

DIAGNOSTIK UND THERAPIE  
DER PILZKRANKHEITEN  
UND  
NEUERE ERKENNTNISSE IN DER  
BIOCHEMIE DER PATHOGENEN PILZE

VORTRÄGE DER  
6. WISSENSCHAFTLICHEN TAGUNG DER  
DEUTSCHSPRACHIGEN MYKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT  
IN WIEN  
VOM 15. BIS 17. JULI 1966

HERAUSGEGEBEN VON  
PROF. DR. HANS GÖTZ  
KLINIKUM ESSEN DER RUHRUNIVERSITÄT BOCHUM  
UND  
DR. HANS RIETH  
HAMBURG

UNTER MITARBEIT VON  
DR. OTTO MALE  
I. UNIVERSITÄTS-HAUTKLINIK IN WIEN  
UND  
UNIV.-DOZ. DR. JOSEFINE THURNER  
II. UNIVERSITÄTS-HAUTKLINIK IN WIEN

MIT 178 TEXTABBILDUNGEN

1970  
GROSSE VERLAG  
BERLIN

Medizinaluntersuchungsanstalt

(Leiter: Prof. Dr. S. WINKLE)

am Hygienischen Institut der Freien und Hansestadt Hamburg

(Direktor: Prof. Dr. Dr. H. HARMSEN)

## Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Candida albicans* und anderen Hefen unter Einwirkung von Tellurit

A. KAFFKA, Hamburg

Mit 12 Abbildungen

Die Alkalisalze der tellurigen Säure werden wegen ihrer unterschiedlich toxischen Wirkung und der leichten Reduzierbarkeit des Tellurits zu schwarzem, metallischem Tellur in der mikrobiologischen Diagnostik häufig verwandt. Ähnlich wie bei Bakterien sind Tellurit-Empfindlichkeit und -Reduktionsvermögen der Hefen verschieden stark ausgeprägt, wie bei der Prüfung des kulturellen Verhaltens von zahlreichen Hefearten auf festen tellurit( $K_2TeO_3$ )-haltigen Serumnährmedien mit und ohne Blutzusatz (dem serumhaltigen Clauberg II-Agar und einem durchsichtigen Serum-Telluritagar) festgestellt werden konnte. Daher eignen sich diese Nährböden zur Isolierung und Differenzierung von Hefen (KAFFKA 1956).

Askosporogene Hefen ließen sich größtenteils sehr schwer oder gar nicht auf diesen Nährböden anzüchten. Hefen der Gattung *Rhodotorula* und *Trichosporon* zeichneten sich durch ein starkes Tellurit-Reduktionsvermögen aus, so daß nach 1—4tägigem Wachstum bei 30 °C intensiv schwarz gefärbte Kolonien entstanden. *Candida*-Hefen zeigten im allgemeinen nur eine schwache Tellurit-Reduktion. Bei einigen Hefearten war eine schwärzliche Verfärbung der Kolonien durch Tellur kaum festzustellen. Anwesenheit von verwertbaren Zuckern (Mono- und Disacchariden) förderte die Tellurit-Reduktion (Abb. 1—4). Weiter wurde gefunden, daß telluritempfindliche Hefen auf zuckerhaltigem Tellurit-Agar gut wachsen können, bei fehlendem Zuckerszusatz dagegen überhaupt nicht.

Partielle Anaerobiose unter aufgelegtem Deckglas hemmt die Tellurit-Reduktion. Besonders deutlich tritt dieses bei *Rhodotorula* — und anderen Hefen in Erscheinung, bei denen eine Abhängigkeit vom zugesetzten Substrat nicht zu erkennen ist und die infolgedessen auch auf zuckerfreien Nährmedien mit stark geschwärzten Kolonien wachsen (Abb. 1).

