehidratuotų substratų, kurie leidžia atlikti 19 asimiliacinių tyrimų (6 lentelė).

6 lentelė. „api® 20 C AUX“ diagnostinėje sistemoje naudojami anglies šaltiniai.

Testas	Anglies šaltinis	Kiekis (mg/šulinėlyje)
0	nėra	-
GLU	D-gliukozė	1,2
GLY	Glicerolis	1,2
2KG	kalcio 2-keto-gliukonatas	1,2
ARA	L-arabinozė	1,2
XYL	D-ksilozė	1,2
ADO	adonitolis	1,2
XLT	ksilitolis	1,2
GAL	D-galaktozė	1,9
INO	inozitolis	2,36
SOR	D-sorbitolis	1,2
MDG	metil- $\alpha$ D-gliukopiranozidas	1,2
NAG	N-Acetil-Gliukozaminas	1,2
CEL	D-celobiozė	1,2
LAC	D-laktozė	1,2
MAL	D-maltozė	1,2
SAC	D-sacharozė	1,2
TRE	D-trehalozė	1,2
MLZ	D-melezitozė	1,2
RAF	D-rafinozė	1,9

Kameros yra inokuliuotos su pusiau kieta minimalia terpe, ir mielės auga tik tuomet, jei jos sugeba panaudoti kiekvieną substratą kaip vienintelį anglies šaltinį. Reakcijos yra nuskaitomos lyginant jas su augimo kontrolėmis; identifikacija atliekama lyginant su Analitinio profilio Indeksu arba naudojantis programine identifikavimo įranga. Naudojant „api® 20 C AUX“ rinkinį galima identifikuoti 44 mielių rūšis, kurios priklauso *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Sporobolomyces*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Kloeckera* gentims.

### **2.3.2. Mielių rūšinės priklausomybės nustatymas polimerazės grandininės reakcijos metodu**

Buvo atliktas išskirtų mielių padermių rūšinės priklausomybės nustatymas polimerazės grandininės reakcijos (PGR) metodu naudojant ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') ir ITS5 (5' GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G) pradmenis (WHITE ir kt., 1990). Mielių padermių DNR išskyrimui buvo naudojamas NucleoSpin®Plant II rinkinys (gamintojas GmbH&Co MACHEREY-NAGEL, Vokietija). Paruošti tiriamų mielių DNR pavyzdžiai gali būti saugojami šaldiklyje (-20°-80°C temperatūroje) neribotą laiką. Išskyrus tiriamų mielių DNR ji buvo pagausinama polimerazės grandininės reakcijos (PGR) metodu. Amplifikaciniame mėgintuvėlyje buvo paruoštas toks reakcijos mišinys:

10xPCR buferis su MgCl<sub>2</sub> – 2,5 µl;  
dNTP 10 mM – 0,5 µl;  
Pradmuo 1 ITS4 10 µM – 0,5 µl;  
Pradmuo 2 ITS5/ITS1 10 µM – 0,5 µl;  
Taq DNR polimerazė – 0,25 µl;  
DNR matrica – 1 µl;  
ddH<sub>2</sub>O – 25-X=19.75 µl;  
Bendras 1 mėginio tūris – 25 µl.

Į vieną mėgintuvėlį supilstomi komponentai tokia pat tvarka, tik vietoje DNR matricos pripilame 1 µl ddH<sub>2</sub>O (neigiama kontrolė). Polimerazinė grandininė reakcija vykdoma terminiam cikleryje (TECHNE® <sup>5</sup>PRIME, Didžioji Britanija) tokiomis sąlygomis: pradinė denatūracija 2 min. 94°C temperatūroje, toliau 35 padauginimo ciklai, kurių kiekvienas susideda iš:

DNR denatūracijos 45 s, 94°C,  
Pradmenų sukibimo su matricine DNR ir užsigrūdinimo 30 s, 54°C,  
DNR sintezės – 90 s, 72°C,  
Paskutiniame cikle DNR sintezė vykdoma – 7-10 min 72°C temperatūroje.

PGR metu gauti produktai analizuojami vykdant elektroforezę 1,5% agarozės gelyje. Elektroforezei 5 dalys pagausintos DNR sumaišoma su 1

dalimi bromfenolio dažo. Elektroforezė vykdoma 1-1,5 val 80 V įtampoje, kol mėlynas dažas nueina 2/3 gelio ilgio. Baigus elektroforezę, gelis dažomas etidžio bromido tirpalu (0,5 µg/ml). Po to gelis plaunamas 10-30 min. distiliuotame vandenyje, praskalaujamas dar kartą porą sekundžių ir dedamas ant UV transiluminatoriaus (Infinity 1100, Vokietija) ekrano analizavimui. Gelis fotografuojamas.

Gauti tiriamų mielių kultūrų polimerazės grandininės reakcijos produktai yra valomi, naudojant šarminę fosfatazę (SAP) ir ekzonukleazę I. Ruošiamas toks reakcijos mišinys:

1. 10 µl PGR mišinio supilama į švarų 1,5 ml talpos mikrocentrifuginį mėgintuvėlį;
2. Į PGR mišinį pripilama 2 µl šarminės fosfatazės SAP (1 u/µl) ir 1 µl ekzonukleazės I EXOI (20 u/µl).

Toliau reakcijos mišinys sumaišomas minipurtykle ir inkubuojamas 15 min. 37°C temperatūroje, po to fermentų veiklos sustabdymui mišinys inkubuojamas 15 min. 80°C temperatūroje. Tokiu būdu išvalyti PGR produktai pateikiami sekų nuskaitymui. Sekų nuskaitymą atliko Pietų Korėjos biotechnologijos įmonė Macrogen Inc. (Seulas) naudodama ABI 3730XL sekvenavimo įrangą.

Sekvenavimo metu gautos DNR ITS regiono chromatogramos analizuojamos ir apdorojamos kompiuterine programa BioEdit (Tom Hall, Ibis Biosciences, Carlsbad, JAV, versija 5.0.9). Mielių rūšių identifikavimas atliktas lyginant gautas sekas su sekomis, esančiomis elektroninėje Nacionalinio biotechnologijos informacijos centro NCBI Genų banko BLAST duomenų bazėje ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) (paskutinis prisijungimas 2011 gruodžio mėn. 20 diena.). Darbas atliktas konsultuojantis su Botanikos instituto Fitopatogeninių mikroorganizmų laboratorijos mokslininkais.

#### **2.4. *Candida* mielių fiziologinių požymių nustatymas**

Mielių prisitaikymą prie įvairių aplinkos sąlygų nulemia fiziologiniai požymiai. Fiziologiniams požymiams apibūdinti atlikti tokie tyrimai:

1. Mielių gebėjimas fermentuoti angliavandenius iki anglies dvideginio ir deguonies anaerobinėmis sąlygomis.

2. Mielių gebėjimas asimiliuoti anglies šaltinius.
3. Mielių gebėjimas asimiliuoti nitritus ir nitratus.
4. Mielių augimas terpėje be vitaminų.
5. Mielių augimas esant įvairioms temperatūroms.
6. Mielių augimas osmosinėmis sąlygomis.

#### **2.4.1. Mielių gebėjimas fermentuoti angliavandenius**

Mielių gebėjimas fermentuoti įvairius anglies šaltinius atliekamas naudojant 6 angliavandenius: D-gliukozę, D-galaktozę, sacharozę, maltozę, laktozę ir rafinozę. Pagaminta angliavandenių fermentacijos terpė išpilstoma į Dumbaro vamzdelius ir sterilinama 112°C temperatūroje 25 min. Dumbaro vamzdeliai su mielėmis laikomi termostate 24 paras 26–28°C temperatūroje. Fermentacija laikoma įvykusia, kai aklajame vamzdelio gale pradeda skirtis CO<sub>2</sub> dujos. Angliavandenių fermentacijos terpės sudėtis: tiriamas anglies šaltinis – 2 g; mielių ekstraktas – 0,5 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml (KURTZMAN, FELL, 1998).

#### **2.4.2. Mielių gebėjimas asimiliuoti anglies šaltinius**

Mielių gebėjimas asimiliuoti įvairius anglies šaltinius atliekamas naudojant azotinio pagrindo terpę (Yeast nitrogen base, „Difco“, USA) ir tokius anglies šaltinius:

1. Monosacharidus: D-gliukozę, D-galaktozę, L-ramnozę, L-sorbozę, D-ksilozę, D-ribozę, L-arabinozę, D-arabinozę.
2. Disacharidus: sacharozę, maltozę; celobiozę, trehalozę, laktozę, melibiozę.
3. Trisacharidus: rafinozę, melezitozę.
4. Polisacharidus: tirpųjį krakmolą, inuliną.
5. Alkoholius: eritritolį, ribitolį, D-manitą, m-inozitolį, metanolį, etanolį, glicerolį, galaktitolį, D-gliucitolį.
6. Organines rūgštis: gintaro rūgštį, citrinos rūgštį, D-gliukonata, D-gliukuroninę rūgštį, pieno rūgštį.
7. Glikozidus: α-metyl-D-gliukozidą, arbutiną, salicilą.



8. Kitus: D-gliukozaminą, N-acetyl-D-gliukozaminą, heksadekaną.

Anglies šaltinių asimiliacijos terpės sudėtis: tiriamas anglies šaltinis – 0,5 g; azotinis pagrindas (Yeasts Nitrogen Base („Difco“, USA)) – 0,67 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml; agaras – 2 g. Teigiama kontrolė naudojama terpė su gliukoze, kurios sudėtis: gliukozė – 0,5 g; azotinis pagrindas – 0,67 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml; agaras – 2 g. Mielių gebėjimo asimiliuoti įvairius anglies šaltinius tyrimui naudojamas 24 šulinėlių inokuliatorius. Naudojant tokio tipo inokuliatorių vienu metu į Petri lėkštelę pasėjamos 24 mielių kultūros. Paruošiamos tiriamų mielių kultūrų vandeninės suspensijos. Mielių ląstelių koncentracija suspensijoje siekė 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup>/ml. Į kiekvieną inokuliatoriaus šulinėlį įnešama toks kiekis suspensijos, kad uždengus inokuliatorių specialiu dangteliu su strypeliais, suspensija neišsilietų. Atspaudai ant tiriamų anglies šaltinių asimiliacinės terpės daromi lėtai keliant inokuliatoriaus dangtelį ir laikant vertikaliai. Taip padaromi atspaudai visose paruoštose Petri lėkštelėse su įvairių tiriamų anglies šaltinių terpėmis. Tyrimui naudojamų lėkštelių terpė turi būti sustingusi horizontaliai ir jos paviršiuje negali būti vandens lašelių. Kontroliniai variantai: terpė su gliukoze (teigiama kontrolė) ir azotinio pagrindo terpė (neigiama kontrolė). Pasėliai kultivuojami termostate 3–7 paras 26–28°C temperatūroje. Anglies šaltinių asimiliacijos rezultatai vertinami lyginant mielių kolonijų augimą ant testuojamo anglies šaltinio ir kontrolinių variantų (KURTZMAN, FELL, 1998).

#### **2.4.3. Mielių gebėjimas asimiliuoti nitritus ir nitratus**

Azoto šaltinių asimiliacijos tyrimai atlikti naudojant anglies šaltinio terpę (Yeast Carbon Base, „Difco“, USA) ir KNO<sub>2</sub> bei KNO<sub>3</sub> druskas. Nitritų asimiliacijos terpės sudėtis: anglies šaltinis (Yeast Carbon Base, „Difco“, USA) – 1,17 g; KNO<sub>2</sub> – 0,02 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Nitratų asimiliacijos terpės sudėtis: anglies šaltinis – 1,17 g; KNO<sub>3</sub> – 0,78 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Teigiama kontrolė buvo anglies šaltinio terpė su amonio sulfatu, kurios sudėtis: anglies šaltinis – 1,17 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,5 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Neigiama kontrolė buvo anglies šaltinio terpė: anglies šaltinis (Yeast Carbon Base, „Difco“, USA) – 1,17 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Paruoštos terpės išpilstomos į mėgintuvėlius po 5 ml ir

sterilinamos 112°C temperatūroje 25–30 min. Paruošiamos tiriamų mielių kultūrų vandeninės suspensijos. Mielių ląstelių koncentracija suspensijoje siekė  $10^6$ – $10^7$ /ml. Į kiekvieną mėgintuvėlį įnešamas lašas vandeninės mielių ląstelių suspensijos. Kontroliniai variantai: anglies šaltinio terpė (neigiama kontrolė) ir anglies šaltinio terpė su amonio sulfatu (teigiama kontrolė). Mėgintuvėliai inkubuojami termostate 7 paras 26–28°C temperatūroje. Po 7 parų įvertinamas azoto šaltinių poreikis tiriamoms mielių kultūroms. Teigiamu rezultatu laikomas nuosėdų susidarymas terpėse su nitratu ir/arba nitritu, lyginant su kontroliniais variantais (KURTZMAN, FELL, 1998).

#### **2.4.4. Mielių augimas terpėje be vitaminų**

Mielių gebėjimas sintetinti visus jų augimui reikalingus vitaminus, arba kokių nors vitaminų trūkumas terpėje, gali būti naudojamas kaip identifikacinis požymis. Mielių augimo be vitaminų tyrimui buvo naudojama terpė be vitaminų (Vitamin free yeast base, „Difco“, USA) 16,7 g terpės ištirpinama 1 l distiliuoto vandens, sterilinama 112°C temperatūroje 25–30 min. ir išpilstoma į lėkšteles. Kontroliniai variantai: terpė su gliukoze (teigiama kontrolė) ir azotinio pagrindo terpė (neigiama kontrolė). Kultūros sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai kultivuojami termostate iki 4 savaičių 26–28°C temperatūroje. Praėjus nustatytam laikui vertinamas tiriamų mielių kultūrų augimas. Lėtai ar silpnai augančios mielių kolonijos vertinamos kaip nesugebančios sintetinti augimui reikiamų vitaminų (KURTZMAN, FELL, 1998).

#### **2.4.5. Mielių augimas įvairiose temperatūrose**

Daugelio mielių rūšių optimali augimo temperatūra yra 26°C, tačiau esama tokių mielių, kurios geriau auga esant žemesnei arba aukštesnei temperatūrai. Buvo tiriami tokie temperatūrų intervalai: 20–25°C, 28–34°C; 37–39°C, 40–45°C. Mielių kultūros auginamos ant salyklo misos terpės. Kultūros sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai kultivuojami termostate 2–4 paras, tiriamoje temperatūroje. Kontrolinis variantas: pasėliai kultivuojami optimalioje 26°C temperatūroje (KURTZMAN, FELL, 1998).

#### **2.4.6. Mielių gebėjimas augti osmosinėmis sąlygomis**

Kai kurios mielių rūšys geba augti terpėje su dideliu kiekiu angliavandenių. Buvo tirtas išskirtų mielių gebėjimas augti terpėje su 50% gliukozės. Terpės osmoso tolerantiškumui nustatyti sudėtis: gliukozė – 5 g; mielių ekstraktas – 0,3 g; agaras – 3 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Kontroliniai variantai: terpė su gliukoze (teigiama kontrolė) ir azotinio pagrindo terpė (neigiama kontrolė). Mielių kultūros sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai kultivuojami termostate iki 4 savaičių 26–28°C temperatūroje. Praėjus nustatytam laikui vertinamas mielių kultūrų augimas (KURTZMAN, FELL, 1998).

Mielės atsparios osmosiniam slėgiui, kurį terpėje sudaro gliukozė, ne visada atsparios slėgiui kurį sudaro druskos, todėl mielės buvo auginamos terpėje su 10% NaCl. Terpės su 10% NaCl ir 5% gliukozės sudėtis: azotinis pagrindas (Yeasts Nitrogen Base („Difco“, USA)) – 0,67 g; gliukozė – 0,5 g; NaCl – 10 g; agaras – 2 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Kontroliniai variantai: terpė su gliukoze (teigiama kontrolė) ir azotinio pagrindo terpė (neigiama kontrolė). Mielių kultūros sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai kultivuojami termostate iki 7 parų 26–28°C temperatūroje. Praėjus nustatytam laikui vertinamas mielių kultūrų augimas (KURTZMAN, FELL, 1998).

### **2.5. *Candida* mielių biocheminių savybių tyrimai**

#### **2.5.1. *Candida* mielių proteolitinio aktyvumo nustatymas**

Proteolitiniam aktyvumui nustatyti naudotos terpės sudėtis: azotinis pagrindas (Yeasts Nitrogen Base „Difco“, USA) – 0,67 g; gliukozė – 0,5 g; želatina – 10 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml. Paruošta terpė išpilstoma į mėgintuvėlius po 5 ml ir sterilinama 112°C temperatūroje 25–30 min. Mėgintuvėliuose terpei leidžiama sustingti vertikaliai. Ant sustingusios terpės paviršiaus įnešama keletas lašų mielių ląstelių suspensijos. Pasėliai inkubuojami termostate neaukštesnėje kaip 20°C temperatūroje 3 savaites. Teigiamu rezultatu laikomas viršutinio želatinos sluoksnio suskystėjimas (BABJEVA, GOLUBEV, 1979).

### **2.5.2. *Candida* mielių lipazinio aktyvumo nustatymas**

Mielių lipazių veikiami lipidai skaidomi į gliceriną ir riebiąsias rūgštis. Norint nustatyti išskirtų *Candida* mielių lipazinį aktyvumą jos buvo augintos terpėje su lipidais. Lipolitiniam aktyvumui nustatyti naudotos terpės sudėtis: tributiratas – 1 ml;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,25 g;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  – 0,25 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,1 g;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,1 g; mielių ekstraktas – 0,05 g; agaras – 1,5 g; Victoria Blue – 0,01 g/ml (pH 7–8);  $\text{H}_2\text{O}$  – 100 ml. Paruošta terpė sterilinama 112°C temperatūroje 25–30 min. ir išpilstoma į Petri lėkšteles. Mielių kultūros sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai inkubuojami termostate 26–28°C temperatūroje. Teigiamu rezultatu laikomas skaidrios zonos atsiradimas aplink pasėtą mielių koloniją (KURTZMAN, FELL, 1998).

### **2.5.3. Mielių gebėjimas formuoti junginius panašius į krakmolą**

Kai kurios mielių rūšys gali formuoti junginius, kurių dėka terpė ir/arba mielių kolonija, veikiant ją Liugolio tirpalu, nusidažo rudai mėlyna spalva. Buvo atliktas išskirtų *Candida* mielių gebėjimo formuoti junginius panašius į krakmolą, tyrimas. Junginių panašių į krakmolą formavimui nustatyti naudotos terpės sudėtis: gliukozė – 1 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,1 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,1 g;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,05 g;  $\text{H}_2\text{O}$  – 100 ml; agaras – 2,5g. Paruošta terpė sterilinama 112°C temperatūroje 25–30 min. Terpei atvėsus iki 50°C, parūgštinama 35% druskos rūgštimi iki pH 4,0–4,5 ir išpilstoma į Petri lėkštelės. Kultūros sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai inkubuojami termostate 10–12 parų, 26–28°C temperatūroje. Praėjus nustatytam laikui ant mielių pilama Liugolio tirpalo. Lėkštelės 2 val. paliekamos šviesoje.

### **2.5.4. *Candida* mielių gebėjimas produkuoti organines rūgštis**

Organinių rūgščių produkavimui ištirti buvo naudojamas kreidos agaras. Kreidos agaro terpės sudėtis: gliukozė – 5 g; mielių ekstraktas – 0,5 g;  $\text{CaCO}_3$  – 0,3 g; agaras – 2 g;  $\text{H}_2\text{O}$  – 100 ml. Paruošta terpė sterilinama 112°C temperatūroje 25–30 min. Terpei atvėsus, įpilamas reikiamas kiekis kalcio karbonato. Gerai išmaišoma ir išpilstoma į lėkšteles. Mielės sėjamos brūkšnio metodu. Pasėliai inkubuojami termostate iki 7 parų 26–28°C temperatūroje.

Teigiamu rezultatu laikomas skaidrios zonos atsiradimas aplink pasėtą mielių koloniją (BABJEVA, GOLUBEV, 1979).

## **2.6. *Candida* mielių ūmaus patogeniškumo ir toksiškumo pelėms nustatymas**

Tyrimai atlikti remiantis mikrobinių pesticidų tyrimo gairėmis:

1. Ūmus oralinis toksiškumas/patogeniškumas (Microbial Pesticide Test Guidelines OPPTS 885.3050).
2. Ūmus injekcinis toksiškumas/patogeniškumas (Acute Injection Toxicity/Pathogenicity/ Microbial Pesticide Test Guidelines OPPTS 885.3200).

LR Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos leidimas Nr.0177 atlikti laboratorinius bandymus su gyvūnais. Darbas atliktas laikantis Lietuvos Respublikos Valstybinės Maisto ir Veterinarijos tarnybos Direktorius įsakymo, „Dėl gyvūnų, skirtų eksperimentiniams ir kitiems mokslo tikslams, laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimų patvirtinimo“, įsakymas 2008 m. gruodžio 18 d. Nr. B1-639.

Bandymui buvo naudojami sveiki, suaugę (8-10 sav. amžiaus) BALB/c linijinių pelių patelės ir patinėliai (iš viso 56 pelės). Sudarytos 4 bandomosios gyvūnų grupės ir dvi kontrolinės. Laboratoriniai gyvūnai buvo laikomi 6 dienas, kad priprastų prie laboratorinių sąlygų, individualiuose (35x75x20 cm) narveliuose, atskirose vivariumo patalpose, kuriose temperatūra  $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ , oro drėgnumas 60%. Gyvūnai atrinkti aklos atrankos metodu, ženklinami, kad būtų galima identifikuoti kiekvieną gyvūną.

Kombinuoti pašarai pelėms ir geriamas vanduo duoti *ad libitum*. Šviesos režimas 12 val. šviesa/tamsa. Prieš suleidžiant medžiagas gyvūnai nešeriami, iš vakaro prieš bandymą maistas išimamas, neribojant vandens gavimo. Pasibaigus minėtam laikotarpiui gyvūnai pasveriami ir suleidžiama bandomoji medžiaga, intraperitonealiai po 0,5 ml, *per os* – 0,2 ml 10 g pelytei. *Candida* rūšių suspensija duodama specialiu zondų *per os* – į skrandį, naudojama  $10^8$  ląstelių/ml, o įvedant intraperitonealiai –  $10^7$  ląstelių/ml vienkartinės dozės.

Gavusios bandomosios medžiagos pelės patalpinamos po 6 viename narvelyje ir pašeriamos po 3–4 val.

Kiekvienas gyvūnas stebimas pirmąsias 4 val., toliau – 21 paros laikotarpyje – kasdien. Stebėta, ar nepasireiškia toksiškumo požymiai: odos, kailio, akių ir gleivinės, kvėpavimo, somatomotorinės veiklos ar elgesio pasikeitimai, drebulys, traukuliai, viduriavimas, mieguistumas, miego ir komos būsenos, ar neteka seilės.

Pasibaigus bandymams, gyvūnai pasveriami, humaniškai numarinami, atliekant stuburo slankstelių dislokaciją.

Visiems gyvūnams atliekamas bendrasis skrodimas. Aprašomi organų (plaučių, kepenų, inkstų, blužnies, širdies) matomi patologiniai pokyčiai.

Įvertinant *Candida* rūšių galimą patogeniškumą buvo daromi plaučių, kepenų, inkstų, blužnies, ir kraujo iš širdies pasėliai, po 3, 7, 15 parų po tiriamųjų mėginių įvedimo ir pasibaigus bandymui po 21 paros. Šelfo kontrolės atitinkamų organų pasėliai daryti po 21 paros, t.y. pasibaigus bandymui. Organų pasėliai daromi ant agarizuotos Saburo terpės (Liofilchem, Italija) su levomicetinu.

Darbas atliktas Valstybiniame mokslinių tyrimų institute Inovatyvios Medicinos centre Imunologijos departamente.

## **2.7. *Candida* mielių jautrumo eteriniams aliejams, cheminėms dezinfekcinėms ir plovimo priemonėms nustatymas**

Buvo tiriamas *Candida* mielių jautrumas eteriniams aliejams, cheminėms dezinfekcinėms ir plovimo priemonėms. Tirtos *Candida* rūšys: *C. albicans* (PCA1, PCA2, PTCA3), *C. famata* PCF1, *C. guilliermondii* PCGu1, *C. glabrata* (PCG1, PTCG2), *C. kefyr* PCK1, *C. krusei* PTCKr1, *C. lusitaniae* PCLu1, *C. parapsilosis* (PCP1, PTCP1.1, PTCP1.2), *C. tropicalis* (PCT1, PCT2, PTCT3). Darbas atliktas konsultuojantis su Botanikos instituto Ekonominės botanikos laboratorijos mokslininkais. Tyrimams naudoti eteriniai aliejai:

1. Keturbriaunio čiobrelis (*Thymus pulegioides* L.) (Botanikos institutas, Lietuva) linalolio (L), timolio (T), geraniolio (G/G/N) chemotipai;

2. Paprastojo kadagio (*Juniperus communis* L.) uogų (Botanikos institutas, Lietuva);
3. Paprastojo kadagio (*Juniperus communis* L.) spyglių (Botanikos institutas, Lietuva);
4. Sibirinio kėnio (*Abies sibirica* L.) („Naujoji Barmunė“, Lietuva);
5. Mėta (*Mentha x piperita* L.) 'Zgadka' (Botanikos institutas, Lietuva);
6. Raudonosios monardos (*Monarda didyma* L.) (Botanikos institutas, Lietuva);
7. Paprastojo kmyno (*Carum carvi* L.) 5 skirtingų augimviečių (Kaunas, Nijolė Petraitytė, LŽŪU);
8. Arbatmedžio (*Melaleuca alternifolia* L.) („Naujoji Barmunė“, Lietuva);
9. Citrinų (*Citrus limonum* Risso var. *dulcis* Moris) („Aromatika“, Rusija);
10. Lavandinų (*Lavandula hybrida* Rev.) („Naujoji Barmunė“, Lietuva);
11. Eukalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) („Naujoji Barmunė“, Lietuva);
12. Bergamočių (*Citrus bergamia* Risso Wright&Arn) („Naujoji Barmunė“, Lietuva).

Kontrolė – antigrybiniai preparatai: nistatinas 100 IU (Liofilchem, Italija).

Tyrimams naudotos cheminės dezinfekcinės ir plovimo priemonės:

1. Divodes FG – veikioji medžiaga įvairių alkoholių mišinys (preparatas skirtas naudoti maisto, gėrimų ir pieno pramonei) (JohnsonDiversey, USA);
2. Divosan activ – veikioji medžiaga 5% peracto rūgšties pagrindu (preparatas skirtas maisto produktų perdirbimo įmonėms) (JohnsonDiversey, USA). Naudota 4% koncentracija;
3. Divosan Forte – veikioji medžiaga 15% peracto rūgštis (preparatas skirtas naudoti maisto, gėrimų ir pieno pramonėje) (JohnsonDiversey, USA). Naudota 2% koncentracija;
4. F261 Kloriitii–forte– veikioji medžiaga natrio hipochloritas (preparatas skirtas viešojo maitinimo įstaigų paviršių, indų ir įrengimų dezinfekavimui) (FARMOS, Suomija). Naudota 2,5% koncentracija;

5. Ipa-300 – veiklioji medžiaga izopropanolis (preparatas skirtas kasdieninei įvairių paviršių ir įrengimų dezinfekcijai maisto pramonėje) (FARMOS, Suomija);
6. Oxivir – veiklioji medžiaga vandenilio peroksidas (preparatas skirtas naudoti įvairiose aplinkose) (JohnsonDiversey, USA). Naudota 2,5% koncentracija;
7. Pesetti antibact – veiklioji medžiaga didecildimetilamonio chloridas (preparatas skirtas ligoninių, virtuvių darbinių paviršių dezinfekcijai) (FARMOS, Suomija). Naudota 1% koncentracija;
8. Suma Bac D10 – veiklioji medžiaga ketvirtiniai amonio dariniai (skirta naudoti visiems paviršiams maisto gamybos vietose, visuomenės sveikatos priežiūros įstaigos bei kitose visuomenės paskirties vietose) (JohnsonDiversey, USA). Naudota 2% koncentracija;
9. Tego 2000 – veiklioji medžiaga amfoteriniai junginiai (preparatas skirtas paviršių dezinfekcijai maisto pramonės įmonėse, alaus daryklose, gėrimų, farmacijos ir kosmetikos priemonių gamybos įmonėse) (JohnsonDiversey, USA). Naudota 1% koncentracija;
10. Topax DD – veiklioji medžiaga poliheksametilenbigciamido hidrochloridas (preparatas skirtas paviršių, turinčių kontaktų su maistu, dezinfekcijai) (Ecolab, Vokietija). Naudota 5% koncentracija;
11. Topax U – veiklioji medžiaga amfoteriniai junginiai (skirtas indų, instrumentų rankiniam plovimui) (Ecolab, Vokietija). Naudota 5% koncentracija.

Dezinfekcinės medžiagos tirtos pagal gamintojų teikiamas rekomendacijas ir koncentracijas.

Kontrolė – antigrybinis preparatas: nistatinas 100 IU (Liofilchem, Italija).

Eterinių aliejų, cheminių dezinfekcinių ir plovimo priemonių aktyvumas buvo tirtas diskų difuzijos metodu. Testuojamų mielių ląstelių suspensija buvo lygi McFarlando 1 drumstumo standartui. 1 ml suspensijos įnešamas į 10 ml atvėsintos iki 45–50°C Saburo terpes gerai išmaišoma ir išpilstoma į Petri lėkšteles (90 mm skersmens). Eterinių aliejų ar cheminių dezinfekcinių



priemonių aktyvumo nustatymui į Petri lėkšteles buvo dedami filtrinio popieriaus diskeliai (6 mm skersmens), ant kurių užnešama 10 µl eterinio aliejaus ar dezinfekcinės priemonės. Bandymas buvo atliekamas 3 pakartojimais. Petri lėkštelės su pasėliais inkubuojamos termostate 3 paras 26–28°C temperatūroje. Eterinių aliejų ir dezinfekcinių priemonių aktyvumas įvertinamas pagal mielių augimo slopinimo zonos diametrą (mm). Naudojantis Bauer ir kt. (1966) teikiamomis rekomendacijomis tirtos *Candida* mielės, pagal jautrumą cheminėms dezinfekcinėms priemonėms ir eteriniams aliejams buvo suskirstytos:

1. Jautrias (augimo slopinimo zona >20 mm ir daugiau);
2. Vidutiniškai jautrias (augimo slopinimo zona 10 – 19 mm);
3. Atsparias (augimo slopinimo zona <9 mm ir mažiau).

## **2.8. *Candida* mielių jautrumo antigrybiniais preparatams tyrimai**

Patogeninių *Candida* mielių jautrumas antigrybiniais preparatams tirtas naudojant INTEGRAL SYSTEM LIEVITI (Liofilchem, Italija), FUNGITEST (BIO-RAD, Prancūzija), ATB<sup>®</sup> FUNGUS 2 (Biomérieux, Prancūzija) sistemas ir diskų difuzijos metodu. Tirtos *Candida* rūšys: *C. albicans* (N=20), *C. lusitaniae* (N=4), *C. guilliermondii* (N=2), *C. pseudotropicalis* (N=4), *C. parapsilosis* (N=3), *C. tropicalis* (N=19), *C. glabrata* (N=2), *C. krusei* (N=4).

INTEGRAL SYSTEM LIEVITI (Liofilchem, Italija) sistemoje mielių jautrumo tyrimai atliekami plokštelės duobutėse esančioje skystoje terpėje naudojant 6 antigrybinius preparatus: nistatinas – 200 UI/ml, amfotericinas B – 200 µg/l, flucitozinas – 20 µg/l, ekonazolas – 100 µg/l, ketokonazolas – 100 µg/l, flukonazolas – 100 µg/l. Kilpele nuimama ant Saburo terpės išaugusi atskira mielių kolonija ir išmaišoma mėgintuvėlyje su suspendavimo terpe. Į kiekvieną plokštelės duobutę pernešama po 200 µl suspensijos. Uždenkiama dangteliu ir inkubuojama 37°C temperatūroje 24 val. Mielių jautrumas antigrybiniais preparatams įvertinamas, pagal spalvos duobutėse pasikeitimą.

ATB<sup>®</sup> FUNGUS 2 (Biomérieux, Prancūzija) sistemoje mielių jautrumas įvertinamas skiedimo metodu naudojant 4 antigrybinius preparatus ir skirtingas

jų koncentracijas: flucitozinas – 64 mg/l, 32 mg/l, 16 mg/l, 8 mg/l, 4 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l, 0,5 mg/l, amfotericinas B – 16 mg/l, 8 mg/l, 4 mg/l, 2mg/l, 1 mg/l 0,5mg/l, flukonazolas – 128 mg/l, 64 mg/l, 32mg/l, 16 mg/l, 8 mg/l, 4 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l, 0,5 mg/l, 0,25 mg/l, ir itrakonazolas – 4 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l, 0,5 mg/l, 0,25 mg/l, 0,125 mg/l. Kilpele nuimama ant Saburo terpės išaugusi atskira mielių kolonija, išmaišoma mėgintuvėlyje su fiziologiniu tirpalu. Testuojamų mielių ląstelių suspensija buvo lygi McFarlando 2 drumstumo standartui. 20 µl suspensijos pernešama į kiekvieną plokštelės duobutę. Uždengiama dangteliu ir inkubuojama 37°C temperatūroje 24 val. Nustatoma minimali inhibuojanti (MIC) antigrybinio preparato koncentracija (mg/l) kiekvienai tiriamai mielių padermei.

FUNGITEST (BIO-RAD, Prancūzija) sistemoje mielių jautrumas atliekamas naudojant 6 dviejų skirtingų koncentracijų anti grybinius preparatus: flucitozinas 2 ir 32 µg/ml, amfotericinas B 2 ir 8 µg/ml, mikonazolas 0,5 ir 8 µg/ml, ketokonazolas 0,5 ir 4 µg/ml, itrakonazolas 0,5 ir 4 µg/ml, flukonazolas 8 ir 64 µg/ml. Kilpele nuimama ant Saburo terpės išaugusi atskira mielių kolonija, išmaišoma mėgintuvėlyje su 3 ml sterilaus vandens. Testuojamų mielių ląstelių suspensija buvo lygi McFarlando 1 drumstumo standartui. 100 µl suspensijos įnešama į 1,9 ml sterilaus vandens gerai išmaišoma. 20 µl skiesto inokulianto pernešama į suspendavimo terpę. Į kiekvieną plokštelės duobutę pernešama po 100 µl suspensijos. Uždengiama dangteliu ir inkubuojama 37°C temperatūroje 48 val. Tyrimas atliekamas modifikuotoje terpėje su redukcijos-oksidacijos indikatoriumi. Mielių jautrumas antigrybiniams preparatams įvertinamas pagal spalvos duobutėse pasikeitimą.

Antigrybinių preparatų aktyvumas buvo tirtas diskų difuzijos metodu. Testuojamų mielių ląstelių suspensija buvo lygi McFarlando 1 drumstumo standartui. 1 ml suspensijos įnešamas į 10 ml atvėsintos iki 45–50°C Saburo terpes gerai išmaišoma ir išpilstoma į Petri lėkšteles (90 mm skersmens). Terpei sustingus dedami antigrybinių preparatų diskai. Antigrybinių preparatų koncentracijos diske: nistatinas 100 IU (Liofilchem, Italija), flukonazolas 100 µg (Liofilchem, Italija), flucitozinas 1 µg (Liofilchem, Italija), mikonazolas 10

μg (Liofilchem, Italija), ketokonazolas 10 μg (Liofilchem, Italija), ekonazolas 10 μg (Liofilchem, Italija), itrakonazolas 50 μg (Liofilchem, Italija), klotrimazolas 50 μg (Liofilchem, Italija). Bandytas buvo atliekamas 3 pakartojimais. Petri lėkštelės su pasėliais inkubuojamos termostate 3 paras 26–28°C temperatūroje. Antigrybinių preparatų aktyvumas įvertinamas pagal augimo slopinimo zonos diametrą (mm).

## 2.9. Bakterijų izoliatų poveikio *Candida* mielėms nustatymas

Konsultuojantis su GTC Botanikos instituto Genetikos laboratorijos mokslininkais buvo atliekami naujai išskirtų bakterijų *Pantoea citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) ir *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) padermių poveikio *Candida* mielėms tyrimai. *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) ir *Streptomyces* sp. (Ux) išskirti iš spontaninių vaisių–uogų raugų. *Streptomyces* sp. (Ux308) izoliatas išskirtas GTC Botanikos instituto Biodestruktorių tyrimo laboratorijoje dr. Jūratės Repečkienės iš dirvožemio mėginio (Kryžkalnis, Lietuva).

Bakterijos augintos ant YEPD terpės, kurios sudėtis: gliukozė – 2 g; mielių ekstraktas – 1 g; peptonas – 2 g; agaras – 2 g. Paruošta terpė sterilizuojama ir išpilstoma į Petri lėkšteles. Pasėjamos bakterijos, lėkštelės su pasėliais 3 paras inkubuojamos 26–28°C temperatūroje. Vėliau patikrinamas šių padermių kilerinis aktyvumas. Bakterijų kilerinis aktyvumas nustatomas, pagal testuojamų kamienų gebėjimą suformuoti lizės zonas ant testerinio kamieno gazono. Kadangi visų tipų kileriniai toksinai yra aktyvūs esant pH 4,8 visi eksperimentai buvo atlikti naudojant kilerinio fenotipo testavimui skirtą terpę su metileno mėliu (YPED MB) (pH 4,8) (ZAKHAROV ir kt.,1976). YPED MB terpės sudėtis: mielių ekstraktas – 1 g; peptonas – 2 g; gliukozė – 2 g; citrinų rūgštis – 1,06 g; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 12H<sub>2</sub>O – 3,53 g; H<sub>2</sub>O – 100 ml; nustačius pH 4,8 į terpę pridedama: metileno mėlio – 0,003 g ir agaras – 2 g. Testuojamų mielių ląstelių suspensija buvo lygi McFarlando 1 drumstumo standartui. 1 ml suspensijos įnešamas į 10 ml atvėsintos iki 45–50°C YPED MB terpės gerai išmaišoma ir išpilstoma į Petri lėkšteles (90 mm skersmens). Terpei sustingus

ant paviršiaus tiesiogiai sėjami bakteriniai izoliatai ir kontrolė standartiniai mikocinogeniniai *Saccharomyces cerevisiae* kamienai.

Kontrolė standartiniai mikocinogeniniai *Saccharomyces cerevisiae* kamienai:

K7 (MAT $\alpha$  arg9 [kil-K1]) (SOMERS, BEVAN, 1969);

DBY4975(MAT $\alpha$  ade2 his3-200 leu2-3-112 lys2-801 ura3-52 gal+[kil-K1]) (LEIBOWITZ, WICKNER, 1976);

Romanešti K100 (RomK-100) (wt, HM/HM [kil-K2]) (JOKANTAITĖ ir kt., 1982);

M437 (wt, HM/HM [kil-K2]) (NAUMOVA, NAUMOV, 1973);

K28 (wt, HM/HM [kil-K28]) (SCHMITT, TIPPER, 1990);

MS300 (MAT $\alpha$  leu2 ura3-52 [kil-K28]) (SCHMITT, TIPPER, 1990).

Lėkštelės su testuojamais pasėliais 3 paras inkubuojamos 26–28°C temperatūroje. Pagal lizės zonos dydį (mm) sprendžiama apie testuojamų kamienų kilerinį aktyvumą.

## **2.10. Tyrimo duomenų statistinis apdorojimas**

Tyrimo duomenys statistiškai apdoroti su *SSPS 17* statistine programa, naudojant dispersinę analizę (ANOVA) ir mažiausiai reikšmingo skirtumo kriterijų (LSD). Duomenys statistiškai patikimais laikomi, kai  $p < 0,05$ .

### 3. TYRIMŲ REZULTATAI

#### 3.1. *Candida* mielių paplitimas gamtiniuose substratuose

*Candida* mielių paplitimui dirvožemyje išsiaiškinti, mielės buvo išskiriamos iš įvairių žemdirbystės sistemų sėjomainų dirvožemio. Mielių skaičius sėjomainų dirvožemyje 2006–2007 metais pateikiamas 7 lentelėje.

7 lentelė. Mielių skaičius įvairių žemdirbystės sistemų bei skirtingų sėjomainų dirvožemyje

Agrotechnikos variantai	Priešsėlis (2005 m.)	2006 m.		2007 m.	
		Grikliai		Miežiai	
		Pavasaris	Ruduo	Pavasaris	Ruduo
		Mielė skaičius, ksv/g a.s.d. × 10 <sup>2</sup>			
Tausojamoji	I	7,8±0,2	8,9±0,3	11,0±1,2	27,0±0,1
	II	1,1±0,1	6,8±0,2	10,0±0,3	19,0±0,8
	III	0	1,3±0,1	5,5±0,3	7,8±0,2
	IV	6,6±0,3	2,3±0,1	3,6±0,1	4,2±0,1
Ekologinė	I	3,3±0,1	2,3±0,1	5,4±0,2	6,7±0,3
	II	1,1±0,1	2,3±0,1	3,2±0,1	10,0±0,4
	III	1,1±0,1	2,1±0,1	2,2±0,1	2,4±0,1
	IV	6,6±0,2	15,0±0,6	14,0±0,8	17,0±0,6
Intensyvi	I	9,5±0,3	4,7±0,1	3,3±0,2	3,3±0,1
	II	1,0±0,1	1,6±0,1	0	0
	III	17,0±0,5	11,0±0,4	8,9±0,4	5,5±0,2
	IV	7,0±0,3	6,0±0,1	5,6±0,2	4,4±0,2

Pastaba: I – bulvės, II – žieminiai rugiai+įsėliniai raudonieji dobilai, III – žieminiai rugiai + posėlinės baltosios garstyčios, IV – lubinai sėkloms.

Mielė neaptikta tausojamosios žemdirbystės trečiame sėjomainos variante pavasarį auginant grikius bei intensyvios žemdirbystės antrame variante pavasarį ir rudenį auginant miežius. Visose žemdirbystės sistemose auginant grikius mielių skaičius svyravo nuo  $1,1 \times 10^2$  iki  $15,0 \times 10^2$  ksv/g a.s.d., o auginant miežius nuo  $2,2 \times 10^2$  iki  $27,0 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. Ekologinės agrotechnikos tirtuose variantuose tyrimų metu mielių skaičius tolygiai didėjo nuo  $1,1 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. 2006 metų pavasarį iki  $17,0 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. 2007 metų rudens. Tausojamosios žemdirbystės sistemos pirmame variante išskiriamų mielių skaičius didėjo nuo  $7,8 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. 2006 metų pavasarį iki  $27,0 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. 2007 metų rudenį. Tai didžiausias mielių kiekis

aptiktas šio tyrimo metu. Antrame tausojamąsios žemdirbystės variante mielių skaičius taip pat didėjo nuo  $1,1 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. 2006 metų pavasario iki  $19,0 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. 2007 metų rudens. Trečiame tausojamąsios agrotechnikos variante pavasarį mielių neaptikta, o vėlesnių bandymų metu mielių skaičius pamažu didėjo. Intensyvios žemdirbystės bandymo variantuose nustatytas mielių skaičiaus mažėjimas nuo  $17,0 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. 2006 metų pavasario iki 0 ksv/g a.s.d. – 2007 metų rudenį. Esant intensyviai tręšimui mielės intensyviau vystosi auginant grikius lyginant su miežiais. Tuo tarpu esant minimaliam tręšimui mielių daugiau buvo auginant miežius negu grikius.

Identifikavus dirvožemio mielių izoliatus nustatyta, kad įvairiuose žemdirbystės sistemų dirvožemio mėginiuose *Candida* mielių aptikimo dažnis (AD) auginant grikius buvo 18,6%, o auginant miežius – 18,2% (8 lentelė).

8 lentelė. Mielių izoliatų aptikimo dažnis skirtingose sėjomainose

Mielių rūšys	Aptikimo dažnis, %	
	Grikių	Miežiai
<i>Aureobasidium pullulans</i>	9,3	9,1
<b><i>Candida catenulata</i></b>	<b>18,6</b>	<b>18,2</b>
<i>Cryptococcus laurentii</i>	27,9	29,5
<i>Lipomyces lipofer</i>	9,3	9,1
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	20,9	20,5
<i>Sporobolomyces roseus</i>	14,0	13,6

Kitų rūšių mielių aptikimo dažnis svyravo nuo 9,1% iki 29,5%. Aptiktos *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Lipomyces*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* mielės.