Die Tellurit-Reduktion ist an den Stoffwechsel der Hefezellen gebunden. In Suspensionen von hitzeabgetöteten *Candida albicans*-Zellen konnte daher eine schwärzliche Verfärbung durch abgeschiedenes Tellur nicht beobachtet werden. Das Ausmaß der Tellurit-Reduktion hängt mit dem Funktionszustand der Zelle zusammen. Die geringsten farblichen Veränderungen von *C. albicans* traten in Zellsuspensionen während der endogenen Atmung bei den manometrischen Versuchen auf. Erst nach etwa dreistündiger Versuchsdauer deutete eine äußerst

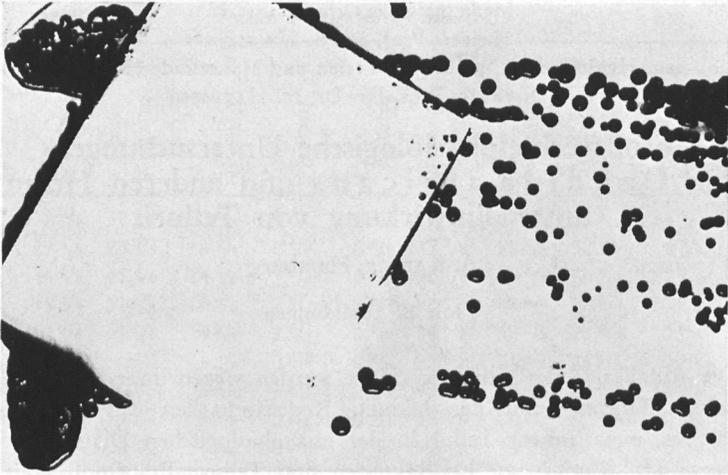


Abb. 1: *Rhodotorula rubra* auf Serum-Telluritagar nach 5 Tagen bei 30 °C

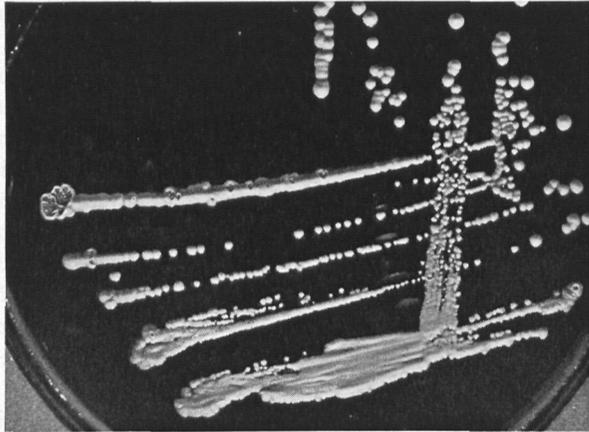


Abb. 2: *Candida parapsilosis* auf serumhaltigem Clauberg-II-Agar nach 5 Tagen bei 30 °C. Koloniefarbe hellgelb-bräunlich

schwache Verfärbung eine Tellurit-Reduktion an. Dunkler waren Suspensionen von ruhenden *C. albicans*-Zellen nach zwei- bis mehrstündigem Glukoseabbau gefärbt. Die stärkste Tellurit-Reduktion erfolgte bei Wachstum von *C. albicans* und anderen Hefen, besonders mit Glukose als C-Quelle.

Die Reduktion des Tellurits ruft nach etwa 6—8 Stunden die ersten licht-mikroskopisch sichtbaren Veränderungen hervor. An der Peripherie

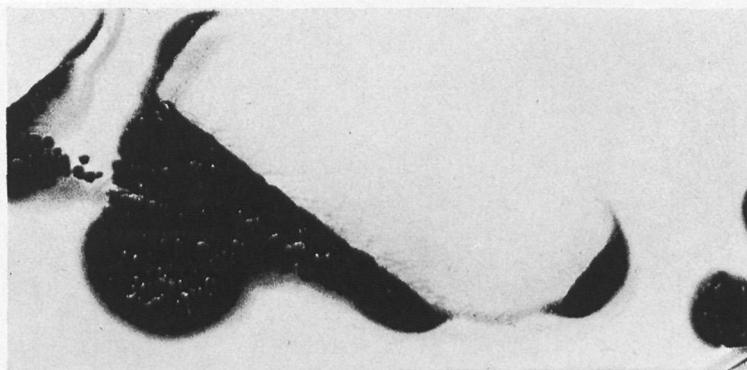


Abb. 3: *Trichosporon capitatum* auf Serum-Telluritagar nach fünf Tagen bei 30 °C