Atlikus kitų įvairių dirvožemio mėginių tyrimus, mielės buvo išskirtos iš visų mėginių. Mielių gausumu išsiskyrė vaismedžių sodų dirvožemiai, mielių skaičius juose svyravo nuo  $131,8 \times 10^2$  iki  $151,1 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. (9 lentelė). Mažiausias mielių skaičius aptiktas ariamo dirvožemio mėginiuose. Juose mielių kiekis svyravo nuo  $1,5 \times 10^2$  iki  $8,0 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. Kultūrinių pievų dirvožemio mėginiuose mielių skaičius svyravo nuo  $2,1 \times 10^2$  iki  $3,2 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. Tirtuose mišrių miškų dirvožemių mėginiuose, Zarasų rajono miško dirvožemyje mielių skaičius siekė  $33,9 \times 10^2$  ksv/g a.s.d., o Vilniaus rajono miško dirvožemio mėginiuose  $37,8 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. mielių.

9 lentelė. Mielių skaičius ir rūšių sudėtis įvairios paskirties dirvožemiuose

Eil. Nr.	Vietovė	Mielių skaičius, ksv/g a.s.d. $\times 10^2$	Mielių rūšys	Aptikimo dažnis, %
Ariamas dirvožemis				
1.	Zarasų raj., Navikų km.	8,0±0,4	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i>	20,7 38,4
2.	Molėtai	6,4±0,2	<i>Lipomyces starkeyi</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	15,4 23,1
3.	Varėnos raj., Šarkiškių km.	2,0±0,1	<i>Rhodotorula minuta</i> , <i>Trichosporon cutaneum</i>	23,1 23,1
4.	Vilniaus raj., Akmeniškės	1,5±0,9	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Sporobolomyces roseus</i>	38,4 15,4
Vaismedžių sodų dirvožemis				
5.	Vilniaus raj., Akmeniškės	131,8±1,2	<b><i>Candida catenulata</i></b> , <i>Cryptococcus laurentii</i>	<b>15,4</b> 38,4
6.	Molėtai	141,1±1,4	<b><i>Candida maltosa</i></b> , <i>Cryptococcus laurentii</i>	<b>15,4</b> 38,4
7.	Zarasų raj., Navikų km.	151,1±1,3	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <b><i>Candida catenulata</i></b>	20,7 <b>15,4</b>
Miško dirvožemis				
8.	Zarasų raj., Navikų km.	33,9±1,9	<i>Trichosporon cutaneum</i> , <i>Rhodotorula minuta</i>	23,1 23,1
9.	Varėnos raj., Šarkiškių km.	45,5±1,3	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Trichosporon cutaneum</i>	38,4 23,1
10.	Vilniaus raj., Akmeniškės	37,8±1,2	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <b><i>Candida maltosa</i></b>	20,7 <b>15,4</b>
Kultūrinės pievos dirvožemis				
11.	Varėnos raj., Šarkiškių km.	3,2±0,1	<i>Lipomyces starkeyi</i> , <i>Sporobolomyces roseus</i>	15,4 15,4
12.	Zarasų raj., Navikų km.	2,1±0,1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	20,7

Identifikavus mielių izoliatus išskirtus iš įvairios paskirties dirvožemio nustatyta, jog *Candida* mielės dažniau yra aptinkamos vaismedžių sodų dirvožemyje. *C. catenulata* Diddens & Lodder ir *C. maltosa* Komag., Nakase & Katsuya buvo aptinkamos vienodu – 15,4% dažnumu. Kitų genčių mielių aptikimo dažnis svyravo nuo 15,4% iki 38,4%.

*Candida* mielių paplitimui vandenyje išsiaiškinti mielės buvo išskiriamos iš įvairių vandens telkinių. Mielių aptikta visuose tirtuose vandens telkiniuose. Mielių skaičius vandens telkiniuose svyravo nuo  $0,05 \times 10^2$  iki  $137,6 \times 10^2$  ksv/ml (10 lentelė).

10 lentelė. Mielių skaičius ir rūšių sudėtis įvairiuose vandens telkiniuose

Telkinio pavadinimas	Mielių skaičius, ksv/ml×10 <sup>2</sup>	Mielių rūšys	Aptikimo dažnis, %
Ežerai			
Bebrusų (Molėtų raj.)	1,8±0,5	<i>Aureobasidium pullulans</i>	40,9
Galvės (Trakų raj.)	44,2±0,3	<i>Rhodospiridium diobovatum</i>	31,8
Kirneilio (Molėtų raj.)	4,1±0,7	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Rhodospiridium diobovatum</i>	22,7 31,8
Luokesos (Molėtų raj.)	3,7±0,8	<i>Trichosporon aquatile</i>	22,7
Naujasodžio (Zarasų raj.)	3,6±0,3	<i>Rhodospiridium diobovatum</i>	31,8
Sartų (Zarasų raj.)	42,1±2,1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	40,9
Siesarties (Molėtų raj.)	2,3±0,9	<i>Rhodospiridium diobovatum</i>	31,8
Totoriškių (Trakų raj.)	38,5±0,4	<b><i>Candida boidinii</i></b> , <i>Cryptococcus laurentii</i>	<b>15,4</b> 22,7
Vencavo (Zarasų raj.)	2,8±0,2	<i>Aureobasidium pullulans</i>	40,9
Upės			
Geluža (Varėnos raj., Valkininkai)	0,2±0,04	<i>Cryptococcus laurentii</i>	22,7
Kruoja (Pakruojo raj.)	2,5±0,9	<i>Aureobasidium pullulans</i>	40,9
Merkys (Varėnos raj. Matuizos)	1,4±0,04	<i>Rhodospiridium diobovatum</i>	31,8
Nemunas (Kaunas)	101,4±1,9	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Issatchenkia orientalis</i>	40,9 19,4
Neris (Vilnius)	137,6±2,3	<b><i>Candida pararugosa</i></b> , <i>Trichosporon aquatile</i>	<b>17,6</b> 22,7
Nevėžis (Panevėžio raj.)	9,5±0,4	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i>	40,9 22,7
Šalčia (Varėnos raj., Matuizos)	0,4±0,01	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Rhodospiridium diobovatum</i>	40,9 31,8
Širvinta (Širvintų raj.)	1,8±0,2	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Rhodospiridium diobovatum</i>	22,7 31,8
Šventoji (Zarasų raj.)	3,7±0,08	<i>Trichosporon aquatile</i>	22,7
Kiti vandens telkiniai			
Šuliniai, tvenkiniai	nuo 0,05±0,001 iki 0,1±0,1	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Trichosporon aquatile</i>	40,9 22,7

Tirtų stambiausių upių vandenyje mielių rasta daugiau negu ežerų vandenyje. Daugiausia mielių aptikta upėse ties didžiaisiais Lietuvos miestais: Neryje ties Vilniumi – 137,6×10<sup>2</sup> ksv/ml, Nemune ties Kaunu – 101,4×10<sup>2</sup>



ksv/ml. Mažiausiai mielių buvo upėse Gelužoje ties Valkininkais –  $0,2 \times 10^2$  ksv/ml, ir Šalčioje ties Matuizomis –  $0,4 \times 10^2$  ksv/ml. Iš ežerų daugiausia mielių aptikta Galvės ež. –  $44,2 \times 10^2$  ksv/ml, Sartų ež. –  $42,1 \times 10^2$  ksv/ml, Totoriškių ež. –  $38,5 \times 10^2$  ksv/ml. Mažiausias mielių skaičius buvo Bebrusų ež. –  $1,8 \times 10^2$  ksv/ml ir Vencavo ež. –  $2,8 \times 10^2$  ksv/ml. Mielių skaičiui vandenyje gali turėti reikšmės jo užterštumas.

Identifikavus iš vandens mėginių išskirtus mielių izoliatus *Candida* priklausančios rūšys aptiktos Neries upėje *Candida pararugosa* Nakase, Komag. & Fukaz., jų aptikimo dažnis 15,4% (10 lentelė). Iš Totoriškių ežero išskirtos *C. boidinii* C. Ramírez., jos aptiktos 17,6% dažnumu. Vandens mėginiuose buvo aptiktos *Aureobasidium*, *Trichosporon*, *Rhodosporidium* ir *Cryptococcus* mielės.

Mielės buvo išskiriamos nuo augalų lapų. Identifikavus mielių izoliatus išskirtus iš augalų filoferos nustatyta, kad *Candida* mielės yra dažniau aptinkamos ant žolinių augalų lapų (11 lentelė). *Candida sake* (Saito & M. Ota) Uden & H.R. Buckley ex S.A. Mey. & Ahearn aptiktos ant medžių – *Fraxinus excelsior*, *Hedera helix* bei žolinių *Urtica dioica*, *Alliaria petiolata* ir *Arctium tomentosum* augalų lapų.

11 lentelė. Mielių rūšių sudėtis augalų filioferoje Verkių regioniniame parke

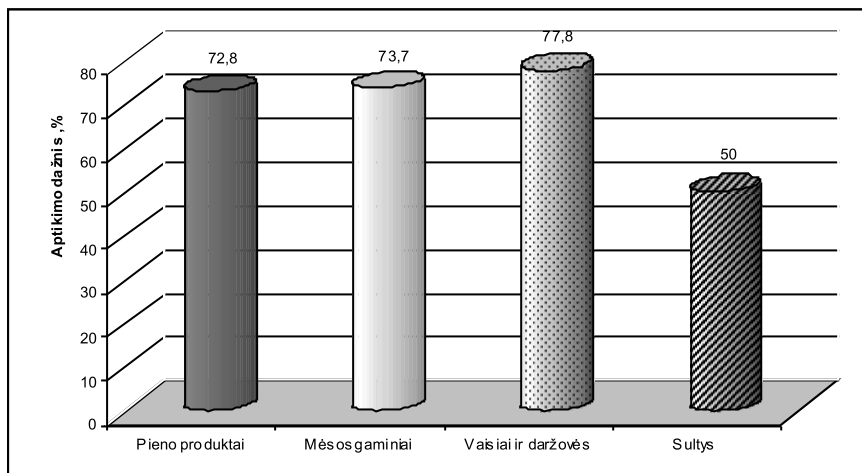
Augalas	Mielių rūšys											
	<i>R. mucilaginosa</i>	<i>A. pullulans</i>	<i>M. pulcherrima</i>	<i>P. membranifaciens</i>	<i>D. hansenii</i> var.	<i>P. anomala</i>	<i>T. delbrueckii</i>	<i>T. pullulans</i>	<i>S. roseus</i>	<i>C. sake</i>	<i>C. oleophila</i>	
1	2	3	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
Medžiai												
<i>Acer platanoides</i> L.	+	+	+									
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	+	+				+				+		
<i>Larix decidua</i> Mill.	+	+										
<i>Malus sylvestris</i> Mill.	+	+				+						
<i>Pinus sylvestris</i> L.	+	+										
<i>Populus x canescens</i> (Aiton) Sm.	+	+					+					
<i>Quercus robur</i> L.	+	+		+								
<i>Salix alba</i> L.	+	+					+		+			
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	+	+		+								
<i>Tilia cordata</i> Mill.	+	+	+									
<i>Ulmus laevis</i> Pall.	+	+				+						
Krūmai ir puskrūmiai												
<i>Corylus avellana</i> L.	+	+					+					
<i>Cornus sanguinea</i> L.	+	+	+			+						
<i>Euonymus verrucosus</i> Scop.	+	+	+					+				
<i>Hedera helix</i> L.	+	+										
<i>Hippophae rhamnoides</i> L.	+	+							+			
<i>Lonicera xylosteum</i> L.	+	+				+						
<i>Parthenocissus quinquefolia</i> (L.) Planch.	+	+										+
<i>Philadelphus coronarius</i> L.	+	+			+							
<i>Rubus caesius</i> L.	+	+	+									
<i>Sambucus nigra</i> L.	+	+										
<i>Syringa vulgaris</i> L.	+	+				+						
Žoliniai augalai												
<i>Aegopodium podagraria</i> L.	+	+			+							
<i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara et Grande.)	+	+				+						
<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	+	+										+
<i>Arctium tomentosum</i> Mill.	+	+	+							+		
<i>Bromus hordaceus</i> L.	+	+		+								
<i>Carduus crispus</i> L.	+	+							+			
<i>Chenopodium polyspermum</i> L.	+	+				+						
<i>Convallaria majalis</i> L.	+	+					+					
<i>Glechoma hederacea</i> L.	+	+										
<i>Humulus lupulus</i> L.	+	+	+									
<i>Impatiens parviflora</i> DC.	+	+		+								+

1	2	3	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Lamium album</i> L.	+	+									+
<i>Malva alcea</i> L. subsp. <i>excisa</i> (Rchb.)	+	+					+				
<i>Persicaria lapathifolia</i> (L.) Gray	+	+				+					
<i>Plantago major</i> L.	+	+				+					
<i>Ranunculus acris</i> L.	+	+	+								
<i>Rumex acetosa</i> L.	+	+			+						
<i>Taraxacum officinale</i> F.H.Wigg.	+	+	+			+					
<i>Trifolium pratense</i> L.	+	+	+								+
<i>Urtica dioica</i> L.	+	+								+	

*Candida oleophila* Montrocher buvo aptiktos ant krūmų – *Parthenocissus quinquefolia*, žolinių augalų – *Impatiens parviflora*, *Lamium album*, *Anthriscus sylvestris* ir *Trifolium pratense* lapų.

### 3.2. *Candida* mielių paplitimas maisto produktuose

Tyrimų metu iš maisto produktų (mėsos ir pieno produktų, sulčių ir nealkoholinių gėrimų, vaisių ir daržovių) buvo išskirti 256 mielių izoliatai. Mielės dažniausiai buvo aptiktos ant vaisių ir daržovių aptikimo dažnis (AD) – 77,8% (2 pav.).



2 pav. Mielių izoliatų aptikimo dažnis (%) maisto produktuose.

Vaisių ir uogų sudėtyje esantys dideli angliavandenių bei kitų maistingųjų medžiagų kiekiai, tinkamas pH ir vandens aktyvumas sudaro palankias sąlygas vystytis įvairioms mielių rūšims (TOURNAS, KATSODAS, 2005). Įvairios mielių rūšys yra prisitaikę prie baltymais, lipidais, angliavandeniais ir organinėmis rūgštimis turtingų substratų, tokių kaip pieno ir mėsos produktai

(LOPANDIC ir kt., 2006). Tirtuose pieno ir mėsos produktuose mielės aptiktos 72,8% ir 73,7% dažnumu.

Galiojančioje Lietuvos higienos normoje HN26:2006 „Maisto produktų mikrobiologiniai kriterijai“ atskiras normatyvas mielėms nepateiktas. Tirtuose maisto produktuose mielių kolonijas sudarančių vienetų (ksv) skaičius buvo nevienodas (12 lentelė).

12 lentelė. Mielių skaičius įvairiuose maisto produktuose

Maisto produktų pavadinimas	Mielių skaičius, ksv ml/g
Pasterizuoto pieno produktai	$(0,7-6) \times 10^3$
Rauginto pieno produktai	nuo 6 iki $1,6 \times 10^4$
Sviestas	$(1,2-4,3) \times 10^2$
Sūriai	$(0,5-0,9) \times 10^3$
Ledai	$(1-7) \times 10^3$
Termiškai apdoroti mėsos produktai	$(0,1-2,7) \times 10^3$
Termiškai neapdoroti mėsos produktai	$(0,02-4,5) \times 10^3$
Vaisiai ir daržovės	$(8-9,6) \times 10^3$
Sultys	$(0,5-3,2) \times 10^3$

Didžiausiu mielių gausumu išsiskyrė rauginto pieno produktai, kuriuose mielių skaičius siekė iki  $1,4-1,6 \times 10^4$  ksv/ml. Tarptautinės Pienininkystės Federacijos standartuose ir Lietuvos raugintų pieno gaminių kokybės reikalavimuose siūloma, kad minimalus mielių skaičius kefyre būtų  $10^4$  ksv/ml. Mažiausias mielių skaičius aptiktas svieste  $1,2-4,3 \times 10^2$  ksv/g. Tirtuose mėsos produktuose mielių skaičius buvo panašus: termiškai apdorotuose mėsos produktuose  $0,1-2,7 \times 10^3$  ksv/g, termiškai neapdorotuose mėsos produktuose mielių skaičius siekė  $0,02-4,5 \times 10^3$  ksv/g. Vaisiuose ir daržovėse mielių skaičius svyravo nuo  $8 \times 10^3$  iki  $9,6 \times 10^3$  ksv/ml.

Atlikus išskirtų mielių izoliatų identifikaciją nustatyta, jog didžiausia mielių rūšių įvairovė pasižymėjo rauginto pieno produktai: jogurtai ir varškė (13 lentelė).

13 lentelė. Mielių genčių pasiskirstymas pieno produktuose

Produktas	<i>Candida</i>	<i>Dekkera</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Kluyvero- myces</i>	<i>Pichia</i>	<i>Saccharo- myces</i>	<i>Torula- spora</i>	Kitos
	Gentys, %							
Pasterizuotas pienas	16,6	-	16,6	16,6	16,6	-	16,6	16,6
Sutirštintas pienas	33,3	-	-	-	-	33,3	-	33,3
Jogurtas	17	11	17	7	14	14	4	16
Kefyras	-	20	20	-	40	-	-	20
Varškė	7,5	7,5	2,5	35	17,5	10	5	15
Grietinė	9	9	9	46	-	-	9	18
Sviestas	25	-	50	-	25	-	-	-
Sūriai	33,3	-	-	33,3	-	-	-	33,3
Ledai	20	-	20	40	20	-	-	-

*Candida* mielės pieno produktuose sudarė nuo 7,5% iki 33,3% tarp kitų mielių. Išskirta 10 *Candida* rūšių: *C. inconspicua* Lodder & Kreger-van Rij) S.A. Mey. & Yarrow, *C. intermedia* (Cif. & Ashford) Langeron & Guerra, *C. magnoliae* Lodder & Kreger-van Rij) S. A. Mey. & Yarrow, *C. parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice, *C. rhagii* (Diddens & Lodder) Jurzitza, Köhlw. & Kreger-van Rij, *C. saitoana* Nakase & M. Suzuki, *C. sake*, *C. sorboxylosa* Nakase, *C. vini* (J. N. Vallot ex Desm.) Uden & H. R. Buckley ex S. A. Mey & Ahearn, *C. zeylanoides* (Castell.) Langeron & Guerra. Kitų rūšių mielės sudarė nuo 4% iki 50%.

Tirtuose mėsos gaminiuose *Candida* mielės sudarė nuo 14,4% iki 31% tarp kitų mielių (14 lentelė).

14 lentelė. Mielių genčių pasiskirstymas mėsos gaminiuose.

Mielių gentys	Mėsos gaminiai	
	Terminiškai apdoroti, %	Terminiškai neapdoroti, %
<i>Candida</i>	31	14,4
<i>Debaryomyces</i>	35,7	11,9
<i>Pichia</i>	26,2	7,1
<i>Torulaspota</i>	9,5	2,4
Kitos	16,8	2,4

Mėsos produktuose aptikta 10 *Candida* rūšių: *C. albicans* (C.P. Robin) Berkhout, *C. magnoliae*, *C. parapsilosis*, *C. pararugosa*, *C. rugosa* (H.W.

Anderson) Diddens & Lodder, *C. saitoana*, *C. sake*, *C. versatilis* (Etchells & T.A. Bell) S.A. Mey. & Yarrow, *C. vini*, *C. zeylanoides*. Kitų rūšių mielės sudarė nuo 2,4% iki 35,7%.

Mielės buvo aptiktos ant visų tirtų daržovių. *Candida* mielės išskirtos nuo burokėlių, morkų ir pomidorų (15 lentelė).

15 lentelė. Mielių rūšių įvairovė ir jų aptikimo dažnis daržovėse

Daržovės	Mielių rūšys	Aptikimo dažnis, %
Agurkai	<i>Sporobolomyces roseus</i>	9,7
Bulvės	<i>Lipomyces lipofer</i>	18,5
Burokėliai	<b><i>Candida maltosa</i>,</b> <i>Lipomyces lipofer</i>	<b>15,7</b> 18,5
Cukinijos	<i>Pichia guilliermondii</i> ,	20,5
	<i>Rhodotorula mucilaginos</i>	14,5
Kopūstai	<i>Pichia anomala</i>	24,5
Morkos	<b><i>Candida pararugosa</i>,</b> <i>Rhodotorula graminis</i>	<b>17,6</b> 14,8
Pomidorai	<b><i>Candida parapsilosis</i>,</b> <i>Pichia anomala</i>	<b>12,7</b> 24,5

Nuo pomidorų buvo išskirtos *Candida parapsilosis*, jų aptikimo dažnis – 12,7%. Ant burokėlių buvo aptiktos *C. maltosa*, kurių AD – 15,7%. Nuo morkų išskirtos dviejų rūšių mielės: *Candida pararugosa* ir *Rhodotorula graminis* Di Menna.

Atlikus vaisių ir uogų mielių rūšių sudėties tyrimus, mielių neaptikta ant 'Auksio' veislės obuolių, 'Greitukių' veislės slyvų, 'Vietinė rūgščiosios' veislės vyšnių, bei 'Olandų raudonųjų' veislės serbentų (16 lentelė).

16 lentelė. Mielių rūšių įvairovė ir jų aptikimo dažnis vaisiuose ir uogose

Vaisiai ir uogos, veislė	Mielių rūšys	Aptikimo dažnis, %
Baltieji serbentai 'Olandų baltieji'	<b><i>Candida sake</i></b>	<b>25,7</b>
Juodieji serbentai 'Minai Smyriov'	<i>Pichia guilliermondii</i>	20,4
Kriaušės 'Mramornaja'	<b><i>Candida parapsilosis</i>,</b> <i>Sporobolomyces roseus</i>	<b>15,9</b> 19,8
Obuoliai 'Antaninis'	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> ,	9,6
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5,8
Obuoliai 'Auksis'	neaptikta	-
Obuoliai 'Lode'	<i>Aureobasidium pullulans</i> ,	14,8
	<i>Pichia guilliermondii</i>	20,4
Raudonieji serbentai 'Olandų	neaptikta	-

raudonieji'		
Slyvos 'Dabrovickio vengrinė'	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida pelliculosa</i>	14,8 <b>9,8</b>
Slyvos 'Greitukė'	neaptikta	-
Vyšnios 'Vietinė rūgščioji'	neaptikta	-
Vyšnios 'Vytėnų žvaigždė'	<i>Aureobasidium pullulans</i>	14,8

*Candida* mielių aptikimo dažnis ant vaisių ir uogų svyravo nuo 9,8% iki 25,7%. *Candida pelliculosa* Redaelli buvo paplitusios ant 'Dabrovickio vengrinės' slyvų, jų AD – 9,8%. Nuo 'Olandų baltųjų' baltųjų serbentų buvo išskirta *Candida sake*. Ant 'Mramornaja' kriaušių aptiktos *Candida parapsilosis* ir *Sporobolomyces roseus*.

Atlikus vaisių sulčių ir 5 pavadinimų gazuotų vaisvandenių tyrimus, mielių vaisvandeniuose neaptikta. *Candida* mielės buvo aptiktos obuolių, apelsinų ir ananasų sultyse. *C. sake* aptikta obuolių sultyse (Elmenhorster, Lietuva). *C. parapsilosis* buvo išskirta iš apelsinų sulčių (Cido, Latvija). Ananasų sultyse (Elmenhorster, Lietuva) aptikta *C. sake*.

### 3.3 *Candida* mielių paplitimas gyvenamojoje ir darbo aplinkoje

Tirtose gyvenamosiose patalpose aptiktų mielių skaičius pateikiamas 17 lentelėje. Tyrimų metu mielių aptikta visuose tirtuose butuose. Gyvenamosiose patalpose mielių skaičius svyravo nuo 1 iki 19 kvs/m<sup>3</sup> oro (17 lentelė).

17 lentelė. Mielių skaičius gyvenamosiose patalpose

Ėminių paėmimo vieta	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	Vidurkis
	Mielė skaičius, kvs/m <sup>3</sup>										
Virtuvė	9,0±1 ,43,8	7,0± 1,4	7,5±0 ,7	8,0±1	11,0± 1,4	6,0±1 ,4	6,5±1 ,5	6,5± 1,9	5,0±0	17,5± 0,7	8,2±1 ,8
Gyven. kambarys	6,5±2 ,1	6,0± 1,4	8,5±0 ,7	0	19,0± 0	8,0±0	6,5±0 ,7	11,0± 0	8,0±1 ,4	0	5,8±1 ,7
Vonia	0	1,0±0	3,5±1 ,1	3,5±0 ,7	1,5±0 ,7	4,0±1 ,8	5,5±1 ,5	0	2,5±0 ,7	7,0± 1,4	3,6±0 ,3
Koridorius	4,5±0 ,7	0	5,0±0	0	1,5± 0,7	3,0±1 ,4	8,0±1 ,4	5,0±0	3,5±0 ,7	6,5± 0,7	3,7±0 ,3
Miegamasis	5,5±0 ,7	8,0±2 ,0	5,5±1 ,2	5,5±0 ,7	9,5± 0,7	7,0±1 ,4	0	15,0± 2,1	7,5±0 ,7	7,5± 0,7	5,9±0 ,3

Pastaba: A–J tirti butai.

Daugiausiai mielių aptikta virtuvių ore, jų skaičius siekė nuo 5,0 iki 17,5 ksv/m<sup>3</sup> oro. Mažiausiai mielių buvo vonios patalpų ore nuo 0 iki 5,5 ksv/m<sup>3</sup> oro, o iš A ir H butų vonios patalpų mielių neišskirta. Koridoriaus patalpų ore mielių skaičius svyravo nuo 0 iki 8,0 ksv/m<sup>3</sup> oro. Iš B ir D butų koridoriaus patalpų oro mielių nebuvo išskirta. Miegamojo kambario patalpų ore mielių skaičius svyravo nuo 5,5 iki 15 ksv/m<sup>3</sup> oro, o iš G buto miegamojo kambario patalpų oro mielių nebuvo išskirta.

Gyvenamųjų patalpų ore buvo aptiktos 3 rūšių *Candida* mielės: *Candida parapsilosis*, *C. oleophila* ir *C. sake* (18 lentelė).

18 lentelė. Mielių rūšys ir jų aptikimo dažnis gyvenamosiose patalpose

Mielių rūšys	Aptikimo dažnis, %
<i>Aureobasidium pullulans</i>	22,6
<b><i>Candida oleophila</i></b>	<b>4,8</b>
<b><i>Candida parapsilosis</i></b>	<b>16,1</b>
<b><i>Candida sake</i></b>	<b>6,5</b>
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	29,0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11,3
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	6,5
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	3,2

Dažniausiai aptinkamos buvo *C. parapsilosis* jų aptikimo dažnis AD – 16,1%. Tyrimų metu buvo išskirtos *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Sporobolomyces* ir *Torulaspora* mielės.

Gamybinių patalpų ore aptiktų mielių skaičius pateikiamas 19–20 lentelėse. Gamybinių patalpų ore mielės išskirtos ne visose mėginių paėmimo vietose. Tiriamuoju laikotarpiu „NB Europe“ įmonės gamybinių patalpų ore aptiktų mielių skaičius svyravo nuo 40 iki 120 ksv/m<sup>3</sup> oro (19 lentelė).

„NB Europe“ įmonės pūtimo ceche ir iš transporterio magistralės rudenį ir žiemą mielių nebuvo išskirta. Iš ruošinių gamybos cecho ir gatavos produkcijos sandėlio patalpų oro mielės buvo aptiktos visais metų laikais. Išskirtos *Candida parapsilosis*, *Aureobasidium pullulans*, *Rhodotorula mucilaginosa* (19 lentelė).



19 lentelė. Mielių skaičius ir rūšių sudėtis UAB „NB Europe“ gamybinėse patalpose

Ėminių paėmimo vieta	Mielių skaičius, ksv/m <sup>3</sup>				Mielių rūšys
	Žiema	Pavasaris	Vasara	Ruduo	
Pūtimo cechas	-	120,0±16,5	40±1,0	-	<i>Candida parapsilosis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
Ruošinių gamybos cechas	12,0±0	40,0±0	10±1,0	50±1,0	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
Oras iš transporterio magistralės	-	40,0±0	20±1,0	-	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
Gatavos produkcijos sandėlis	4,0±0	10,0±0	60±1,0	80±1,0	<i>Candida parapsilosis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
Lauko oras (kontrolė)	-	20,0±0	15,0±0	10±2,0	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>

Kontroliniame mėginyje – lauko ore mielių ląstelių neaptikta tik žiemą, kitais metų laikais mielių skaičius svyravo nuo 10 iki 20 ksv/m<sup>3</sup> oro.

Atliktų tyrimų UAB „Žalmargės pieno“ gamybinių patalpų ore metu mielių ląstelių kiekis svyravo nuo 0 iki 53,3 ksv/m<sup>3</sup> oro (20 lentelė).

UAB „Žalmargės pieno“ gamybinėse patalpose aptiktos *Candida*, *Saccharomyces*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* ir *Geotrichum* mielės. Kontroliniame variante – lauko ore mielių skaičius svyravo nuo 20,0 iki 80,0 ksv/m<sup>3</sup> oro. Daugiausiai 53,3 ksv/m<sup>3</sup> mielių išskirta iš aparatinės patalpų oro. Minėtose patalpose buvo aptiktos: *Candida glabrata* (H.W. Anderson) S.A. Mey. & Yarrow ir *Rhodotorula mucilaginosa* (20 lentelė).

20 lentelė. Mielių skaičius ir rūšių sudėtis UAB „Žalmargės pienas“ gamybinėse patalpose

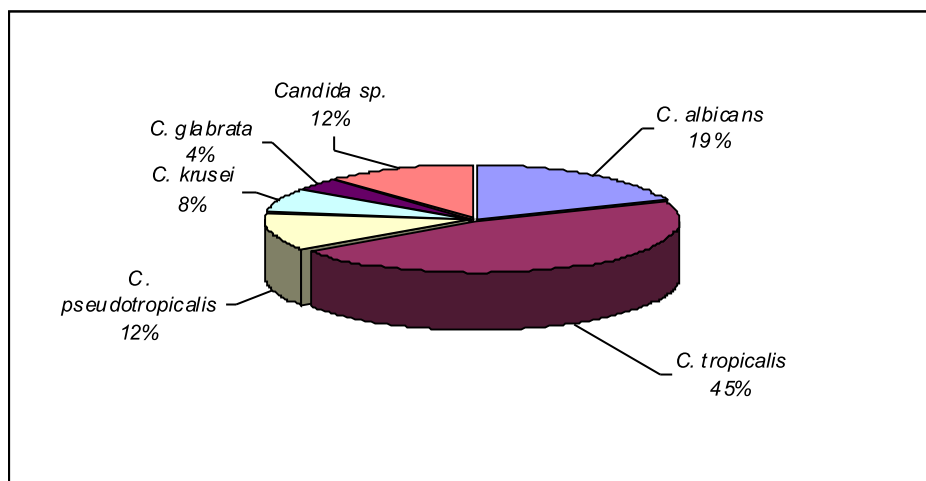
Ėminių paėmimo vieta	Mielių skaičius, ksv/m <sup>3</sup>	Mielių rūšys
Kazeino gamybos cechas	20,3±3,7	<i>Candida utilis</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Trichosporon cutaneum</i>
Lieso pieno cechas	-	-
Fasavimo cechas	-	-
Sviesto gamybos cechas	12,0±0	<i>Candida utilis</i>

Aparatinė	53,3±1,3	<i>Candida glabrata</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
Buitinės patalpos	10,2±1,8	-
Tunelis	-	-
Lauko oras (kontrolė)	20,0±1,0	<i>Candida glabrata</i> , <i>Geotrichum fermentans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Didžiausia mielių rūšių įvairovė nustatyta kazeino gamybos cecho patalpose. Čia išskirtos: *Candida utilis* (Henneberg) Lodder & Kreger-van Rij, *C. glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* ir *Trichosporon cutaneum* (Beurm., Gougerot & Vaucher bis) M. Ota. Sviesto gamybos ceche buvo aptiktos tik *Candida utilis*. Kontroliniame variante lauko ore aptikta *Candida glabrata*, *Geotrichum fermentans*, *Saccharomyces cerevisiae*.

### 3.4. *Candida* mielių paplitimas tarp sergančiųjų dermatomikozėmis

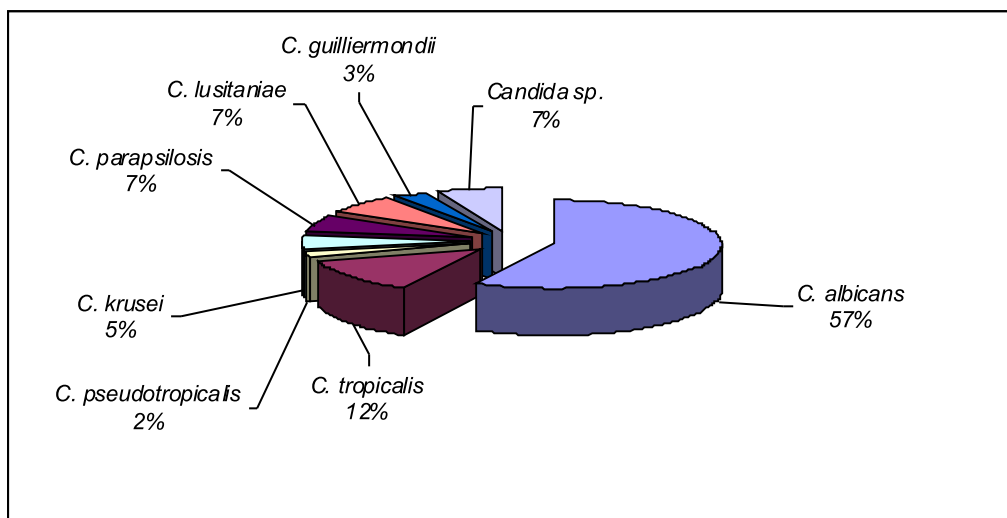
Bendradarbiaujant su VšĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Dermatovenerologijos klinikos darbuotojais 2005–2006 metais *Candida* mielės buvo išskiriamos iš ligonių sergančių paviršinėmis grybinėmis odos ligomis patologinės medžiagos. 2005 metais tirtas 31 ligonis, kuriems pagrindinis paviršinių mikozinių susirgimų sukėlėjas buvo *Candida* mielės. Iš jų 28 moterys ir 3 vyrai. Identifikavus išskirtas mieles išaiškinta, kad 2005 m. tarp sergančiųjų mikozėmis labiausiai paplitusios buvo *Candida tropicalis* (Castell.) Berkhout, jos aptiktos daugiau negu 40% tirtų ligonių (3 pav.).



3 pav. *Candida* paplitimas (%) tarp sergančiųjų paviršinėmis grybinėmis odos ligomis, 2005 m.

Antrą vietą tarp grybinių odos ir nagų ligų sukėlėjų 2005 metais užėmė *C. albicans*, kurių AD – 19,2%. Kiek rečiau buvo aptiktos *C. pseudotropicalis* (Castell.) Basgal, jų AD – 11,6% ligonių. Rečiausiai, kaip pagrindiniai grybinės ligos sukėlėjai buvo sutinkamos *C. krusei* (Castell.) Berkhout – 7,7% ir *C. glabrata* – 3,8%.

2006 metais tirtas 61 ligonis, kuriems *Candida* mielės nustatytos kaip pagrindiniai paviršinių grybinių odos ir nagų ligų sukėlėjai. Iš jų 49 moterys ir 12 vyrų. Dažniausiai aptinkamos 2006 metais mikozių sukėlėjos buvo *C. albicans*, jos išskirtos – 57,0% ligonių (4 pav.).

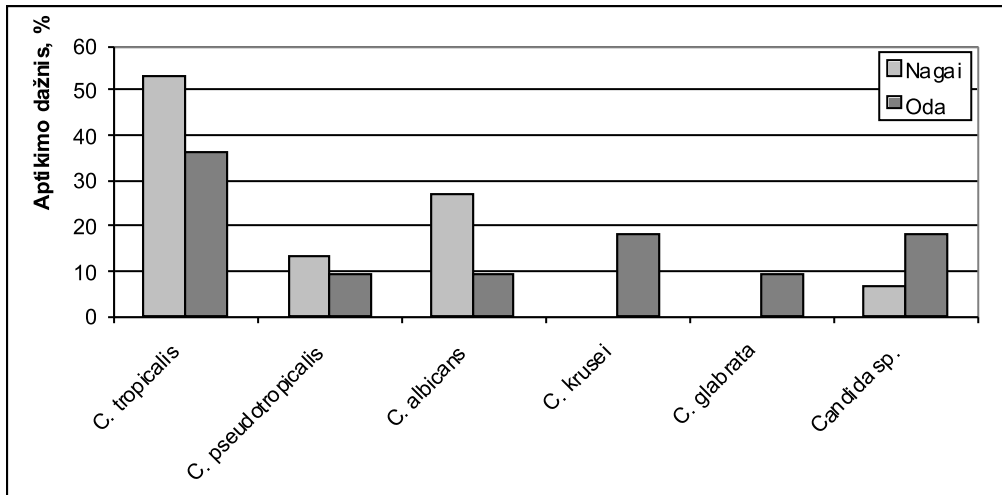


4 pav. *Candida* paplitimas (%) tarp sergančiųjų paviršinėmis grybinėmis odos ligomis, 2006 m.

*C. tropicalis* išskirtos iš 13,0% sergančiųjų paviršinėmis mikozeimis. Kaip pagrindiniai grybinės ligos sukėlėjai *C. parapsilosis* bei *C. lusitanae* Uden & Carmo Souza mielės išskirtos vienodu 6,5% dažnumu. 2006 metais tarp sergančiųjų mikozeimis *C. krusei* mielės aptiktos tik 4,9% dažnumu. Rečiausiai 2006 metais, kaip pagrindiniai grybinės ligos sukėlėjai buvo sutinkamos *C. guilliermondii* (Castell.) Langeron & Guerra mielės tik 3,2% ligonių.

2005 metais nagų ir odos patologinėje medžiagoje dominavo *C. tropicalis* AD 53,3% ir 36,4% atitinkamai (5 pav.). *C. albicans* nagų patologinėje medžiagoje buvo aptinkamos 26,6% dažnumu. Tiriamuoju laikotarpiu *C. glabrata* ir *C. krusei*, kaip pagrindiniai sukėlėjai buvo išskirtos tik iš odos

mėginių (18,1%). *C. albicans*, *C. glabrata* ir *C. pseudotropicalis* odos patloginėje medžiagoje buvo aptinkamos vienu 9,0% dažnumu.



5 pav. *Candida* paplitimas (%) skirtingoje patloginėje medžiagoje 2005 m.

Pagrindinis grybinių nagų ir odos susirgimų sukėlėjas patloginėje medžiagoje 2006 m buvo *C. albicans* (21 lentelė). Rankų nagų patloginėje medžiagoje jos aptiktos 58,8%, kojų nagų – 70,0%, odos – daugiau kaip 40% ligonių.

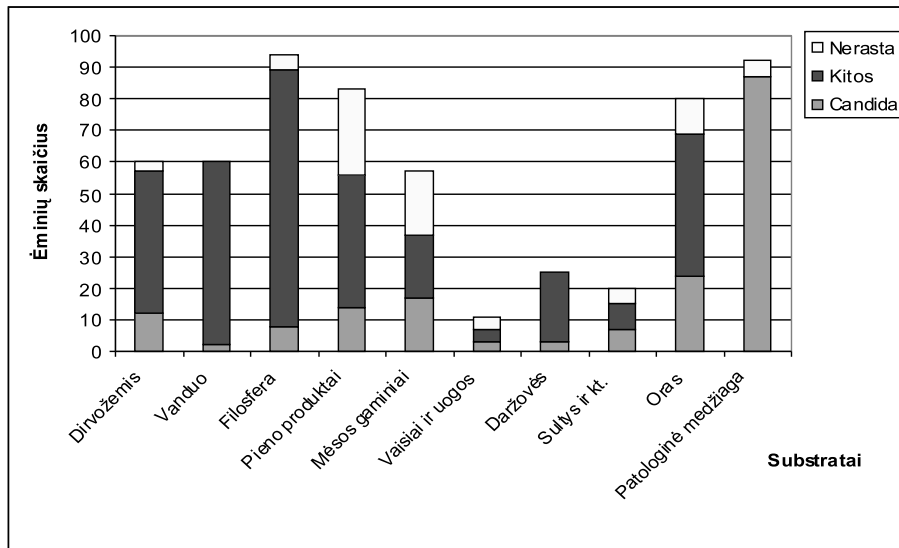
21 lentelė. *Candida* paplitimas skirtingoje patloginėje medžiagoje 2006 metais

Sukėlėjas	Aptikimo dažnis, %		
	Rankų nagai	Kojų nagai	Oda
<i>Candida albicans</i>	58,8	70,0	47,1
<i>Candida guilliermondii</i>	5,8	-	-
<i>Candida intermedia</i>	2,9	-	-
<i>Candida krusei</i>	-	-	17,6
<i>Candida lusitaniae</i>	2,9	20,0	5,9
<i>Candida parapsilosis</i>	5,8	10,0	-
<i>Candida pseudotropicalis</i>	2,9	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	8,8	-	29,4
<i>Candida sp.</i>	11,8	-	-

*C. guilliermondii*, *C. intermedia*, *C. pseudotropicalis* ir *C. tropicalis* mielės, kaip pagrindiniai sukėlėjai išskirtos tik iš rankų nagų patloginės medžiagos (nuo 2,9% iki 8,8% ligonių) (20 lentelė). Kojų nagų patloginėje medžiagoje be *Candida albicans* (70,0%) dar buvo išskirtos *C. lusitaniae* (20,0%) ir *C. parapsilosis* (10,0%) mielės. *C. krusei* nagų patloginėje

medžiagoje aptiktos nebuvo, tačiau sukėlė odos susirgimus daugiau kaip 17% ligonių.

Mūsų tyrimų metu buvo ištirta 627 mėginiai iš įvairių substratų (dirvožemio, vandens, atmosferos, maisto produktų, gyvenamosios ir darbo aplinkos, pataloginės medžiagos). *Candida* mielės buvo aptiktos visuose tirtuose substratuose (6 pav.).



6 pav. *Candida* mielių paplitimas įvairiuose substratuose

Tyrimų metu iš įvairių substratų, žmogaus pataloginės medžiagos bei jį supančios aplinkos buvo išskirtos 26 *Candida* genties rūšys (22 lentelė). Gamtiniuose substratuose (dirvožemyje, vandenyje, atmosferoje) aptiktos 6 *Candida* genties priklausančios rūšys. Augalų atmosferoje labiau paplitusios buvo *Candida oleophila* mielės. Iš vandens mėginių buvo išskirtos *Candida pararugosa* ir *C. boidinii* mielės.

22 lentelė. *Candida* rūšių įvairovė tirtuose substratuose

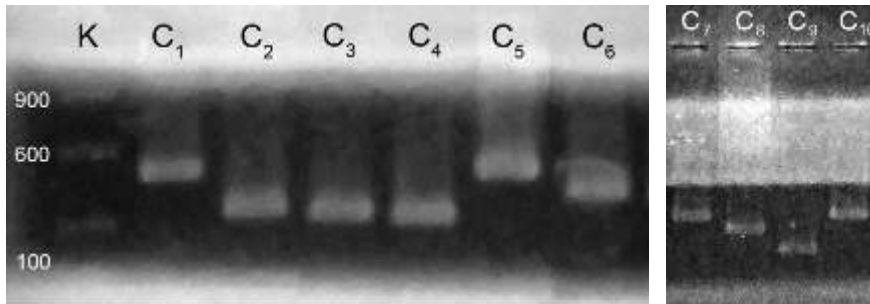
<i>Candida</i> rūšys	Dirvo- žemis	Vanduo	Filosfera	Maisto produktai	Gyvenamųjų patalpų oras	Gamybinių patalpų oras	Patologinė medžiaga
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>C. albicans</i>	-	-	-	+	-	-	+
<i>C. boidinii</i>	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. catenulata</i>	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-	-	+	+
<i>C. guilliermondii</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. inconspicua</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. intermedia</i>	-	-	-	+	-	-	+
<i>C. krusei</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. lusitaniae</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. magnoliae</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. maltosa</i>	+	-	-	+	-	-	-
<i>C. oleophila</i>	-	-	+	-	+	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>C. pararugosa</i>	-	+	-	+	-	-	-
<i>C. pseudotropicalis</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. pelliculosa</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. rhagii</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. rugosa</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. saitoana</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. sake</i>	-	-	+	+	+	-	-
<i>C. sorboxylosa</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. utilis</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>C. versatilis</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. vini</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. zeylanoides</i>	-	-	-	+	-	-	+
<b>Iš viso</b>	2	2	2	16	3	3	10

Didžiausia *Candida* rūšių įvairovė nustatyta maisto produktams, iš jų buvo išskirta 16 rūšių. Kaip paviršinių mikozijų sukėlėjai, buvo išskirta 10 *Candida* rūšių. Gyvenamųjų ir gamybinių patalpų oro tyrimų metu buvo išskirtos 5 *Candida* priklausančios rūšys.