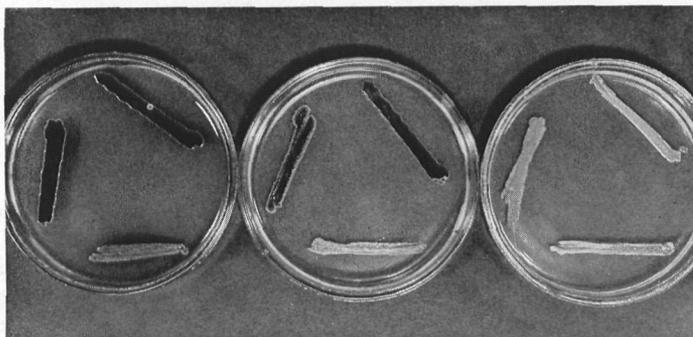


Abb. 4: Tellurit-Reduktion beim Abbau verwertbarer Zucker (4%) in Serum-Telluritagar nach 48 Stunden bei 30 °C

*Candida parapsilosis*: 2 Stämme auf der oberen Plattenhälfte und *Candida stellatoidea*: auf der unteren Plattenhälfte (horizontaler Impfstrich)

- a) Glukose (linke Platte)
- b) Saccharose (mittlere Platte)
- c) Laktose (rechte Platte)

der Zellen heben sich bei Betrachtung im Nativpräparat dunklere Flecken von der hellen Umgebung ab. Diese Zellbezirke werden durch das abgesetzene, metallische Tellur immer dunkler, bis sie schließlich als deutlich begrenzte und den cytoplasmatischen Grenzschichten angelagerte, runde und schwärzliche Granula erscheinen. Ihr Auftreten ist zeitlich sehr verschieden. Während einige Zellen nur wenige schwarze Granula (1—3) aufweisen, kann es in der gleichen Suspension Zellen geben, die die 10fache Anzahl oder sogar mehr haben. Durch Verändern der optischen Ebene kann man sich eine Vorstellung von der Art ihrer Anordnung machen.

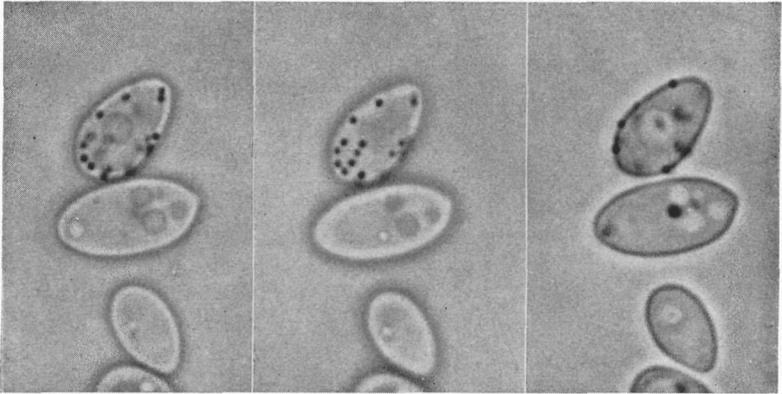
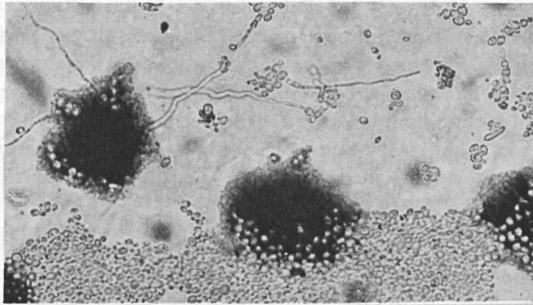


Abb. 5: Zellen einer Kultur von *Candida pseudotropicalis* auf Serum-Telluritagar mit 4% Glukose nach 48 Stunden bei 30 °C. Tellurablagerungen in Zellgranula. Aufnahmen in verschiedenen optischen Ebenen. Vergr. 2200×

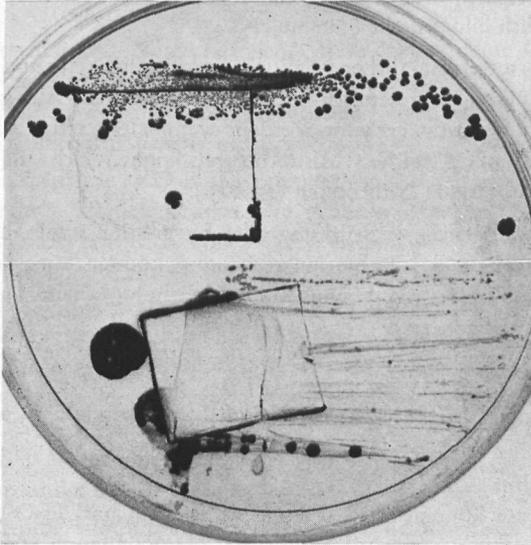
Danach scheinen sie den äußeren Zellschichten anzuliegen (Abb. 5). Vereinzelt findet man Zellen mit Tellurablagerung in der Umgebung von Vakuolen.