### 3.5 Diagnostinių sistemų ir polimerazės grandininės reakcijos PGR metodo taikymas mielių identifikacijoje

Mielių padermių (N=20) sisteminė priklausomybė buvo nustatoma taikant molekulinis genetinius metodus. Mielių padermių identifikacijai pritaikytas polimerazės grandininės reakcijos (PGR) metodas naudojant ITS4 ir ITS5 regiono pradmenis. Pirmiausia buvo pagausinta taikininė tiriamų mielių

padermių DNR (7 pav.). Gautų DNR fragmentų dydžiai svyravo nuo 100 iki 600 bp.



7 pav. Mielių padermių PGR produktų dydžiai: K – DNR dydžio standartas, C<sub>1</sub> – *Clavispora lusitanae*, C<sub>2</sub> – *Candida pararugosa*, C<sub>3</sub> – *Candida tropicalis*, C<sub>4</sub> – *Candida parapsilosis*, C<sub>5</sub> – *Candida zeylanoides*, C<sub>6</sub> – *Debaryomyces hansenii*, C<sub>7</sub> – *Yarrowia lipolytica*, C<sub>8</sub> – *Candida oleophila*, C<sub>9</sub> – *Pichia guilliermondii*, C<sub>10</sub> – *Candida albicans*.

Gautos tiriamų rūšių DNR sekos buvo palygintos su sekomis esančiomis elektroninėje Nacionalinio biotechnologijos informacijos centro NCBI Genų banko BLAST duomenų bazėje. Remiantis gautais rezultatais nustatyta, kad tirtos mielės priklauso *Yarrowia*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Clavispora* ir *Pichia* gentims. Lyginant mielių padermių DNR sekas gautas 97%–100% mielių rūšių panašumo procentas.

Identifikavus mieles dažniausiai medicininėje praktikoje naudojamomis diagnostinėmis sistemomis nustatyta, kad naudotų sistemų patikimumas identifikuojant įvairias mielių rūšis svyravo 70%–85% ribose. Diagnostinių sistemų gamintojai teigimu sistemų patikimumas siekia 99,8%. Mielių padermių identifikacijai naudojant „Auxacolor® 2“ rinkinį išaiškinta, kad po 48 valandų inkubacijos rūšių tapatumas buvo 70% lyginant su PGR metodu (23 lentelė). Skirtingai identifikuotos 6 mielių rūšys. Identifikuojant mieles su „Fungichrom®“ diagnostine sistema nustatyta, kad po 24 valandų inkubavimo rūšių tapatumas – 85% lyginant su PGR metodu. Skirtingai identifikuotos tik 3 mielių rūšys.

23 lentelė. Mielių rūšių identifikavimo palyginimas naudojant PGR metodą ir diagnostines sistemas

Eil. Nr.	PGR metodas	„api® 20 C AUX“	„Auxacolor® 2“	„Fungichrom®“
1.	<i>Y. lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>
2.	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>
3.	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>
4.	<i>Y. lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>
5.	<i>Cl. lusitaniae</i>	<i>C. lusitaniae</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. lusitaniae</i>
6.	<i>D. hansenii</i>	<i>C. famata</i>	<i>C. famata</i>	<i>C. famata</i>
7.	<i>C. pararugosa</i>	<i>C. rugosa</i>	<i>C. kefir</i>	<i>S. cerevisiae</i>
8.	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
9.	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
10.	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
11.	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>
12.	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>
13.	<i>D. hansenii</i>	<i>C. famata</i>	<i>C. famata</i>	<i>C. famata</i>
14.	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>
15.	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>
16.	<i>P. guilliermondii</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. guilliermondii</i>
17.	<i>P. guilliermondii</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. lusitaniae</i>	<i>C. guilliermondii</i>
18.	<i>C. pararugosa</i>	<i>C. rugosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
19.	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>
20.	<i>C. oleophila</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. sake</i>	<i>C. glabrata</i>

Dažniausiai grybines ligas sukeliančias *Candida albicans*, *C. parapsilosis* ir *C. tropicalis* mielių rūšys diagnostinėmis sistemomis identifikuojamos gana greitai. Rečiau pasitaikančių patogeninių mielių rūšių tokių kaip *Candida zeylanoides*, *Clavispora lusitaniae* ir *Pichia guilliermondii* identifikavimas gali užtrukti dėl papildomų testų atlikimo. Mielių identifikacijai naudojamos diagnostinės sistemomis, dažniausiai yra pritaikytos mediciniškai svarbioms mielių rūšims identifikuoti be to jos neatspindi tikrosios sisteminė mielių padėties, nes ji nuolat keičiasi ir gamintojai nespėja įdiegti sisteminių naujų ir diagnostinių sistemų programas arba rinkinius.

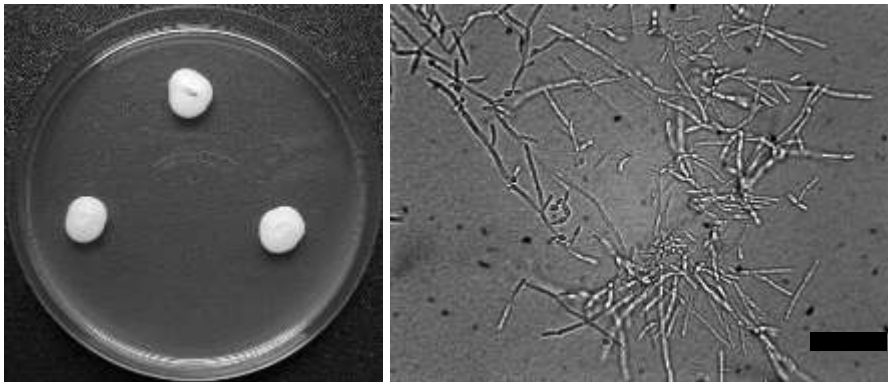


### 3.6 *Candida* mielių morfologiniai savitumai

Skyrelyje pateikiami iš įvairių substratų išskirtų 26 *Candida* rūšių morfologiniai aprašymai.

#### ***Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, 1923**

Kultivuojant *C. albicans* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, blizgančios, lygiu paviršiumi ir kraštu, kreminės konsistencijos (8 pav., A). Mikroskopuojant matomos pailgai ovalios, kiaušiniškos formos ląstelės  $(3,1-6,6) \times (4,0-7,5) \mu\text{m}$  (8 pav., B). Formuoja pseudomicelį. Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai suformuoja plėvelę ir nuosėdas.



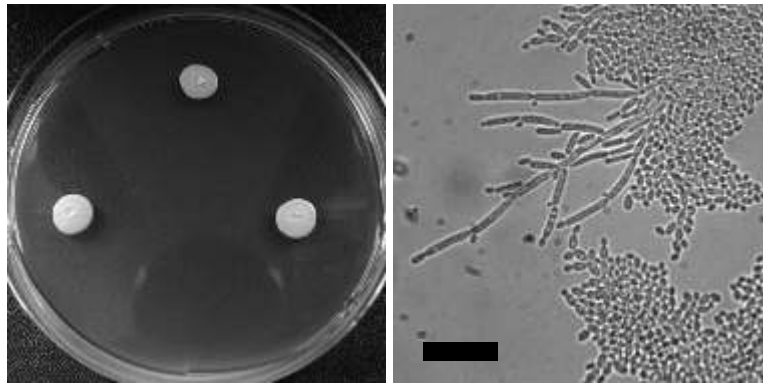
A

B

8 pav. *Candida albicans* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala –  $50 \mu\text{m}$ .

#### ***Candida boidinii* C. Ramírez, 1953**

Kultivuojant *C. boidinii* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos baltos spalvos, lygiu paviršiumi, minkštos, kreminės konsistencijos (9 pav., A). Mikroskopuojant matomos pailgai ovalios  $(2,2-4,1) \times (4,1-18,5) \mu\text{m}$  formos ląstelės (9 pav., B). Formuoja pseudomicelį. Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai suformuoja plėvelę.



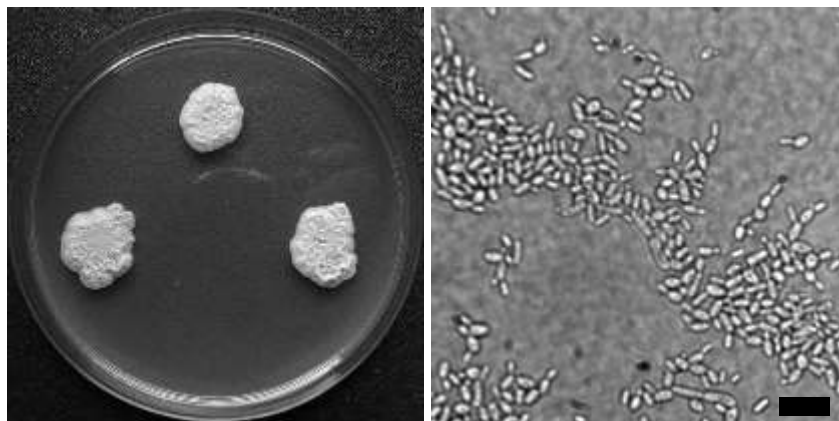
A

B

9 pav. *Candida boidinii* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 50  $\mu\text{m}$ .

### ***Candida catenulata* Diddens & Lodder, 1942**

Kultivuojant *C. catenulata* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos kreminės spalvos, minkštos, raukšlėtos, banguotu kraštu (10 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios, cilindriškos (1,4–3,9) x (4,2–10,1)  $\mu\text{m}$  formos, ląstelės (10 pav., B). Formuoja pseudomicelij. Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai susiformuoja plėvelė.



A

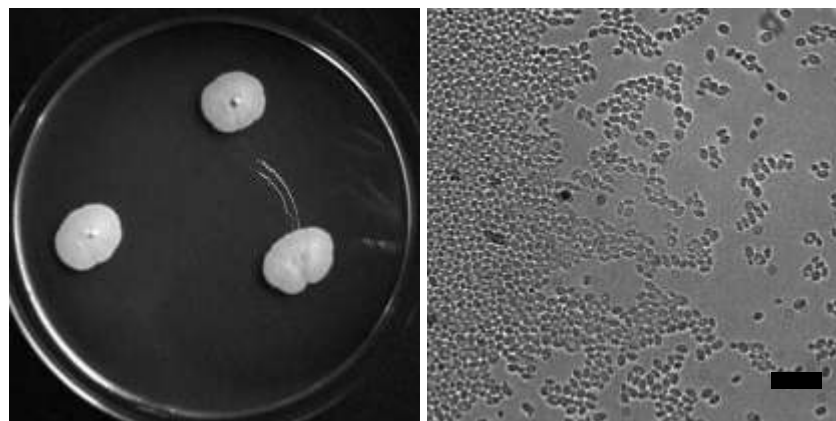
B

10 pav. *Candida catenulata* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

### ***Candida glabrata* (H.W. Anderson) S.A. Mey. & Yarrow, 1978**

Kultivuojant *C. glabrata* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, minkštos, juostuotos, blizgančios ir lygiu kraštu (11 pav., A). Mikroskopuojant matomos

kiaušiniškos (2,2–4,0) x (3,1–5,7)  $\mu\text{m}$  formos, pavienės ląstelės (11 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro žiedą, suformuoja plėvelę ir nuosėdas.



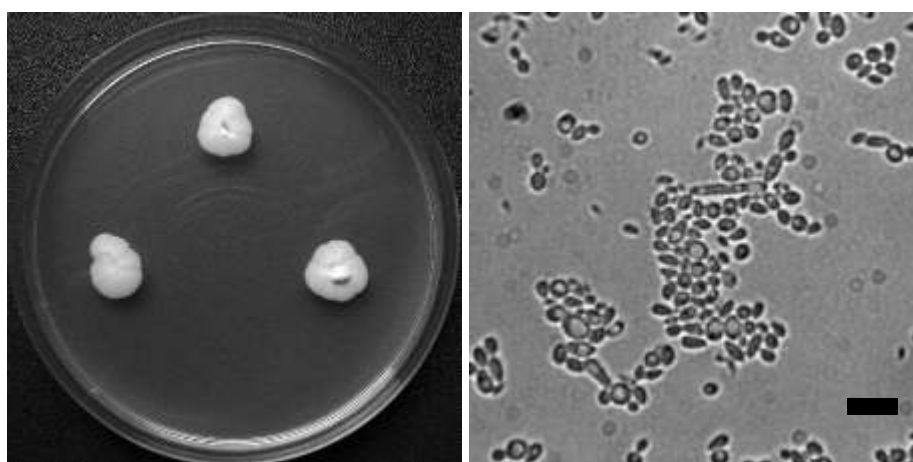
A

B

11 pav. *Candida glabrata* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

#### ***Candida guilliermondii* (Castell.) Langeron & Guerra, 1938**

Kultivuojant *C. guilliermondii* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, minkštos, lygios (12 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios (1,8–4,4) x (2,0– 14,8)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (12 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro žiedą. Teleomorfa – *Pichia guilliermondii*.



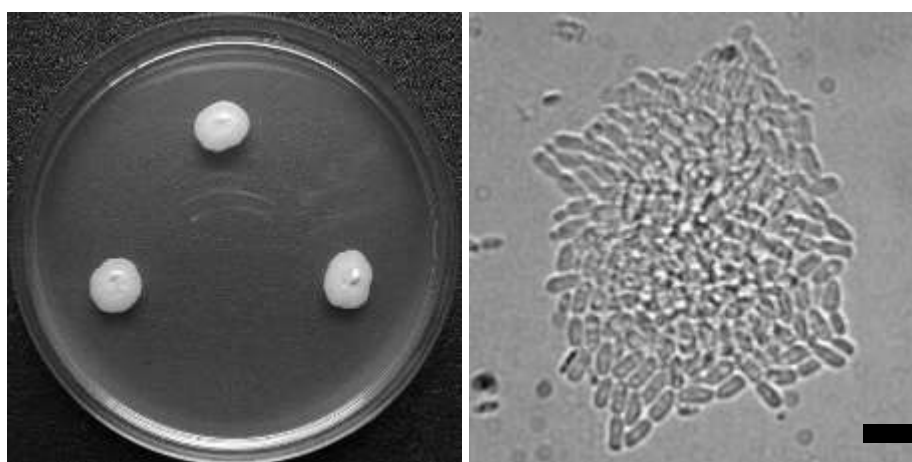
A

B

12 pav. *Candida guilliermondii* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida inconspicua* (Loder & Kreger-van Rij) S.A. Meyer & Yarrow, 1978**

Kultivuoiant *C. inconspicua* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna pilkšvai baltos spalvos, minkštos, juostuotos (13 pav., A). Mikroskopuojant matomos kiaušiniškos  $(1,4-5,1) \times (5,5-10,7)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės (13 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai sudaro nuosėdas.



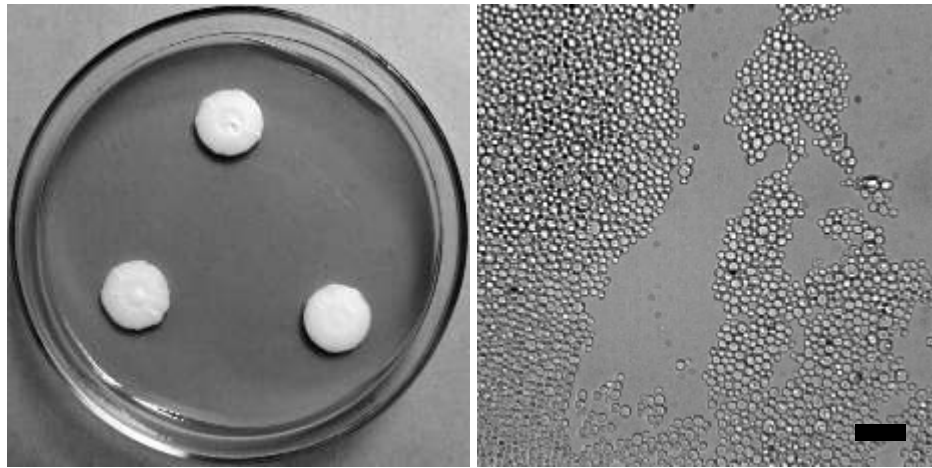
A

B

13 pav. *Candida inconspicua* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida intermedia* (Cif. & Ashford) Langeron & Guerra**

Auginant *C. intermedia* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi (14 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios  $(2,2-4,2) \times (3,1-6,2)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės (14 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai sudaro plėvelę.



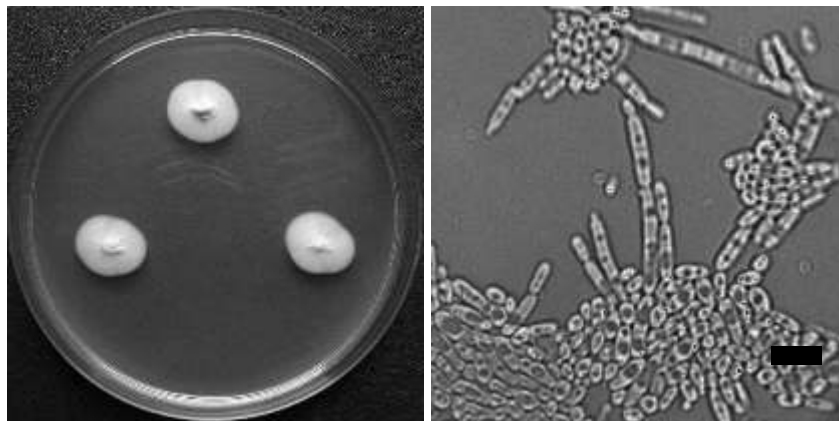
A

B

14 pav. *Candida intermedia* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida krusei* (Castell.) Berkhout, 1923**

Auginant *C. krusei* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi viduryje susiraukšlėjusi (15 pav., A). Mikroskopuojant matomos kiaušiniškos, pailgos  $(1,9\text{--}6,2) \times (3,4\text{--}13,7)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės (15 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro plėvelę. Teleomorfa – *Issatchenkia orientalis*.



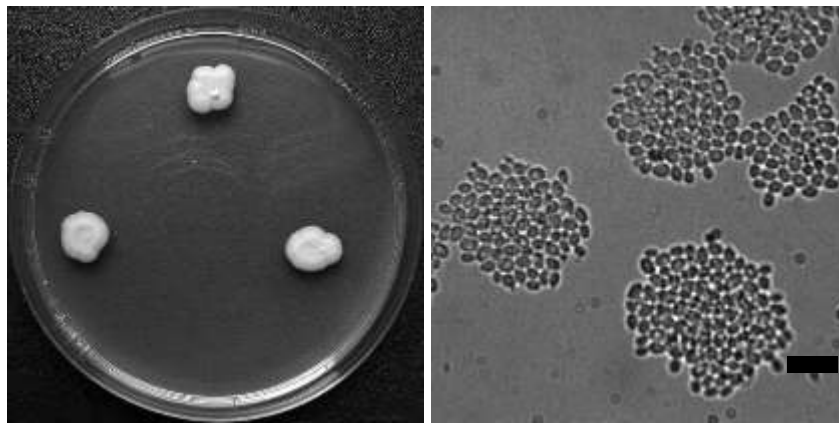
A

B

15 pav. *Candida krusei* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida lusitaniae* Uden & Carmo Souza ,1959**

Auginant *C. lusitaniae* ant morfologinio agarų terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, blizgančios, minkštos, banguotu kraštu (16 pav., A). Mikroskopuojant matomos kiaušiniškos  $(2,0-5,9) \times (3,1-10,2)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės (16 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai sudaro žiedą ir nuosėdas. Teleomorfa – *Clavispora lusitaniae*.



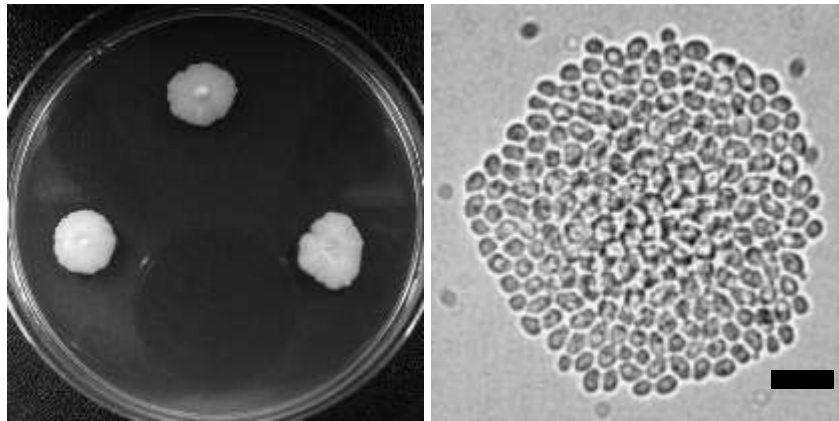
A

B

16 pav. *Candida lusitaniae* kolonijos ant mielių morfologinio agarų (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 30  $\mu\text{m}$ .

***Candida magnoliae* (Loder & Kreger-van Rij) S.A. Meyer & Yarrow, 1978**

Auginant *C. magnoliae* ant morfologinio agarų terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, kreminės konsistencijos, lygiu paviršiumi (17 pav., A). Mikroskopuojant matomos apvalios  $(2,2-4,3) \times (3,2-4,4)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės (17 pav., B). Pseudomicelio neformuoja. Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai nesudaro žiedo, plėvelės ir nuosėdų.



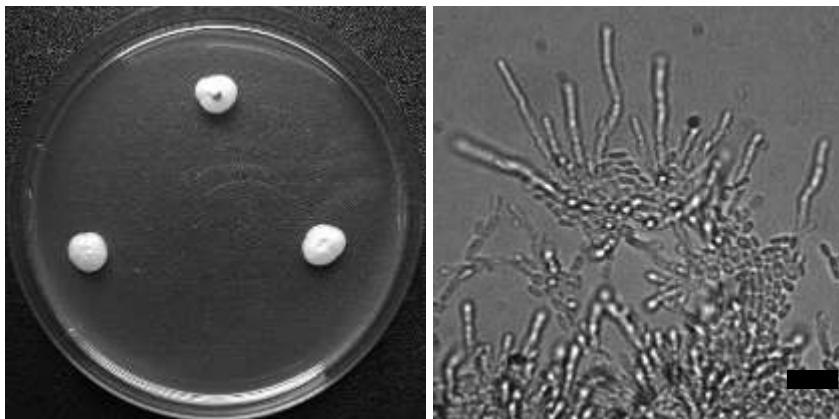
A

B

17 pav. *Candida magnoliae* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida maltosa* Komag., Nakase & Katsuya, 1964**

Auginant *C. maltosa* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, kreminės konsistencijos, juostuotos (18 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios  $(3,2-5,3) \times (4,2-6,4)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės, formuoja pseudomicelį (18 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro nuosėdas.



A

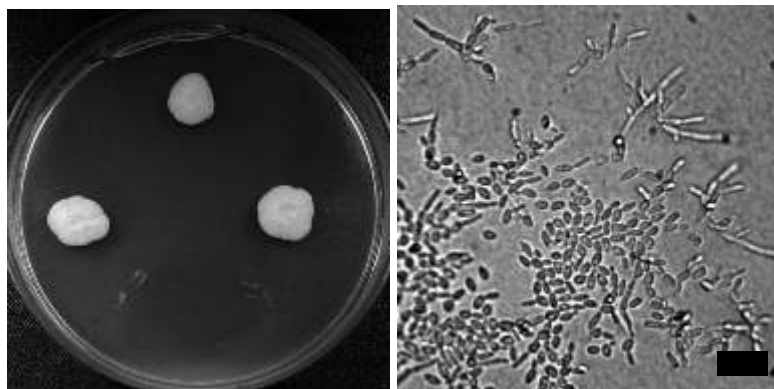
B

18 pav. *Candida maltosa* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida oleophila* Montrocher, 1967**

Auginant *C. oleophila* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, juostuotos,

kreminės konsistencijos, lygiu paviršiumi (19 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios (2,9–4,2) x (4,2–6,4)  $\mu\text{m}$ , pailgos formos ląstelės (19 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro plėvelę.



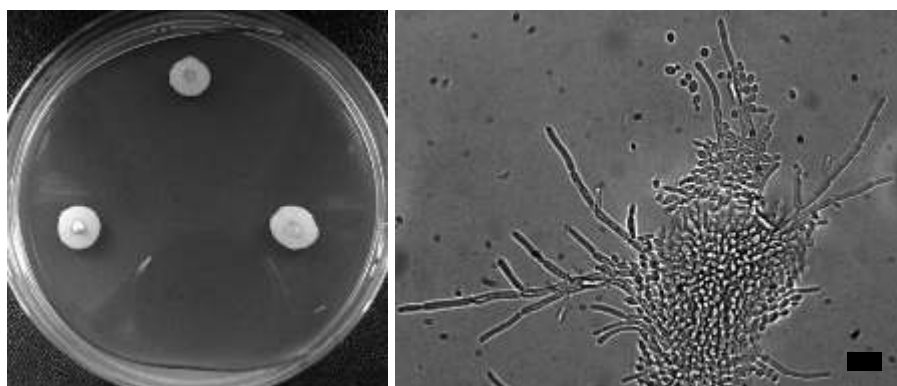
A

B

19 pav. *Candida oleophila* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

#### ***Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice, 1932**

Auginant *C. parapsilosis* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi (20 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios, elipsiškos, pailgos (3,2–4,1) x (4,9–7,5)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (20 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro žiedą ir suformuoja nuosėdas.



A

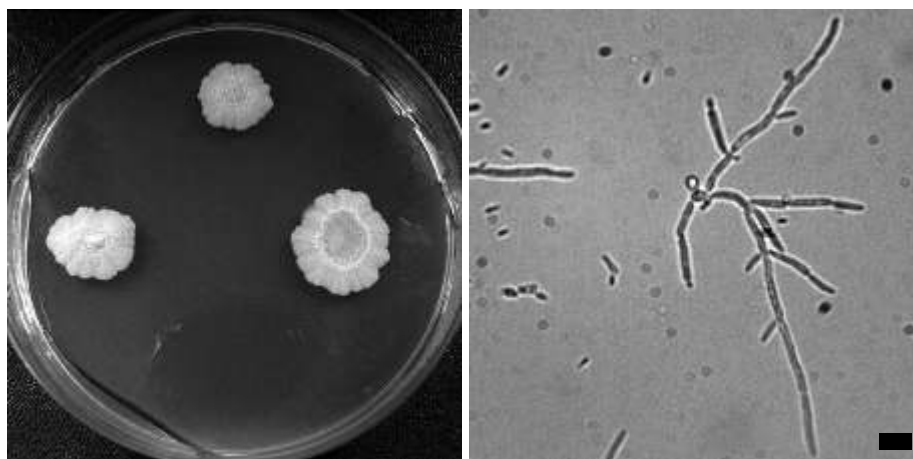
B

20 pav. *Candida parapsilosis* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .



***Candida pararugosa* Nakase, Komagata & Fukazawa, 1978**

Auginant *C. pararugosa* ant morfologinio agarų terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, nelygiu paviršiumi, banguotu kraštu (21 pav., A). Mikroskopuojant matomos cilindriškos  $(1,4-2,4) \times (5,7-15,0) \mu\text{m}$  formos, pavienės ląstelės (21 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai suformuoja plėvelę.



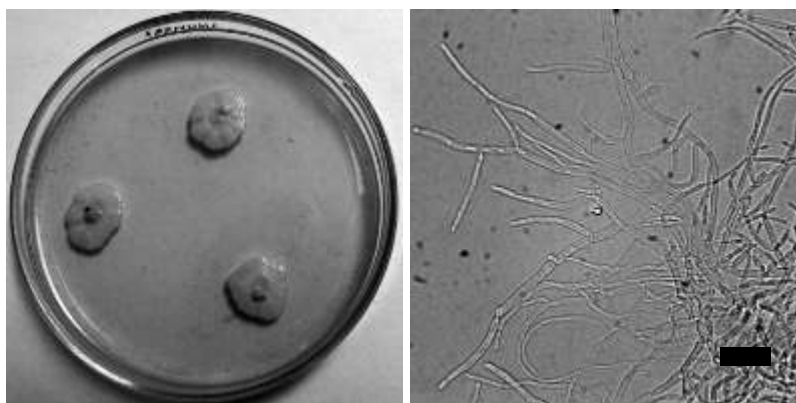
A

B

21 pav. *Candida pararugosa* kolonijos ant mielių morfologinio agarų (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala –  $20 \mu\text{m}$ .

***Candida pseudotropicalis* (Castell.) Basgal, 1931**

Auginant *C. pseudotropicalis* ant morfologinio agarų terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi (22 pav., A). Mikroskopuojant matomos cilindriškos, elipsės  $(2,4-6,2) \times (3,1-11,4) \mu\text{m}$  formos ląstelės (22 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai suformuoja plėvelę, nuosėdas ir žiedą. Teleomorfa – *Kluyveromyces marxianus*.



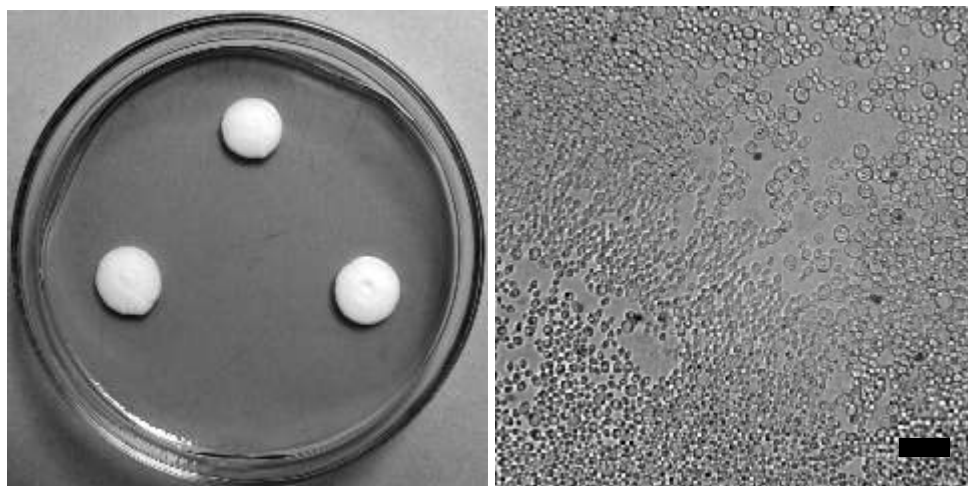
A

B

22 pav. *Candida pseudotropicalis* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

### ***Candida pelliculosa* Redaelli**

Auginant *C. pelliculosa* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi (23 pav., A). Mikroskopuojant matomos pailgos (1,8–3,8) x (2,0–16,7)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (23 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro plėvelę. Teleomorfa – *Pichia anomala*.



A

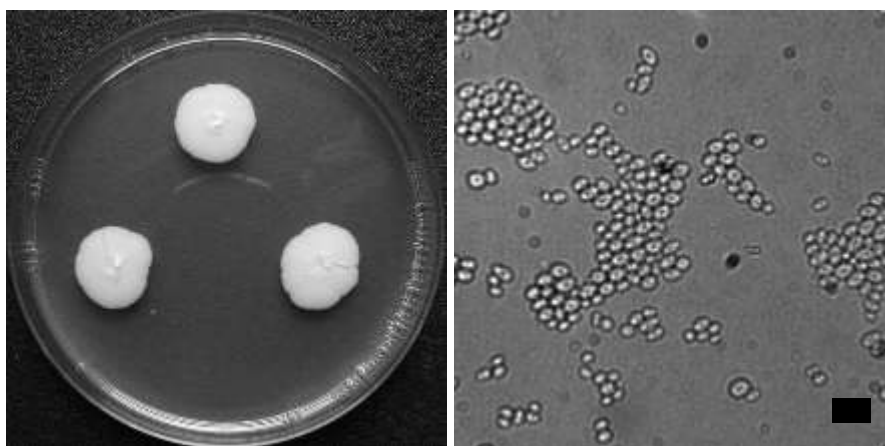
A

23 pav. *Candida pelliculosa* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

### ***Candida rhagii* Jurzitza, Kühlwein & Kreger-van Rij, (1960)**

Auginant *C. rhagii* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi, banguotu

kraštu (24 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios (2,1–3,9) x (5,7–15,0)  $\mu\text{m}$  formos, pavienės ląstelės (24 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai nesudaro plėvelės, žiedo ir nuosėdų.



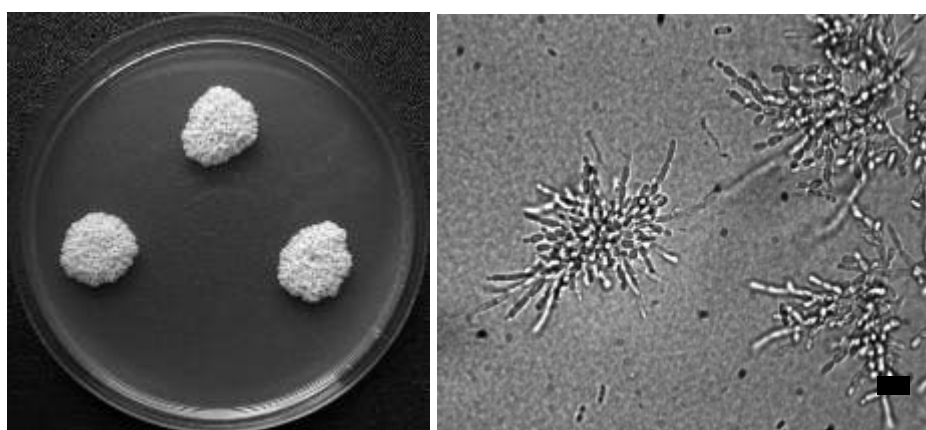
A

B

24 pav. *Candida rhagii* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida rugosa* (H.W. Anderson) Diddens & Lodder, 1942**

Auginant *C. rugosa* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, raukšlėtos nelygiu kraštu (25 pav., A). Mikroskopuojant matomos kiaušiniškos, pailgos (1,5–2,4) x (4,9–9,7)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (25 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai suformuoja plėvelę.



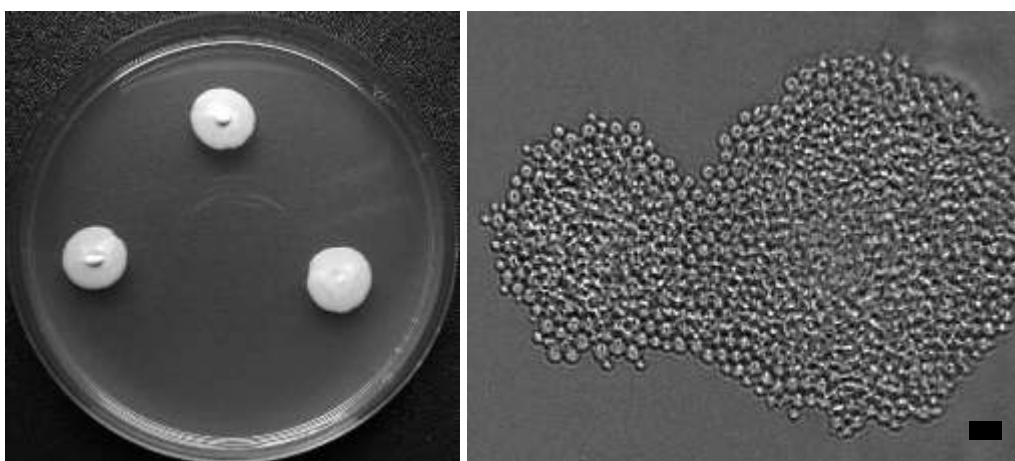
A

B

25 pav. *Candida rugosa* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida saitoana* Nakase & M. Suzuki, 1985**

Auginant *C. saitoana* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, kreminės konsistencijos, blizgančios, lygiu paviršiumi ir kraštu (26 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios  $(4,8-6,9) \times (4,1-9,1) \mu\text{m}$  formos ląstelės (26 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai sudaro plėvelę.



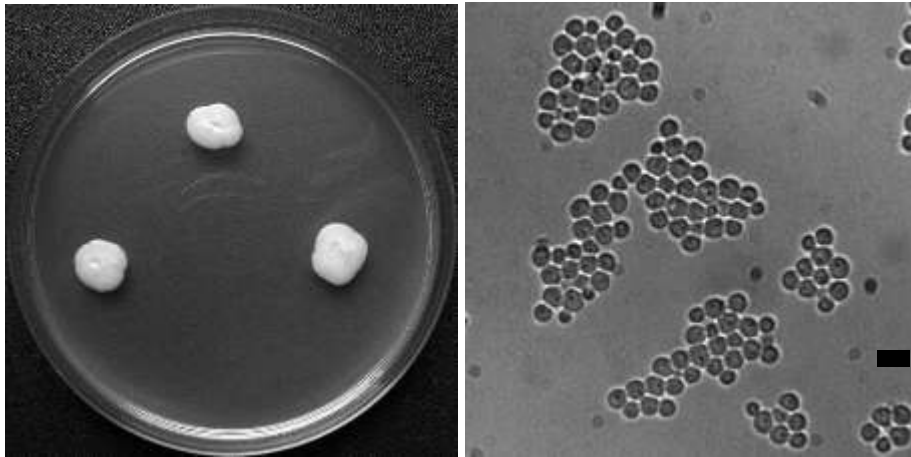
A

B

26 pav. *Candida saitoana* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas(B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida sake* (Saito & Oda) van Uden & H.R. Buckley ex S.A. Meyer & Ahearn, 1983**

Auginant *C. sake* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, kreminės konsistencijos, minkštos (27 pav., A). Mikroskopuojant apvalios, pailgai apvalios  $(2,5-5,1) \times (2,9-5,6) \mu\text{m}$  formos ląstelės (27 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai suformuoja ploną plėvelę ir žiedą.



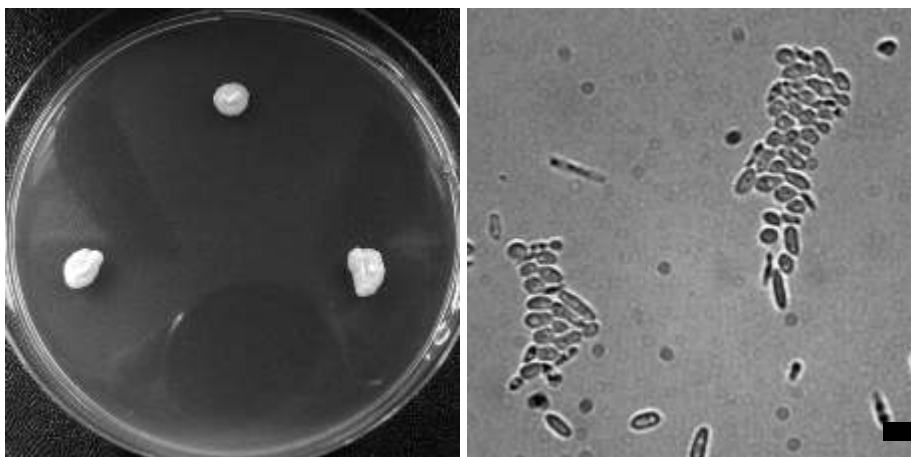
A

B

27 pav. *Candida sake* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

### ***Candida sorboxylosa* Nakase, 1971**

Auginant *C. sorboxylosa* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi (28 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios, pailgos (2,5–5,9) x (4,2–8,3)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (28 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai sudaro plėvelę.



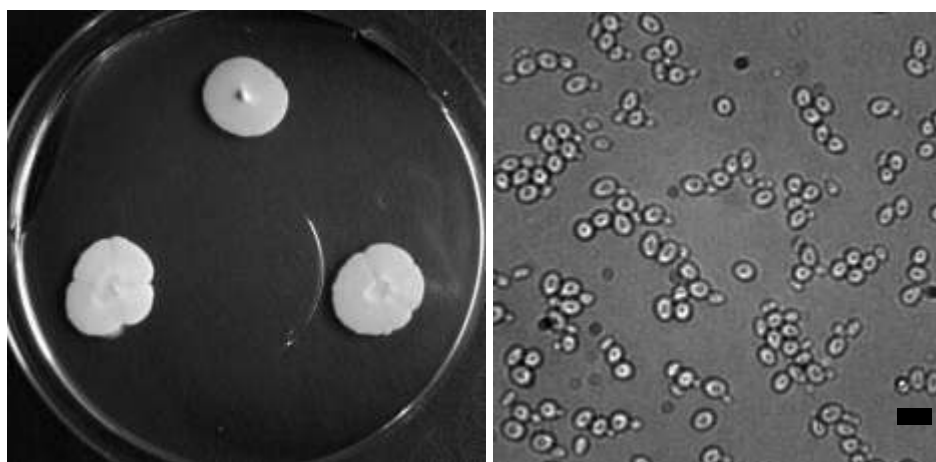
A

B

28 pav. *Candida sorboxylosa* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

### ***Candida tropicalis* (Castell.) Berkhout, 1923**

Auginant *C. tropicalis* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, minkštos, juostuotos (29 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios, rutuliškos (3,4–6,8) x (5,4–9,8)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (29 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai sudaro žiedą ir suformuoja plėvelę.



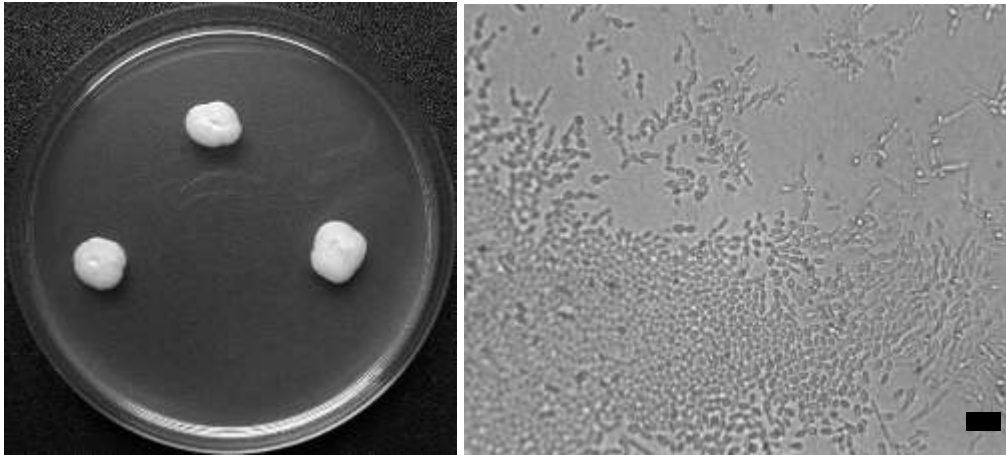
A

B

29 pav. *Candida tropicalis* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

### ***Candida utilis* (Henneberg) Lodder & Kreger-van Rij**

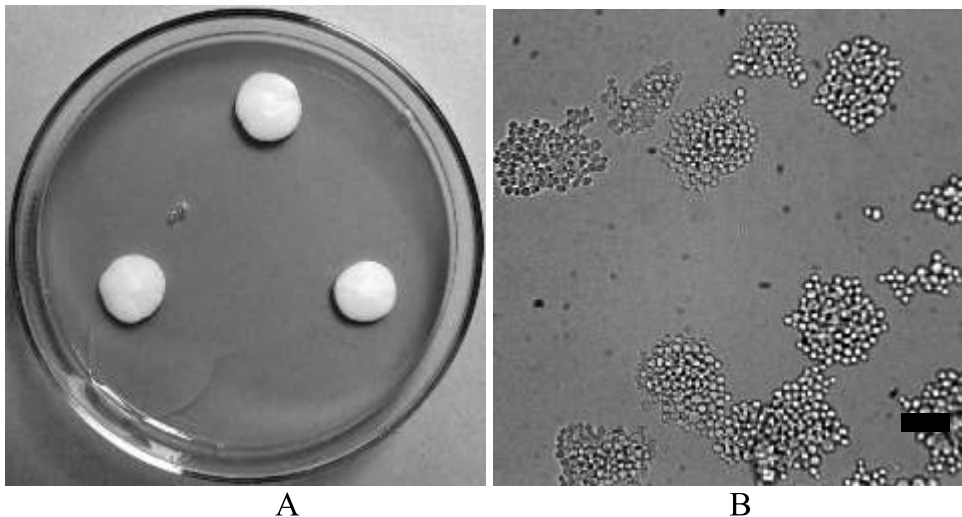
Auginant *C. utilis* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi (30 pav., A). Mikroskopuojant matomos pailgos (2,9–8,2) x (4,0–12,7)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (30 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai sudaro plėvelę. Teleomorfa – *Pichia jadinii*.



30 pav. *Candida utilis* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida versatilis* (Etchells & T.A. Bell) S.A. Mey. & Yarrow**

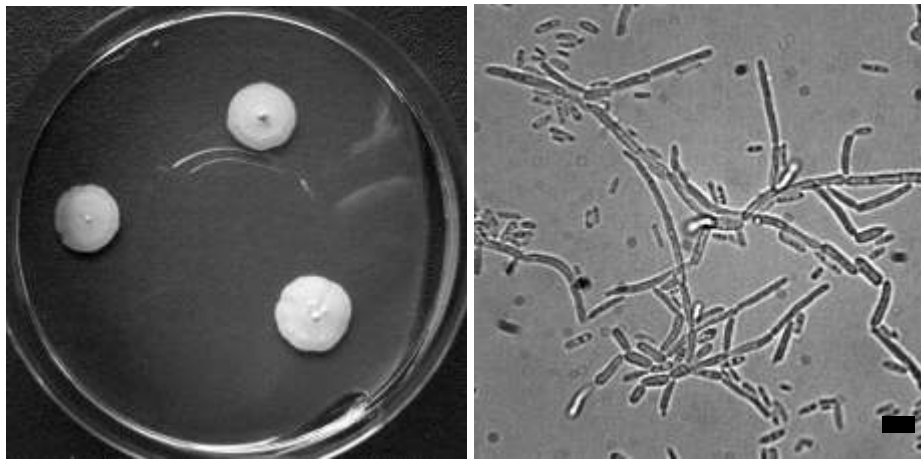
Auginant *C. versatilis* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, minkštos, lygiu paviršiumi (31 pav., A). Mikroskopuojant matomos apvalios, rutuliškos (3,0–2,8) x (3,4–4,2)  $\mu\text{m}$  formos ląstelės (31 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^\circ\text{C}$  temperatūrai nesudaro plėvelės, žiedo ir nuosėdų.



31 pav. *Candida versatilis* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida vini* (Vallot ex Desmazières) van Uden & H.R. Buckley ex S.A. Meyer & Ahearn, 1983**

Auginant *C. vini* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna baltos spalvos, minkštos, juostuotos, banguotu kraštu (32 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios  $(3,6-5,3) \times (4,6-7,8)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės (32 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai suformuoja plėvelę.



A

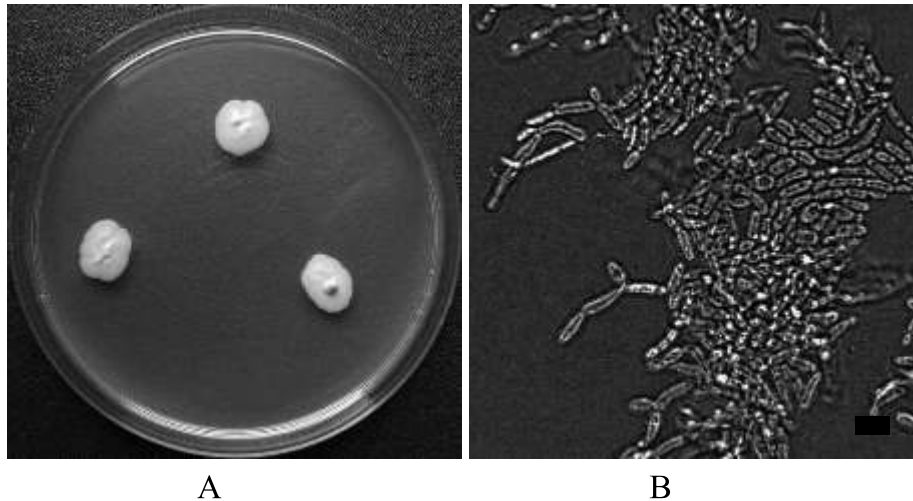
B

32 pav. *Candida vini* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20  $\mu\text{m}$ .

***Candida zeylanoides* (Castellani) Langeron & Guerra, 1938**

Auginant *C. zeylanoides* ant morfologinio agaro terpės esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, po 1 mėn. kolonijos būna kreminės spalvos, panašios į vašką, juostuotos (33 pav., A). Mikroskopuojant matomos ovalios, pailgos  $(2,8-6,7) \times (4,9-9,9)$   $\mu\text{m}$  formos ląstelės (33 pav., B). Auginant kultūrą skystoje gliukozės – peptono terpėje, po 28 parų esant  $26\pm 28^{\circ}\text{C}$  temperatūrai sudaro žiedą ir suformuoja plėvelę.





33 pav. *Candida zeylanoides* kolonijos ant mielių morfologinio agaro (A) ir mikromorfologinis vaizdas (B), padala – 20 µm.

### 3.7 *Candida* mielių fiziologiniai ir biocheminiai savitumai

#### 3.7.1. *Candida* mielių vykdoma įvairių angliavandenių fermentacija

Įvairiuose substratuose aptinkamų *Candida* mielių fiziologinių savitumų tyrimų metu išaiškinta, kad tirtos mielės fermentavo įvairius angliavandenius (24 lentelė).

24 lentelė. Įvairiuose substratuose aptiktų *Candida* spp. angliavandenių fermentacija, %

Angliavandenis	Mielės (N=22) iš gamtinių substratų	Mielės (N=36) iš maisto produktų	Mielės iš (N=24) žmogaus bei jį supančios aplinkos
	Fermentuojančios padermės, %		
D-gliukozė	100	61,1	100
D-galaktozė	72,7	38,8	66,6
Sacharozė	59,0	36,1	58,3
Maltozė	45,4	30,6	50,0
Laktozė	0	0	0
Rafinozė	0	5,5	12,5

N–tirtų padermių skaičius

Iš įvairių substratų išskirtos *Candida* mielės nefermentavo laktozės, o gamtiniuose substratuose aptinkamos mielės dar ir rafinozės. D-gliukozę, D-galaktozę, sacharozę ir maltozę fermentavo įvairiuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės. Didžioji dalis 59,0–72,7% tirtų iš gamtinių substratų išskirtų *Candida* mielių padermių, kaip vienintelius anglies šaltinius fermentavo

sacharozę ir D-galaktozę. 30,6–38,8% tirtų iš maisto produktų išskirtų *Candida* mielių fermentavo D-galaktozę, sacharozę ir maltozę. Iš žmogaus patologinės medžiagos ir jį supančios aplinkos tirtų 50% *Candida* mielių pasižymėjo maltozės fermentacija.

### 3.7.2. *Candida* mielių vykdoma įvairių anglies ir azoto šaltinių asimiliacija

Atlikus *Candida* mielių įvairių anglies šaltinių asimiliacijos tyrimus išaiškinta, kad tirtos mielės asimiliuoja įvairius anglies šaltinius (25–29 lentelės). Gamtiniuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės neasimiliavo L-ramnozės ir D-arabinozės, o maisto produktuose dar ir D-arabinozės (25 lentelė). D-gliukozę, D-galaktozę, L-sorbozę, D-ksilozę, D-ribozę, L-arabinozę kaip vienintelius anglies šaltinius asimiliavo visos iš įvairių substratų išskirtos *Candida* mielės. Iš žmogaus patologinės medžiagos ir jį supančios aplinkos išskirtos *Candida* mielės asimiliavo visus tirtus monosacharidus.

25 lentelė. Įvairiuose substratuose aptiktų *Candida* spp. monosacharidų asimiliacija, %

Monosacharidai	Mielės (N=22) iš gamtinių substratų	Mielės (N=36) iš maisto produktų	Mielės iš (N=24) žmogaus bei jį supančios aplinkos
	Asimiliuojančios padermės, %		
D-gliukožė	100	100	100
D-galaktožė	100	61,1	83,3
L-ramnozė	0	2,8	8,3
L-sorbozė	72,7	80,5	66,6
D-ksilozė	81,8	61,1	79,1
D-ribozė	22,7	16,6	20,8
L-arabinozė	31,8	30,5	45,8
D-arabinozė	0	0	8,3

N–tirtų padermių skaičius

D-gliukozę ir D-galaktozę gebėjo įsisavinti visos iš gamtinių substratų išskirtos *Candida* padermės, skirtingai nuo kituose substratuose aptinkamų *Candida* mielių. Didžioji dalis 72,7–81,2% tirtų iš gamtinių substratų išskirtų *Candida* mielių asimiliavo L-sorbozę ir D-ksilozę. Kiek mažiau 22,7–31,8%

gamtiniuose substratuose aptinkamų *Candida* mielių įsisavino D-ribozę ir L-arabinozę.

Didelė dalis 80,5% tirtų iš maisto produktų išskirtų *Candida* mielių asimiliavo L-sorbozę. Nedidelis kiekis tik 2,8% tirtų iš maisto produktų išskirtų *Candida* genties mielių asimiliavo L-ramnozę. D-arabinozę kaip vienintelį anglies šaltinį įsisavino tik 8,3% tirtų iš žmogaus patloginės medžiagos ir jį supančios aplinkos išskirtų *Candida* mielių.

Įvairiuose substratuose aptinkamoms *Candida* mielėms būdingas skirtingas disacharidų asimiliacijos spektras. Gamtiniuose substratuose aptiktos *Candida* mielių padermės neasimiliavo laktozės ir melibiozės (26 lentelė).

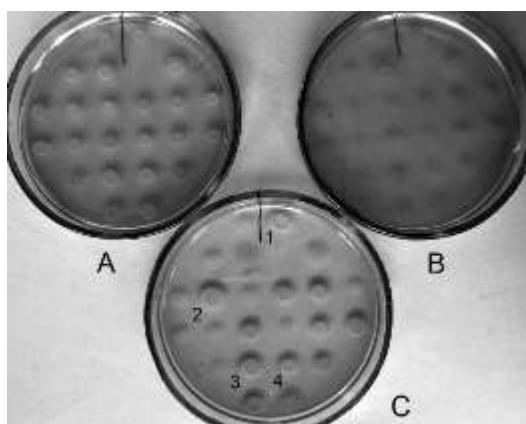
26 lentelė. Įvairiuose substratuose aptiktų *Candida* spp. disacharidų asimiliacija, %

Disacharidai	Mielės (N=22) iš gamtinių substratų	Mielės (N=36) iš maisto produktų	Mielės iš (N=24) žmogaus bei jį supančios aplinkos
	Asimilijuojančios padermės, %		
Sacharozė	72,7	55,5	83,3
Maltozė	100	50	79,1
Celobiozė	40,9	47,2	41,6
Trehalozė	100	75	79,1
Laktozė	0	5,5	0
Melibiozė	0	5,5	12,5

N–tirtų padermių skaičius

Sacharozę, maltozę, celobiozę ir trehalozę įsisavino įvairiuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės. Visos iš gamtinių substratų išskirtos *Candida* mielės asimiliavo maltozę ir trehalozę.

Nedidelis kiekis 5,5% tirtų maisto produktuose aptinkamų *Candida* mielių asimiliavo laktozę ir melibiozę. Iš žmogaus patloginės medžiagos ir jį supančios aplinkos išskirtų ir tirtų 79,1–83,3% *Candida* mielių įsisavino trehalozę, maltozę ir sacharozę. Melibiozę kaip vienintelį anglies šaltinį asimiliavo 12,5% *Candida* mielių padermių išskirtų iš žmogaus patloginės medžiagos ir jį supančios aplinkos. Iš maisto produktų 50–55,5% išskirtų ir tirtų *Candida* mielių įsisavino maltozę ir sacharozę (34 pav.).



34 pav. Maisto produktuose aptinkamų *Candida* mielių disacharidų asimiliacija: A – teigiama kontrolė, B – neigiama kontrolė, C – maltozės asimiliacija, 1 – *C. rhagii* C.Rh.1, 2 – *C. parapsilosis* C.P.5, 3 – *C. sake* C.S.1, 4 – *C. sake* C.St.1.

Iš maisto produktų ir žmogaus patloginės medžiagos bei jį supančios aplinkos išskirtos *Candida* mielės įsisavino visus tirtus trisacharidus ir polisacharidus (27 lentelė).

27 lentelė. Įvairiuose substratuose aptiktų *Candida* spp. trisacharidų ir polisacharidų asimiliacija, %

Anglies šaltinis	Mielės (N=22) iš gamtinių substratų	Mielės (N=36) iš maisto produktų	Mielės iš (N=24) žmogaus bei jį supančios aplinkos
	Asimiliuojančios padermės, %		
Rafinozė	0	16,6	4,2
Melezitozė	72,7	36,1	50,0
Tirpusis krakmolas	9,0	13,8	37,5
Inulinas	0	5,5	4,2

N–tirtų padermių skaičius

Melezitozę ir tirpųjį krakmolą asimiliavo visos įvairiuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės. Gamtiniuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės neasimiliavo rafinozės ir inulino, tačiau didelė dalis 72,7% tirtų mielių asimiliavo melezitozę. Nedidelis kiekis 5,5% tirtų iš maisto produktų išskirtų *Candida* mielių asimiliavo inuliną. Maisto produktuose aptiktų ir tirtų 16,6% *Candida* mielių pasižymėjo melezitozės asimiliacija. Iš žmogaus patloginės medžiagos ir jį supančios aplinkos išskirtų ir tirtų 4,2% *Candida* mielių silpnai

asimiliavo rafinozę ir inuliną, tačiau net 50,0% tirtų mielių įsisavino melezitozę.

Įvertinus įvairių alkoholių asimiliacijos tyrimų duomenis nustatyta, kad m-inozito, metanolio ir galaktitolio neįsisavina iš įvairių substratų išskirtos *Candida* mielės. Visos gamtiniuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės asimiliavo ribitolį, D-manitą, etanolį, glicerolį ir D-gliucitolį (28 lentelė).

28 lentelė. Įvairiuose substratuose aptiktų *Candida* spp. alkoholių asimiliacija, %

Alkoholiai	Mielės (N=22) iš gamtinių substratų	Mielės (N=36) iš maisto produktų	Mielės iš (N=24) žmogaus bei jį supančios aplinkos
	Asimiliuojančios padermės, %		
Eritritolis	0	13,8	0
Ribitolis	100	77,7	83,3
D-manitas	100	91,6	83,3
m-inozitas	0	0	0
Metanolis	0	0	0
Etanolis	100	100	100
Glicerolis	100	100	100
Galaktitolis	0	0	0
D-gliucitolis	100	91,6	83,3

N–tirtų padermių skaičius

Maisto produktuose 91,6% aptiktų ir tirtų *Candida* mielių asimiliavo D-manitą ir D-gliucitolį, be to joms buvo būdinga ir eritritolio asimiliacija. Iš žmogaus patologinės medžiagos bei jį supančios aplinkos išskirtų ir tirtų 83,3% *Candida* mielių asimiliavo ribitolį, D-manitą ir D-gliucitolį.

Organinių rūgščių asimiliacijos tyrimų metu nustatyta, kad visos tirtos iš įvairių substratų išskirtos *Candida* genties mielės neįsisavina D-gliukuroninės rūgšties. Pieno, gintaro, citrinos rūgštis ir D-gliukonata kaip vienintelius anglies šaltinius asimiliavo visos tirtos iš įvairių substratų išskirtos *Candida* mielės. Visos tirtos gamtiniuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės asimiliavo citrinos ir gintaro rūgštis, taip pat pasižymėjo D-gliukonato įsisavinimu (29 lentelė).

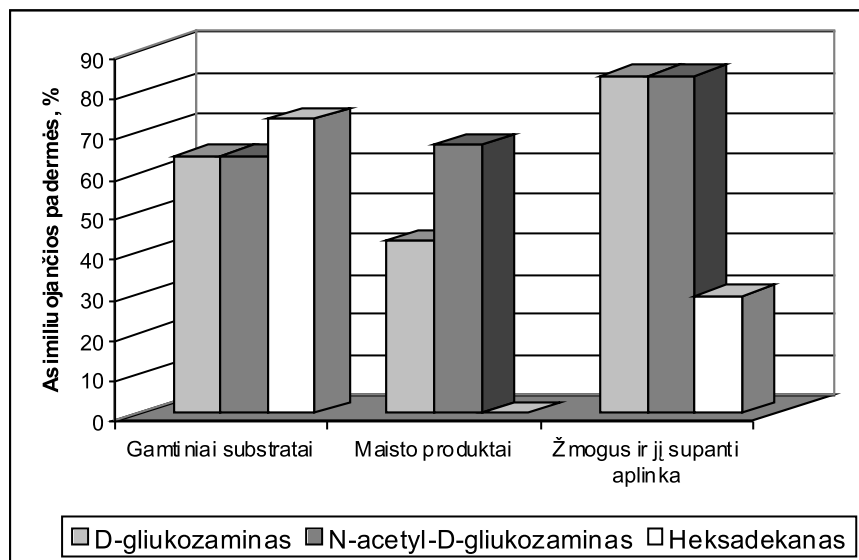
29 lentelė. Įvairiuose substratuose aptiktų *Candida* spp. organinių rūgščių asimiliacija, %

Organinės rūgštys	Mielės (N=22) iš gamtinių substratų	Mielės (N=36) iš maisto produktų	Mielės iš (N=24) žmogaus bei jį supančios aplinkos
	Asimiliojančios padermės, %		
Pieno rūgštis	59,1	52,7	79,2
Gintaro rūgštis	100	88,8	91,6
Citrinos rūgštis	100	80,5	91,6
D-gliukonatas	72,7	61,1	62,5
D-gliukuroninė rūgštis	0	0	0

N–tirtų padermių skaičius

Maisto produktuose ir žmogaus patologinėje medžiagoje bei jį supančioje aplinkoje aptiktų ir tirtų 61,1%–91,6% *Candida* mielių įsisavino D-gliukonata, gintaro ir citrinos rūgštis.

D-gliukozamino, N-acetyl-D-gliukozamino, heksadekano asimiliacijos tyrimai parodė, kad *Candida* mielės įsisavina ir sudėtingesnius anglies šaltinius (35 pav.).

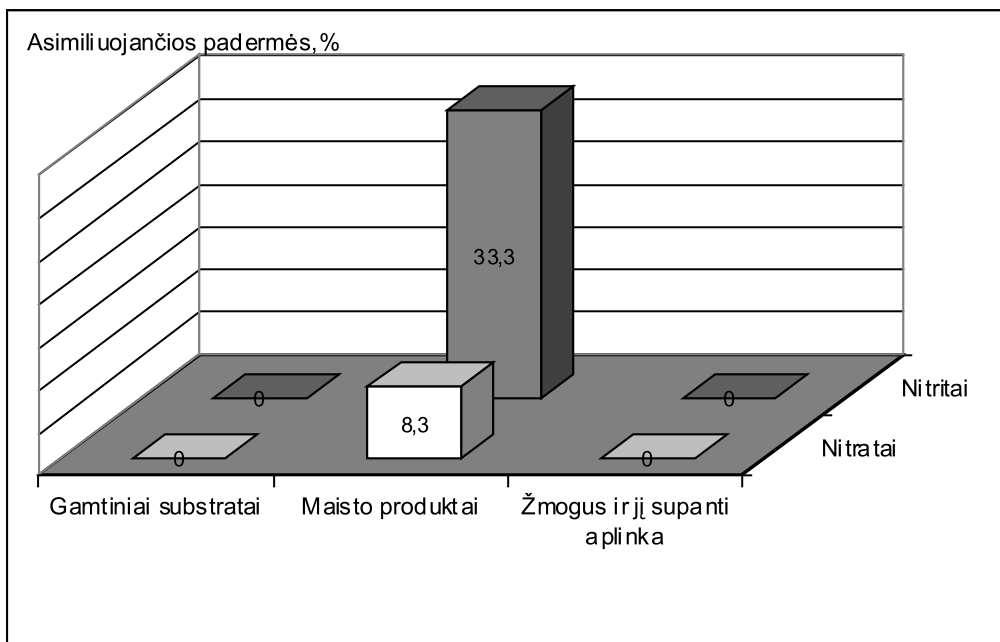


35 pav. Įvairiuose substratuose aptinkamų *Candida* mielių D-gliukozamino, N-acetyl-D-gliukozamino, heksadekano asimiliacija.

Heksadekano neasimiliavo tik iš maisto produktų išskirtos *Candida* mielės. D-gliukozaminą ir N-acetyl-D-gliukozaminą įsisavino įvairiuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės. Iš gamtinių substratų išskirtų ir tirtų

63,6–72,7% *Candida* mielių pasižymėjo heksadekano, D-gliukozamino ir N-acetyl-D-gliukozamino asimiliacija. Didelis kiekis tirtų 83,3% *Candida* mielių išskirtų iš žmogaus ir jį supančios aplinkos asimiliavo D-gliukozaminą ir N-acetyl-D-gliukozaminą.

Nitratų ir nitritų asimiliacijos tyrimai parodė, jog išskirtos iš gamtinių substratų bei žmogaus patologinės medžiagos ir jį supančios aplinkos *Candida* mielės nitratų ir nitritų neasimiluoja (36 pav.).

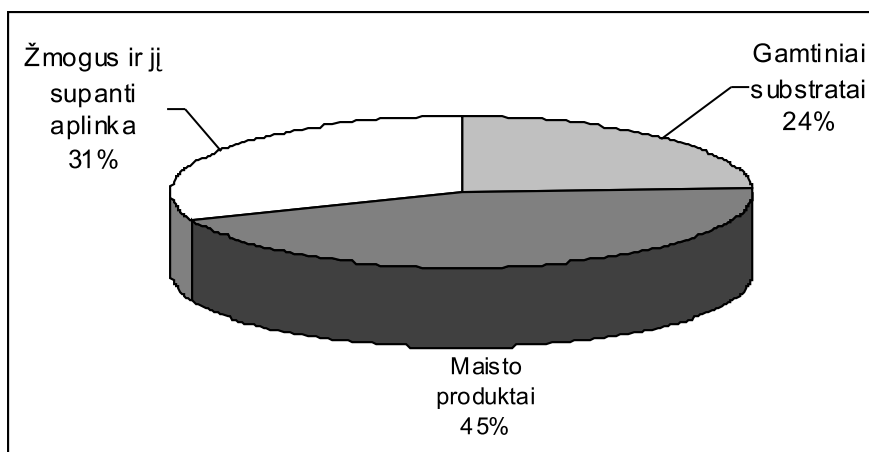


36 pav. Įvairiuose substratuose aptinkamų *Candida* genties mielių azoto šaltinių asimiliacija.

Maisto produktuose aptinkamų ir tirtų 33,3% *Candida* mielių gebėjo įsisavinti nitritus, o nedidelis kiekis 8,3% nitratus.

### 3.7.3 *Candida* mielių augimas terpėje be vitaminų ir osmotinėmis sąlygomis

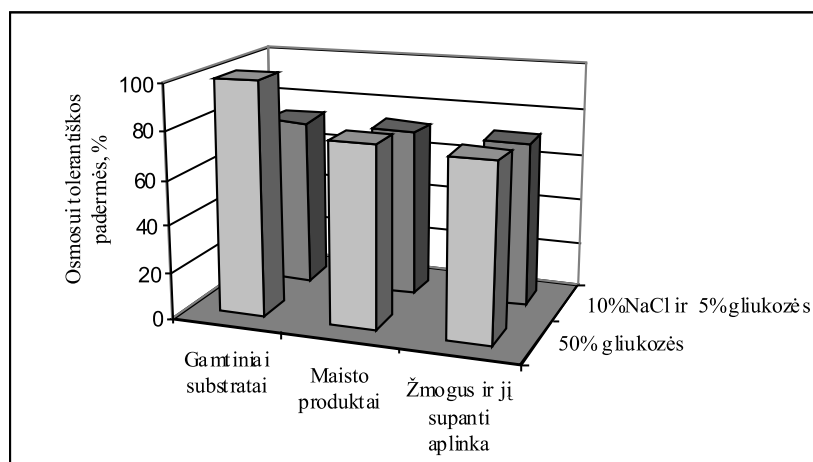
*Candida* mielių augimo terpėje be vitaminų tyrimų metu nustatyta, kad tarp įvairiuose substratuose aptinkamų *Candida* genties mielių esama padermių augančių terpėje be vitaminų (37 pav.).



37 pav. Įvairiuose substratuose aptinkamų *Candida* spp. augančių terpėje be vitaminų, %

Terpėje be vitaminų geriausiai augo iš maisto produktų išskirtos *Candida* mielės. Gamtiniuose substratuose 24% aptiktų ir tirtų *Candida* mielių augo terpėje be vitaminų.

Tyrimų metu nustatyta, jog įvairiuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės augo osmotinėmis sąlygomis (38 pav.).



38 pav. Įvairiuose substratuose aptinkamų *Candida* spp. augančių osmotinėmis sąlygomis, %

Visos tirtos iš gamtinių substratų išskirtos *Candida* mielių padermės augo esant terpėje 50% gliukozės, jos geriausiai augo ir terpėje su 10% NaCl ir 5% gliukozės.



### 3.7.4. *Candida* mielių augimas skirtingose temperatūrose

Atlikus *Candida* mielių gebėjimo augti skirtingose temperatūrose tyrimus nustatyta, jog įvairiuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės geba augti įvairiose temperatūrose (30 lentelė).

30 lentelė. Įvairiuose substratuose aptiktų *Candida* spp. augimas skirtingose temperatūrose, %

Temperatūra	Mielės (N=22) iš gamtinių substratų	Mielės (N=36) iš maisto produktų	Mielės iš (N=24) žmogaus bei jį supančios aplinkos
	Augančios padermės, %		
23°C	100	100	100
31°C	100	100	100
37°C	40,9	83,3	87,5
42°C	0	63,8	87,5

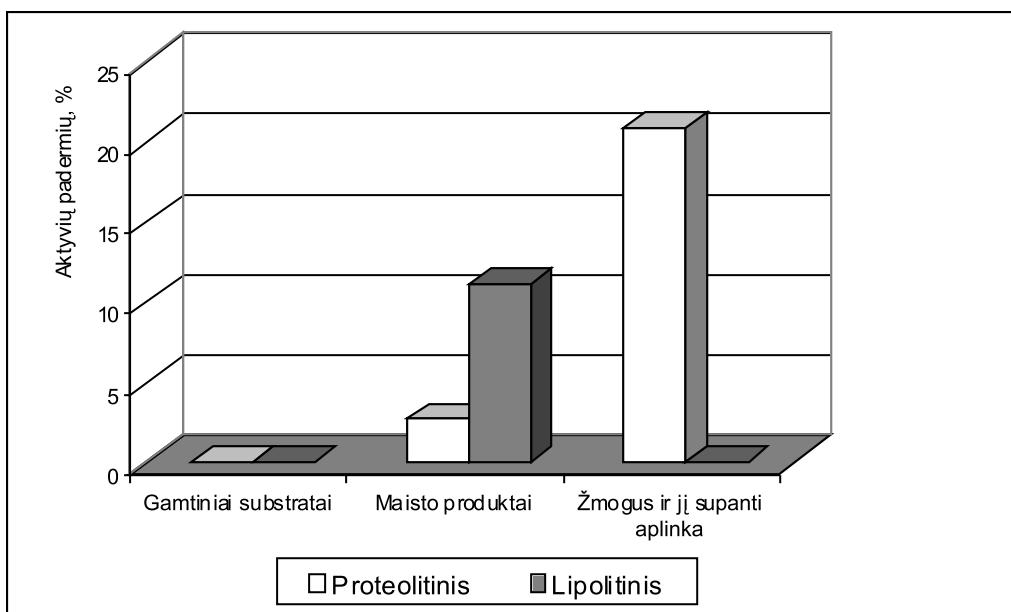
N–tirtų padermių skaičius

Optimali temperatūra įvairiuose substratuose aptinkamoms *Candida* mielėms yra 23–31°C. Iš gamtinių substratų 40,9% išskirtų ir tirtų *Candida* mielių augo 37°C, tačiau neaugo 42°C temperatūrose.

Iš maisto produktų išskirtos *Candida* mielės augo visose tiriamose temperatūrose. Daugiau negu 80% tirtų *Candida* mielių aptiktų maisto produktuose augo 37°C temperatūroje, šiek tiek mažiau – 63,8% *Candida* mielių, augo net 42°C. Iš žmogaus patologinės medžiagos ir jį supančios aplinkos 87,5% tirtų *Candida* mielių augo 37°C ir 42°C temperatūrose.

### 3.7.5. *Candida* mielių biocheminių savybių įvertinimas

Atlikus iš įvairių substratų išskirtų *Candida* mielių biocheminių savybių tyrimus nustatyta, kad tirtos mielės organinių rūgščių neišskiria ir nesudaro junginių panašių į krakmolą. Kaip matyti iš 39 paveiksle pateikiamų duomenų gamtiniuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės nepasižymėjo proteolitiniais ir lipolitiniais aktyvumais.



39 pav. Įvairiuose substratuose aptinkamų *Candida* spp. proteolitinio ir lipolitinio aktyvumas, %.

Tik 2,7% tirtų *Candida* mielių išskirtų iš maisto produktų pasižymėjo proteolitinium aktyvumu. Lipolitinis aktyvumas buvo būdingas tik 11,1% tirtų maisto produktuose aptinkamų *Candida* mielių.

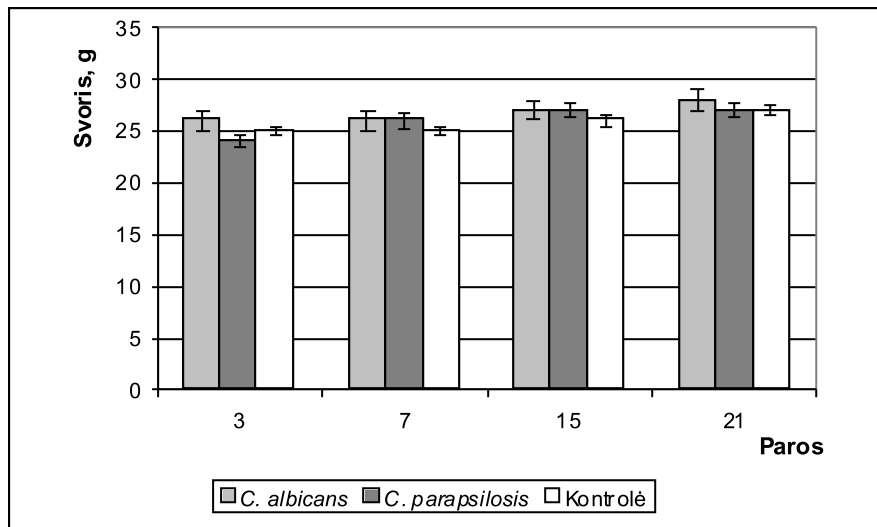
Iš žmogaus patologinės medžiagos ir aplinkos oro išskirtos *Candida* mielės pasižymėjo tik proteolitinium aktyvumu (20,8%).

### 3.7.6. *Candida* mielių ūmus oralinis ir ūmus injekcinis toksiškumas/patogeniškumas pelėms

Ūmaus oralinio ir ūmaus injekcinio toksiškumo bandymų tikslas yra surinkti informaciją apie medžiagos toksines savybes taip, kad būtų galima tinkamai įvertinti keliamą pavojų žmonių sveikatai ir aplinkai (COMMITTEE ON TOXICITY TESTING AND ASSESSMENT OF ENVIRONMENTAL AGENTS, NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2006).

Atlikus iš maisto produktų išskirtų *Candida* rūšių ūmaus oralinio toksiškumo/patogeniškumo bandymus nustatyta, jog po įvedimo į skrandį vienkartinės *C. albicans* (C.A.4) ir *C. parapsilosis* (C.P.1) suspensijos dozės per visą bandymo laikotarpį gyvūnams toksiškumo požymiai nepasireiškė. Praėjus 2 valandoms po suspensijos įvedimo/suleidimo pelės normaliai gėrė

vandenį ir ėdė. Gyvūnai nenugaišo ir nesusergo. Kūno masės prieaugis normalus ir lyginant su kontrole beveik nesiskyrė (40 pav.).



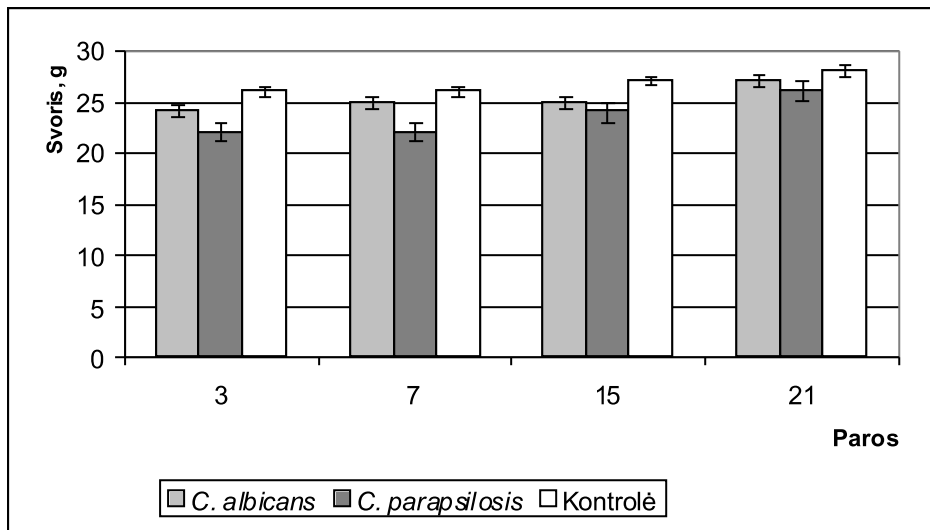
40 pav. BALB/c linijos pelių svorio kitimas *Candida* mielių ūmaus oralinio toksiškumo/patogeniškumo tyrimo metu.

Maisto ir vandens suvartojimas tarp bandomosios ir kontrolinės grupių nesiskyrė. Gyvūnų oda, kailis, akys ir gleivinės be pakitimų. Kvėpavimas normalus. Elgsenos pasikeitimų nebuvo. Drebulys, konvulsijos, viduriavimas, mieguistumas, apatiškumas, seilėtekis nepasireiškė.

Ūmaus oralinio toksiškumo/patogeniškumo tyrimo rezultatai parodė, kad gyvūnams kuriems į skrandį įvesta *C. albicans* (C.A.4) mielių suspensijos, širdies kraujo, plaučių, kepenų, inkstų ir blužnies pasėliai 3, 7, 15, 21 eksperimento dienomis buvo sterilūs. Gyvūnams, kuriems įvesta *C. parapsilosis* (C.P.1) mielių suspensijos, širdies kraujo, plaučių, kepenų pasėliai bandymo metu buvo sterilūs. Pasėliuose iš inkstų ir blužnies 3 ir 7 bandymo parą *C. parapsilosis* (C.P.1) mielės aptiktos 25% pelių. Literatūroje nurodoma, jog blužnis dalyvauja *Candida* mielių pašalinime iš kraujo (CHAVES ir kt., 2004).

Ūmaus injekcinio toksiškumo/patogeniškumo tyrimai parodė, jog po *C. albicans* (C.A.4) ir *C. parapsilosis* (C.P.1) vienkartinės dozės suleidimo į pilvo ertmę gyvūnai buvo ramūs. Praėjus porai valandų pelės normaliai gėrė vandenį ir ėdė. Visą bandymo laikotarpį nebuvo matomų organizmo intoksikacijos

požymių. Gyvūnų žūties nebuvo. Kūno masės prieaugis lyginant su kontrole skyrėsi nežymiai (41 pav.).



41 pav. BALB/c linijos pelių svorio kitimas *Candida* mielių ūmaus injekcinio toksiškumo/patogeniškumo tyrimo metu.

Maisto ir vandens suvartojimas tarp bandomosios ir kontrolinės grupių nesiskyrė. Odos, kailio ir akių gleivinės be pakitimų. Kvėpavimas normalus. Elgesio pakitimų nebuvo. Drebulys, traukuliai, viduriavimas, mieguistumas, seilėtekis nepasireiškė.

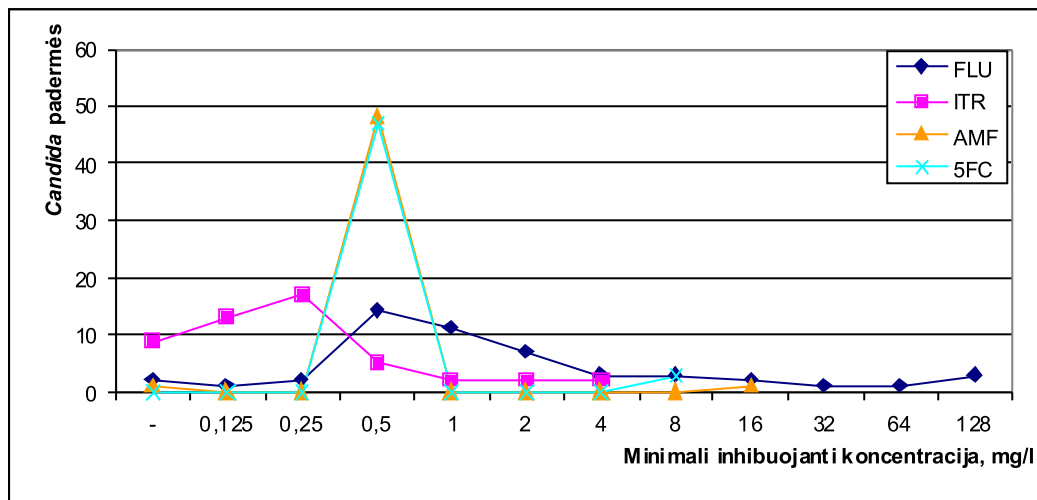
Ūmaus injekcinio toksiškumo/patogeniškumo tyrimų rezultatai parodė, kad gyvūnams kuriems į pilvo ertmę suleista *C. parapsilosis* (C.P.1) suspensijos vienkartinė dozė, širdies kraujo, plaučių, kepenų, inkstų ir blužnies pasėliai 3, 7, 15, 21 eksperimento dienomis buvo sterilūs. Gyvūnams, kuriems į pilvo ertmę suleista *C. albicans* (C.A.4) vienkartinė dozė širdies kraujo, kepenų, inkstų ir blužnies pasėliai bandymo metu buvo sterilūs. Pasėliuose iš plaučių 7 ir 21 bandymo parą *C. albicans* (C.A.4) aptikta 16% pelių.

Eksperimento metu nė vienas testuojamas gyvūnas nenugaišo. *Candida* mielių kolonijų buvo aptikta 10% bandomųjų gyvūnų organų pasėliuose, tačiau pastebimų organų pakitimų tai nesukėlė. Tyrimai parodė, kad iš maisto produktų išskirtų *C. albicans* (C.A.4) ir *C. parapsilosis* (C.P.1) suspensijų vienkartinės dozės *per os* ir intraperitonealiai pelėms yra netoksiškos ir nepatogeniškos.

### 3.8. Cheminės kilmės fungicidinėmis savybėmis pasižyminčių medžiagų poveikis *Candida* mielėms

#### 3.8.1. *Candida* mielių jautrumas antigrybiniams preparatams

Tiriant *Candida* mielių jautrumą skirtingiems antigrybiniams preparatams ir jų įvairioms koncentracijoms su ATB FUNGUS 2 (Biomérieux, Prancūzija) sistema, nustatyta minimali inhibuojanti koncentracija (MIC) kiekvienai mielių padermei. Tyrimų metu nustatyta, kad tirtoms *Candida* mielėms antigrybinių preparatų 5-flucitozino, amfotericino B ir flukonazolo MIC buvo 0,5 mg/l, o itrakonazolo 0,25 mg/l (42 pav.).



42 pav. Įvairių antigrybinių preparatų minimali inhibuojanti koncentracija *Candida* mielėms (FLU – flukonazolas, ITR – itrakonazolas, AMF – amfotericinas B, 5FC – flucitozinas).

Visoms itrakonazolo koncentracijoms atsparių buvo 15,9% tirtų *Candida* padermių. Didesnės negu 8 mg/l minimalios inhibuojančios flukonazolo koncentracijos reikėjo 15,9% tirtų *Candida* padermių.

Atlikus *Candida* mielių jautrumo tyrimus antigrybiniams preparatams su Integral Yeast Lieviti (Liofilchem, Italija) sistema nustatyta, kad visos tirtos mielių padermės buvo jautrios flukonazolui ir ketokonazolui, o atsparios ekonazolui (31 lentelė).

31 lentelė. *Candida* spp. jautrumas anti grybiniams preparatams

Rūšys	Jautrios, %	Vidutiniškai jautrios, %	Atsparios, %
Flukonazolas, 100 mg/l			
<i>C. albicans</i>	100	0	0
<i>C. tropicalis</i>	100	0	0
<i>C. pseudotropicalis</i>	100	0	0
<i>C. lusitania</i>	100	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	100	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	100	0	0
<i>C. glabrata</i>	100	0	0
<i>C. krusei</i>	100	0	0
Ekonazolas, 100 mg/l			
<i>C. albicans</i>	0	0	100
<i>C. tropicalis</i>	0	0	100
<i>C. pseudotropicalis</i>	0	0	100
<i>C. lusitaniae</i>	0	0	100
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	100
<i>C. parapsilosis</i>	0	0	100
<i>C. glabrata</i>	0	0	100
<i>C. krusei</i>	0	0	100
Ketokonazolas, 100 mg/l			
<i>C. albicans</i>	100	0	0
<i>C. tropicalis</i>	100	0	0
<i>C. pseudotropicalis</i>	100	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	100	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	100	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	100	0	0
<i>C. glabrata</i>	100	0	0
<i>C. krusei</i>	100	0	0
Amfotericinas B, 200 mg/l			
<i>C. albicans</i>	11,1	11,1	77,7
<i>C. tropicalis</i>	26,3	5,2	68,4
<i>C. pseudotropicalis</i>	0	0	100
<i>C. lusitaniae</i>	0	0	100
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	100
<i>C. parapsilosis</i>	100	0	0
<i>C. glabrata</i>	0	0	100
<i>C. krusei</i>	50	0	50
Flucitozinas, 20 mg/l			
<i>C. albicans</i>	0	11,1	88,8
<i>C. tropicalis</i>	5,2	10,5	84,2
<i>C. pseudotropicalis</i>	0	0	100
<i>C. lusitaniae</i>	0	0	100
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	100
<i>C. parapsilosis</i>	100	0	0
<i>C. glabrata</i>	0	0	100
<i>C. krusei</i>	33,3	0	66,6
Nistatinas, 100 IU/ml			
<i>C. albicans</i>	0	11,1	88,8
<i>C. tropicalis</i>	10,5	15,8	73,7
<i>C. pseudotropicalis</i>	0	0	100
<i>C. lusitaniae</i>	25	50	25
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	100
<i>C. parapsilosis</i>	100	0	0
<i>C. glabrata</i>	0	0	100
<i>C. krusei</i>	25	25	50

Amfotericinui B atsparios buvo visos tirtos *C. pseudotropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* ir *C. glabrata*, o jautrios tik *C. parapsilosis* padermės. Didžioji dalis tirtų 50–77,7% *Candida* mielių buvo atsparios amfotericinui B. Flucitozinui ir nistatinui jautrios buvo visos tirtos *C. parapsilosis* padermės. Didžioji dalis tirtų 66,6–88,8% *Candida* mielių buvo atsparios flucitozinui. Vidutiniškai jautrių flucitozinui buvo 10,5–11,1% *C. tropicalis* ir *C. albicans* padermių atitinkamai. Nistatinui jautrių buvo 5,2–25% tirtų *Candida* mielių. Visos tirtos *C. pseudotropicalis*, *C. guilliermondii* ir *C. glabrata* padermės buvo atsparios nistatinui. Vidutiniškai jautrių nistatinui buvo 10,5–25% *Candida* mielių.