Ob es sich bei diesen Gebilden um echte Mitochondrien oder um Sphaerosomen, sog. „Granula mit Mitochondrienfunktion“ handelt (MARQUARDT und BAUTZ 1955), ist auf Grund der beschriebenen licht-mikroskopischen Untersuchungsbefunde nicht möglich. In diesem Zusammenhang sei auf die Untersuchungen der beiden Autoren hingewiesen, die verschiedene Hefearten in ihrem Verhalten gegenüber dem Nadi-Reagens, einem Gemisch aus  $\alpha$ -Naphthol und p-Phenylen-diamin, geprüft haben. Die Farbintensität des entstehenden Indophenolblaus geht parallel mit dem Gehalt an Cytochromen, wie absorptionspektroskopische Untersuchungen ergaben. Sie kann durch verbesserte O<sub>2</sub>-Versorgung erhöht werden. Die Untersuchungsbefunde von MARQUARDT und BAUTZ hinsichtlich der starken Färbung durch Indophenolblau bei *Rhodotorula*-Hefe stehen in auffallender Übereinstimmung mit der intensiven Tellurit-Reduktion bei Hefen dieser Gattung. Es ist möglich, daß auch hierbei eine Parallelität zwischen Stärke der Tellurit-Reduktion und dem Cytochromgehalt besteht.

Bakterielle Verunreinigungen von Hefekulturen können auf tellurithaltigen Nährböden leicht erkannt werden, da sich die entstehenden Bakterienkolonien wegen ihrer raschen und starken Tellurit-Reduktion im allgemeinen in kürzester Zeit (10–15 Std.) schwarz färben. Diese Kolonien heben sich insbesondere von dem hellen Untergrund des Serum-Telluritagars und von den nicht schwarz gefärbten Hefekolonien ab (Abb. 6 u. 7). Liegt bei Hefestämmen ein starkes Tellurit-Reduktionsvermögen vor (wie z. B. bei *Rhodotorula*-Arten) und wachsen die begleitenden Bakterien in ähnlicher



6



7

8

Abb. 6 (oben): Bakterielle Verunreinigung (schwarze Kolonien) einer Kultur von *Candida albicans* bei Wachstum auf Serum-Telluritagar unter Deckglas nach 24 Std. bei 37 °C. Vergr. 180×

Abb. 7 (Mitte): Bakterielle Verunreinigung einer Kultur von *Torulopsis glabrata* auf Serum-Telluritagar. Schwarze Kol. = *Streptococcus faecalis*. *T. glabrata*: Wachstum nur in Mikrokolonien unter dem Deckglas. Kulturdauer: 5 Tage bei 30 °C

Abb. 8 (unten): Hefemischkultur von *Rhodotorula rubra* (schwarze Kolonien) und *Candida albicans* auf Serum-Telluritagar nach 4 Tagen bei 30 °C

Kolonieform, so kann trotzdem eine Verunreinigung auf dem Serum-Telluritagar nicht übersehen werden, da Bakterienkolonien auch unter dem Deckglas massiv schwarz gefärbt sind, Hefekolonien dagegen niemals in diesem Ausmaß.

Im Gegensatz zu Hefen ist bei Bakterien die Tellurit-Reduktion auf einen gänzlich andersartigen Wirkungsmechanismus zurückzuführen. Denn sowohl bei O<sub>2</sub>-Mangel als auch bei Fehlen der bei Hefen reduktionsfördernden Zucker vermögen Bakterien Tellurit zu reduzieren. SMITH (1959) untersuchte die selektive Wirkung von Selenitbouillon und fand dabei, daß diejenigen Bakterien Selenit reduzieren, die aus S-haltigen Aminosäuren sowie anderen S-Verbindungen H<sub>2</sub>S bilden. Ein analoger Vorgang dürfte auch für die Tellurit-Reduktion durch Bakterien zutreffen.