*Candida* jautrumo antigrybiniams preparatams įvertinimui su FUNGITEST (Bio-Rad, Prancūzija) sistema nustatyta, kad tirtos mielių padermės buvo jautriausios 5-fluorocitozino 32 µg/ml koncentracijai (32 lentelė).

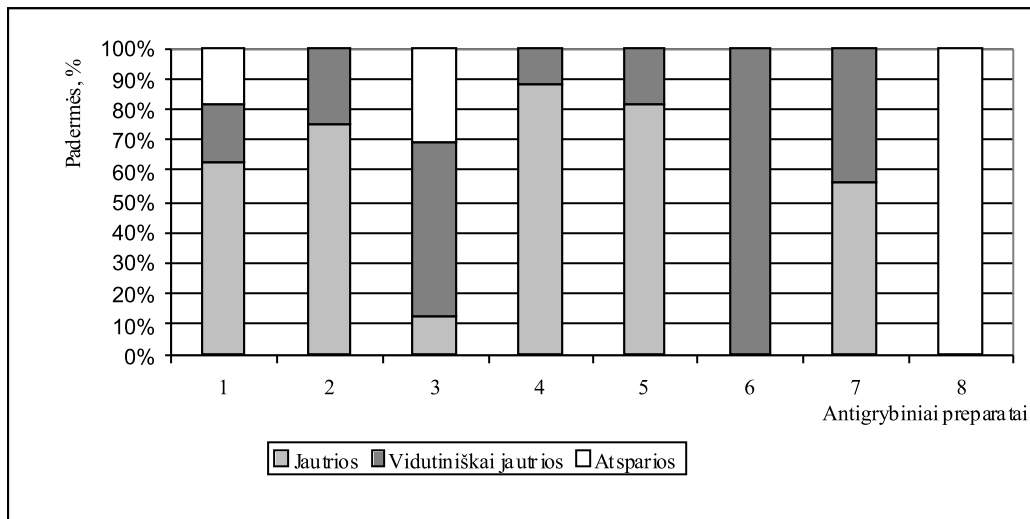
32 lentelė. Antigrybinių preparatų poveikis *Candida* spp. naudojant FUNGITEST sistemą

<i>Candida</i> padermės	5-fluorocitozinas		Amfotericinas B		Mikonazolas		Ketokonazolas		Itrakonazolas		Flukonazolas	
	Preparatų koncentracijos, µg/ml											
	2,0	32,0	2,0	8,0	0,5	8,0	0,5	4,0	0,5	4,0	8,0	64,0
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	±	+	±	–	±	+	±	±
<i>C. tropicalis</i>	+	+	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. pseudotropicalis</i>	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. lusitaniae</i>	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	–	+	±	±	–	±	±	±
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	–	+	+	+	±	+	+	+
<i>C. glabrata</i>	+	+	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–
<i>C. krusei</i>	–	+	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–

+ – jautrios; ± – vidutiniškai jautrios; – atsparios padermės.

Jautriausios antigrybinių preparatų poveikiui buvo *C. pseudotropicalis* ir *C. lusitaniae* padermės. Atspariausios tirtos mielės buvo azolų grupės preparatų 0,5 µg/ml koncentracijoms. *C. krusei* buvo atspariausios tirtiems antigrybiniams preparatams. *C. albicans* padermės vidutiniškai jautriai reagavo į 0,5 µg/ml imidazolų (mikonazolo ir ketokonazolo) ir triazolų (itrakonazolo) bei abi tiriamas flukonazolo koncentracijas.

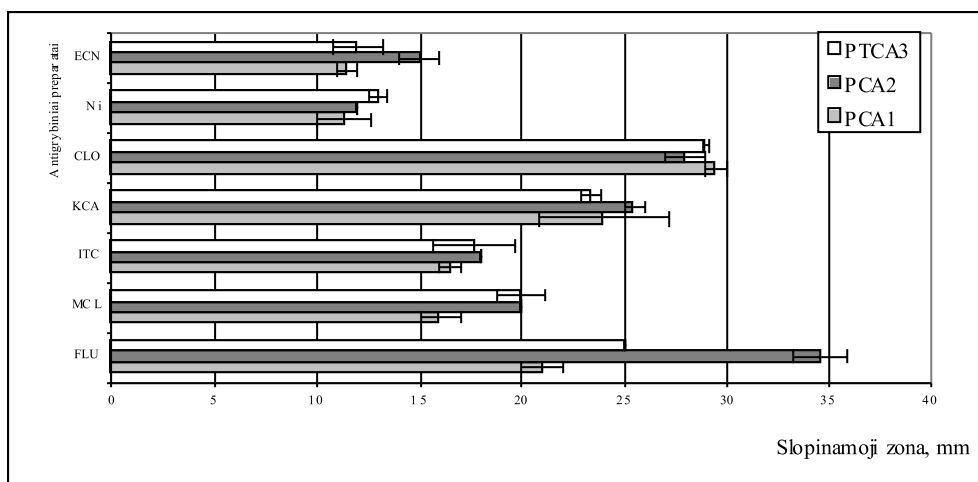
Atlikus *Candida* mielių jautrumo antigrybiniams preparatams tyrimus taikant diskų difuzijos metodą nustatyta, kad visų tirtų mielių padermių augimą stipriausiai slopino klotrimazolas ir ketokonazolas (43 pav.). Minėtiems preparatams jautrių buvo 80–85% tirtų *Candida* mielių. Visos tirtos *Candida* mielės buvo vidutiniškai jautrios nistatino poveikiui. Atsparios visos tirtos *Candida* mielės buvo flucitozino poveikiui.



43 pav. *Candida* mielių jautrumas antigrybiniams preparatams: 1 – flukonazolas 100 µg/diske, 2 – mikonazolas 10 µg/diske, 3 – itrakonazolas 50 µg/diske, 4 – ketokonazolas 10 µg/diske, 5 – klotrimazolas 50 µg, 6 – nistatinas 100 IU, 7 – ekonazolas 10 µg, 8 – flucitozinas 1 µg/diske.

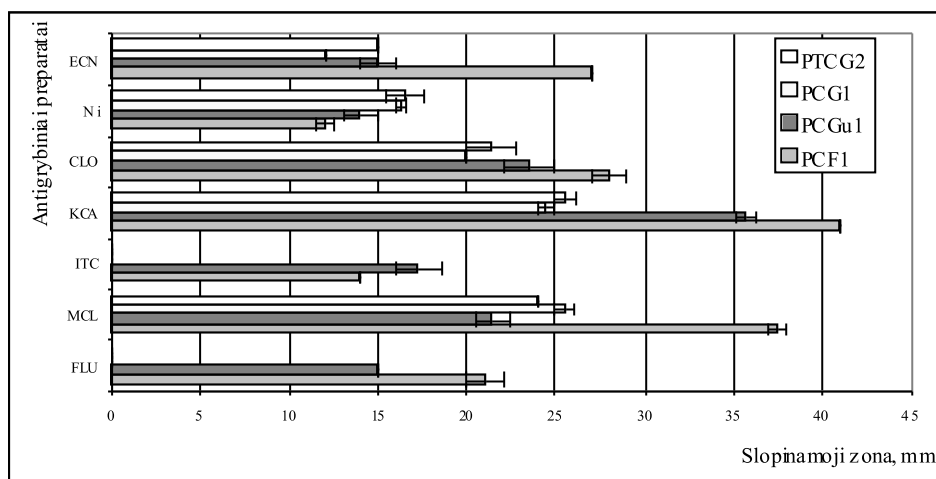
*C. albicans* padermės jautriausios buvo klotrimazolo 50 µg/diske kiekiui – slopinamųjų zonų dydis svyravo nuo 28 mm iki 29,5 mm (44 pav.). Antigrybinių preparatų flukonazolo ir ketokonazolo poveikiui *C. albicans* padermės buvo jautrios – slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 21 mm iki 34,6 mm. Vidutiniškai jautrios tirtos padermės buvo veikiant jas mikonazolu, itrakonazolu, nistatinu bei ekonazolu.





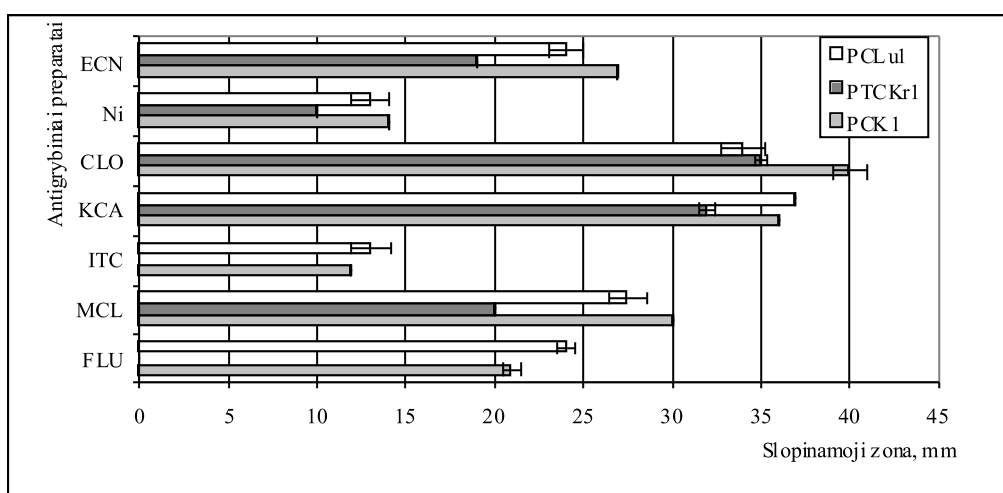
44 pav. *Candida albicans* padermių jautrumas antigrybiniams preparatams. ECN – ekonazolas 10 µg/diske, Ni – nistatinas 100 IU/diske, CLO – klotrimazolas 50 µg/diske, KCA – ketokonazolas 10 µg/diske, ITC – itrakonazolas 50 µg/diske, MCL – mikonazolas 10 µg/diske, FLU – flukonazolas 100 µg/diske.

*C. famata* PCF1, *C. guilliermondii* PCGu1, *C. glabrata* PCG1 ir *C. glabrata* PTCG2 jautriausios buvo ketokonazolo poveikiui, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 24,5 iki 41 mm (45 pav.). Kiek silpnesniu poveikiu minėtoms mielėms pasižymėjo mikonazolas, zonų dydis svyravo nuo 24 iki 37,5 mm. Vidutiniškai jautriai šios mielės reagavo į itrakonazolo ir nistatino poveikį, slopinamųjų zonų dydis svyravo nuo 12 iki 17,3 mm.



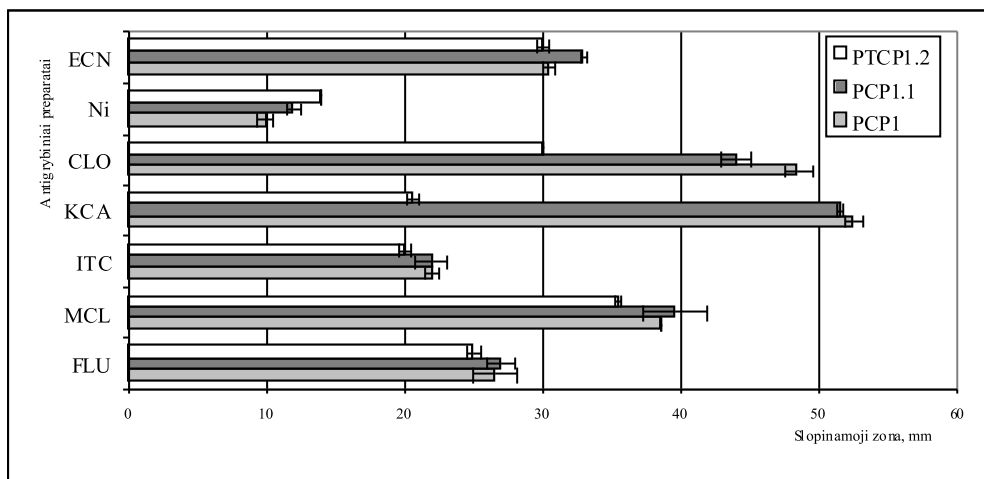
45 pav. *Candida famata* PCF1, *C. guilliermondii* PCGu1, *C. glabrata* PCG1 ir *C. glabrata* PTCG2 jautrumas antigrybiniams preparatams: ECN – ekonazolas 10 µg/diske, Ni – nistatinas 100 IU/diske, CLO – klotrimazolas 50 µg/diske, KCA – ketokonazolas 10 µg/diske, ITC – itrakonazolas 50 µg/diske, MCL – mikonazolas 10 µg/diske, FLU – flukonazolas 100 µg/diske.

Jautriausios *C. lusitaniae* PCLu1, *C. krusei* PTCKr1, *C. kefyr* PCK1 buvo klotrimazolo poveikiui, slopinamųjų zonų dydis svyravo nuo 34 iki 40 mm. Panašiu poveikiu minėtoms mielėms pasižymėjo ir ketokonazolas. Vidutiniškai jautriai *C. krusei* PTCKr1 reagavo į ekonazolo ir nistatino poveikį, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 19 iki 10 mm (46 pav.).



46 pav. *Candida lusitaniae* PCLu1, *C. krusei* PTCKr1, *C. kefyr* PCK1 jautrumas antigrybiniams preparatams: ECN – ekonazolas 10 µg/diske, Ni – nistatinas 100 IU/diske, CLO – klotrimazolas 50 µg/diske, KCA – ketokonazolas 10 µg/diske, ITC – itrakonazolas 50 µg/diske, MCL – mikonazolas 10 µg/diske, FLU – flukonazolas 100 µg/diske.

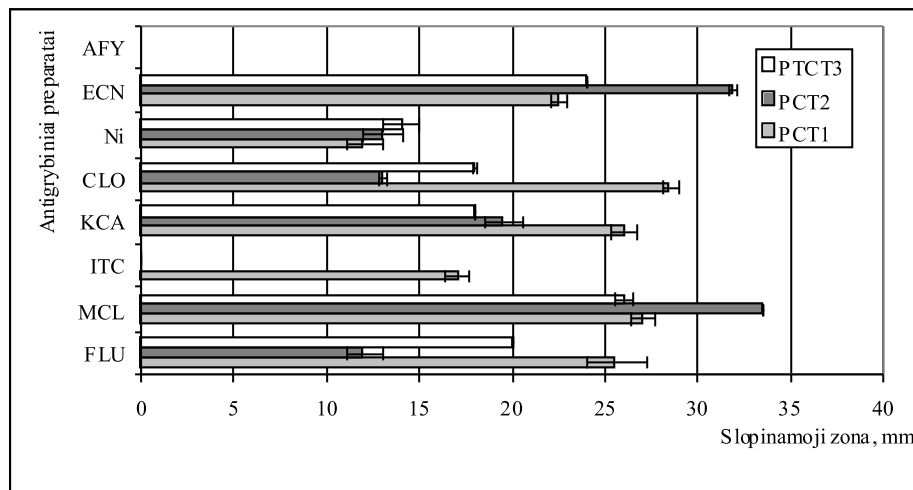
*C. parapsilosis* padermes stipriausiai veikė ketokonazolas ir klotrimazolas – slopinamųjų zonų dydis svyravo nuo 20,7 iki 52,5 mm (47 pav.). Mikonazolui ir ekonazolui buvo būdingas kiek silpnesnis fungicidinis poveikis šioms mielėms – zonų dydis siekė iki 39,5 mm.



47 pav. *Candida parapsilosis* padermių jautrumas antigrybiniams preparatams: ECN – ekonazolas 10 µg/diske, Ni – nistatinas 100 IU/diske, CLO – klotrimazolas 50 µg/diske, KCA – ketokonazolas 10 µg/diske, ITC – itrakonazolas 50 µg/diske, MCL – mikonazolas 10 µg/diske, FLU – flukonazolas 100 µg/diske.

Triazolai (itrakonazolas ir flukonazolas) pasižymėjo stipriu fungicidiniu poveikiu tirtoms *C. parapsilosis* padermėms. Vidutiniškai jautriai *C. parapsilosis* mielių padermės reagavo į nistatino poveikį, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 10 iki 14 mm.

*C. tropicalis* PCT2 ir *C. tropicalis* PTCT3 itrakonazolas jokio poveikio neturėjo. Jautriausiai *C. tropicalis* padermės reagavo į mikonazolo ir ekonazolo poveikį (48 pav.).

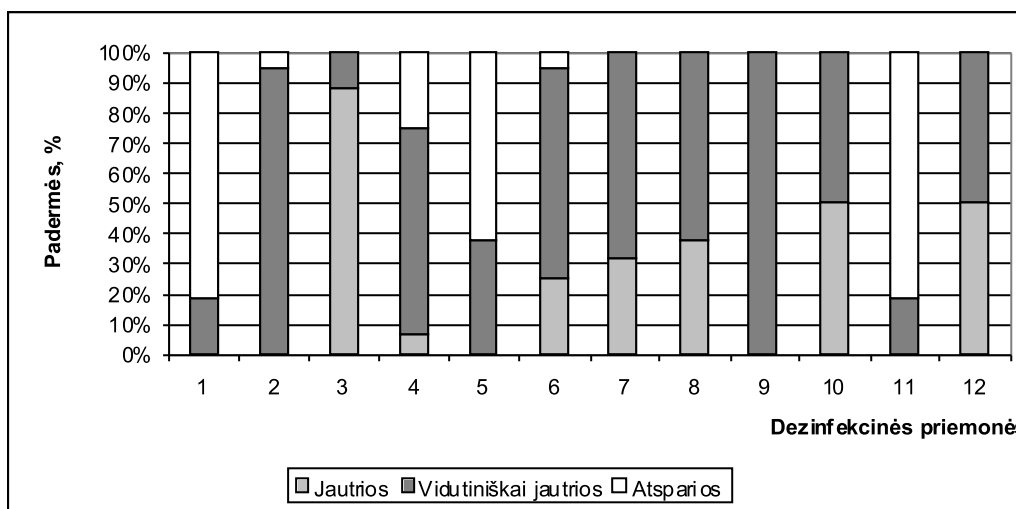


48 pav. *Candida tropicalis* mielių padermių jautrumas anti-grybiniams preparatams: ECN – ekonazolas 10 µg/diske, Ni – nistatinas 100 IU/diske, CLO – klotrimazolas 50 µg/diske, KCA – ketokonazolas 10 µg/diske, ITC – itrakonazolas 50 µg/diske, MCL – mikonazolas 10 µg/diske, FLU – flukonazolas 100 µg/diske.

*C. tropicalis* padermės jautriai reagavo į ketokonazolą ir ekonazolą, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 18 iki 31,8 mm. Vidutiniškai jautriai *C. tropicalis* padermės reagavo į nistatino poveikį, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 12 iki 14 mm.

### 3.8.2. Dezinfekcinių ir plovimo priemonių poveikis *Candida* mielėms

Nustatyta, kad tirtos priemonės nevienodai veikia patogenines *Candida* mieles. Pagal jautrumą dezinfekcinėms priemonėms *Candida* mielės buvo suskirstytos į jautrias, atsparias ir vidutiniškai jautrias tirtų priemonių poveikiui (49 pav.). Stipriausiai *Candida* mielių augimą slopino Divosan Forte priemonė.



49 pav. *Candida* mielių jautrumas dezinfekcinėms priemonėms: 1 – Divodes FG; 2 – Divosan activ (4%); 3 – Divosan Forte (2%); 4 – Ipa-300; 5 – F261 Kloriitti forte (2,5%), 6 – Oxivir (2,5%); 7 – Pesetti antibact (1%), 8 – Suma Bac D10 (2%), 9 – Tego 2000 (1%), 10 – Topax DD (5%), 11 – Topax U (5%), 12 – kontrolė nistatinas (100 IU).

Didesnei daliai 62,5–81,2% tirtų *Candida* mielių F261 Kloriitti forte, Topax U ir Divodes FG dezinfekcinės priemonės jokio poveikio neturėjo. Minėtos priemonės pasižymėjo silpnesniu poveikiu *Candida* mielėms negu kontrolė – antigrybinis preparatas nistatinas. Vidutiniškai jautrios *Candida* mielės buvo veikiant Pesetti antibact, Divosan activ, Suma Bac D10, Tego 2000, Oxivir ir IPA-300 dezinfekcinėmis priemonėmis.

33 lentelė. Dezinfekcinių medžiagų poveikis *Candida* mielėms

<i>Candida</i> padernės	Nistatinas (kontrolė)	Divodes FG	Divosan activ	Divosan Forte	IPA-300	F261 Kloriitti forte	Oxivir	Pesetti antibact	Suma Bac D10	Tego 2000	Topax DD	Topax U
Augimo slopinimo zona, mm												
<i>C. albicans</i> PCA1	23,3±0,5	0	14,7±0,7	29,4±1,4	12,7±0,7	12,1±0,1	19,4*±1,4	25,3*±1,3	13,1±0,1	13,2±0,2	23,4*±1,4	7,1±0,4
<i>C. albicans</i> PCA2	21,2±0,7	0	18,1±0,1	30,2±1,2	11,4±0,4	9,9±0,3	21,6*±1,6	18,4±1,4	13,0±0	17,3±0,6	19,6*±1,3	8,6±0,3
<i>C. albicans</i> PTCA3	13,0±1,0	0	10,6±0,3	32,7±2,7	12,0±0,2	0	21,7±1,7	15,8±0,8	19,4±0,2	12,1±0,1	14,4*±0,4	7,8±0,4
<i>C. famata</i> PCF1	10,1±0,6	0	9,7±0,7	30,8±3,4	13,2±0,4	0	14,2±0,4	12,4±0,4	19,4±0,4	13,9±0,6	22,7±0,7	8,4±0,2
<i>C. guilliermondii</i> PCGu1	14,3±1,3	0	12,4*±0,4	33,4±3,3	10,9±0,3	11,8±0,4	14,1*±0,3	14,8±0,4	21,6±0,3	18,1±1,1	18,9±1,6	9,6±0,2
<i>C. glabrata</i> PCG1	22,1±2,5	0	8,6±0,3	21,5*±1,5	9,0±1,0	0	0	13,2±0,2	16,9±0,6	15,0±1,0	18,9±1,3	9,0±0
<i>C. glabrata</i> PTCCG2	16,5±1,2	0	12,4±0,4	20,7±1,7	10,3±0,6	7,8±0,4	12,2±0,2	14,3±0,3	18,5±0,5	14,3±0,3	19,3±0,9	9,6±0,1
<i>C. kefyr</i> CK1	16,7±1,1	9,7±0,1	9,6±0,3	29,8±1,8	12,8±0,8	12,6±0,3	20,4±0,4	15,2*±0,2	29,7±0,5	18,2*±0,4	16,8*±1,4	0
<i>C. krusei</i> PTCKr1	10,0±0,5	0	12,4±0,4	32,7±1,7	11,8±0,4	10,5±0,5	17,7±0,7	15,1±0,1	22,2±0,2	15,1±0,1	20,5±0,5	0
<i>C. lusitaniae</i> PCLu1	14,6±1,6	0	10,4±0,4	20,1±1,1	22,3±0,6	0	16,7±0,7	12,8*±0,4	12,0±0	14,1*±1,1	24,8±0,4	0
<i>C. parapsilosis</i> PCP1	23,3±2,8	0	14,4±0,4	18,0±1,0	12,3±0,3	15,2±0,2	10,3±0,3	25,2*±0,2	19,4±0,4	14,0±1,2	23,7*±0,4	0
<i>C. parapsilosis</i> PCP1.1	20,2±1,2	0	17,6±0,6	17,7*±1,7	8,3±0,3	0	20,3*±0,6	21,4*±0,4	15,0±1,0	13,3±0,3	26,2±0,2	0
<i>C. parapsilosis</i> PTCP1.2	12,0±1,5	0	9,9*±0,9	52,2±4,2	13,1*±0,1	0	10,9*±0,3	18,1±0,1	17,9±0,6	16,9±1,3	18,7±1,3	0
<i>C. tropicalis</i> PCT1	20,7±1,6	10,0±0	18,9±0,6	26,4±1,4	7,0±0	0	16,2±0,2	25,4±0,4	21,5*±0,5	19,4*±1,2	21,3*±1,3	0
<i>C. tropicalis</i> PCT2	22,0±0,9	10,6±0,2	13,2±0,4	20,7*±1,3	8,0±1,0	0	14,1±1,1	23,2*±0,2	24,6±0,6	14,7±0,7	17,7±1,7	0
<i>C. tropicalis</i> PTCT3	21,5±0,5	0	9,8±0,2	31,1±2,6	8,6±0,3	8,0±0	10,0±1,0	19,6±0,3	24,1±0,1	19,7±0,7	27,4±0,4	0

Visi vidurkiai statistiškai patikimai skiriasi nuo kontrolės, išskyrus pažymėtus \*

Veikiant *Candida* mieles Divosan Forte priemone slopinamųjų zonų dydis svyravo nuo 17,7 iki 52,2 mm (33 lentelė). *C. parapsilosis* PTCP1.2 jautriausiai reagavo į priemonės poveikį, slopinamosios zonos dydis siekė daugiau kaip 50 mm ( $p < 0,05$ ). *C. albicans* PCA2, *C. albicans* PTCA3, *C. famata* PCF1, *C. guilliermondii* PCGu1, *C. krusei* PTCKr1, *C. tropicalis* PTCT3 jautriai reagavo į Divosan Forte (2%) priemonės veikimą, zonų dydis siekė daugiau negu 30 mm.

F261 Kloriitti forte dezinfekantas jokio slopinamojo poveikio neturėjo *C. albicans* PTCA3, *C. famata* PCF1, *C. glabrata* PCG1, *C. lusitaniae* PCLu1, *C. parapsilosis* PCP1.1, *C. parapsilosis* PTCP1.2, *C. tropicalis* PCT1, *C. tropicalis* PCT2 augimui. Kitų tirtų *Candida* mielių augimą F261 Kloriitti forte dezinfekantas slopino silpnai, slopinamųjų zonų dydis siekė nuo 9,9 mm iki 15,2 mm ( $p < 0,05$ ).

Topax U dezinfekcinė priemonė *C. kefyr* PCK1, *C. krusei* PTCKr1, *C. lusitaniae* PCLu1, *C. parapsilosis* PCP1, *C. parapsilosis* PCP1.1, *C. parapsilosis* PTCP1.2, *C. tropicalis* PCT1, *C. tropicalis* PCT2 ir *C. tropicalis* PTCT3 augimui jokios įtakos neturėjo.

Divodes FG priemonė *C. albicans* PCA1, *C. albicans* PCA2, *C. albicans* PTCA3, *C. famata* PCF1, *C. guilliermondii* PCGu1, *C. glabrata* PCG1, *C. glabrata* PTCG2, *C. krusei* PTCKr1, *C. lusitaniae* PCLu1, *C. parapsilosis* PCP1, *C. parapsilosis* PCP1.1, *C. parapsilosis* PTCP1.2, *C. tropicalis* PTCT3 augimui jokio poveikio neturėjo. *C. kefyr* PCK1, *C. tropicalis* PCT1 ir *C. tropicalis* PCT2 augimą minėta priemonė slopino silpnai, zonų dydis siekė nuo 9,7 mm iki 10,6 mm ( $p < 0,05$ ).

Stipriu slopinamuoju poveikiu Pessetti antibact pasižymėjo *C. albicans* PCA1, *C. parapsilosis* PCP1, *C. tropicalis* PCT1 ir *C. tropicalis* PCT2, susidariusios slopinamosios zonos siekė daugiau negu 21 mm.

Divosan activ dezinfekcinė priemonė pasižymėjo silpnesniu slopinamuoju poveikiu tirtoms *Candida* mielėms negu nistatinas. *C. glabrata* PCG1 buvo atsparios dezinfekanto Divosan activ poveikiui, slopinamosios zonos dydis siekė tik 8,6 mm ( $p < 0,05$ ). Likusios tirtos *Candida* mielės buvo vidutiniškai jautrios

Divosan activ priemonei, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 9,6 mm iki 18,9 mm ( $p < 0,05$ ).

Topax DD priemonės poveikis *Candida* mielėms buvo panašus į nistatino poveikį. Jautriausia Topax DD priemonės poveikiui buvo *C. tropicalis* PTCT3, slopinamųjų zonų dydis siekė 27,4 mm ( $p < 0,05$ ).

Didžioji dalis 62,5% tirtų *Candida* mielių buvo vidutiniškai jautrios Suma Bac D10 poveikiui, slopinamųjų zonų dydžiai siekė nuo 12 mm iki 19,4 mm ( $p < 0,05$ ).

Visos tirtos *Candida* mielės buvo vidutiniškai jautrios dezinfekanto Tego 2000 poveikiui, slopinamųjų zonų dydžiai siekė nuo 12,1 iki 19,7 mm ( $p < 0,05$ ).

Jautrių Oxivir priemonės poveikiui buvo 25% tirtų *Candida* mielių. *C. glabrata* PCGu1 augimo minėta priemonė neslopino. Jautriausios Oxivir dezinfekcinei priemonei buvo *C. albicans* PTCA3 mielės, slopinamosios zonos dydis siekė  $21,7 \pm 0,8$  mm ( $p < 0,05$ ).

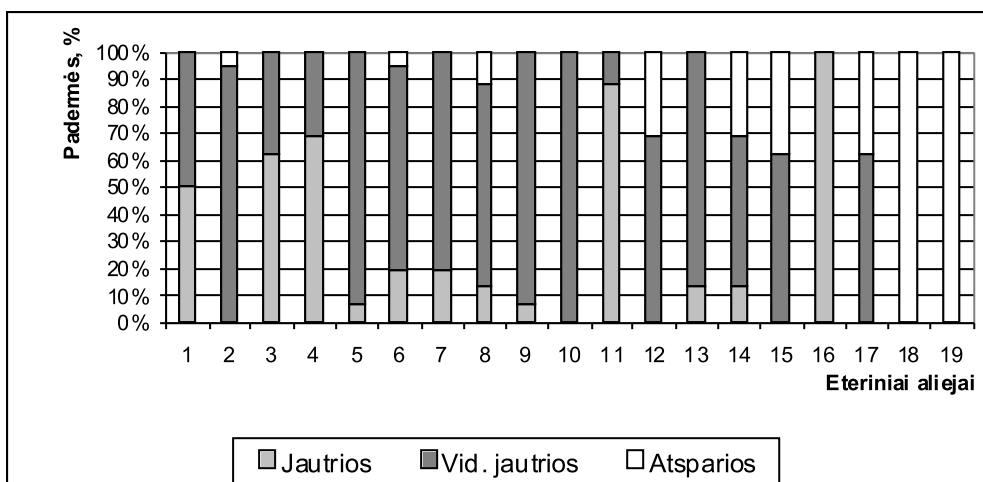
*C. parapsilosis* PCP1.1, *C. tropicalis* PCT1, *C. tropicalis* PCT2 ir *C. tropicalis* PTCT3 augimą Ipa-300 slopino silpnai, slopinamųjų zonų dydžiai siekė nuo 7 iki 8,6 mm ( $p < 0,05$ ). Jautriausios dezinfekanto Ipa-300 poveikiui buvo *C. lusitaniae* PCLu1, slopinamosios zonos dydis siekė 22,3 mm ( $p < 0,05$ ). Vidutiniškai jautrių dezinfekanto Ipa-300 poveikiui buvo 68,8% tirtų *Candida* mielių, slopinamųjų zonų dydžiai siekė nuo 9 iki 13,2 mm ( $p < 0,05$ ).

Dezinfekcinė priemonė Divosan Forte stipriai slopino *Candida* mielių augimą, jos veiklioji medžiaga yra 15% peracto rūgštis. Šią priemonę tikslinga būtų naudoti siekiant sumažinti užterštumą *Candida* mielėmis. Priemonės Divodes FG ir Topax U silpnai veikia *Candida* mieles, todėl jų kovai su šios genties mielėmis naudoti nereikėtų.

### **3.9. Biologinės kilmės fungicidinėmis savybėmis pasižyminčių medžiagų paieška prieš *Candida* mieles**

#### **3.9.1. Augalų eterinių aliejų poveikis *Candida* mielėms**

Atlikus eterinių aliejų poveikio patogeninėms *Candida* mielėms tyrimus nustatyta, jog mielės yra jiems jautrios, vidutiniškai jautrios ir atsparios (50 pav.).



50 pav. *Candida* mielių jautrumas įvairiems eteriniams aliejams: 1 – nistatinas 100 IU (kontrolė), 2 – keturbriaunio čiobreljo linalolo (L) chemotipas, 3 – keturbriaunio čiobreljo timolo (T) chemotipas, 4 – keturbriaunio čiobreljo geraniolio G/G/N chemotipas, 5–9 – paprastasis kmynas, 10 – arbatmedis, 11 – citrinmedis, 12 – lavandinai, 13 – sibirinis kėnis, 14 – eukaliptas, 15 – bergamočiai, 16 – mėta 'Zgadka', 17 – raudonoji monarda, 18 – paprastojo kadagio spygliai, 19 – paprastojo kadagio uogos.

Tyrimų rezultatai parodė, kad paprastojo kadagio spyglių ir uogų eterinio aliejaus poveikiui tirtos *Candida* mielės buvo atsparios. Visos tirtos *Candida* mielės buvo jautrios mėtos 'Zgadka' eterinio aliejaus poveikiui, slopinamųjų zonų dydis siekė nuo 20,5 iki 29,2 mm ( $p < 0,05$ ).

Citrinmedžio, keturbriaunio čiobreljo geraniolio (G/G/N) ir timolio (T) chemotipų eteriniai aliejai stipriai slopino *Candida* mielių augimą. Minėti eteriniai aliejai pasižymėjo platesniu veikimo spektru ir stipresniu poveikiu mielėms nei kontroliniai anti grybiniai preparatai – flukonazolas ir nistatinas.

Citrinmedžio eterinio aliejaus poveikiui jautrių buvo 87,5% tirtų *Candida* mielių, likę 12,5% vidutiniškai jautrios. Citrinmedžio eterinis aliejus *C. glabrata* PCG1, *C. kefyr* PCK1, *C. krusei* PTCKr1, *C. lusitaniae* PCL1, *C. parapsilosis* PCP1, *C. parapsilosis* PTCP1.2 ir *C. tropicalis* PCT2 augimą slopino 1–2 kartus stipriau negu kontrolinė nistatinas (34 lentelė).



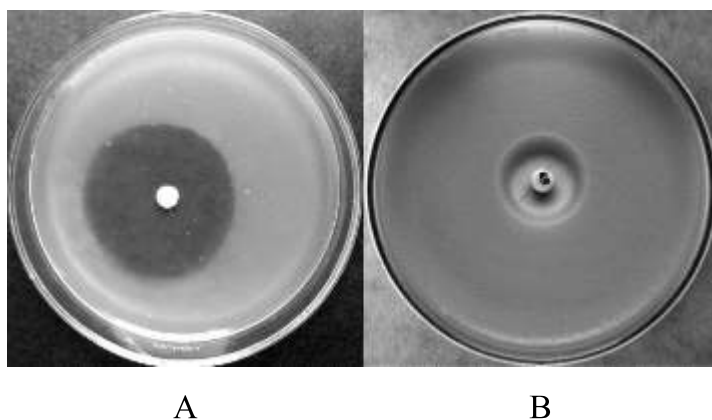
34 lentelė. Eterinių aliejų poveikis *Candida* genties mielėms

<i>Candida</i> padermės	Kontrolė (nistatinas)	Keturbraunis čiobrelis			Paprastasis kmynas				
		Linalo chemotipas	Timolo chemotipas	Geraniolo chemotipas	KMY1	KMY2	KMY3	KMY4	KMY5
		Augimo slopinimo zona, mm							
<i>C. albicans</i> PCA1	23,3±0,5	25,1±1,2	28,3±2,6	42,3±4,7	13,3±2,1	12,3±2,6	11,7±2,5	10,1±1,2	9,9±3,4
<i>C. albicans</i> PCA2	21,2±0,7	21,3±16,1*	27,3±1,5	21,3±2,3*	13,3±0,6	8,2±3,3	10,2±1	14,3±2,6	12,3±0,6
<i>C. albicans</i> PTCA3	13,0±1,0	17,4±0,4	45,7±2,5	28,9±1,4	12,3±2	10,8±1,9	9,8±1,3	13,2±2,2*	11,6±0,5
<i>C. famata</i> PCF1	10,1±0,6	16,3±0,6	18±3,6	38,3±1,5	14±2,2	6,0±0	19,4±2,4	38,5±3,2	14,3±1,5
<i>C. guilliermondii</i> PCGu1	14,3±1,3	30,2±1,2	33,8±1,8	32,7±1,7	12,0±1,0	9,5±0,2	14,2±0,4*	16,2±0,2	10,2±0,2
<i>C. glabrata</i> PCG1	22,1±2,5	11,3±2,3	33,6±0,6	14,3±0,6	20,3±2,9	19,3±2,9	25,0±1,0	0	19,3±2,8
<i>C. glabrata</i> PTCG2	16,5±1,2	25,5±0,5	22,1±1,1	18,5±1,5	18,5±3	20,7±1,4	20,3±2,4	0	17,9±2,2
<i>C. kefyr</i> CK1	16,7±1,1	10,8±3,3	18,4±9,8	21,3±1,5	15,6±2,3	18,7±1,3	18,5±1,7	14,2±1,2	12,9±0,2
<i>C. krusei</i> PTCKr1	10,0±0,5	15,7±0,7	19,5±1,5	18,7±0,4	16,8±6,3	22,9±2,7	35,6±7	33,1±5,1	25,0±1,0
<i>C. lusitanae</i> PCLu1	14,6±1,6	13,7±0,6	10,0±1,0	20,8±0,6	13,4±1,3	19,2±3,1	15,2±4	15,9±0,7	10,7±0,6
<i>C. parapsilosis</i> PCP1	23,3±2,8	15,6±5,1	22,6±0,6	11,6±0,6	11,7±0,5	16,9±2	20,0±2,0	17,3±3	12,0±1,0
<i>C. parapsilosis</i> PCP1.1	20,2±1,2	10,1±0	22,6±1,1	17,0±1,0	13,1±2,3	18,1±1,8	16,3±1,5	19,2±2	10,7±1,6
<i>C. parapsilosis</i> PTCP1.2	12,0±1,5	21,7±1,7	23,8±1,8	22,5±0,5	11,5±0,2	18,0±2,0	19,5±1,9	16,9±1	11,9±1,3*
<i>C. tropicalis</i> PCT1	20,7±1,6	6,6±0,6	9,2±0	22,0±1,7	10,2±1,6	20,2±7,1	18,2±3,1	12,5±2,4	14,8±1,3
<i>C. tropicalis</i> PCT2	22,0±0,9	10,3±0,6	9,6±0,6	19,1±1	15±2,1	18,8±1,7	19,6±2,9	17,3±2,6	10,3±0,5
<i>C. tropicalis</i> PTCT3	21,5±0,5	20,2±1,2	26,6±1,6	38,4±2,4	13,3±0,4	17,9±2	19,1±0,1	15,6±0,7	11,5±0,8

Visi vidurkiai statistškai patikimai skiriasi nuo kontrolės, išskyrus pažymėtus \*

Keturbraunio čiobrelio timolio (T) ir geraniolio (G/G/N) chemotipų eterinis aliejus stipriai slopino tirtų *Candida* mielių augimą. *C. albicans* padermės keturbraunio čiobrelio geraniolio (G/G/N) chemotipo eterinio aliejaus poveikiui buvo jautresnės 1–1,6 karto negu kontrolės antigrybinio preparato nistatinui (100 IU) veikimui (51 pav.) Fungicidinės zonos siekė daugiau negu 30 mm veikiant *C. famata* PCF1, *C. guilliermondii* PCGu1 ir *C. tropicalis* PTCT3 keturbraunio čiobrelio geraniolio (G/G/N) chemotipo

eteriniu aliejumi. Šio chemotipo eterinis aliejus aukščiau minėtų rūšių mieles 1,8–4 karto stipriau už nistatiną.



51 pav. *C. albicans* PCA1 jautrumas keturbriaunio čiobrelio geraniolio (G/G/N) chemotipo eteriniam aliejui (A) ir kontrolei nistatinui 100 IU (B).

Vidutiniškai jautrios keturbriaunio čiobrelio (G/G/N) chemotipo eterinio aliejaus poveikiui buvo *C. parapsilosis* PCP1 (11,6 mm, ( $p < 0,05$ )), *C. glabrata* PCG1 (14,3 mm, ( $p < 0,05$ )) ir *C. parapsilosis* PCP1.1 (17 mm, ( $p < 0,05$ )). Keturbriaunio čiobrelio timolio (T) chemotipo eterinio aliejaus poveikiui tirtos *Candida* mielės buvo jautrios arba vidutiniškai jautrios. *C. albicans* PTCA3 keturbriaunio čiobrelio timolio (T) chemotipo eterinio aliejaus poveikiui buvo jautresnės 3,5 karto negu kontrolės antigrybinio preparato nistatino (100 IU) veikimui. *C. guilliermondii* PCGu1 bei *C. glabrata* PCG1 jautriai reagavo į keturbriaunio čiobrelio timolio (T) chemotipo eterinio aliejaus poveikį, slopinamųjų zonų dydis siekė daugiau negu 30 mm. Keturbriaunio čiobrelio (T) chemotipo eterinis aliejus *C. glabrata* PCG1 ir *C. guilliermondii* PCGu1 augimą slopino 1,5–2,3 karto stipriau už nistatiną. Stipriu fungicidiniu veikimu *C. albicans* PCA1, *C. albicans* PCA2, *C. glabrata* PTCG2, *C. parapsilosis* PCP1, *C. parapsilosis* PCP1.1, *C. parapsilosis* PTCP1.2, *C. tropicalis* PTCT3 pasižymėjo keturbriaunio čiobrelio (T) chemotipo eterinis aliejus, fungicidinės zonos dydis siekė daugiau negu 20 mm ( $p < 0,05$ ).

Keturbriaunio čiobrelio linalolo (L) chemotipo eterinio aliejaus poveikiui tirtos *Candida* mielės buvo jautrios, vidutiniškai jautrios ir atsparios. Jautrios keturbriaunio čiobrelio linalolo (L) chemotipo eterinio aliejaus poveikiui buvo

*C. guilliermondii* PCGu1, slopinamosios zonos dydis siekė 30,2 mm ( $p < 0,05$ ). Keturbriaunio čiobrelio linalolo (L) chemotipo eterinio aliejaus poveikis tos pačios rūšies mielių skirtingoms padermėms buvo nevienodas. *C. tropicalis* PCT1 buvo atsparios, o *C. tropicalis* PCT2 ir *C. tropicalis* PTCT3 vidutiniškai atsparios keturbriaunio čiobrelio linalolo (L) chemotipo eterinio aliejaus poveikiui.

Tirtos *Candida* mielės buvo vidutiniškai jautrios arbatmedžio eterinio aliejaus poveikiui, slopinamųjų zonų dydis siekė nuo 10,2 mm iki 19 mm išskyrus. *C. famata* PCF1 ir *C. parapsilosis* PTCP1.2 panašiai reagavo į arbatmedžio eterinio aliejaus poveikį zonų dydis buvo 17,7 mm ( $p < 0,05$ ).

Paprastojo kmyno sėklų eterinio aliejaus (sėklos surinktos iš 5 skirtingų augimviečių) poveikis *Candida* mielėms buvo panašus. Kiek stipresniu slopinamuoju poveikiu *Candida* mielėms išsiskyrė 1 ir 5 augimvietėse augančių kmynų sėklų eterinis aliejus (35 lentelė). Minėtų eterinių aliejų poveikiui vidutiniškai jautrių buvo 93,6% tirtų *Candida* mielių. Iš 2, 3 ir 4 augimviečių paprastojo kmyno sėklų eterinio aliejaus poveikis tirtoms *Candida* mielėms buvo panašus 81,2%–75% vidutiniškai jautrių mielių. Jokio poveikio *C. glabrata* PCG1 ir *C. glabrata* PTCG2 augimui neturėjo iš 4 augimvietės surinktų paprastojo kmyno sėklų eterinis aliejus.