Deswegen wurden verschiedenartige Bakterien (Staphylokokken, Corynebakterien, Streptococcus faecalis, Salmonellen), die auf dem Serum-Telluritagar in schwarzen Kolonien wuchsen, auf die Bildung von H<sub>2</sub>S in Bleiacetat-Agar geprüft. Tatsächlich bildeten alle Stämme H<sub>2</sub>S.

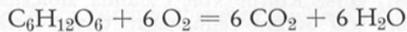
Wegen der unterschiedlichen Tellurit-Empfindlichkeit und -Reduktion ist es ebenfalls möglich, Hefemischkulturen zu entdecken. Auf gewöhnlichem Pilzagar können sie nicht erkannt werden, wenn gleichartige Kolonien vorliegen. Zur Trennung solcher Mischkulturen eignen sich die beiden angeführten tellurithaltigen Nährböden (Abb. 8).

Wegen der völligen Unterdrückung oder Hemmung, sowie der beschriebenen Eigentümlichkeit des Bakterienwachstums können die Tellurit-Nährmedien für die Soforteinsaat von klinisch-pathologischem Untersuchungsmaterial verwandt werden.

## RQ-Bestimmungen bei Substratoxydation durch ruhende *C. albicans*-Zellen

### Glukoseoxydation

Kohlenhydrate können durch Hefen bis zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O oxydativ abgebaut werden, wenn genügend Sauerstoff zur Verfügung steht. Die Oxydation von Glukose verläuft dann nach der bekannten Bruttogleichung:



Bei Fehlen von O<sub>2</sub> vermag Glukose nur bis zu höhermolekularen Verbindungen abgebaut zu werden, wie es bei der alkoholischen Gärung der Fall ist. Bei unzureichender O<sub>2</sub>-Versorgung verlaufen aerobe und anaerobe Prozesse nebeneinander her. Dadurch kann die Beurteilung stoffwechselphysiologischer Vorgänge erschwert sein. Während der RQ-Wert für die Oxydation von Glukose zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O 1 beträgt, erhöht sich dieser Wert, wenn gleichzeitig aerobe, fermentative Prozesse stattfinden.

Auch von *C. albicans* ist bekannt, daß aus Glukose fermentativ Alkohol und CO<sub>2</sub> gebildet wird (VAN NIEL und COHEN 1942). Vor den eigentlichen RQ-Bestimmungen wurden daher Versuche durchgeführt, um fermentationsfördernde Faktoren, wie beispielsweise zu hohe Zelldichte und Substratkonzentration, ausschließen zu können. Niedere pH-Werte sind ebenfalls geeignet, den Übergang zur aeroben Fermentation zu erleichtern. Der benutzte Phosphatpuffer nach

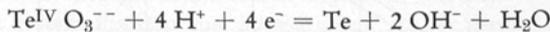
SÖRENSEN von 0,06 m bei pH 6,5 hatte ausreichende Pufferkapazität, um ein Absinken des pH-Wertes zu vermeiden. Bei einer Glukosekonzentration von 0,5 % und einer Zelldichte bis 4 mg Trockengewicht pro Gefäß ergaben sich keine Anzeichen einer gleichzeitig bestehenden Fermentation.

Für die RQ-Bestimmungen wurden frisch geerntete und durch Belüftung verarmte, ruhende *C. albicans*-Zellen benutzt. Erst beim Beschicken der Warburggefäße wurde der in Phosphatpuffer mit Glukose angesetzten Suspension die Kaliumtelluritlösung hinzugefügt. Die Versuchsdauer variierte zwischen 45 und 150 Minuten. Die Versuche wurden bei pH 5,5 — 6,5 — 7,5 sowie 8,0 und mit einer Telluritkonzentration von  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-4}$  und  $1 \cdot 10^{-4}$  m vorgenommen.

Die ermittelten RQ-Werte für den Glukoseabbau ohne Gegenwart von Tellurit sprechen für einen oxydativen Abbau gemäß der Bruttogleichung, da sie im allgemeinen nahe dem theoretischen Wert von 1 liegen. Ein Einfluß des pH-Wertes war hierbei nicht erkennbar.

Dagegen haben die RQ-Bestimmungen bei Einwirkung von Tellurit wesentlich andere Werte erbracht. Die größten Abweichungen zeigten sich bei der Telluritkonzentration von  $1 \cdot 10^{-3}$  m und pH 6,5: z. B. 253  $\mu$ l CO<sub>2</sub> und 234  $\mu$ l O<sub>2</sub> ohne Tellurit gegenüber 336  $\mu$ l CO<sub>2</sub> und 247  $\mu$ l O<sub>2</sub> mit Telluriteinwirkung. Auffallend waren nicht nur die bei diesen Versuchen gefundenen höheren Werte für den Verbrauch von O<sub>2</sub> sowie gebildetes CO<sub>2</sub>, sondern auch deren Mengenverhältnis zueinander, so daß sich höhere RQ-Werte als 1 ergaben. Sie variierten zwischen 1,21 und 1,47 bei einer Telluritkonzentration von  $1 \cdot 10^{-3}$  m und einem pH-Wert von 6,5. Bei pH 7,5 und 8,0 waren die RQ-Werte in Gegenwart von Tellurit niedriger als bei gleicher Konzentration und pH 6,5.

Hätte nur eine stimulierende Wirkung des Tellurits auf den Gasumsatz vorgelegen, so wären die RQ-Werte ähnlich wie für den Glukoseabbau ohne Tellurit ausgefallen. Wenn aber bei dem Glukoseabbau freiwerdender Wasserstoff nicht auf den natürlichen Elektronen-Acceptor Sauerstoff übertragen wird, sondern zur Reduktion des als künstlicher Elektronen-Acceptor fungierenden Tellurits verwandt wird, dann sind die höheren RQ-Werte ohne weiteres verständlich. So werden für die Reduktion eines Moleküls Kaliumtellurit 4 Elektronen aus 4 H-Atomen benötigt entsprechend der Gleichung:



Offenbar ist es von großer Bedeutung, in welchem physiologischen Zustand sich die Zellen befinden, wenn ihre Enzyme mit dem Tellurit in Berührung kommen, denn die bei RQ-Bestimmungen beobachtete Stimulierung trat dann nicht auf, wenn die Glukose erst nach längerer endogener Respiration (ca. 2 Std.) in Gegenwart von K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> den *C. albicans*-Zellen zugesetzt wurde. In diesen Fällen wirkte sich das Tellurit hemmend auf den O<sub>2</sub>-Verbrauch aus.

### Acetatoxydation

Um zu prüfen, wie der Gasumsatz beim Abbau einer chemisch andersartigen Substanz durch Tellurit beeinflusst wird, wurde für weitere RQ-Bestimmungen mit *C. albicans* Acetat als Substrat genommen.

Wenn die Oxydation nach der Gleichung:



verläuft, dann ist ein RQ-Wert von 1 zu erwarten. Die Versuche wurden in gleicher Weise durchgeführt wie für den Glukoseabbau. Die gefundenen Werte zeigten eine gute Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert von 1, ohne Unterschied, ob eine Einwirkung von Tellurit vorlag oder nicht. Jedoch ist eine hemmende Wirkung des Tellurits auf die Geschwindigkeit des Gasumsatzes unverkennbar, wie aus den niedrigeren Gaswerten für den  $\text{O}_2$ -Verbrauch und für gebildetes  $\text{CO}_2$  zu ersehen ist: z. B. bei der Telluritkonzentration von  $1 \cdot 10^{-3}$  und pH 6,5  $147 \mu\text{l CO}_2$  und  $139 \mu\text{l O}_2$  gegenüber  $164 \mu\text{l CO}_2$  und  $160 \mu\text{l O}_2$  ohne Telluriteinwirkung.

Eine Berücksichtigung der endogenen Atmung bei der Berechnung der RQ-Werte hatte auf die Ergebnisse sowohl für den Glukose- als auch für den Acetatabbau keinen Einfluß.

### $\text{O}_2$ -Verbrauch weiterer Substrate mit und ohne Telluriteinwirkung

Die gegensätzliche Wirkung des Tellurits auf die Oxydation von Acetat und Glukose, nämlich Hemmung beim Acetatabbau gegenüber Stimulierung beim Glukoseabbau, ließ daran denken, daß auch bei anderen Substraten eine ähnlich verschiedene Beeinflussung der Oxydation vorliegen könnte. Insbesondere wären solche Stoffe von Bedeutung, deren Abbau stimuliert erfolgt, denn wenn mehr Dehydrierungswasserstoff für die Reduktion von Tellurit zur Verfügung gestellt wird, könnte so die vorhandene Telluritmenge und damit deren Toxizität herabgesetzt werden.