Net 37,5% tirtų *Candida* mielių buvo atsparios bergamočių ir raudonosios monardos eterinių aliejų poveikiui. Bergamočių eterinis aliejus nestabdė *C. parapsilosis* PTCP1.2, *C. tropicalis* PCT1, *C. tropicalis* PCT2 ir *C. tropicalis* PTCT3 augimo. Vidutiniškai jautrios bergamočių eterinio aliejaus poveikiui buvo *C. guilliermondii* PCGu1, *C. glabrata* PTCG2, *C. krusei* PTCKr1 ir *C. lusitaniae* PCLu1. Minėtos mielių rūšys į bergamočių eterinio aliejaus poveikį reagavo panašiai, jų augimo slopinimo zonų dydis siekė 13 mm ( $p < 0,05$ ). Lavandinių eterinis aliejus jokio poveikio neturėjo *C. famata* PCF1, *C. lusitaniae* PCLu1 ir *C. parapsilosis* PCP1 augimui.

35 lentelė. Eterinių aliejų poveikis *Candida* mielėms

<i>Candida</i> padėmės	Kontrolė (nistatina s)	Arbatmed is	Citrinmed is	Lavand in ai	Sibirini s kėnis	Eukalipt as	Bergamoči ai	Mėta 'Zgadk a'	Raudon oji monarda
	Augimo slopinimo zona, mm								
<i>C. albicans</i> PCA1	23,3±0,5	14,8*±2,3	20,1±4,0	12,6±1,6	11,4±2,7	16,2±3,3	8,6±2,1	21,4±1,5	8,5±0,5
<i>C. albicans</i> PCA2	21,2±0,7	14,0±3,0	15,4±2,7	14,5±2,3	12,6±3	17,3±3,5	14,8±3,4	22,4±2,5	9,2±0,4
<i>C. albicans</i> PTCA3	13,0±1,0	14,7±0,7	21,0±1,0	10,9±0,6	9,3±0,3	10,1±1,1	0	22,5±0,5	8,1±0,1
<i>C. famata</i> PCF1	10,1±0,6	17,7±4,2	23,1±3,9	0	17,5±3,3	14,4±3,4	11,4±3	23,7±0,5	10,2*±0,4
<i>C. guilliermondii</i> PCGu1	14,3±1,3	16,3±1,3	20,4±0,4	9,3±0,3	12,3±0,3	21,6±1,3	16,4±0,4	22,3±0,3	0
<i>C. glabrata</i> PCG1	22,1±2,5	13,6±2,3	22,7±10,5	14,7±0,8	16,6±5,4	11,1±3,1	7,0±0,1	29,2±1,2	11,3±0,3
<i>C. glabrata</i> PTCG2	16,5±1,2	10,2±1,2	21,6±1,6	8,4±0,4	14,1±0,3	15,7±0,3	13,3±0,6	21,3±1,1	10,5±0,5
<i>C. kefyr</i> CK1	16,7±1,1	19,1±2,1	34,4±10,2	9,3±0,5	21,4±5,6	19,2±2,1	12,4±3,5	29,1±1,9	10,7±0,3
<i>C. krusei</i> PTCKr1	10,0±0,5	14,0±1,0	22,6±0,6	12,2±0,4	15,8±0,2	14,7±0,3	13,2±1,2	23,1±1,1	8,5±0,5
<i>C. lusitaniae</i> PCLu1	14,6±1,6	12,8±3,1	29,3±7,3	0	15,1±5,3	16,2±3,4	13,5±4,1	20,8±0,4	14,2±0,4
<i>C. parapsilosis</i> PCP1	23,3±2,8	12,4±2	23,3±3,1	0	15,7±4,2	6,1±0,3	9,4±1,3	20,7±1,7	12,5±0,5
<i>C. parapsilosis</i> PCP1.1	20,2±1,2	16,2±3,2	28,5±3,6	8,5±3,2	21,4±4,2	6,0±0	12,6±3,1	21,3±1,3	12,7±0,3
<i>C. parapsilosis</i> PTCP1.2	12,0±1,5	17,7±1,7	43,7±3,4	9,3±0,3	15,4±0,4	22,8±0,4	0	20,8±0,4	10,5±0,5
<i>C. tropicalis</i> PCT1	20,7±1,6	12,2±2,2	12,6±4,7	12,2±6,6	12,3±1,7	0	0	20,5±0,5	0
<i>C. tropicalis</i> PCT2	22,0±0,9	16,1±2,9	24,3±4,3	12,1±1,1	14,7±5,9	0	0	22±7,1	0
<i>C. tropicalis</i> PCT3	21,5±0,5	16,9±1,9	20,4±1,4	10,4±0,4	12,0±1,0	0	0	21,3±2,6	0

Visi vidurkiai statistiškai patikimai skiriasi nuo kontrolės, išskyrus pažymėtus \*

Sibirinio kėnio eterinio aliejaus poveikiui tirtos *Candida* mielės buvo jautrios arba vidutiniškai jautrios. Jautrios minėto eterinio aliejaus poveikiui buvo *C. kefyr* PCK1 ir *C. parapsilosis* PCP1.1, slopinamosios zonos dydis siekė daugiau negu 20 mm ( $p < 0,05$ ). Sibirinio kėnio eterinio aliejaus poveikiui vidutiniškai jautrių buvo 87,5% tirtų *Candida* mielių, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 9,3 iki 17,5 mm. Veikiant sibirinio kėnio eteriniu aliejumi *C. albicans* PCA2, *C. guilliermondii* PCGu1, *C. tropicalis* PCT1, *C. tropicalis* PCT3 reagavo panašiai, slopinamųjų zonų dydžiai svyravo nuo 12 iki 12,6 mm ( $p < 0,05$ ).

Eukalipto eterinio aliejaus poveikiui vidutiniškai jautrių buvo 56,2% tirtų *Candida* mielių. Jautrios eukalipto eterinio aliejaus poveikiui buvo *C. parapsilosis* PTCP1.2 ir *C. guilliermondii* PCGu1 mielės, slopinamųjų zonų dydžiai siekė daugiau kaip 20 mm ( $p < 0,05$ ). Eukalipto eterinis aliejus jokio poveikio neturėjo *C. tropicalis* PCT1, *C. tropicalis* PCT2 ir *C. tropicalis* PTCT3 augimui.

Lavandinų eterinio aliejų poveikiui tirtos *Candida* mielės buvo vidutiniškai jautrios arba atsparios. Vidutiniškai jautrių lavandinų eterinio aliejaus poveikiui buvo 68,8% tirtų *Candida* mielių. Jokio poveikio *C. famata* PCF1, *C. lusitaniae* PCLu1, *C. parapsilosis* PCP1 minėtas eterinis aliejus neturėjo.

Stipriausiu slopinamuoju poveikiu patogeninėms *Candida* mielėms pasižymėjo citrinmedžio, keturbriaunio čiobrelio geraniolio (G/G/N) ir timolio (T) chemotipų eteriniai aliejai. Šie eteriniai aliejai galėtų būti panaudoti natūralių ir efektyvių antigrybinių preparatų ar profilaktinių priemonių kūrime.

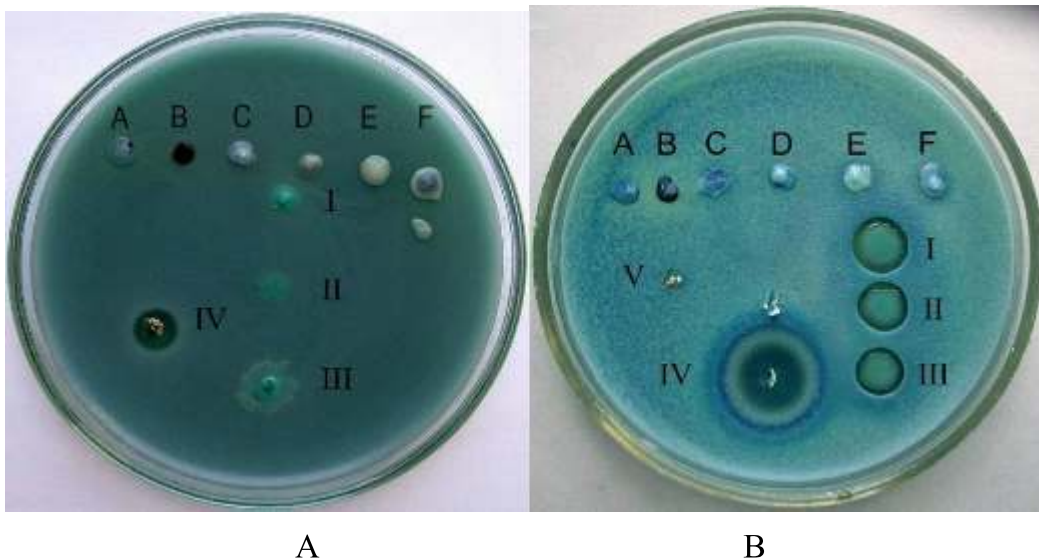
### **3.9.2. Bakterijų padermių, slopinančių *Candida* mielių augimą, paieška**

Atlikus bakterijų *Pantoea citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>), *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) padermių aktyvumo tyrimus nustatyta, kad minėtų bakterijų išskiriamos medžiagos pasižymi inhibuojančiu poveikiu patogeninėms *Candida* mielėms. Kontrolei naudoti *Saccharomyces cerevisiae* standartiniai mikocinogeniniai kamienai: K7, M437, MS300, Rom-K100, DBY, K28 neturėjo jokio poveikio tirtoms patogeninėms *Candida* mielėms. Kultivuojant *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>), *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) padermes ant *C. albicans* PTCA3, *C. kefyr* PCK1 ir *C. parapsilosis* PTCP1.2 bandomųjų pasėlių susidarė įvairaus dydžio lizės zonos (36 lentelė). Stipriu inhibuojančiu poveikiu *C. albicans* PTCA3 pasižymėjo *Streptomyces* sp. (Ux) padermė, lizės zonos dydis siekė 10 mm. Kitų tirtų bakterijų poveikyje lizės zonos buvo 5–7 mm.

36 lentelė. Bakterijų padermių fungicidinis poveikis patogeninėms *Candida* mielėms

<i>Candida</i> padermės	<i>Pantoea citrea</i>			<i>Streptomyces</i> sp.	
	T <sub>1</sub> x	T <sub>2</sub> x	T <sub>3</sub> x	Ux	Ux308
	Lizės zona, mm				
<i>C. albicans</i> PTCA3	7,0±0,1	5,0±0,1	5,0±0,1	10,0±0,2	6,0±0,4
<i>C. famata</i> PCF1	6,0±0,3	7,0±0,2	4,0±0,1	8,0±0,4	4,0±0
<i>C. glabrata</i> PTCG2	8,0±0,1	6,0±0,3	6,0±0,1	6,0±0	8,0±0,2
<i>C. kefyr</i> PCK1	5,0±0,1	6,0±0,1	5,0±0,1	7,0±0,1	10,0±0,5
<i>C. lusitaniae</i> PCLu1	8,0±0,2	7,0±0,3	7,0±0,1	0	0
<i>C. tropicalis</i> PTCT3	6,0±0	5,0±0,1	5,0±0,1	0	10,0±0,5
<i>C. parapsilosis</i> PTCP1.2	7,0±0,2	5,0±0,1	6,0±0,2	10,0±0,5	8,0±0,4

Visos tirtos bakterijų padermės formavo 5–10 mm dydžio lizės zonas, kultivuojant jas ant *C. kefyr* PCK1 ir *C. parapsilosis* PTCP1.2 pasėlių. *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) išskiriamos medžiagos silpnai slopino *C. famata* PCF1 ir *C. glabrata* PTCG2 augimą, lizės zonų dydis siekė 4–8 mm (52 pav.).



52 pav. Bakterijų padermių :I– *P. citrea* T<sub>1</sub>x; II– *P. citrea* T<sub>2</sub>x; III– *P. citrea* T<sub>3</sub>x; IV– *Streptomyces* sp. Ux; V– *Streptomyces* sp. Ux308 bei standartinių *S. cerevisiae* mikocinogeninių kamienų :A–MS300; B–DBY; C–K7; D–K28; E–Rom-K100; F–M437 poveikis *Candida glabrata* PTCG2 (A) ir *Candida parapsilosis* PTCP1.2 (B).

*P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) auginant jas ant *C. famata* PCF1 ir *C. glabrata* PTCG2 pasėlių sudarė 6–8 mm lizės zonos. *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) sudarė 7–8 mm dydžio lizės zonos ant *C. lusitaniae* PCLu1 pasėlio. *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) bei *Saccharomyces cerevisiae* mikocinogeniniai kamienai inhibuojančiu poveikiu *C. lusitaniae* PCLu1 nepasižymėjo.

Kultivuojant *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) ir *Streptomyces* sp. (Ux308) ant *C. tropicalis* PTCT3 pasėlio susidarė 5–10 mm lizės zonos.

*Pantoea citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>), *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) aktyvumo tyrimai atlikti ir iš maisto produktų išskirtomis *Candida* mielėmis. Nustatyta, kad minėtų bakterijų išskiriamos medžiagos slopina iš maisto produktų išskirtas *Candida* mieles (37 lentelė). Kontroliniai standartiniai *Sacharomyces cerevisiae* mikocinogeniniai kamienai: K7, M437, MS300, Rom-K100, DBY, K28 neturėjo jokio poveikio minėtoms mielėms.

37 lentelė. Bakterijų padermių fungicidinis poveikis iš maisto produktų išskirtoms *Candida* mielėms

<i>Candida</i> padermės	<i>Pantoea citrea</i>			<i>Streptomyces</i> sp.	
	T <sub>1x</sub>	T <sub>2x</sub>	T <sub>3x</sub>	Ux	Ux308
	Lizės zona, mm				
<i>C. albicans</i> C.A.1	0	0	0	2,0±0	6,3±0,6
<i>C. albicans</i> C.A.2	0	0	7,1±0,1	0	6,0±0
<i>C. albicans</i> C.A.3	0	0	0	3,0±0	9,3±0,6
<i>C. albicans</i> C.A.4	0	0	0	6,1±2,6	7,0±1,0
<i>C. inconspicua</i> C.I.1	0	9,0±1,0	11,2±0,2	0	12,0±0
<i>C. inconspicua</i> C.I.2	1,0±0	0	6,0±0	6,1±0,1	18,0±1,0
<i>C. magnoliae</i> C.M.1	0	0	0	0	9,6±0,6
<i>C. parapsilosis</i> C.P.1	0	0	1,0±0	0	15,0±1,0
<i>C. parapsilosis</i> C.P.2	0	7,1±0,1	7,2±0,2	0	16,3±0,6
<i>C. parapsilosis</i> C.P.3	0	0	7,0±0	0	10,0±1,0
<i>C. pelliculosa</i> C.Pl.1	0	0	0	2,0±0	15,0±0
<i>C. rhagii</i> C.Rh.1	0	0	0	8,0±1,0	11,6±0,6
<i>C. rhagii</i> C.Rh.2	0	0	0	4,0±0	18,0±1,0
<i>C. rugosa</i> C.R.1	0	10,0±1,0	10,0±1,0	0	12,3±0,3
<i>C. rugosa</i> C.R.2	0	0	0	0	14,6±0,6
<i>C. saitoana</i> C.St.1	0	0	0	6,0±0	21,3±0,6
<i>C. saitoana</i> C.St.2	0	0	0	0	10,3±0,6
<i>C. sake</i> C.S.1	0	0	0	6,0±0,5	20,0±0,8
<i>C. sake</i> C.S.2	0	0	7,0±0	5,3±1,5	5,7±0,6
<i>C. sake</i> C.S.3	0	0	0	1,0±0	7,0±1,0

<i>C. sorboxylosa</i> C.Sr.1	0	0	0	0	6,2±0,2
<i>C. vini</i> C.V.1	0	0	0	0	11,0±0
<i>C. vini</i> C.V.2	0	1,0±0	1,0±0	3,0±0	19,0±1,0
<i>C. zeylanoides</i> C.Z.1	0	0	0	6,3±0,6	9,7±2,3
<i>C. zeylanoides</i> C.Z.2	0	0	0	4,0±0	18,6±0,6
<i>C. zeylanoides</i> C.Z.3	-	0	0	0	12,3±0,6
<i>C. zeylanoides</i> C.Z.4	0	0	0	6,0±0	19,3±0,6
<i>C. zeylanoides</i> C.Z.5	0	11,3±0,9	10,0±1,0	0	12,3±0,6
<i>C. zeylanoides</i> C.Z.6	0	1,0±0	1,0±0	0	12,0±1,0
<i>C. zeylanoides</i> C.Z.7	0	0	10,0±1,0	0	12,0±1,0

Labai stipriu slopinamuoju poveikiu iš maisto produktų išskirtoms *Candida* mielėms pasižymėjo *Streptomyces* sp. (Ux308). Didesnes nei 20 mm lizės zonas formavo *Streptomyces* sp. Ux308 kultivuojant jį ant *C. saitoana* C.St.1 (53 pav.) ir *C. sake* C.S.1 pasėlių. *Streptomyces* sp. (Ux) buvo būdingas silpnesnis slopinamasis poveikis, lizės zonos neviršijo 10 mm. *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) iš maisto išskirtas *Candida* mieles veikė silpniausiai, 58,1% visų tirtų mielių buvo atsparios minėtų izoliatų poveikiui.

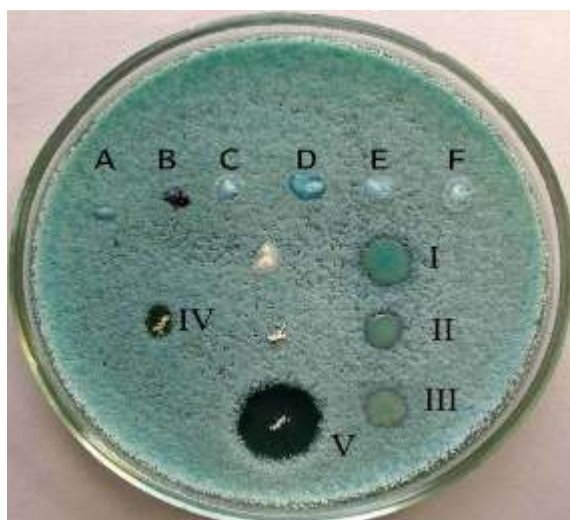


53 pav. Bakterijų padermių :I– *P. citrea* T<sub>1x</sub>; II– *P. citrea* T<sub>2x</sub>; III– *P. citrea* T<sub>3x</sub>; IV– *Streptomyces* sp. Ux; V- *Streptomyces* sp. Ux308 bei standartinių *S. cerevisiae* mikocinogeninių kamienų: A–MS300; B–DBY; C–K7; D–K28; E–Rom-K100; F–M437 poveikis *Candida saitoana* C.St.1.

Minimaliu slopinamuoju poveikiu *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) pasižymėjo kultivuojant ant *C. parapsilosis* C.P.1, *C. vini* C.V.2 ir *C. zeylanoides* C.Z.6 pasėlių. Jautresnės *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) išskiriamoms medžiagoms buvo *C. inconspicua* C.I.1, *C. rugosa* C.R.1 ir *C. zeylanoides* C.Z.5 susiformavusios lizės zonos siekė daugiau nei 10 mm.



Iš maisto produktų išskirtos *Candida* mielės buvo jautrios *Streptomyces* sp. (Ux) išskiriamoms medžiagoms, susidariusios lizės zonos siekė nuo 1 mm iki 8 mm. Kultivuojant *Streptomyces* sp. (Ux) ant *C. rhagii* C.Rh.1 pasėlio susidarė 8 mm lizės zonos. *C. albicans* C.A.2, *C. inconspicua* C.I.1, *C. parapsilosis* C.P.1, *C. parapsilosis* C.P.2, *C. parapsilosis* C.P.3, *C. rugosa* C.R.1, *C. vini* C.V.1, *C. zeylanoides* C.Z.3, *C. zeylanoides* C.Z.5, *C. zeylanoides* C.Z.6 ir *C. zeylanoides* C.Z.7 buvo atsparios *Streptomyces* sp. (Ux) poveikiui *Streptomyces* sp. (Ux308) kultivuojant ją ant *C. pelliculosa* pasėlio sudarė 15,0 mm dydžio lizės zoną, o *Streptomyces* sp. (Ux) suformavo žymiai mažesnę negu 2,0 mm (54 pav.). *P. citrea* (T<sub>1</sub>x, T<sub>2</sub>x, T<sub>3</sub>x) *C. pelliculosa* C.Pl.1 jokio poveikio neturėjo.

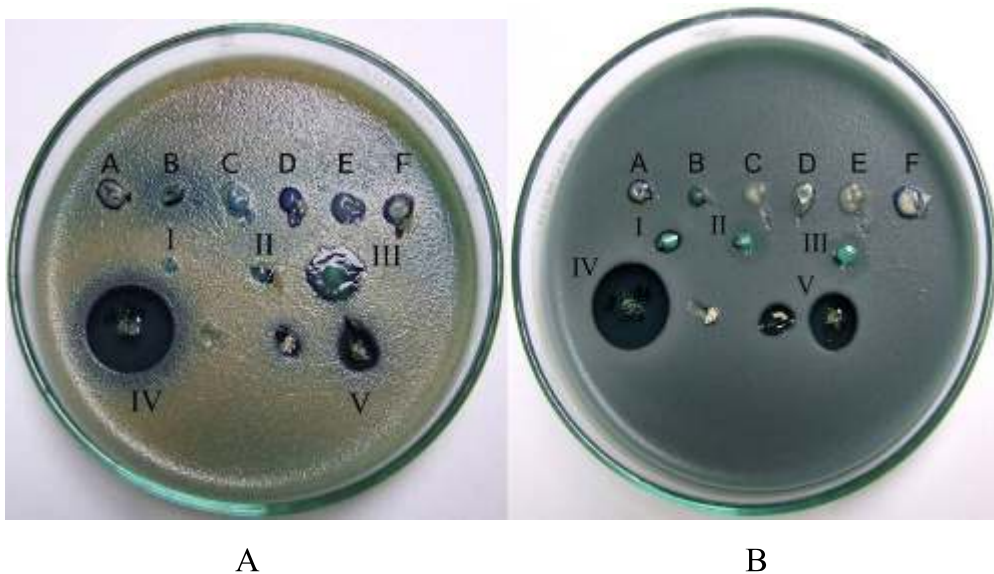


54 pav. Bakterijų padermių: **I**– *P. citrea* T<sub>1</sub>x; **II**– *P. citrea* T<sub>2</sub>x; **III**– *P. citrea* T<sub>3</sub>x; **IV**– *Streptomyces* sp. Ux; **V**– *Streptomyces* sp. Ux308 bei standartinių *S. cerevisiae* mikocinogeninių kamienų: **A**–MS300; **B**–DBY; **C**–K7; **D**–K28; **E**–Rom-K100; **F**–M437 poveikis *Candida pelliculosa* C.Pl.1.

*C. magnoliae* C.M.1, *C. rugosa* C.R.2, *C. saitoana* C.St.2, *C. sorboxylosa* C.Sr.1, *C. vini* C.V.1 ir *C. zeylanoides* C.Z.3 slopinantį poveikį turėjo *Streptomyces* sp. (Ux308) išskiriamos medžiagos, lizės zonos siekė nuo 6 mm iki 14,6 mm dydžio.

*C. albicans* C.A.1, *C. albicans* C.A.3, *C. albicans* C.A.4, *C. pelliculosa* C.Pl.1, *C. rhagii* C.Rh.1, *C. rhagii* C.Rh.2, *C. saitoana* C.St.1, *C. sake* C.S.1, *C. sake* C.S.3. *C. zeylanoides* C.Z.1, *C. zeylanoides* C.Z.2, *C. zeylanoides*

C.Z.4 buvo jautrios tik *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308), susidariusios lizės zonos buvo nuo 2 mm iki 19,3 mm (55 pav.).



55 pav. Bakterijų padermių: **I**– *P. citrea* T<sub>1x</sub>; **II**– *P. citrea* T<sub>2x</sub>; **III**– *P. citrea* T<sub>3x</sub>; **IV**– *Streptomyces* sp. Ux; **V**– *Streptomyces* sp. Ux308 bei standartinių *S. cerevisiae* mikocinogeninių kamienų: **A**–MS300; **B**–DBY; **C**–K7; **D**–K28; **E**–Rom-K100; **F**–M437 poveikis *Candida rhagii* C.Rh.1 ir *Candida zeylanoides* C.Z.4.

Tirtos *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>), *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) pasižymėjo slopinamuoju poveikiu tirtoms patogeninėms ir iš maisto produktų išskirtoms *Candida* mielėms. Šios bakterijų padermės gali būti panaudojamos kuriant naujos kartos natūralius antigrybinius preparatus, profilaktines ar dezinfekcines priemones.

## APIBENDRINIMAS

Mielės – heterotrofiniai vienląščiai aukšliagybiai arba papėdgrybiai, gebantys augti ir daugintis aplinkoje esant dideliam kiekiui angliavandenių ar druskų, neaukštai temperatūrai, žemam pH ir vandens aktyvumui ( $a_w$ ). Evoliucijos eigoje mielės adaptavosi prie daugelio substratų: dirvožemio, atmosferos, gėlo ir sūraus vandens, medžių sulos, vabzdžių, augalų ir jų vaisių, dumblių, maisto produktų, žmogaus ir gyvūnų organizmų (PRETORIUS ir kt., 1999; BOEKHOUT, ROBERT, 2003; LOPANDIC ir kt., 2006; JACQUES, CASAREGOLA, 2008; ASEFA ir kt., 2009). *Candida* rūšys plačiai paplitusios aplinkoje, dažniausiai jos egzistuoja kaip saprotrofai vandenyje ir dirvožemyje, kolonizuoja gyvūnus ir žmogų (WILLIAMS, LEWIS, 2011).

Mūsų atlikti tyrimai parodė, kad *Candida* mielės yra paplitę įvairiuose substratuose Lietuvoje, dirvožemio pavyzdžiuose mielių skaičius svyravo nuo  $1,1 \times 10^2$  iki  $151,1 \pm 10^2$  ksv/a.s.d. Daugiausia mielių buvo aptikta vaismedžių sodų dirvožemyje nuo  $131,8 \times 10^2$  iki  $151,1 \times 10^2$  ksv/g a.s.d. Yurkov ir kt., (2012) analizuodami miškų ir pievų dirvožemio mėginius nustatė, kad kiekviename dirvožemio mėginyje mielių yra apie  $1,6 \times 10^6$  ksv/a.s.d. Mūsų tyrimų metu dirvožemio mėginiuose aptiktas mažesnis mielių skaičius. Miškų dirvožemyje mielių skaičius svyravo nuo  $33,9 \times 10^2$  iki  $45,5 \times 10^2$  ksv/a.s.d., o pievų – nuo  $2,1 \times 10^2$  iki  $3,2 \times 10^2$  ksv/a.s.d. Daugelio mokslininkų teigimu dirvožemyje mielių nėra daug lyginant su kitomis mikroorganizmų grupėmis (ROSE, HARRISON, 1987; EL-TARABILY, SIVASITHAMPARAM, 2006; BOTHA, 2011). Mūsų tyrimų metu *Candida* priklausančių mielių aptikimo dažnis tirtuose dirvožemio mėginiuose siekė 17,3–18,6%. Slovakijoje nustatyta, kad žemės ūkio paskirties dirvožemyje *Candida maltosa* sudarė 5,1–45,8% išskirtų mielių (SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 2003), o spygliuočių medžių rizosferoje aptiktos *C. famata* sudarė tik 0,5% išskirtų mielių (SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 1997). Literatūroje esama duomenų apie Amazonės baseino dirvožemyje aptinkamas *Candida*: *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. albicans*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis* (MOK ir kt., 1984). Mūsų

tyrimų metu iš dirvožemio mėginių buvo išskirtos *Candida catenulata* ir *C. maltosa*.

Mūsų tyrimų metu vandens mėginiuose mielių skaičius upių vandenyje svyravo nuo  $0,2 \times 10^2$  iki  $137,6 \times 10^2$  ksv/ml, o ežerų nuo  $1,8 \times 10^2$  iki  $44,2 \times 10^2$  ksv/ml. Slovakijoje atliktų tyrimų metu, Dunojaus upės vandenyje mielių skaičius svyravo nuo 100 iki 21 100 ksv/l. Dažniausiai išskirtos *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida maltosa*, *Aureobasidium pullulans*, *Cystofilobasium capitatum*, *Rhodotorula glutinis*, *Geotrichum candidum* ir *Candida krusei* (SLÁVIKOVÁ, VADKERTIOVÁ, 1997). Pereira ir kt. (2005) teigimu *Candida*, *Cryptococcus* ir *Kloeckera* dažnos šaltinio, paviršiniuose ir požemio vandenyse. Mes iš vandens mėginių išskyrėme *C. pararugosa* ir *C. boidinii*. Yamaguchi ir kt., (2007) teigia, kad geriamajame vandenyje vyrauja *Candida* mielės. Tirtuose geriamo vandens mėginiuose (šulinių vandenyje) *Candida* mielių nebuvo rasta.

Inácio ir kt. (2005) teigimu, mielės yra vienos pagrindinių filosofos mikrobiotos komponentų įvairaus klimato juostose. Glushakova ir kt. (2007) teigimu, *Candida oleophila* yra išskiriamos iš įvairių natūralių ir antropogenizuotų substratų (augalų lapų, sultingų vaisių, pūvančios medienos bei nealkoholinių gėrimų) ir yra viena iš dominuojančių mielių rūšių augalų filosofroje vidutinio klimato zonoje. Mūsų tyrimų metu nuo įvairių augalų lapų buvo išskirtos ne tik *Candida oleophila*, bet ir *C. sake*.

Mūsų atliktų tyrimų metu *Candida* mielių aptikimo dažnis pieno produktuose buvo nuo 9% iki 50%, termiškai apdorotuose mėsos gaminiuose – 31%, termiškai neapdorotuose – 14,4%. Literatūros šaltiniuose nurodoma, jog rauginto pieno produktuose *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida inconspicua*, *C. maris* sudaro nuo 10 iki 17% (SIMOVA ir kt., 2002). *Candida tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* ir *C. lusitaniae* dažnai išskiriamos iš raugintų maisto produktų (OYEWOLE, 2001). Mūsų tyrimų metu nustatyta, jog maisto produktams būdinga didžiausia *Candida* rūšių įvairovė. Buvo išskirta 16 rūšių. Maisto produktuose dominavo *Candida sake* – 23% ir *C. zeylanoides* – 21%.

Literatūroje nurodoma, kad dažniausiai iš maisto produktų yra išskiriamos *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* ir *Yarrowia* (GORETTI ir kt., 2009). Literatūros šaltinių teigimu *Candida*, *Kluyveromyces* ir *Debaryomyces* mielės dažniausiai aptinkamos jogurte bei sūriuose (VILJOEN, 2001). Lietuvoje atliktų varškės ir jos produktų tyrimų rezultatai rodo, kad dažniausiai išskiriamos *Debaryomyces hansenii*, *Trichosporon cutaneum*, *Kluyveromyces marxianus var marxianus* ir *Candida zeylanoides* mielės (ŠALOMSKIENĖ ir kt., 2003). Mačionienės (2001) duomenimis, varškėje, varškės sūreliuose, fermentiniuose sūriuose esama *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Trichosporon* ir *Torulaspora* gentims priklausančių mielių rūšių. Kitų autorių duomenimis *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* ir *Yarrowia* mielės išskiriamos iš varškės (DARYAEI ir kt., 2010). Mūsų tyrimų metu *C. maltosa*, *C. pararugosa*, *C. parapsilosis* buvo išskirtos nuo burokėlių, morkų ir pomidorų. *C. sake*, *C. parapsilosis* ir *C. pelliculosa* buvo aptiktos ant baltųjų serbentų, kriaušių ir slyvų.

Atliktų tyrimų metu gyvenamųjų patalpų ore mielių skaičius svyravo nuo 0 iki 19,0 ksv/m<sup>3</sup> oro, gamybinių patalpų nuo 0 iki 80 ksv/m<sup>3</sup> oro. Basilico ir kt. (2007) teigimu mielių ore nėra daug vidutiniškai apie 9,55 ksv/m<sup>3</sup> oro. Literatūroje nurodoma, *Candida* priklausančios rūšys Afrikoje atliktuose tyrimuose sudarė 74,4% visų mielių rūšių (HASSANEIN, 2004). Mūsų tyrimų metu gyvenamosiose patalpose *Candida parapsilosis*, *C. oleophila* ir *C. sake* sudarė 27,4%, o gamybinėse patalpose 50%–53,3% visų mielių rūšių. Australijos mokslininkai ištyrė 80 gyvenamųjų pastatų mikologinę būklę nustatė, jog 14% visų išskiriamų mikroorganizmų sudaro mielės (GARETT ir kt., 1997). Amerikoje vykdytų tyrimų metu buvo ištirtas 1000 gyvenamųjų namų įvairių patalpų (vaikų ir gyvenamojo kambario) oras. Tyrimo rezultatai parodė, jog mielės buvo aptiktos 89,3% namų (REN ir kt., 2001). Literatūroje esama duomenų apie tai, jog gyvenamųjų patalpų dulkėse Kaire, be mikroskopinių grybų esama ir *C. albicans*, kurių aptinkimo dažnis daugiau negu 30% (AL-HUMIANY, 2010). Mūsų tyrimų metu iš gyvenamųjų ir

gamybinių patalpų oro *C. albicans* neišskyrėme. Japonijos mokslininkų teigimu vonios kambariuose mielės sudaro palankias sąlygas mikromicetams augti (HAMADA, FUJITA, 2000). Mūsų tirtų gyvenamųjų patalpų vonios kambarių aplinkoje mielių aptikta nuo 0 iki 5,5 ksv/m<sup>3</sup> oro. Gyvenamųjų patalpų ore buvo aptiktos *C. oleophila*, *C. parapsilosis* ir *C. sake*.

Mūsų tyrimų metu *Candida* mielės buvo išskiriamos iš žmonių sergančiųjų grybinėmis odos ir nagų ligomis pataloginės medžiagos. Kaip pagrindiniai odos ir nagų grybinių ligų sukėlėjai 2005 metais dažniausiai buvo išskiriamos *C. tropicalis* (53,3%) ir *C. albicans* (26,6%) mielės. Khosravi ir kt. (2005), tyrimų metu nustatyta, kad ant nagų dominuoja *C. albicans* (40%) išskiriamos *C. glabrata* (5,7%), *C. tropicalis* (5,7%), *C. parapsilosis* (5,7%), *C. guilliermondii* (2,9%), *C. kefyr* (2,9%). 2006 metais kaip pagrindiniai odos ir nagų grybinių ligų sukėlėjai buvo *Candida albicans* (58,8%), *C. tropicalis* (8,8%), *C. guilliermondii* (5,8%), *C. parapsilosis* (5,8%), *C. intermedia* (2,9%), *C. pseudotropicalis* (2,9%) ir *C. lusitaniae* (2,9%). Jankowska-Konsur ir kt. (2011), teigimu tarp ne dermatofitų sukeliančių grybines odos ligas *Candida* rūšys sudaro 86,3% visų išskiriamų rūšių. Sadeghi ir kt., (2011) duomenimis 2006–2009 Irane *Candida* rūšys kaip pagrindiniai ligos sukėlėjai buvo išskirtos 13,5% dažnumu, tarp jų 29,3% sudarė *C. albicans*. Paškevičiaus (2001) duomenimis, *Candida* mielės tarp sergančiųjų grybinėmis odos ir nagų ligomis sudaro 20,0% visų išskirtų ir identifikuotų grybų kultūrų.

Atlikti *Candida* mielių fiziologinių savitumų tyrimai parodė, maisto produktuose aptinkamos *Candida* mielės pasižymi platesniu angliavandenių asimiliacijos spektru nei išskirtos iš gamtinių substratų. Literatūros šaltiniuose nurodoma, jog iš maisto produktų išskirtos mielės kaip vienintelį anglies šaltinį geba naudoti pieno ir citrinos rūgštis, augti žemose temperatūrose bei osmotinėmis sąlygomis (FRÖHLICH-WYDER, 2003). Disacharidus ir organines rūgštis asimiliavo iš gamtinių substratų išskirtos *Candida* mielės. Azoto šaltinius geriau įsisavino iš maisto produktų išskirtos *Candida* mielės be to jos geriau augo ir terpėje be vitaminų. Iš gamtinių substratų išskirtos *Candida* mielės aukštesnėje negu 37°C neauga. Maisto produktuose ir iš žmogaus bei jį

supančios aplinkos išskirtos *Candida* mielės augo padidintos temperatūros sąlygomis. Iš įvairių substratų išskirtos *Candida* mielės organinių rūgščių neišskiria ir junginių panašių į krakmolą neprodukuoja. Mūsų tyrimų rezultatai parodė, kad *Candida* mielės pasižymi proteolitiniais ir lipolitiniais aktyvumais. Literatūroje nurodoma, kad *Candida* genčiai priklausančios mielės būdingas proteolitinis, lipolitinis, fosfolipolitinis, hemolizinis ir esterazinis aktyvumai (LUO ir kt., 2001).

Įvairių grybinių infekcijų sukėlėjai yra eukariotai, dėl šios priežasties jų sukeltų ligų gydymas yra žymiai sudėtingesnis ir ilgiau trunkantis nei bakterinių ligų (ENDO ir kt., 2010). Patogeninių grybų ir žmogaus ląstelių panašumas sudaro kliūtis kuriant naujus vaistus, nes dėl šio panašumo vaistai yra toksiški žmogui. Šiuo metu žinoma daugiau kaip šimtas vaistinių medžiagų, kurios efektyviai veikia įvairius grybo ląstelės struktūrinius elementus. Azolų grupei priklausančios vaistiniai preparatai yra vieni svarbiausių ir dažniausiai naudojamų vaistų grybinėms ligoms gydyti. Azolai veikia *Candida albicans* ir daugelį kitų patogeninių grybų (MATUSEVIČIUS ir kt., 2008). Mūsų tyrimai parodė, kad *Candida* mielės buvo jautriausios azolų grupės (ketokonazolui, klotrimazolui) preparatams, o *C. glabrata* ir *C. krusei* buvo atsparios flukonazolui ir itrakonazolui. Pirimidino dariniams priskirtas flucitozinas aktyviai veikia kai kurias *Candida* mieles. Mūsų tyrimų metu išaiškinta, kad flucitozinas *Candida* mielių augimui jokios įtakos neturi. *Streptomyces* aktinomicetų sintetinamas antibiotikų grupei priklausančias amfotericinas B stipriai slopina *C. glabrata* bei *C. albicans* ir kitas patogenines grybų padermes. Mūsų tyrimų metu didžioji dalis – 71,4% tirtų *Candida* mielių buvo atsparios amfotericinui B. Nistatinas fungicidiškai ir fungistatiškai veikia *C. albicans* ir kitas patogenines rūšis (MATUSEVIČIUS ir kt., 2008). Mūsų tyrimų metu veikiant nistatinu tirtos *Candida* mielės buvo vidutiniškai jautrios. Literatūroje nurodoma, kad *C. glabrata* dažniausiai turi igimtą atsparumą pirmos kartos azolams ir flukonazolui (KIRAZ ir kt., 2009). Atsparumas flukonazolui būdingas ir *C. krusei*. Šią jų savybę lemia fermento citochromo P450 lanosterolio 14- $\alpha$ -demetilazės atsparumas flukonazolo poveikiui

(OROZCO ir kt., 1998). Mūsų tyrimų metu *C. glabrata* ir *C. krusei* buvo atsparios flukonazolui ir itrakonazolui.

Literatūros šaltiniuose esama duomenų, apie naujas veikliąsias medžiagas – peptidus. Kaip efektyvią dezinfekcinių priemonių veikliąją medžiagą siūloma naudoti cheminės kilmės peptidą: epinecidiną-1 pasižymintį biocidiniu poveikiu *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* ir *Candida albicans* (PAN ir kt., 2010). Korikluoglu ir kt., (2006) ištyrė 8 dezinfekcinių priemonių veikliąsias medžiagas: alkoholius, peracto rūgštį, halogenų darinius, aldehydus, ketvirtinius amino bei chloro darinius nustatė, kad preparatai su peracto rūgštimi arba alkoholiais efektyviai slopina mielių augimą. Mūsų tyrimai parodė, kad stipriausiu fungicidiniu poveikiu pasižymėjo dezinfekcinė priemonė Divosan forte, kurios veiklioji medžiaga buvo 15% peracto rūgštis. Ji stipriai slopino *Candida* mielių augimą 17,7 iki 52,2 mm zonoje.

Augaluose esantys įvairūs junginiai: glukozidai, saponinai, taninai, alkaloidai, eteriniai aliejai, organinės rūgštys ir kt., sudaro augalų gynybinę sistemą nuo įvairių infekcijų (PAULI, 2006; HEMAISWARYA ir kt., 2008). Eterinių aliejų fungicidinis aktyvumas priklauso nuo jų cheminės sudėties. Labai stiprus inhibuojantis poveikis būdingas fenoliams – timolui, karvakrolui ir eugenolui, kuri lemia rūgštis (hidroksido grupės) gebėjimas suformuoti vandenilinį ryšį su aktyviu enzimo centru (DORMAN, DEANS, 2000; KALEMBA, KUNICKA, 2003). Keturbriaunio čiobrelio timolio (T) chemotipo eteriniame aliejuje timolis buvo pagrindinis komponentas ir sudarė 37,9% (LOŽIENĖ ir kt., 2008). Mūsų tyrimai parodė, kad šio eterinio aliejaus poveikiui jautrių buvo 62,5% tirtų *Candida* mielių. Be minėto eterinio aliejaus stipriu slopinamuoju poveikiu *Candida* mielėms pasižymėjo ir keturbriaunio čiobrelio geraniolio (G/G/N) chemotipo, citrinmedžio ir mėtos 'Zgadka' eteriniai aliejai. Gauti tyrimų rezultatai sutampa su kitų mokslininkų atliktais tyrimais, patvirtinančiais, kad *Thymus pulegioides* eterinis aliejus pasižymi stipriu fungicidiniu poveikiu *Candida* mielėms (PINTO ir kt., 2006). Eteriniai aliejai,



kurių sudėtyje dominuoja alkoholio junginiai: citronelolis, geraniolis, linalolis, lavandulolis, mentolis ir t.t., nėra tokie aktyvus kaip eteriniai aliejai, kurių pagrindiniai komponentai priklauso fenolių grupei (KALEMBA, KUNICKA, 2003). Keturbriaunio čiobrelis geraniolis (G/G/N) chemotipo eteriniame aliejuje pagrindiniai komponentai buvo geraniolis (40,6%), geranialis (16,4%) ir neralis (12,8%) (LOŽIENĖ ir kt., 2008). Mūsų tyrimai parodė, kad šio eterinio aliejaus poveikiui jautrių buvo 68,8% tirtų *Candida* mielių. Esama duomenų apie tai, jog *M. piperita* eterinis aliejus slopinančiai veikia *C. albicans* (SARTORATTO ir kt., 2004). Mūsų tyrimai parodė, kad visos tirtos *Candida* mielės buvo jautrios mėtos 'Zgatka' eterinio aliejaus poveikiui, slopinamųjų zonų dydis siekė nuo 20,5 iki 29,2 mm. Literatūros šaltinių teigimu kadagio eterinio aliejaus poveikiui bakterijos yra jautresnės negu grybai (KALEMBA, KUNICKA, 2003). Mūsų tyrimo rezultatai parodė, kad paprastojo kadagio eterinis aliejus neturėjo jokio poveikio tirtoms *Candida* mielėms.