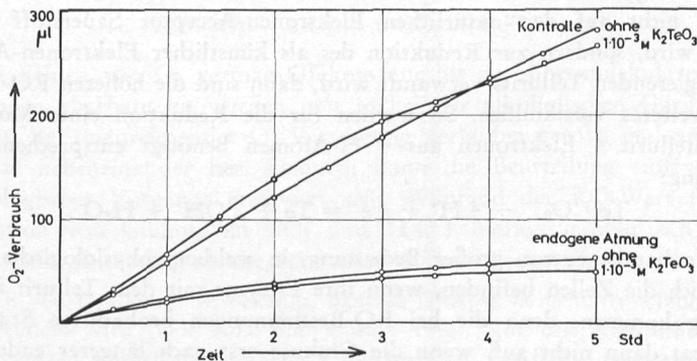


Abb. 9: Wirkung von Tellurit ( $\text{K}_2\text{TeO}_3$ ) auf die Glukoseoxydation durch *Candida albicans*. 2,2 ml Suspension in 0,06 m Phosphatpuffer nach SÖRENSEN. Zellkonzentration: 0,3 mg/ml (Trockensubstanz). Substratkonzentration:  $30 \mu\text{Mol/ml}$ . pH = 6,5. Temp.  $30^\circ\text{C}$

Um solche Substanzen aufzufinden, wurde der oxydative Abbau einer größeren Anzahl hoch- und niedermolekularer Verbindungen verschiedener Stoffgruppen geprüft. Tatsächlich fallen einige Verbindungen durch erhöhte  $O_2$ -Werte bei Telluritbeeinflussung auf. Es sind Mono- und Disaccharide wie Fruktose, Galaktose, Saccharose und Maltose. Auch beim Äthanol war der  $O_2$ -Verbrauch etwas erhöht. Jedoch ist der oxydative Abbau aller anderen geprüften Verbindungen durch Tellurit hemmend beeinflusst, wie z. B. beim Abbau von Aminosäuren, Pepton, Fettsäuren. Bezieht man die gefundenen Werte auf den  $O_2$ -Verbrauch beim Glukoseabbau ohne Telluriteinwirkung = 100, so erhält man (Substratkonz. 20 mMol/l; Suspension in Phosphatpuffer; pH = 6,5; Temp. 30 °C):

	ohne	mit $K_2TeO_3$ ( $1 \cdot 10^{-3}$ m)
Glukose	100	113
Fruktose	93	112
Galaktose	89	96
Maltose	96	111
Saccharose	77	86
Äthanol	119	123

Die stimulierende Wirkung des Tellurits zeigte sich aber nur während einer begrenzten Versuchsdauer. Die Toxizität bewirkte dann ein allmähliches Absinken der  $O_2$ -Werte (Abb. 9). In erster Linie dürfte die toxische Wirkung des Tellurits darauf beruhen, daß zum Teil Tellur statt Schwefel in Aminosäuren eingebaut wird, wie es NICKERSON u. a. (1956) bei Selen festgestellt haben. Aber auch das durch die Reduktion entstehende metallische Tellur wird ebenfalls einen störenden Einfluß haben.

#### Beeinflussung der oxydativen Assimilation durch Tellurit

Wenn man eine bekannte Substratmenge durch Hefezellen veratmen läßt, so entsprechen die ermittelten Gasmengen für verbrauchtes  $O_2$  und gebildetes  $CO_2$  nur einem Teil der stöchiometrisch errechneten Werte, denn von dem dargebotenen Substrat wird nur ein Teil völlig zu  $CO_2$  und  $H_2O$  abgebaut, während der übrige in Zellsubstanz eingebaut wird. So kann die Differenz zwischen den theoretischen und experimentell gefundenen Daten als Ausmaß für die erfolgte Assimilation angesehen werden.