Pastaruoju metu didelis dėmesys skiriamas fungicidiniu poveikiu pasižyminčių medžiagų tyrimams, kurias išskiria įvairios bakterijų padermės. Kaleli ir kt., (2006) teigimu, 44 *Pseudomonas aeruginosa* padermės išskirtos iš skirtingos patologinės medžiagos pasižymėjo slopinančiu poveikiu *Candida* mielėms tiek *in vivo* ir *in vitro*. Mūsų tyrimai parodė, kad bakterijos *P. citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) ir *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) išskirtos iš spontaninių vaisių–uogų raugų pasižymi slopinamuoju poveikiu *Candida* mielėms išskirtoms iš žmogaus patologinės medžiagos bei maisto produktų. Rusijos mokslininkai ištyrė 51 bakterijų padermę nustatė, jog 15 iš jų pasižymi fungicidiniu poveikiu *Candida* mielėms (AVDIENKO ir kt., 2000). Mūsų tyrimų metu nustatyta, kad labai stipriu slopinamuoju poveikiu pasižymėjo *Streptomyces* sp. (Ux308). Šios bakterijų padermės gali būti panaudojamos kuriant naujos kartos natūralius antigrybinius preparatus, profilaktines ar dezinfekcines priemones.

## IŠVADOS

1. Tyrimų metu iš dirvožemio, vandens, atmosferos, maisto produktų, žmogaus ir jį supančios gyvenamosios ir darbo aplinkos buvo išskirti ir identifikuoti 498 mielių izoliatai. Nustatyta, kad jie priklauso 21 genčiai ir 63 rūšims. *Candida* genčiai priklausančios mielės sudarė 31% visų išskirtų mielių. Aptikta naujų Lietuvos mikobiotai *Candida* rūšių: *C. magnoliae*, *C. saitoana*, *C. oleophila* ir *C. sorboxylosa*.
2. Nustatyta, kad gamtiniuose substratuose *Candida* mielės sudarė 22,7% visų aptiktų mielių, maisto produktuose – 27,9%, o gyvenamojoje ir darbo aplinkoje daugiau negu 40%. *C. catenulata* dominuoja dirvožemyje, *C. zeylanoides* ir *C. sake* maisto produktuose, darbo ir gyvenamųjų patalpų ore *C. parapsilosis*. Lietuvoje tarp sergančiųjų paviršinėmis mikozeėmis labiausiai paplitusios *C. albicans* (43%) ir *C. tropicalis* (21%).
3. Išaiškinta, kad *Candida* mielės išskirtos iš maisto produktų įsisavina 84,4% tirtų anglies šaltinių, žmogaus bei jį supančios aplinkos – 73,8%, gamtinių substratų – 65,6%. Gamtiniuose substratuose aptinkamos *Candida* mielės nepasižymi proteolitiniu ir lipolitiniu aktyvumu.
4. Išskirtų iš maisto produktų *C. albicans* (C.A.4) ir *C. parapsilosis* (C.P.1) suspensijų vienkartinės dozės *per os* ir intraperitonealiai ūmaus toksiškumo ir patogeniškumo šiltakraujams gyvūnams nesukelia.
5. Nustatyta, kad antigrybiniai preparatai klotrimazolas ir ketokonazolas pasižymi stipriu fungicidiniu poveikiu paviršinių mikrozių sukėlėjams, o flucitozinas jų augimui įtakos neturi. Patogeninėms *Candida* mielėms antigrybinių preparatų 5-flucitozino, amfotericino B ir flukonazolo minimali inhibuojanti koncentracija yra 0,5 mg/l, o itrakonazolo – 0,25 mg/l. Dezinfekcinės priemonės Divosan activ ir Divosan forte, kurių veiklioji medžiaga 5–15% peracto rūgštis efektyviai slopina patogeninių *Candida* mielių augimą.
6. *Mentha x piperita* 'Zgadka', *Thymus pulegioides* timolio (T) ir geraniolio (G/G/N) chemotipo, *Citrus limonum* eteriniai aliejai pasižymi stipriu

fungicidiniu poveikiu patogeninėms *Candida* mielėms. *Candida* mielių augimo neslopina *Juniperus communis* spyglių ir uogų eteriniai aliejai.

7. Nustatyta, kad bakterijų *Pantoea citrea* (T<sub>1x</sub>, T<sub>2x</sub>, T<sub>3x</sub>) išskiriamoms medžiagoms jautresnės buvo patogeninės, negu iš maisto produktų išskirtos *Candida* mielės. *Streptomyces* sp. (Ux, Ux308) pasižymi fungicidiniu poveikiu patogeninėms ir iš maisto produktų išskirtoms *Candida* mielėms.

## MOKSLINIŲ DARBŲ SĄRAŠAS

Straipsniai leidiniuose, įrašytuose į Mokslinės informacijos instituto (ISI) sąrašą

1. MELVYDAS V., ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., GEDMINIENĖ G., 2007: Search for biological control agents against *Candida* genera yeasts and other dermatomycetes. – *Biologija*, 18(1):45–49. – ISSN 1392–0146.
2. ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., 2007: Distribution and biological peculiarities of yeasts in phyllosphere of different plants in Verkiai regional park (Vilnius, Lithuania). – *Botanica Lithuanica*, 13(4):279–285. – ISSN 1392–1665.
3. LOŽIENĖ K., ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., VENSKUTONIS P. R., 2008: Anti-*Candida* activity of *Thymus pulegioides* (*Lamiaceae*) essential oils depends on the plant chemotype. – *Herba Polonica*, 54(4):79–92. – ISSN 0018–0599.

Straipsniai kituose recenzuojamuose tarptautiniuose, užsienio ir Lietuvos periodiniuose, tęstiniuose arba vienkartinuose leidiniuose

1. ŠAKALYTĖ J., MOTIEJŪNAITĖ O., 2005: Mikromicetų reakcija į fungicidines priemones. Lietuvos biologinė įvairovė: būklė, struktūra, apsauga. Respublikinės konferencijos dalyvių mokslinių straipsnių rinkinys. – Vilnius 1 T.117–127. – ISSN 1822-2781.
2. BATULEVIČIUS G., ŠAKALYTĖ J., 2005: Gamtosauginių nuostatų ugdymas praktinių bioįvairovės tyrimų metu. Lietuvos biologinė įvairovė: būklė, struktūra, apsauga. Respublikinės konferencijos dalyvių mokslinių straipsnių rinkinys. – Vilnius 1 T. 156–161. – ISSN 1822–2781.
3. PAŠKEVIČIUS A., ŠAKALYTĖ J., 2007: Dermatomikozijų sukėlėjai ir jų epidemiologija. – *Žvilgsnis į mikroorganizmų pasaulį. Gamtamokslinio ugdymo priemonė*. Vilnius, Sapnų sala: 170–177. – ISBN 978-9986-03-611-1.
4. ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., LOŽIENĖ K., 2007: Cheminės ir biologinės kilmės fungicidinių medžiagų paieška prieš *Candida albicans* rūšies mieles.

- Mokslinių straipsnių rinkinys „Lietuvos biologinė įvairovė: būklė, struktūra, apsauga“. – Vilnius: 106–111. – ISSN 1822-2781.
5. ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., LOŽIENĖ K., 2007: Eterinių aliejų įtaka patogeninėms *Candida* Berkhout genties mielėms. – Laboratorinė medicina, 4(36):165–170. – ISSN 1392–6470.
  6. PAŠKEVIČIUS A., LIUŽINAS R., SALINA O., ŠVEDIENĖ J., JANKEVIČIUS K., 2008: *Ceratophyllum demersum* L. biomasės toksiškumo įvertinimas. – Mokslinių straipsnių rinkinys „Lietuvos biologinė įvairovė: būklė, struktūra, apsauga“ – Vilnius: 130–136. – ISSN 1822-2781.
  7. ŠAKALYTĖ-ŠVEDIENĖ J., PAŠKEVIČIUS A., 2008: Mielių paplitimas mėsos produktuose bei jų fiziologiniai savitumai. Maisto chemija ir technologija, 42(2):116–121. – ISSN1392–0227.
  8. PAŠKEVIČIUS A., ŠVEDIENĖ J., MELVYDAS V., 2009: Biologinių kovos priemonių paieška prieš maisto produktuose paplitusias mieles. – Maisto chemija ir technologija, 43(2):72–79. – ISSN 1392–0227.

#### Konferencijų pranešimų medžiaga ir tezės

1. ПАШКЯВИЧЮС А., ШАКАЛИТЕ Ю., 2005: Исследования видового состава возбудителей дерматомикозов в Литве в 2000–2004 году // Материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (VIII Кашкинские чтения). – Проблемы медицинской микологии, 7(2): 56–57. – ISSN 1999–6780
2. ПАШКЯВИЧЮС А., ШАКАЛИТЕ Ю., 2006: Фунгицидная активность препарата Cutasept FP к возбудителям дерматомикозов // Материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (IX Кашкинские чтения). – Проблемы медицинской микологии, 8(2): с. 74. – ISSN 1999–6780
3. ШАКАЛИТЕ Ю., ПАШКЯВИЧЮС А., 2006: Воздействие дезинфекционных средств на дрожжи *Candida albicans* и *C. parapsilosis* // Материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (IX Кашкинские чтения). – Проблемы медицинской микологии, 8(2): с. 99.

4. MELVYDAS V., ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., GEDMINIENĖ G., 2006: Search for biological control agents against *Candida* genera yeasts and other dermatomycetes. International scientific conference “Genetic and physiological fundamentals of plant growth and productivity” abstracts. Vilnius, November 14-17., P. 67–68. – ISBN 9986-662-30-3.
5. ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., 2007: Yeasts of *Candida* Berkhout genus distribution in food and their biological peculiarities. International Young Scientist Conference The Vital Nature Sing, Kaunas: 44-45. – ISBN 978-9955-12-213-5.
6. ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., 2007: Distrubution of yeasts in phyllosphere of different plants. Tarptautinė mokslinė konferencija Tarptautinė konferencija „Mikologijos raida Lietuvoje – istorija ir nūdienos problemos“ (Konferencija skirta žymaus mikologo dr. Jono Mazelaičio 100-osioms gimimo metinėms Vilnius, 2007 m. spalio 10-12 d.): 19. – Vilnius.
7. PAŠKEVIČIUS A., ŠVEDIENĖ-ŠAKALYTĖ J., 2008: *Candida* genties mielių paplitimas mėsos produktuose bei jų fiziologiniai savitumai. – Tarptautinės mokslinės konferencijos “Maisto mokslo ir praktikos aktualijos–tendencijos, kokybė, rinka, vartotojas” pranešimų medžiaga (Kaunas, lapkričio 14 d.): 71–72. – ISBN 978-9955-675-04-4.
8. LOŽIENĖ K., ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., VENSKUTONIS R., 2009: The effect of the *Thymus pulegioides* L. (*Lamiaceae*) essential oils on pathogenic yeasts of *Candida* genus. Book of abstracts: 8th Nordic-Baltic Congress of Infectious Diseases, September 23-26, 2009. St. Petersburg, Russia : 44. – ISBN 5-85574-314-5.
9. ŠVEDIENĖ J., GUDAITYTĖ O, PAŠKEVIČIUS A., 2009: Anti-*Candida* activity of essential oil from some *Achillea* species: Proceedings 3<sup>RD</sup> International conference The Vital Nature Sign, Vytautas Magnus University Kaunas, 22–23 May 2009:34–36. – ISBN 978-9955-12-213-5.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. ABDEL HAMEED A. A., KHODER M. I., YUOSRA S., OSMAN A. M., GHANEM S., 2009: Diurnal distribution of airborne bacteria and fungi in the atmosphere of Helwan area, Egypt. – *Science of the Total Environment*, **407**: 6217–6222.
2. ABIA-BASSEY L. N., UTSALO S. J., 2006: Yeast associated with human infections in south-eastern Nigeria. – *Mycoses*, **49**: 510–515.
3. ABRANCHES J., MORAIS P. B., ROSA C. A., MENDONÇA-HAGLER L. C., HAGLER A. N., 1997: The incidence of killer activity and extracellular proteases in tropical yeast communities. – *Canadian Journal of Microbiology*, **43**: 328–336.
4. ADAM K., SIVROPOULOU A., KOKKINI S., LANARAS T., ARSENAKIS M., 1998: Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 1739–1745.
5. ADAMS B. J., BARDGETT R. D., AYRES E., WALL D. H., AISLABIE J., BAMFORTH S., BARGAGLI R., CARY C., CAVACINI P., CONNELL L., CONVEY P., FELL J. W., FRATI F., HOGG I. D., NEWSHAM K. K., O'DONNELL A., RUSSELL N., SEPPELT R. D., STEVENS M. I., 2006: Diversity and distribution of Victoria Land biota. – *Soil Biology & Biochemistry*, **38**: 3003–3018.
6. ADEBAYO C.O., ADERIYE B.I., 2011: Suspected mode of antimycotic action of brevicin SG1 against *Candida albicans* and *Penicillium citrinum*. – *Food Control*, **22**: 1814–1820.
7. ADUKAUSKIENĖ D., KINDERYTĖ A., DAMBRAUSKIENĖ A., VITKAUSKIENĖ A., 2009: Kandidemija intensyvios terapijos skyriuje. – *Medicina*, **45(5)**: 351–356.
8. AGARWAL V., LAL P., PRUTHI V., 2010: Effect of Plant Oils on *Candida albicans*. – *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, **43(5)**: 447–451.

9. AHMAD A., KHAN A. U., 2009: Prevalence of *Candida* species and potential risk factors for vulvovaginal candidiasis in Aligarh, India. – European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, **144(1)**: 68–71.
10. AHMAD A., KHAN A., MANZOOR N., KHAN L. A., 2010: Evolution of ergosterol biosynthesis inhibitors as fungicidal against *Candida*. – Microbial Pathogenesis, **48**: 35–41.
11. AL-HUMIANY A.A., 2010: Opportunistic Pathogenic Fungi of the House Dust in Turubah, Kingdom of Saudi Arabia. – Australian Journal of Basic and Applied Sciences, **4(2)**: 122–126.
12. ALLEN T. W., BURPEE L. L., BUCK J. W. 2006: Variable adhesion and diurnal population patterns of epiphytic yeasts on creeping bentgrass. – Canadian Journal of Microbiology, **52(5)**: 404–410.
13. ANDRADE M. J., CÓRDOBA J. J., SÁNCHEZ B., CASADO E. M., RODRÍGUEZ M., 2009: Evaluation and selection of yeasts isolated from dry-cured Iberian ham by their volatile compound production. – Food Chemistry, **113**: 457–463.
14. ANDRADE M. J., RODRÍGUEZ M., SÁNCHEZ B., ARANDA E., CÓRDOBA J. J., 2006: DNA typing methods for differentiation of yeasts related to dry-cured meat products. – International Journal of Food Microbiology, **107**: 48–58.
15. ANDREWS J. H., HARRIS R. F., 2000: The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. – Annual Review Phytopathology, **38**: 145–180.
16. ANDRIGHETTO C., PSOMAS E., TZANETAKIS N., SUZZI G., LOMBARDI A., 2000: Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR for the identification of yeasts isolated from dairy products. – Letters in Applied Microbiology, **30**: 5–9.
17. ARDHANA M. M., FLEET G. H., 2003: The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. – International Journal of Food Microbiology, **86**: 87–99.



18. ARENDRUP M., HORN T., FRIMODT-MØLLER N., 2002: In Vivo Pathogenicity of Eight Medically Relevant *Candida* Species in an Animal Model. – *Infection*, **30**: 286–291.
19. ARIAS C. R., BURNS J. K., FRIEDRICH L. M., GOODRICH R. M., PARISH M. E., 2002: Yeast species associated with orange juice: evaluation of different identification methods. – *Applied and environmental microbiology*, **68(4)**: 1955–1961.
20. ASEFA D. T., MØRETRØ T., GJERDE R. O., LANGSRUD S., KURE C. F., SIDHU M. S., NESBAKKEN T., SKAAR I., 2009. Yeast diversity and dynamics in the production processes of Norwegian dry-cured meat products. – *International Journal of Food Microbiology*, **133**: 135–140.
21. ASLAM S. N., STEVENSON P. C., PHYTHIAN S. J., VEITCH N. C., HALL D. R., 2006: Synthesis of cicerfuran, an antifungal benzofuran, and some related analogues. – *Tetrahedron*, **62(17)**: 4214–4226.
22. AVDIENKO I. D., RIABCHENKO N. F., VOLGAREVA G. M., ZHILINA I. L., BATURO A. P., VANEEVA N. P., 2000: Search for biological remedies for fungi of the *Candida* genus. – *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii*, **6**: 79–80.
23. BA A. S., PHILLIPS S. A., ANDERSON J. T., 2000: Yeasts in mound soil of the red imported fire ant. – *Mycological Research*, **104 (8)**: 969 – 973.
24. BABJEVA I. P., GOLUBEV V.I., 1979. *Metody vydelenia i identifikacii drožžej*. – Moskva: Piščevaja promišlennost'.
25. BABJEVA I. P., ZENOVA G. M., 1989: *Biologija poshv*. Izdatelstvo Maskovskavo universiteta, Maskva.
26. BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAOMAR M., 2008: Biological effects of essential oils – a review. – *Food and Chemical Toxicology*, **46**: 446–475.
27. BAKŠIENĖ E., NEDZINSKIENĖ T. L., RAŽUKAS A., SALINA O., REPEČKIENĖ J., 2009: Įvairių žemdirbystės sistemų efektyvumas mažo našumo dirvožemyje. – *Žemdirbystė-Agriculture*, **96(4)**: 47–61.
28. BALTCH A. L., SMITH R. P., FRANKE M. A., RITZ W. J., MICHELSEN P., BOPP L. H., SINGH J. K., 2000: Microbicidal activity of MDI-P against

- Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Legionella pneumophila*. – American Journal of Infection Control, **28(3)**: 251–257.
29. BARNETT J. A., 2004: A history of research on yeasts 8: taxonomy. – Yeast, **21**: 1141–1193.
30. BARNETT J. A., PAYNE R. W., YARROW D., 2000: Yeasts characteristics and identification. – Cambridge University Press.
31. BARNS S. M., LANE D. J., MITCHELL S. L., BIBEAU C., WEISBURG W. G., 1991: Evolutionary Relationships among Pathogenic *Candida* Species and Relatives. – Journal of Bacteriology, **173(7)**: 2250–2255.
32. BASTERT J., SCHALLER M., KORTING H. C., EVANS E. G. V., 2001: Current and future approaches to antimycotic treatment in the era of resistant fungi and immunocompromised hosts. – International Journal of Antimicrobial Agents, **17**: 81–91.
33. BAUER A. W., KIRBY W. M., SHERRIS J. C., TURCK M., 1966: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. – American Journal of Clinical Pathology, **45(4)**: 493–496.
34. BELÉN MAYORAL M., MARTÍN R., SANZ A., HERNÁNDEZ P. E., GONZÁLEZ I., GARCÍA T., 2005: Detection of *Kluyveromyces marxianus* and other spoilage yeasts in yoghurt using a PCR-culture technique. – International Journal of Food Microbiology, **105**: 27– 34.
35. BENDEL C. M., 2003: Colonization and Epithelial Adhesion in the Pathogenesis of Neonatal Candidiasis. – Seminars in Perinatology, **27(5)**: 357-364.
36. BÉRDY J., 2005. Bioactive microbial metabolites. – The Journal of Antibiotics, **58(1)**: 1–26.
37. BETTS G. D., LINTON P., BETTERIDGE R. J., 1999: Food spoilage yeasts: effects of pH, NaCl and temperature on growth. – Food Control, **10**: 27-33.
38. BEZIĆ N., SKOČIBUŠIĆ M., DUNKIĆ V., RADONIĆ A., 2003 Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L., essential oil. – Phytotherapy Research, **17**: 1037–1040.

39. BI FAI P., GRANT A., 2009: A comparative study of *Saccharomyces cerevisiae* sensitivity against eight yeast species sensitivities to a range of toxicants. – *Chemosphere*, **75**: 289–296.
40. BILAJ V. J., 1982: *Metody eksperimentaljnoj mikologini. Spravočnik.* Kiev, Naukova dumka.
41. BYZOV B. A., THANH V. N., BABJEVA I. P., Interrelationships between yeasts and soil diplopods. – *Soil Biology Biochemistry*, **25(8)**: 1119–1126.
42. BLAGODATSKAJA V. M., UTKINA N. I., UTKIN I. S., 1980: *Drožži poda Candida Berkhout: Sistematika, identifikatsija.* Pushchino, SSRS.
43. BOEKHOUT T., ROBERT V., 2003: *Yeasts in food: Beneficial and Detrimental Aspects.* – Behr's Verlag Hamburg.
44. BOGUSŁAWSKA-WAŚ, E., DĄBROWSKI W., 2001: The seasonal variability of yeasts and yeast-like organisms in water and bottom sediment of the Szczecin Lagoon. – *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **203**: 451–458.
45. BORELLI C., SCHALLER M., NIEWERTH M., NOCKER K., BAASNER B., BERG D., TIEMANN R., TIETJEN K., FUGMANN B., LANG-FUGMANN S., KORTING H. C., 2008: Modes of Action of the New Arylguanidine Abafungin beyond Interference with Ergosterol Biosynthesis and *in vitro* Activity against Medically Important Fungi. – *Chemotherapy*, **54**: 245–259.
46. BOTES A., TODOROV S. D., VON MOLLENDORFF J. W., BOTHA A., DICKS L. M. T., 2007: Identification of lactic acid bacteria and yeast from boza. – *Process Biochemistry*, **42**: 267–270.
47. BOTHA A., 2011: The importance and ecology of yeasts in soil. – *Soil Biology & Biochemistry*, **43**: 1–8.
48. BRAKHAGE A. A., SCHROECKH V., 2011: Fungal secondary metabolites – Strategies to activate silent gene clusters. – *Fungal Genetics and Biology*, **48**: 15–22.
49. BROEKAERT W. F., TERRAS F. R. G., CAMMUE B. P. A., OSBORN R. W., 1995: Plant Defensins: Novel Antimicrobial Peptides as Components of the Host Defense System. – *Plant Physiology*, **108(4)**: 1353–1358.

50. BRUGNONI L. I., LOZANO J. E., CUBITTO M. A., 2007: Potential of yeast isolated from apple juice to adhere to stainless steel surfaces in the apple juice processing industry. – *Food Research International*, **40**: 332–340.
51. BUTINAR L., SANTOS S., SPENCER-MARTINS I., OREN A., GUNDE-CIMERMAN N., 2005: Yeast diversity in hypersaline habitats. – *FEMS Microbiology Letters*, **244**: 229–234.
52. BUZZINI P., MARTINI A., 2000: Biodiversity of killer activity in yeasts isolated from the Brazilian rain forest. – *Canadian Journal of Microbiology*, **46**: 607–611.
53. CALDERON L. A., SILVA-JARDIM I., ZULIANI J. P., DE ALMEIDA E SILVA A., CIANCAGLINI P., PEREIRA DA SILVA L. H., STÁBELI R. G., 2009: Amazonian Biodiversity: A View of Drug Development for Leishmaniasis and Malaria. – *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **20 (6)**: 1011–1023.
54. CALLON C., DUTHOIT F., DELBÈS C., FERRAND M., LE FRILEUX Y., DE CRÉMOUX R., MONTEL M.-C., 2007: Stability of microbial communities in goat milk during a lactation year: Molecular approaches. – *Systematic and Applied Microbiology*, **30**: 547–560.
55. CARRILLO-MUÑOZ A. J., GIUSIANO G., EZKURRA P. A., QUINDÓS G., 2006: Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. – *Revista Española de Quimioterapia*, **19(2)**: 130–139.
56. CAVALEIRO C., PINTO E., GONÇALVES M. J., SALGUEIRO L., 2006: Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophyte, *Aspergillus* and *Candida* strains. – *Journal of Applied Microbiology*, **100**: 1333–1338.
57. CAVANAGH H. M.A., HIPWELL M., WILKINSON J. M., 2003: Antibacterial Activity of Berry Fruits Used for Culinary Purposes. – *Journal of Medicinal Food*, **6(1)**: 57–62.
58. CHAVES M. G., CAVALCANTI M. A. DE Q., DOS A. CARNEIRO-LEÃO A. M., LOPES L. S., 2004: Model experimental infection in healthy and immunosuppressed swiss albino mice (*Mus musculus*) using *Candida albicans* strains with different patterns of enzymatic activity. – *Brazilian Journal of Microbiology*, **35**: 324–329.

59. CHENG Q., SANGLARD D., VANHANEN S., LIU H. T., BOMBELLI P., SMITH A., SLABAS A. R., 2005: *Candida* yeast long chain fatty alcohol oxidase is a *c*-type haemoprotein and plays an important role in long chain fatty acid metabolism. – *Biochimica et Biophysica Acta*, **1735**: 192–203.
60. COCOLIN L., URSO R., RANTSIOU K., CANTONI C., COMI G., 2006: Dynamics and characterization of yeasts during natural fermentation of Italian sausages. – *FEMS Yeast Research*, **6**: 692–701.
61. CORBO M. R., LANCIOTTI R., ALBENZIO M., SINIGAGLIA M., 2001: Occurrence and characterization of yeasts isolated from milks and dairy products of Apulia region. – *International Journal of Food Microbiology*, **69**: 147–152.
62. CORDEIRO R. A., BRILHANTE R. S. N., PANTOJA L. D. M., FILHO R. E. M., VIEIRA P. R. N., ROCHA M. F. G., MONTEIRO A. J., SIDRIM J. J. C., 2010: Isolation of pathogenic yeasts in the air from hospital environments in the city of Fortaleza, northeast Brazil. – *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **14(1)**: 30–34.
63. COSTA E., INÊS A., MENDES-FAIA A., SAAVEDRA M. J., MENDES-FERREIRA A., 2010: Potential virulence factors of *Candida* spp. isolated from clinical and food sources. – *Journal of Hospital Infection*, **75**: 240–241.
64. COX S. D., MANN C.M., MARKHAM J. L., BELL H. C., GUSTAFSON J.E., WARMINGTON J.R., WYLLIE S.G., 2000: The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). – *Journal of Applied Microbiology*, **88**: 170–175.
65. CROOK B., 1995: Internal samplers: Biological Perspectives. – In: COX C. S., WATHES C. M. (eds.), *Bioaerosols Handbook*: 247-267. – CRC Press, Boca Raton, USA.
66. ČITAVIČIUS D., INGE-VEČTOMOV S. G., 1972. Množestvennyje mutanty u drožžej *Saccharomyces cerevisiae*. I. Polučeniye i obščaja charakteristika. – *Genetika* **1**: 95–102.
67. DALLEAU S., CATEAU E., BERGÉS T., BERJEAUD J.-M., IMBERT C., 2008: In vitro activity of terpenes against *Candida* biofilms. – *International Journal of Antimicrobial Agents*, **31**: 572–576.

68. DARYAEI H., COVENTRY J., VERSTEEG C., SHERKAT F., 2010: Combined pH and high hydrostatic pressure effects on *Lactococcus* starter cultures and *Candida* spoilage yeasts in a fermented milk test system during cold storage. – *Food Microbiology*, **27**: 1051–1056.
69. DE LA LUZ Z. BASILICO M., CHIERICATTI C., ARINGOLI E. E., ALTHAUS R. L., BASILICO J. C., 2007: Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. – *Science of the Total Environment*, **376**: 143–150.
70. DEMAÏN A. L., SANCHEZ S., 2009: Microbial drug discovery: 80 years of progress. – *The Journal of Antibiotics*, **62(1)**: 5–16.
71. DEMAÏN A. L., 1999: Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. – *Applied Microbiology and Biotechnology*, **52**: 455–463.
72. DI GIORGIO C., KREMPFF A., GUIRAUD H., BINDER P., TIRET C., DUMENIL G., 1996: Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles. – *Atmospheric Environment*, **30(1)**: 155–160.
73. DILLON V. M., BOARD R. G., 1991: Yeasts associated with red meats. – *Journal of Applied Bacteriology*, **71**: 93–108.
74. DILLON V. M., DAVENPORT R. R., BOARD R. G., 1991: Yeasts associated with lamb. – *Mycological Research*, **95(1)**: 57–63.
75. DYNOWSKA M., 1997: Yeast-like fungi possessing bio-indicator properties isolated from the Lyna river. – *Acta Mycologica*, **32(2)**: 279–286.
76. DORMAN H. J. D., DEANS S. G., 2000: Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. – *Journal of Applied Microbiology*, **88**: 308–316.
77. DOUGLAS L. J., 2003: *Candida* biofilms and their role in infection. – *TRENDS in Microbiology*, **11(1)**: 30–36.
78. DRAGO L., MOMBELLI B., DE VECCHI E., BONACCORSO C., FASSINA M. C., GISMONDO M. R., 2000: *Candida albicans* cellular internalization: a new pathogenic factor? – *International Journal of Antimicrobial Agents*, **16**: 545–547.

79. DUCHAINE C., MÉRIAUX A., 2000: Airborne microfungi from eastern Canadian sawmills. – *Canadian Journal of Microbiology*, **46**: 612–617.
80. EL-AMRAOUI B., BIAIRD J. F., URIZ M. J., RIFAI S., FASSOUANE A., 2010: Antifungal and antibacterial activity of *Porifera* extracts from the Moroccan Atlantic coasts. – *Journal de Mycologie Médicale*, **20**: 70–74.
81. EL-TARABILY K. A., SIVASITHAMPARAM K., 2006: Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. – *Mycoscience*, **47**: 25–35.
82. ENCINAS J.-P., LÓPEZ-DÍAZ T.-M., GARCÍA-LÓPEZ M.-L., OTERO A., MORENO B., 2000: Yeast populations on Spanish fermented sausages. – *Meat Science*, **54**: 203–208.
83. ENDO E. H., CORTEZ D. A. G., UEDA-NAKAMURA T., NAKAMURA C. V., FILHO B. P. D., 2010: Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. – *Research in Microbiology*, **161(7)**: 534–540.
84. FADDA M. E., MOSSA V., PISANO M. B., DEPLANO M., COSENTINO S., 2004: Occurrence and characterization of yeasts isolated from artisanal Fiore Sardo cheese. – *International Journal of Food Microbiology*, **95**: 51–59.
85. FADDA M. E., VIALE S., DEPLANO M., PISANO M. B., COSENTINO S., 2010: Characterization of yeast population and molecular fingerprinting of *Candida zeylanoides* isolated from goat's milk collected in Sardinia. – *International Journal of Food Microbiology*, **136**: 376–380.
86. FERRER J., 2000: Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. – *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, **71**: S21–S27.
87. FLEET G. H., 1988: Yeasts – what reactions and interactions really occur in natural habitats. – *Food Technology and Biotechnology*, **36(4)**: 285–289.
88. FOX E. M., HOWLETT B. J., 2008: Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. – *Current Opinion in Microbiology*, **11**: 481–487.
89. FRACCHIA S., GODEAS A., SCERVINO J. M., SAMPEDRO I., OCAMPO J. A., GARCÍA-ROMERA I., 2003: Interaction between the soil yeast *Rhodotorula*

- mucilaginosa* and the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Gigaspora rosea*. – *Soil Biology & Biochemistry*, **35**: 701–707.
90. FRÖHLICH-WYDER M.-T., 2003: Yeasts in dairy products. – In: Boekhout T., Robert V. (ed.), *Yeasts in Food Beneficial and Detrimental Aspects*: 209–229. – Springer.
91. GÁCSEER A., SCHÄFER W., NOSANCHUK J. S., SALOMON S., NOSANCHUK J. D., 2007: Virulence of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* in reconstituted human tissue models. – *Fungal Genetics and Biology*, **44(12)**: 1336–1341.
92. GADANHO M., ALMEIDA J., SAMPAIO J. P., 2003: Assessment of yeast diversity in a marine environment in the south of portugal by microsatellite-primed PCR. – *Antonie van Leeuwenhoek*, **84**: 217–227.
93. GARCÍA-DE-LOMAS J., LERMA M., CEBRIÁN L., ESTEBAN E., GIMÉNEZ M. –J., AGUILAR L., DOMÍNGUEZ V., RANDEZ J. J., 2008: Evaluation of the in-vitro cidal activity and toxicity of a novel peroxygen biocide: 2-butanone peroxide. – *Journal of Hospital Infection*, **68**: 248–254.
94. GARDINI F., TOFALO R., BELLETTI N., IUCCI L., SUZZI G., TORRIANI S., GUERZONI M. E., LANCIOTTI R., 2006: Characterization of yeasts involved in the ripening of Pecorino Crotonese cheese. – *Food Microbiology*, **23**: 641–648.
95. GATESOUBE F. J., 2007: Live yeasts in the gut: Natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. – *Aquaculture*, **267**: 20–30.
96. GEORGOPAPADAKOU N. H., 1998: Antifungals: mechanism of action and resistance, established and novel drugs. – *Current Opinion in Microbiology*, **1**: 547–557.
97. GHAHFAROKHI M. S., SHOKOOHAMIRI M. R., AMIRRAJAB N., MOGHADASI B., GHAJARI A., ZEINI F., SADEGHI G., RAZZAGHI-ABYANEH M., 2006: *In vitro* antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. – *Fitoterapia*, **77(4)**: 321–323.



98. GHANNOUM M. A., RICE L. B., 1999: Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. – *Clinical Microbiology Reviews*, **12(4)**: 501–507.
99. GHENGHESH K. S., BELHAJ K., EL-AMIN W. B., EL-NEFATHI S. E., ZALMUM A., 2005: Microbiological quality of fruit juices sold in Tripoli–Libya. – *Food Control*, **16**: 855–858.
100. GHRAIRI T., FRERE J., BERJEAUD J. M., MANAI M., 2008: Purification and characterisation of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese. – *Food Control*, **19**: 162–169.
101. GIORDANI R., REGLI P., KALOUSTIAN J., MIKÁIL C., ABOU L., PORTUGAL H., 2004: Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of Amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. – *Phytotherapy Research*, **18**: 990–995.
102. GLUSHAKOVA A. M., YURKOV A. M., CHERNOV I. YU., 2007: Massive Isolation of Anamorphous Ascomycete Yeasts *Candida oleophila* from Plant Phyllosphere. – *Microbiology*, **76(6)**: 799–803.
103. GLUSHAKOVA A. M., CHERNOV I. YU., 2010: Seasonal Dynamics of the Structure of Epiphytic Yeast Communities. – *Microbiology*, **79(6)**: 830–839.
104. GLUŠAKOVA A. M., ČERNOV I. J., 2005: Dinamika soobčtev droževyh gribov na list'ah odnoletnih gigrofitov roda *Impatiens*. – *Mikologija i fitopatologija*, **39(4)**: 31–39.
105. GLUŠAKOVA A. M., ŽELTIKOVA T. M., ČERNOV I. J., 2004: Grupirovki drožeij v kvartirnoj pyli i istočniki ih formirovania. – *Mikrobiologija*, **73(1)**: 111–117.
106. GNIADK A., MACURA A. B., OKSIEJCZUK E., KRAJEWSKA-KUŁAK E., ŁUKASZUK C., 2005: Fungi in the air of selected social welfare homes in the Małopolskie and Podlaskie provinces—a comparative study. – *International Biodeterioration & Biodegradation*, **55**: 85–91.
107. GODIČ TORKAR K., VENGUŠT A., 2008: The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk and cheese in Slovenia.— *Food Control*, **19**: 570–577.

108. GOERGES S., AIGNER U., SILAKOWSKI B., SCHERER S., 2006: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Food-Borne Yeasts. – Applied and Environmental Microbiology, **72(1)**: 313–318.
109. GOLUBEV W.I., 1998: Mycocins (Killer Toxins). In: Kurtzman C. P., Fell J. W. The yeasts, A taxonomic study. Elsevier Science, Amsterdam, 55–62.
110. GORETTI M., TURCHETTI B., BURATTA M., BRANDA E., CORAZZI L., VAUGHAN-MARTINI A., BUZZINI P., 2009: *In vitro* antimycotic activity of a *Williopsis saturnus* killer protein against food spoilage yeasts. – International Journal of Food Microbiology, **131**: 178–182.
111. GOSTINČAR C., GRUBE M., GUNDE-CIMERMAN N., 2011: Evolution of Fungal Pathogens in Domestic Environments? – Fungal Biology, **115(10)**: 1008–1018.
112. GOTCHEVA V., HRISTOZOVA E., HRISTOZOVA T., GUO M., ROSHKOVA Z., ANGELOV A., 2002: Assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria and yeast strains. – Food Biotechnology, **16(3)**: 211–225.
113. GUALCO L., DEBBIA E. A., BANDETTINI R., PESCIOTTO L., CAVALLERO A., OSSI M. C., SCHITO A. M., MARCHESE A., 2007: Antifungal resistance in *Candida* spp. isolated in Italy between 2002 and 2005 from children and adults. – International Journal of Antimicrobial Agents, **29**: 179–184.
114. GURIB-FAKIM A., 2006: Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. – Molecular Aspects of Medicine, **27**: 1–93.
115. HAY P., CZEIZEL A. E., 2007: Asymptomatic trichomonas and candida colonization and pregnancy outcome. – Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, **21(3)**: 403–409.
116. HAMADA N., FUJITA T., 2000: Growth rate of fungi in bathrooms. Experimental survey. – Mycoscience, **41**: 297–301.
117. HAMMER K. A., CARSON C. F., RILEY T. V., 1999: Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. – Journal of Applied Microbiology, **86**: 985–990.

118. HAMMER K. A., CARSON C. F., RILEY T. V., 2003: Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. – Journal of Applied Microbiology, **95**: 853–860.
119. HAMZA O. J. M., VAN DEN BOUT-VAN DEN BEUKEL C. J. P., MATEE M. I. N., MOSHI M. J., MIKX F. H. M., SELEMANI H. O., MBWAMBO Z. H., VAN DER VEN A. J. A. M., VERWEIJ P. E., 2006: Antifungal activity of some Tanzanian plants used traditionally for the treatment of fungal infections. – Journal of Ethnopharmacology, **108**: 124–132.
120. HARRISON L., TEPLow D. B., RINALDI M., STROBEL G., 1991: Pseudomycins, a family of novel peptides from possessing broad-spectrum antifungal activity *Pseudomonas syringae*. – Journal of General Microbiology, **137(12)**: 2857–2865.
121. HARVEY A. L., 2008: Natural products in drug discovery. – Drug Discovery Today, **13 (19/20)**: 894–901.
122. HARVEY A., 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. – Drug Discovery Today, **5(7)**: 294–300.
123. HASSANEIN N. M., 2004: Airborne yeast isolates as biocontaminants at two different indoor environments in Cairo. International Journal of Agriculture&Biology, **6(6)**: 1012–1022.
124. HAZEN K. C., 1995: New and emerging yeast pathogens. – Clinical Microbiology Reviews, **8(4)**: 462–478.
125. HEDGES S. B., BLAIR J. E., VENTURI M. L., SHOE J. L., 2004: A molecular timescale of eukaryote evolution and the rise of complex multicellular life. – BMC Evolutionary Biology, **4**: 2.
126. HEMAISWARYA S., KUMAR KRUTHIVENTI A., DOBLE M., 2008: Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. – Phytomedicine, **15**: 639–652.
127. HERBARTH O., SCHLINK U., MÜLLER A., RICHTER M., 2003: Spatiotemporal distribution of airborne mould spores in apartments. – Mycological Research, **107(11)**: 1361–1371.
128. HINTON A. JR., NORTH CUTT J. K., SMITH D. P., MUSGROVE M. T., INGRAM K. D., 2007: Spoilage microflora of broiler carcasses washed

- with electrolyzed oxidizing or chlorinated water using an inside-outside bird washe. – Poultry Science, **86(1)**: 123–127.
129. HUBE B., 2004: From commensal to pathogen: stage- and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. – Current Opinion in Microbiology, **7(4)**: 336–341.
130. HÝSEK J., FIŠAR Z., BINEK B., 1991: Long-run monitoring of bacteria, yeasts and other micromycetes in the air of an industrial conurbation. – Grana, **29**: 450–453.
131. INÁCIO J., PORTUGAL L., SPENCER-MARTINS I., FONSECA Á., 2005: Phylloplane yeasts from Portugal: Seven novel anamorphic species in the *Tremellales* lineage of the *Hymenomyces* (*Basidiomycota*) producing orange-coloured colonies. – FEMS Yeast Research, **5(12)**: 1167–1183.
132. ISMAIL M. A., CHEBON S. K., NAKAMYA R., 1999: Preliminary surveys of outdoor and indoor aeromycobiota in Uganda. – Mycopathologia, **148**: 41–51.
133. ISMAIL S. A. S., DEAK T., ABD EL-RAHMAN H. A., YASSIEN M. A. M., BEUCHAT L. R., 2000: Presence and changes in populations of yeasts on raw and processed poultry products stored at refrigeration temperature. – International Journal of Food Microbiology, **62**: 113–121.
134. IZADPANAH A., GALLO R. L., 2005: Antimicrobial peptides. – Journal of the American Academy of Dermatology, **52**: 381–390.
135. YAMAGUCHI M. U., DE CÁSSIA PONTELLO RAMPAZZO R., YAMADA-OGATTA S. F., NAKAMURA C. V., UEDA-NAKAMURA T., DIAS FILHO B. P., 2007: Yeasts and Filamentous Fungi in Bottled Mineral Water and Tap Water from Municipal Supplies. – Brazilian archives of biology and technology, **50(1)**: 1–9.
136. YEHUDA H., DROBY S., BAR-SHIMON M., WISNIEWSKI M., GOLDWAY M., 2003: The effect of under- and overexpressed *CoEXG1*-encoded exoglucanase secreted by *Candida oleophila* on the biocontrol of *Penicillium digitatum*. – Yeast, **20**: 771–780.

137. YURKOV A. M., KEMLER M., BEGEROW D., 2012: Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes. – *Fungal ecology*, **5**: 24–35.
138. JACQUES N., CASAREGOLA S., 2008: Safety assessment of dairy microorganisms: The hemiascomycetous yeasts. – *International Journal of Food Microbiology*, **126**: 321–326.
139. JANKOWSKA-KONSUR A., DYLAĞ M., HRYNCEWICZ-GWÓZDŹ A., PLOMER-NIEZGODA E., SZEPIETOWSKI J. C., 2011: A 5-year survey of dermatomycoses in southwest Poland, years 2003–2007. – *Mycoses*, **54(2)**: 162–167.
140. JENSEN P. A., TODD W. F., DAVIS G. N., SCARPINO P. V., 1992: Evaluation of eight bioaerosol samplers challenged with aerosols of free bacteria. – *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **53(10)**: 660–667.
141. JIANG Z. D., AN Z., 2000: Bioactive fungal natural products through classic and biocombinatorial approaches. – *Studies in Natural Products Chemistry*, **22(3)**: 245–272.
142. JOKANTAITE T., LAURINAVICIENE D., BISTRICKAITE G., 1982. Investigation of new killer and neutral systems in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. 11-th Int. Conf. on Yeast Genetics and Molecular Biology, Montpellier, France 47.
143. KACHALKIN A. V., GLUSHAKOVA A. M., YURKOV A. M., CHERNOV I. YU., 2008: Characterization of Yeast Groupings in the Phyllosphere of *Sphagnum* Mosses. – *Microbiology*, **77(4)**: 474–481.
144. KADIR T., UYGUN B., AKYÜZ S., 2005: Prevalence of *Candida* species in Turkish children: relationship between dietary intake and carriage. – *Archives of Oral Biology*, **50**: 33–37.
145. KADOSH D., JOHNSON A. D., 2005: Induction of the *Candida albicans* filamentous growth program by relief of transcriptional repression: A genome-wide analysis. – *Molecular Biology of the Cell*, **16**: 2903–2912.
146. KAKDE U. B., KAKDE H. U., SAOJI A. A., 2001: Seasonal variation of fungal propagules in a fruit market environment, Nagpur (India). – *Aerobiologia*, **17**: 177–182.

147. KALELI I., CEVAHIR N., DEMIR M., YILDIRIM U., SAHIN R., 2006: Anticandidal activity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimens. – *Mycoses*, **50**: 74–78.
148. KALEMBA D., KUNICKA A., 2003: Antibacterial and antifungal properties of essential oils. – *Current Medicinal Chemistry*, **10**, 813–829.
149. KAM A. P., XU J., 2002: Diversity of commensal yeasts within and among healthy hosts. – *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **43**: 19–28.
150. KARAMAN S., DIGRAK M., RAVID U., ILCIM A., 2001: Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. – *Journal of Ethnopharmacology*, **76**: 183–186.
151. KATRITZKY A. R., SLAVOV S. H., DOBCEV D. A., KARELSON M., 2008: QSAR modeling of the antifungal activity against *Candida albicans* for a diverse set of organic compounds. – *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **16**: 7055–7069.
152. KHAN M. S. A., AHMAD I., AQIL F., OWAIS M., SHAHID M., MUSARRAT J., 2010: Virulence and Pathogenicity of Fungal Pathogens with Special Reference to *Candida albicans*. – In: AHMAD I., OWAIS M., SHAHID M., AQIL F. (ed.), *Combating Fungal Infections. Problems and Remedy*: 21–45. – Springer.
153. KHOSRAVI A. R., SHOKRI H., MANSOURI P., KATIRAEI F., ZIGLARI T., 2008: *Candida* species isolated from nails and their *in vitro* susceptibility to antifungal drugs in the department of Dermatology (University of Tehran, Iran). – *Journal de Mycologie Médicale*, **18**: 210–215.
154. KIRAZ N., DAĞ I., YAMAC M., KIREMITCI A., KAŞIFOĞLU N., AKGUN Y., 2009: Antifungal Activity of Caspofungin in Combination with Amphotericin B against *Candida glabrata*: Comparison of Disk Diffusion, Etest, and Time-Kill Methods. – *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **53(2)**: 788–790.
155. KISHORE K. H., MISRA S., CHANDRA D. R., PRAKASH K. V. V. R., SURYANARAYANA MURTY U., 2007: Antimicrobial efficacy of secondary metabolites from *Glomerella cingulata*. – *Brazilian Journal of Microbiology*, **38**: 150-152.

156. KORUKLUOGLU M., SAHAN Y., YIGIT A., 2006: The fungicidal efficacy of various commercial disinfectants used in the food industry. – *Annals of Microbiology*, **56(4)**: 325–330.
157. KOSALEC I., PEPELJNJAK S., KUŠTRAK D., 2005: Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., *Apiaceae*). – *Acta Pharmaceutica*, **55(4)**: 377–385.
158. KREGER-VAN RIJ N. J. W., 1984: *The Yeasts, a taxonomy study*. Elsevier, Amsterdam.
159. KUMAMOTO C. A., VINCES M. D., 2005: Alternative *Candida albicans* lifestyles: Growth on surfaces. – *Annual Review of Microbiology*, **59**: 113–133.
160. KUNZE G., AH KANG H., GELLISSEN G., 2009: *Hansenula polymorpha (Pichia angusta): Biology and Applications*. – In: SATYANARAYANA T., KUNZE G. (ed.), *Yeast Biotechnology*: 47–61. – Springer.
161. KURTZMAN C. P., FELL J. W., 1998. *The yeasts, a taxonomic study*, 4th ed. – Amsterdam: Elsevier.
162. KURTZMAN C. P., FELL J.W., BOEKHOUT T., 2011: *The Yeasts, Fifth Edition: A Taxonomic Study*, Elsevier, USA.
163. KURTZMAN C. P., PIŠKUR J., 2006: Taxonomy and phylogenetic diversity among the yeasts. – In. SUNNERHAGEN P., PISKUR J. (ed.), *Comparative Genomics*, vol. 15: 29–46. – Springer.
164. KUTORGA E., 2004: Lietuvos grybų įvairovės pažinimas: dabartis ir perspektyvos. In: *Mokslas Gamtos mokslų fakultete. Vilniaus universiteto leidykla, Vilnius*, 102–113.
165. KUTTY S. N., PHILIP R., 2008: Marine yeasts – a review. – *Yeasts*, **25**: 465–483.
166. KVASNIKOV E. I., ŠČELOKOVA I. F., 1991: *Drožži. Biologija. Puti ispol'zovanija* – Kiev, Naukova dumka.
167. LACHANCE M.-A., STARMER W.T., 1998: Ecology and yeasts. – In: Kurtzman C.P., Fell J. W. (ed.), *The Yeasts, A Taxonomic Study*: 21–30. – Elsevier.

168. LAUBSHER P. J., VILJOEN B. C., 1999: The resistance of dairy yeasts against commercially available cleaning compounds and sanitizers. – Food technology, biotechnology, **37(4)**: 281–286.
169. LAURENČÍK M., SULO P., SLÁVIKOVÁ E., PIECKOVÁ E., SEMAN M., EBRINGER L., 2008: The diversity of eukaryotic microbiota in the traditional Slovak sheep cheese — Bryndza. – International Journal of Food Microbiology, **127**: 176–179.
170. LEE D. G., PARK Y., KIM H. N., KIM H. K., KIM P. I., CHOI B. H., HAHM K.-S., 2002: Antifungal Mechanism of an Antimicrobial Peptide, HP (2–20), Derived from N-Terminus of *Helicobacter pylori* Ribosomal Protein L1 against *Candida albicans*. – Biochemical and Biophysical Research Communications, **291(4)**: 1006–1013.
171. LEKAVIČIUS A., 1989: Vadovas augalams pažinti. – Vilnius.
172. LEMAR K. M., TURNER M.P., LLOYD D., 2002: Garlic (*Allium sativum*) as an anti-*Candida* agent: a comparison of the efficacy of fresh garlic and freeze-dried extracts. – Journal of Applied Microbiology, **93**: 398–405.
173. LEROY F., VERLUYTEN J., DE VUYST L., 2006: Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. – International Journal of Food Microbiology, **106**: 270–285.
174. LEVENFORS J. J., HEDMAN R., THANING C., GERHARDSON B., WELCH C. J., 2004: Broad-spectrum antifungal metabolites produced by the soil bacterium *Serratia plymuthica* A153. – Soil Biology & Biochemistry, **36**: 677–685.
175. LI R. K., RINALDI M. G., 1999: In Vitro Antifungal Activity of Nikkomycin Z in Combination with Fluconazole or Itraconazole. – Antimicrobial agents and chemotherapy, **43(6)**: 1401–1405.
176. LIBKIND D., BRIZZIO S., RUFFINI A., GADANHO M., VAN BROECK M., SAMPAIO J. P., 2003: Molecular characterization of carotenogenic yeasts from aquatic environments in Patagonia, Argentina. – Antonie van Leeuwenhoek, **84(4)**: 313–322.



177. LST ISO 10381-6, 1998: Dirvožemio kokybė – mėginių ėmimas. 6 dalis: Dirvožemio ėmimo, tvarkymo ir laikymo nurodymai mikrobiologiniams procesams iširti laboratorinėmis sąlygomis – LSD, Vilnius.
178. LINDOW S. E., BRANDL M. T., 2006: Microbiology of the Phyllosphere. – Applied and Environmental microbiology, **69(4)**: 1875–1883.
179. LIU H., 2002: Co-regulation of pathogenesis with dimorphism and phenotypic switching in *Candida albicans*, a commensal and pathogen. – International Journal of Medical Microbiology, **292(5-6)**: 299–311.
180. LO CASCIO G., DALLE CARBONARE L., MACCACARO L., CALIARI F., LIGOZZI M., LO CASCIO V., FONTANA R., 2007: First Case of Bloodstream Infection Due to *Candida magnoliae* in a Chinese Oncological Patient. – Journal of Clinical Microbiology, **45(10)**: 3470–3473.
181. LODDER J., 1970: The Yeasts, a taxonomy study. North-Holland, Amsterdam, London.
182. LOPANDIC K., ZELGER S., BÁNSZKY L. K., ELISKASES-LECHNER F., PRILINGER H., 2006: Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. – Food Microbiology, **23(4)**: 341–350.
183. LÓPEZ-MARTÍNEZ R., 2010: Candidosis, a new challenge. – Clinics in Dermatology, **28**: 178–184.
184. LOTT T. J., FUNDYGA R. E., KUYKENDALL R. J., ARNOLD J., 2005: The human commensal yeast, *Candida albicans*, has an ancient origin. – Fungal Genetics and Biology, **42**: 444–451.
185. LOUREIRO V., 2000: Spoilage yeasts in foods and beverages: characterisation and ecology for improved diagnosis and control. – Food Research International, **33**: 247–256.
186. LOŽIENĖ K., ŠAKALYTĖ J., PAŠKEVIČIUS A., VENSKUTONIS P. R., 2008: Anti-*Candida* activity of *Thymus pulegioides* (*Lamiaceae*) essential oils depends on the plant chemotype. – Herba Polonica, **54(4)**: 79–92.
187. LST ISO 6611:2004 „Pienas ir pieno produktai. Mielių ir (arba) pelėsių grybų kolonijas sudarančių vienetų skaičiavimas. Kolonijų skaičiavimo 25°C temperatūroje metodas“.

188. LST ISO 6887-2:2005 „Maisto ir pašarų mikrobiologija. Tiriamųjų mėginių, pradinės suspensijos ir dešimtkarčių skiedinių ruošimas mikrobiologiniams tyrimams. 2 dalis. Mėsos ir mėsos produktų ruošimo specialiosios taisyklės“.
189. LST ISO 8261:2001 „Pienas ir pieno produktai. Tiriamųjų mėginių, pradinių suspensijų ir dešimtkarčių skiedinių ruošimas mikrobiologiniams tyrimams. Bendrieji nurodymai“.
190. LUO G., SAMARANAYAKE L. P., YAU Y. Y. J., 2001: *Candida* Species Exhibit Differential In Vitro Hemolytic Activities. – *Journal of Clinical Microbiology*, **39(8)**: 2971–2974.
191. LUQUE A. G., BIASOLI M. S., TOSELLO M. E., BINOLFI A., LUPO S., MAGARÓ H. M., 2008: Oral yeast carriage in HIV-infected and non-infected populations in Rosario, Argentina. – *Mycoses*, **52**: 53–59.
192. MAČIONIENĖ I., 2001: Varškės ir fermentinių sūrių mielės: technologiniai ir fiziologiniai aspektai. Daktaro disertacijos santrauka, Kaunas.
193. MAČIONIENĖ I., ŠALOMSKIENĖ J., PAŠKEVIČIUS A., 2003: Yeast distribution in milk products produced in Lithuania. – *Botanica Lithuanica*, **9(2)**: 179–184.
194. MADEIROS A. O., KOHLER L. M., HAMDAN J. S., MISSAGIA B. S., BARBOSA A.R., ROSA C. A., 2008: Diversity and antifungal susceptibility of yeasts from tropical fresh water environments in South eastern Brazil. – *Water research*, **42**: 3921–3929.
195. MAFFEI C. M. L., PAULA C. R., MAZZOCATO T. S., FRANCESCHINI S., 1997: Phenotype and genotype of *Candida albicans* strains isolated from pregnant women with recurrent vaginitis. – *Mycopathologia*, **137**: 87–94.
196. MANOHAR V., INGRAM C., GRAY J., TALPUR N. A., ECHARD B. W., BAGCHI D., PREUSS H. G., 2001: Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. – *Molecular and Cellular Biochemistry*, **228(1-2)**: 111–117.
197. MARÓTI G., KERESZT A., KONDOROSI É., MERGAERT P., 2011: Natural roles of antimicrobial peptides in microbes, plants and animals. – *Research in Microbiology*, **162(4)**: 363–374.

198. MARTINS-DINIZ J., MORAES DA SILVA R. A., MIRANDA T. E., MENDES-GIANNINI M. J. S., 2005: Monitoring of airborne fungus and yeast species in a hospital unit. – REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA, **39(3)**.
199. MARTORELL P., STRATFORD M., STEELS H., FERNÁNDEZ-ESPINAR T., QUEROL A., 2007: Physiological characterization of spoilage strains of *Zygosaccharomyces bailii* and *Zygosaccharomyces rouxii* isolated from high sugar environments. – International Journal of Food Microbiology, **114**: 234–242.
200. MASOKO P., PICARD J., ELOFF J. N., 2005: Antifungal activities of six South African *Terminalia* species (*Combretaceae*). – Journal of Ethnopharmacology, **99**: 301–308.
201. MASSART S., DE CLERCQ D., SALMON M., DICKBURT C., JIJAKLI M. H., 2005: Development of real-time PCR using Minor Groove Binding probe to monitor the biological control agent *Candida oleophila* (strain O). – Journal of Microbiological Methods, **60**: 73–82.
202. MASUBUCHI M., EBIKE H., KAWASAKI K. I., SOGABE S., MORIKAMI K., SHIRATORI Y., TSUJII S., FUJII T., SAKATA K., HAYASE M., SHINDOH H., AOKI Y., OHTSUKA T., SHIMMA N., 2003: Synthesis and Biological Activities of Benzofuran Antifungal Agents Targeting Fungal N-Myristoyltransferase. – Bioorganic & Medicinal Chemistry, **11**: 4463–4478.
203. MATUSEVIČIUS A., IVAŠKIENĖ M., ŠPAKAUSKAS V., 2008: Vaistai nuo mikroskopinių grybų I dalis. Mikroskopinių grybų ląstelės struktūra, funkcija ir vaistų veikimo taikiniai. Literatūros apžvalga.– Veterinarija ir Zootechnika, **43(65)**: 3–13.
204. MATUSEVIČIUS A., IVAŠKIENĖ M., ŠPAKAUSKAS V., DAUNORAS G., 2008: Vaistai nuo mikroskopinių grybų II dalis. Vaistinės medžiagos ir preparatai nuo grybų. Literatūros apžvalga. – Veterinarija ir Zootechnika, **44(66)**: 3–22.
205. MCCHESENEY J. D., VENKATARAMAN S. K., HENRI J. T., 2007. Plant natural products: Back to the future or into extinction? – Phytochemistry, **68**: 2015–2022.

206. MCDONNELL G., RUSSELL A. D., 1999: Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. – *Clinical Microbiology Reviews*, **12(1)**: 147–179.
207. MIDDELHOVEN W., 1997: Identity and biodegradative abilities of yeasts isolated from plants growing in an arid climate. – *Antonie van Leeuwenhoek*, **72**: 81–89.
208. MIRANDA L.N., VAN DER HEIJDEN I. M., COSTA S. F., SOUSA A. P. I., SIENRA R. A., GOBARA S., SANTOS C. R., LOBO R. D., PESSOA V. P., LEVIN A. S., 2009: *Candida* colonisation as a source for candidaemia. – *Journal of Hospital Infection*, **72(1)**: 9–16.
209. MOK W. Y., LIUZÃO R. C. C., DA SILVA M. DO S. B., TEIXEIRA M. F. S., MUNIZ E. G., 1984: Ecology of pathogenic yeasts in Amazonian Soil. – *Applied and Environmental Microbiology*, **47(2)**: 390–394.
210. MOREIRA S. R., SCHWAN F. R., CARVALHO E. P., WHEALS A. E., 2001: Isolation and identification of yeasts and filamentous fungi from yoghurts in Brasil. – *Brazilian Journal of Microbiology*, **32(2)**: 117–122.
211. MORSCHHÄUSER J., 2010: Regulation of multidrug resistance in pathogenic fungi. – *Fungal Genetics and Biology*, **47**: 94–106.
212. NAUMOVA T. I., NAUMOV G. I. 1973. Sravnitel'naja genetika drožžej. Soobščenie XII. Izučenie antagonističeskikh otnošenij u drožžej roda *Saccharomyces cerevisiae*. – *Genetika*, **9**: 85–90.
213. NAVARATHNA D. H. M. L. P., ROBERTS D. D., 2010: *Candida albicans* heme oxygenase and its product CO contribute to pathogenesis of candidemia and alter systemic chemokine and cytokine expression. – *Free Radical Biology & Medicine*, **49(10)**: 1561–1573.
214. NCHU F., ADEROGBA M. A., MDEE L. K., ELOFF J. N., 2010: Isolation of anti-*Candida albicans* compounds from *Markhamia obtusifolia* (Baker) Sprague (*Bignoniaceae*). – *South African Journal of Botany*, **76**: 54–57.
215. NENOFF P., HAUSTEIN U. –F., BRANDT W., 1996: Antifungal Activity of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree Oil) against Pathogenic Fungi *in vitro*. – *Skin pharmacology and psysiology*, **9(6)**: 388–394.

216. NEVALAINEN A., WILLEKE K., LIEBHABER F., PASTUSZKA J., BURGE H., HENNINGSON E., 1993: Bioaerosol sampling. – In: WILLEKE K., BARON P. A. (eds.), *Aerosol Measurement. Principles Techniques and Applications*: 471–492. – Van Nostrand Reinhold, New York.
217. NIELSEN D. S., JACOBSEN T., JESPERSEN L., KOCH A. G., ARNEBORG N., 2008: Occurrence and growth of yeasts in processed meat products – Implications for potential spoilage. – *Meat Science*, **80**: 919–926.
218. NISHIDA H., SUGIYAMA J., 1993: Phylogenetic Relationships among *Taphrina*, *Saitoella*, and Other Higher Fungi. – *Molecular Biology and Evolution*, **10(2)**: 431–436.
219. NISHIDA H., SUGIYAMA J., 1994: *Archiascomycetes*: detection of a major new lineage within the *Ascomycota*. – *Mycoscience*, **35**: 361–366.
220. ODDS F. C., BROWN A. J. P., GOW N. A. R., 2003: Antifungal agents: mechanisms of action. – *Trends in Microbiology*, **11(6)**: 272–279.
221. OHNEMUS U., WILLERS C., BUBENHEIM M., HORSTKOTTE M. A., HOUDEK P., FISCHER F., SCHMAGE P., MOLL I., BRANDNER J. M., 2007: An ex-vivo oral mucosa infection model for the evaluation of the topical activity of antifungal agents. – *Mycoses*, **51**: 21–29.
222. OYEWOLE O. B., 2001: Characteristics and significance of yeasts' involvement in cassava fermentation for 'fufu' production. – *International Journal of Food Microbiology*, **65**: 213–218.
223. OLASUPO N. A., BAKRE S., TENIOLA O. D., JAMES S. A., 2003: Identification of yeasts isolated from Nigerian sugar cane peels. – *Journal of Basic Microbiology*, **43**: 530–533.
224. OLIVEIRA M. T., SPECIAN A. F. L., ANDRADE C. G. T. J., FRANÇA E. J. G., FURLANETO-MAIA L., FURLANETO M. C., 2010: Interaction of *Candida parapsilosis* isolates with human hair and nail surfaces revealed by scanning electron microscopy analysis. – *Micron*, **41**: 604–608.
225. OROZCO A. S., HIGGINBOTHAM L. M., HITCHCOCK C. A., PARKINSON T., FALCONER D., IBRAHIM A.S., GHANNOUM M. A., FILLER S. G., 1998: Mechanism of Fluconazole Resistance in *Candida krusei*. – *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **42(10)**: 2645–2649.

226. OSBOURN A. E., 1996: Preformed Antimicrobial Compounds and Plant Defense against Fungal Attack. – *The Plant Cell*, **8 (10)**: 1821–1831.
227. OSEI ABUNYEWA A. A., LAING E., HUGO A., VILJOEN B. C., 2000: The population change of yeasts in commercial salami. – *Food Microbiology*, **17**: 429–438.
228. OUHDOUCH Y., BARAKATE M., FINANCE C., 2001: Actinomycetes of Moroccan habitats: Isolation and screening for antifungal activities. – *European Journal of Soil Biology*, **37(2)**: 69–74.
229. PAN CH.-Y., RAJANBABU V., CHEN J.-Y., HER G. M., NAN F.-H., 2010: Evaluation of the epinecidin-1 peptide as an active ingredient in cleaning solutions against pathogens. – *Peptides*, **31**: 1449–1458.
230. PANÁČEK A., KOLÁR M., VEČEŘOVA R., PRUCEK R., SOUKUPAVÁ J., KRYŠTOF V., HAMAL P., ZBOŘIL R., KVÍTEK L., 2009: Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. – *Biomaterials*, **30**: 6333–6340.
231. PAP K., SZILLI M., KISKÓ G., 2006: Testing antimicrobial efficiency of seven disinfectants against bacteria and fungi with surface test. – *Acta Alimentaria*, **35(2)**: 163–170.
232. PAPPAS P. G., KAUFFMAN C. A., ANDES D., DANIEL K., BENJAMIN D. K., CALANDRA T. F., EDWARDS J. E., SCOTT G., FILLER S. G., FISHER J. F., KULLBERG B.-J., OSTROSKY-ZEICHNER L., REBOLI A. C., REX J. H., WALSH T. J., SOBEL J. D., 2009: Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. – *Clinical Infectious Diseases*, **48**: 503–535.
233. PASQUALOTTO A. C., 2009: *Candida* and the paediatric lung. – *Paediatric Respiratory Reviews*, **10**: 186–191.
234. PAŠKEVIČIUS A., 2001: *Candida* genties mielių paplitimas tarp sergančiųjų grybinėmis odos ligomis. – *Laboratorinė medicina*, **2(10)**: 23–27.
235. PAŠKEVIČIUS A., 2005: Yeasts distribution on various plant substrata and their biochemical peculiarities. – *Botanica Lithuanica*, **11(2)**: 119–123.

236. PAŠKEVIČIUS A., MAČIONIENĖ I., 2003: Maisto produktų mielės ir jų biologiniai savitumai. – Maisto chemija ir technologija, **37(1)**: 98–104.
237. PAŠKEVIČIUS A., VARNAITĖ R., 2010: Yeast occurrence in herring products and processing environment and their biochemical peculiarities. – Polish Journal of food and nutrition sciences, **60(4)**: 369–373.
238. PAULI A., 2006: Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. – Medicinal Research Reviews, **26(2)**: 223–268.
239. PEPELJNJAK S., KOSALEC I., KALODERA Z., BLAŽEVIĆ N., 2005 Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., *Cupressaceae*). – Acta Pharmaceutica, **55(4)**: 417–422.
240. PEREIRA V. J., BASÍLIO M. C., FERNANDES D., DOMINGUES M., PAIVA J. M., BENOLIEL M. J., CRESPO M. T., SAN ROMÃO M. V., 2009: Occurrence of filamentous fungi and yeasts in three different drinking water sources. – Water research, **43**: 3813–3819.
241. PHALLER M. A., DIEKEMA D. J., 2007: Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. – Clinical Microbiology Reviews, **20(1)**: 133–163.
242. PINTO E., PINA-VAZ C., SALGUEIRO L., GONÇALVES M. J., COSTA-DE-OLIVEIRA S., CAVALEIRO C., PALMEIRA A., RODRIGUES A., MARTINEZ-DE-OLIVEIRA J., 2006: Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. – Journal of Medical Microbiology, **55**: 1367–1373.
243. POLONELLI L., CONTI S., GERLONI M., MAGLIANI W., MORACE G., CHEZZI C., 1991: Interfaces of the yeast killer phenomenon. – Critical Reviews Microbiology, **18**: 47–87.
244. POZZATTI P., LORETO É. S., NUNES MARIO D. A., ROSSATO L., SANTURIO J. M., ALVES S.H., 2010: Activities of essential oils in the inhibition of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* germ tube formation. – Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology, **20(3)**: 185–189.

245. PRABUSEENIVASAN S., JAYAKUMAR M., IGNACIMUTHU S., 2006: In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. – BMC Complementary and Alternative Medicine, **6**:39.
246. PRETORIUS I. S., VAN DER WESTHUIZEN T. J., AUGUSTYN O. P. H., 1999: Yeast biodiversity in vineyards and wineries and its importance to the South African wine industry. A review. – South African Journal of Enology and Viticulture, **20(2)**: 61–74.
247. RANTIO-LEHTIMÄKI A., 1988: Yeasts in Rural and Urban air in Southern Finland. – Grana, **27(4)**: 313–319.
248. RANTSIOU K., URSO R., DOLCI P., COMI G., COCOLIN L., 2008: Microflora of Feta cheese from four Greek manufacturers. – International Journal of Food Microbiology, **126**: 36–42.
249. RASOOLI I., MIRMOSTAFA S. A., 2003: Bacterial susceptibility to and composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. – Journal of Agricultural and Food Chemistry, **51**: 2200–2205.
250. RASPOR P., MILEK D. M., POLANC J., MOŽINA S. S., ČADEŽ N., 2006: Yeasts isolated from three varieties of grapes cultivated in different locations of the Dolenjska vine-growing region, Slovenia. – International Journal of Food Microbiology, **109**: 97–102.
251. RATES S. M. K., 2001: Plants as source of drugs. – Toxicon, **39**: 603–613.
252. REEF S. E., LASKER B. A., BUTCHER D. S., MCNEIL M. M., PRUITT R., KEYSERLING H., JARVIS W.R., 1998: Nonperinatal Nosocomial Transmission of *Candida albicans* in a Neonatal Intensive Care Unit: Prospective Study. – Journal of Clinical Microbiology, **36(5)**: 1255–1259.
253. REINGARDIENÉ D., 2002: Sistemines kandidamikožes diagnostika ir gydymas. – Medicina, **38(5)**: 573–581.
254. REN P., JANKUN T. M., BELANGER K., BRACKEN M. B., LEADERER B. P., 2001: The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics. – Allergy, **56**: 419–424.
255. RENARD A., GÓMEZ DI MARCO P., EGEA-CORTINES M., WEISS J., 2008: Application of whole genome amplification and quantitative PCR for



- detection and quantification of spoilage yeasts in orange juice. – International Journal of Food Microbiology, **126**: 195–201.
256. RIBEIRO S. F. F., CARVALHO A. O., DACUNHA M., RODRIGUES R., CRUZ L. P., MELO V. M. M., VASCONCELOS I. M., MELO E. J. T., GOMES V. M., 2007: Isolation and characterization of novel peptides from chilli pepper seeds: Antimicrobial activities against pathogenic yeasts. – Toxicon, **50**: 600–611.
257. RILEY M. A., WERTZ J. E., 2002: Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives. – Biochimie, **84(5-6)**: 357–364.
258. RODRIGUES J., MICHELIN D. C., RINALDO D., ZOCOLO G. J., SANTOS L. C, VILEGAS W., SALGADO H. R. N., 2008: Antimicrobial Activity of *Miconia* Species (*Melastomataceae*). – Journal of Medicinal Food, **11 (1)**: 120–126.
259. ROHLFS M., CHURCHILL A. C. L., 2011: Fungal secondary metabolites as modulators of interactions with insects and other arthropods. – Fungal Genetics and Biology, **48**: 23–34.
260. ROSE A. H., HARRISON J. S., 1987: The yeasts. – Academic Press, London.
261. ROTH F. J., AHEARN D. G., FELL J. W., MEYERS S. P., MEYER S. A., 1962: Ecology and taxonomy of yeasts isolated from various marine substrates. – Limnology and Oceanography, **2(7)**: 178–185.
262. ROWEN J. L., 2001: Fungal Infections in the Neonatal Intensive Care Unit. – Seminars in Pediatric Infectious Diseases, **12(2)**: 107–114.
263. RUPASINGHE H. P. V., BOULTER-BITZER J., AHN T., ODUMERU J. A., 2006: Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms invitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples. – Food Research International, **39**: 575–580.
264. SADEGHI G., ABOUEI M., ALIREZAEI M., TOLOUEI R., SHAMS-GHAHFAROKHI M., MOSTAFAVI E., RAZZAGHI-ABYANEH M., 2011: A 4-year survey of dermatomycoses in Tehran from 2006 to 2009. – Journal de Mycologie Médicale, **21**, 260–265.

265. SAIMAN L., 2002: Risk Factors for Hospital-acquired Infections in the Neonatal Intensive Care Unit. – *Seminars in Perinatology*, **26(5)**: 315–321.
266. SALIGKARIAS I. D., GRAVANIS F. T., EPTON H. A. S., 2002: Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by the use of epiphytic yeasts *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* strain I-182: I. *in vivo* studies. – *Biological Control*, **25**: 143–150.
267. SALO S., WIRTANEN G., 2005: Disinfectant ant efficacy on foodborne spoilage yeasts strains. – *Food and Bioproducts Processing*, **83(C4)**: 288–296.
268. SAMSON R. A., HOEKSTRA E. S., LUND F., FILTENBORG O., FRISVALD J. C., 2000. Methods for the detection, isolation and characterisation of food-borne fungi. – Samson R. A., Hoekstra E. S. (eds.), *Introduction to food and airborne fungi*. 6th Editon. Utrecht: 283–297.
269. SANDHU D. K., WARAICH M. K. 1981: Airborne yeasts in Amritsar (India). *Antonie van Leeuwenhoek*, **47**: 571–576.
270. SANZ A., MARTÍN R., BELÉN MAYORAL M., HERNÁNDEZ P. E., GONZÁLEZ I., LACARRA T. G., 2005: Development of a PCR-culture technique for rapid detection of yeast species in vacuum packed ham. – *Meat Science*, **71**: 230–237.
271. SARTORATTO A., MACHADO A. L. M., DELARMELENA C., FIGUEIRA G. M., DUARTE M. C. T., REHDER V. L. G., 2004: Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. – *Brazilian Journal of Microbiology*, **35(4)**: 275–280.
272. SARTORELLI P., MARQUIORETO A. D., AMARAL-BAROLI A., LIMA M. E. Z., MORENO P. R. H., 2007: Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. – *Phytotherapy Research*, **21**: 231–233.
273. SATYANARAYANA T., KUNZE G., (Ed.) 2009: *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*. Springer.

274. SAVOVA I., NIKOLOVA M., 2000: Isolation and taxonomic study of yeast strains from Bulgarian dairy products. – Journal of culture collections, **3**: 59–65.
275. SCHIRMER-MICHEL Â., FLÔRES H. S., HERTZ P. F., MATOS G. S., AYUB M. A. Z., 2008: Production of ethanol from soybean hull hydrolysate by osmotolerant *Candida guilliermondii* NRRL Y-2075. – Bioresource Technology, **99(8)**: 2898–2904.
276. SCHMITT M. J., TIPPER D. J., 1990. K28, a unique double-stranded RNR killer virus of *Saccharomyces cerevisiae*. – Molecular and Cellular Biology, **10**: 4807–4815.
277. SELITRENNIKOFF C. P., 2001: Antifungal proteins. – Applied and Environmental Microbiology, **67(7)** 2883–2894.
278. SHAO P.-L., HUANG L.-M., HSUEH P.-R., 2007: Recent advances and challenges in the treatment of invasive fungal infections. – International Journal of Antimicrobial Agents, **30(6)**: 487–495.
279. SHARMA D., DUTTA B. K., SINGH A.B., 2010: Exposure to indoor fungi in different working environments: A comparative study. – Aerobiologia, **26**: 327–337.
280. SHWAB E. K., KELLER N. P., 2008: Regulation of secondary metabolite production in filamentous ascomycetes. – Mycological Research, **112**: 225–230.
281. SIMÕES M., SIMÕES L.C., VIEIRA M. J., 2010: A review of current and emergent biofilm control strategies. – LWT - Food Science and Technology, **43(4)**: 573–583.
282. SIMONCINI N., ROTELLI D., VIRGILI R., QUINTAVALLA S., 2007: Dynamics and characterization of yeasts during ripening of typical Italian dry-cured ham. – Food Microbiology, **24(6)**: 577–584.
283. SIMOVA E., BESHKOVA D., ANGELOV A., HRISTOZOVA TS., FRENGOVA G., SPASOV Z., 2002: Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. – Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, **28(1)**: 1–6.

284. SIQUEIRA J. S., SEN B. H., 2004: Fungi in endodontic infections. – Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics, **97(5)**: 632–641.
285. SKOČIBUŠIĆ M., BEZIĆ N., DUNKIĆ V., 2006: Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. – Food Chemistry, **96**: 20–28.
286. SKOURI-GARGOURI H., GARGOURI A., 2008: First isolation of a novel thermostable antifungal peptide secreted by *Aspergillus clavatus*. – Peptides, **29**: 1871–1877.
287. SKRODENIENĖ E., DAMBRAUSKIENĖ A., VITKAUSKIENĖ A., 2006: Mielinių grybų jautrumas priešgrybiniams antibiotikams Kauno medicinos universiteto klinikose. – Medicina, **42(4)**: 294–299.
288. SLÁVIKOVÁ E., VADKERTIOVÁ R., 1997: Seasonal occurrence of yeasts and yeast-like organisms in the river Danube. – Antonie van Leeuwenhoek, **72**: 77–80.
289. SLÁVIKOVÁ E., VADKERTIOVÁ R., 2003: The diversity of yeasts in the agricultural soil. – Journal of Basic Microbiology, **43(5)**: 430–436.
290. SLÁVIKOVÁ E., VADKERTIOVÁ R., VRÁNOVA D., 2007: Yeasts colonizing the leaf surfaces. – Journal of Basic Microbiology, **47**: 344–350.
291. SMITH P. B., STEINBACH W. J., BENJAMIN D. K., 2005: Invasive *Candida* infections in the neonate. – Drug Resistance Updates, **8(3)**: 147–162.
292. SOBEL J. D., 2007: Vulvovaginal candidosis. – Lancet, **369**: 1961–1971.
293. SOBRINO-LÓPEZ A., MARTÍN-BELLOSO O., 2008: Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. – International Dairy Journal, **18(4)**: 329–343.
294. SÖKMEN A., VARDAR-ÜNLÜ G., POLISSIOU M., DAFERERA D., SÖKMEN M., DÖNMEZ E., 2003: Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor (*Asteraceae*). – Phytotherapy Research, **17**: 1005–1010.
295. SOLL D. R., 2002: *Candida* commensalism and virulence: the evolution of phenotypic plasticity. – Acta Tropica, **81(2)**: 101–110.

296. SOMERS J. M., BEVAN E. A., 1969. The inheritance of the killer character in yeast. – *Genetics Research*, **13**: 71–83.
297. SORENSEN K. N., KIM K.-H., TAKEMOTO J. Y., 1996: In Vitro Antifungal and Fungicidal Activities and Erythrocyte Toxicities of Cyclic Lipodepsinonapeptides Produced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. – *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **40(12)**: 2710–2713.
298. SOUZA E. L., STAMFORD T. L. M., LIMA E. O., TRAJANO V. N., 2007: Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. – *Food Control*, **18**: 409–413.
299. SPENCER J. F. T., SPENCER D. M., 1997: Yeasts in natural and artificial habitats. – Springer.
300. SRIVASTAVA S., SHETTY N., 2007: Healthcare-associated infections in neonatal units: lessons from contrasting worlds. – *Journal of Hospital Infection*, **65**: 292–306.
301. STAHMANN K.-P., REVUELTA J. L., SEULBERGER H., 2000: Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii*, *Candida famata*, or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production. – *Applied Microbiology and Biotechnology*, **53**: 509–516.
302. STAIB F., MISHRA S. K., TOMPAK B., GROSSE G., ABEL T., BLISSE A., FOLKENS U., FRÖHLICH B., 1980: Pathogenic yeast-like fungi in meat products. – *Zentralblatt für Bakteriologie*, **248(3)**: 422–429.
303. STEVENSEN C. J., 1998: Aromatherapy in Dermatology. – *Clinics in Dermatology*, **16**: 689–694.
304. STROHL W.R., 2000: The role of natural products in a modern drug discovery program. – *Drug Discovery Today*, **5 (2,1)**: 39–41.
305. SU H.-J., WU P.-CH., CHEN H.-L., LEE F.-CH., LIN L.-L., 2001: Exposure assessment of indoor allergens, endotoxin, and airborne fungi for homes in Southern Taiwan. – *Environmental Research Section A*, **85**: 135–144.
306. SUH S.-O., KURTZMAN C. P., LACHANCE M. A., 2006: Phylogenetics of *Saccharomycetales*, the ascomycete yeasts. – *Mycologia*, **98(6)**: 1006–1017.

307. SUH S.-O., MCHUGH J. V., POLLOCK D. D., BLACKWELL M., 2005: The beetle gut: a hyperdiverse source of novel yeasts. – *Mycological Research*, **109(3)**: 261–265.
308. SURYANARAYANAN T. S., THIRUNAVUKKARASU N., GOVINDARAJULU M. B., SASSE F., JANSEN R., MURALI T. S., 2009. Fungal endophytes and bioprospecting. – *Fungal biology reviews*, 23: 9–19.
309. ŠALOMSKIENĖ J., PAŠKEVIČIUS A., MAČIONIENĖ I., 2003: Monitoring yeast species in quarg, quarg products and their production environment during the manufacturing process. – *Acta alimentaria*, **32(3)**: 317–322.
310. TAVANTI A., CAMPA D., BERTOZZI A., PARDINI G., NAGLIK J. R., BARALE R., SENESI S., 2006: *Candida albicans* isolates with different genomic backgrounds display a differential response to macrophage infection. – *Microbes and Infection*, **8**: 791–800.
311. TAVARESA A. C., GONÇALVES M. J., CAVALEIRO C., CRUZ M. T., LOPES M. C., CANHOTO J., SALGUEIRO L. R., 2008: Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: Composition, antifungal activity and cytotoxicity. – *Journal of Ethnopharmacology*, **119**: 129–134.
312. TOFALO R., CHAVES-LÓPEZ C., DI FABIO F., SCHIRONE M., FELIS E. G., TORRIANI S., PAPARELLA A., SUZZI G., 2009: Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must. – *International Journal of Food Microbiology*, **130(3)**: 179–187.
313. TORNAI-LEHOCZKI J., PÉTER G., DLAUCHY D., 2003: CHROMagar *Candida* medium as a practical tool for the differentiation and presumptive identification of yeast species isolated from salads. – *International Journal of Food Microbiology*, **86**: 189–200.
314. TORTORANO A. T., KIBBLER C., PEMAN J., BERNHARDT H., KLINGSPOR L., GRILLOT R., 2006: Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. – *International Journal of Antimicrobial Agents*, **27**: 359–366.
315. TOURNAS V. H., KATSODAS E., 2005: Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits. – *International Journal of Food Microbiology*, **105**: 11–17.

316. TOURNAS V. H., HEERES J., BURGESS L., 2006: Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. – *Food Microbiology*, **23(7)**: 684–688.
317. TRINDADE R. C., RESENDE M. A., SILVA C. M., ROSA C. A., 2002: Yeasts Associated with Fresh and Frozen Pulps of Brazilian Tropical Fruits. – *Systematic and Applied Microbiology*, **25**: 294–300.
318. VADKERTIOVÁ R., SLÁVIKOVÁ E., 1995: Killer activity of yeasts isolated from the water environment. – *Canadian Journal of Microbiology*, **41**: 759–766.
319. VAN DEN TEMPEL T., JAKOBSEN M., 1998: Yeasts Associated with Danablu. – *International Dairy Journal*, **8(1,1)**: 25–31.
320. VAN MINNEBRUGGEN G., FRANÇOIS I. E. J. A., CAMMUE B. P. A., THEVISSSEN K., VROOME V., BORGERS M., SHROOT B., 2010: A General Overview on Past, Present and Future Antimycotics. – *The Open Mycology Journal*, **4**: 22–32.
321. VASDINYEI R., DEÁK T., 2003: Characterization of yeast isolates originating from Hungarian dairy products using traditional and molecular identification techniques. – *International Journal of Food Microbiology*, **86**: 123–130.
322. VERMITSKY J.-P., SELF M. J., CHADWICK S. G., TRAMA J. P., ADELSON M. E., MORDECHAI E., GYGAX S. E., 2008: Survey of Vaginal-Flora *Candida* Species Isolates from Women of Different Age Groups by Use of Species-Specific PCR Detection. – *Journal of Clinical microbiology*, **46(4)**: 1501–1503.
323. VERNER – JEFFREYS D. W., JOINER C. L., BAGWELL N. J., REESE R. A., HUSBY A., DIXON P. F., 2009: Development of bactericidal and virucidal testing standards for aquaculture disinfectants. – *Aquaculture*, **286**: 190–197.
324. VERPOORTE R., MEMELINK J., 2002: Engineering secondary metabolite production in plants. – *Current Opinion in Biotechnology*, **13**:181–187.
325. VILJOEN B. C., 2001: The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. – *International Journal of Food Microbiology*, **69**: 37–44.

326. VILJOEN B. C., HATTINGH A. L., IKALAFENG B., PETER G., 2003: Temperature abuse initiating yeast growth in yoghurt. – Food Research International, **36**: 193–197.
327. VILJOEN B. C., KHOURY A. R., HATTINGH A., 2003: Seasonal diversity of yeasts associated with white surface mould-ripened cheeses. – Food Research International, **36**: 275–283.
328. VITAL M. J. S., ABRANCHES J., HAGLER A. N., MENDONÇA-HAGLER L. C., 2002: Mycocinogenic yeasts isolated from Amazon soils of the Maracá Ecological Station, Roraima-Brazil. – Brazilian Journal of Microbiology, **33(3)**: 203–235.
329. VIUDA-MARTOS M., RUIZ-NAVAJAS Y., FERNÁNDEZ-LÓPEZ J., PÉREZ-ÁLVAREZ J., 2008: Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. – Food Control, **19**: 1130–1138.
330. VOGEL C., ROGERSON A., SCHATZ S., LAUBACH H., TALLMAN A., FELL J., 2007: Prevalence of yeasts in beach sand at three bathing beaches in South Florida. – Water Research, **41**: 1915–1920.
331. VOL'PE I. M., KUCHERENKO V. D., 1970: Praktičeskoe rukovodstvo po sanitarnoj mikrobiologii. – Moskva, S. 143.
332. VOLK R.-B., 2008: Screening of microalgae for species excreting norharmane, a manifold biologically active indole alkaloid. – Mycological Research, **163**, 307–313.
333. VOLK R.-B., FURKERT F. H., 2006: Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. – Mycological Research, **161(2)**: 180–186.
334. WANG L., CHI Z., YUE L., CHI Z., ZHANG D., 2008: Occurrence and Diversity of *Candida* Genus in Marine Environments. – Journal of Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research), **7(4)**: 416–420.
335. WARGO M. J., HOGAN D. A., 2006: Fungal – bacterial interactions: a mixed bag of mingling microbes. – Current Opinion in Microbiology, **9**: 359–364.



336. WEBER R. W. S, KAPPE R., PAULULAT T., MÖSKER E., ANKE H., 2007: Anti-*Candida* metabolites from endophytic fungi. – *Phytochemistry*, **68**: 886–892.
337. WEIG M., BROWN A. J. P., 2007: Genomics and the development of new diagnostics and anti-*Candida* drugs. – *TRENDS in Microbiology*, **15(7)**: 310–317.
338. WELTHAGEN J. J., VILJOEN B. C., 1998: Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. – *International Journal of Food Microbiology*, **41**: 185–194.
339. WELTHAGEN J. J., VILJOEN B. C., 1999: The isolation and identification of yeasts obtained during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. – *Food Microbiology*, **16**: 63–73.
340. WICKES B. L., HICKS J. B., MERZ W. G., KWON-CHUNG K. J., 1992: The molecular analysis of synonymy among medically important yeasts within the genus *Candida*. – *Journal of General Microbiology*, **138**: 901–907.
341. WILLIAMS D., LEWIS M., 2011: Pathogenesis and treatment of oral candidosis. – *Journal of Oral Microbiology*, **3**: 5771–5782.
342. WIRTANEN G., SALO S., 2003: Disinfection in food processing – efficacy testing of disinfectants. – *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, **2**: 293–306.
343. WOJTATOWICZ M., CHRZANOWSKA J., JUSZCZYK P., SKIBA A., GDULA A., 2001: Identification and biochemical characteristics of yeast microflora of Rokpol cheese. – *International Journal of Food Microbiology*, **69**: 135–140.
344. WOUTERS J. T. M., AYAD E. H. E., HUGENHOLTZ J., SMIT G., 2002: Microbes from raw milk for fermented dairy products. – *International Dairy Journal*, **12**: 91–109.
345. WU S., CHAPPELL J., 2008: Metabolic engineering of natural products in plants; tools of the trade and challenges for the future. – *Current Opinion in Biotechnology*, **19**: 145–152.
346. WUCZKOWSKI M. PRILLINGER H., 2004: Molecular identification of yeasts from soils of the alluvial forest national park along the river Danube

- downstream of Vienna, Austria (“Nationalpark Donauauen”). – Microbiological Research, **159**: 263–275.
347. WUCZKOWSKI M., STERFLINGER K., KRAUS G. F., KLUG B., PRILLINGER H., 2003: Diversity of microfungi and yeasts in soils of the alluvial zone national park along the river Danube down stream of Vienna, Austria. – Australian Journal of Agricultural Research, **54**: 109–117.
348. XU J., SOBEL J. D., 2004: *Candida* Vulvovaginitis in Pregnancy. – Current Infectious Disease Reports, **6**: 445–449.
349. ZAKHAROV I. A., KOŽIN S. A., KOŽINA T. N., FEDOROVA I. V., 1984: Sbornik metodik po genetike drožžej – sakharomicetov. Nauka. Leningrad.
350. ZHANG Y., LEWIS K., 1997: Fabatins: new antimicrobial plant peptides. – FEMS Microbiology letters, **149**: 59–64.