Methodisch besteht insofern eine Schwierigkeit, als der genaue Zeitpunkt der Substraterschöpfung wegen des geringen Gasumsatzes bei Versuchsende nicht sicher zu erkennen ist. Aus diesem Grunde wurden für die Herstellung der Suspension in Phosphatpuffer *C. albicans*-Zellen verwandt, die zuvor durch 20stündige Belüftung bei Zimmertemperatur verarmt worden waren. Um die endogene Atmung weiter herabzusetzen, wurden die beschickten Gefäße 2 Stunden im Wasserbad der Warburg-Apparatur bei der Versuchstemperatur von 30 °C geschüttelt, ehe aus dem Seitenansatz das abzubauen Substrat in den Hauptraum gegeben wurde. Dieses war der Versuchsbeginn. Wie aus dem Kurvenverlauf für

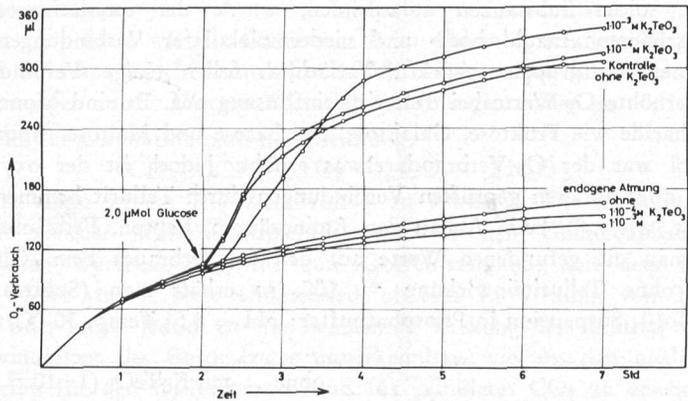


Abb. 10: Wirkung von Tellurit ( $K_2TeO_3$ ) auf die Glukoseoxydation durch *Candida albicans*. 2,2 ml Suspension in 0,06 m Phosphatpuffer nach SÖRENSEN. Zellkonzentration: 0,7 mg/ml (Trockensubstanz). Substratmenge: 2,0  $\mu$ Mol Glukose. Berechneter  $O_2$ -Verbrauch bei vollständiger Oxydation 268,8  $\mu$ l  $O_2$ . pH = 6,5. Temp. 30 °C

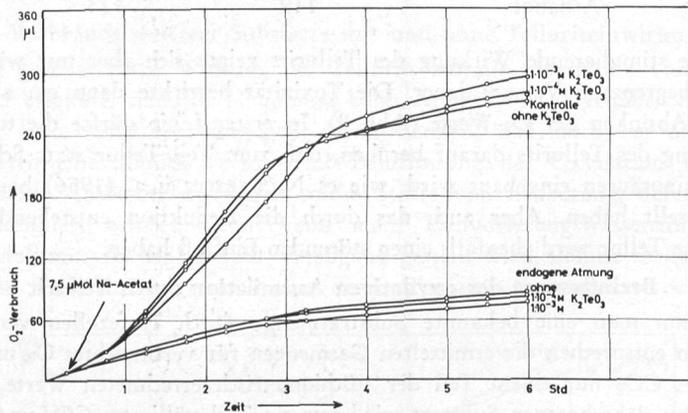


Abb. 11: Wirkung von Tellurit ( $K_2TeO_3$ ) auf die Acetatoxydation durch *Candida albicans*. 2,2 ml Suspension in 0,06 m Phosphatpuffer nach SÖRENSEN. Zellkonzentration 0,5 mg/ml (Trockensubstanz). Substratmenge: 7,5  $\mu$ Mol Na-Acetat. Berechneter  $O_2$ -Verbrauch bei vollständiger Oxydation 336,0  $\mu$ l  $O_2$ . pH = 6,5. Temp. 30 °C

den  $O_2$ -Verbrauch zu ersehen ist (Abb. 10 u. 11), folgte auf einen anfänglich steilen Anstieg ein plötzliches Abknicken der Kurve, bis sie immer mehr abflachte. Als Ende des Substratabbaus und gleichzeitig des Versuches wurde der Zeitpunkt angesehen, wenn der Anfangswert der endogenen Atmung erreicht wurde. Die Kurve für den  $O_2$ -Verbrauch bei Telluriteinwirkung verläuft ähnlich. Bemerkenswert war jedoch der erhöhte Gesamtverbrauch von  $O_2$ . Daraus ließ sich schließen, daß die Assimilation durch Tellurit gehemmt wurde. Bei der Berechnung der

Daten wurde die endogene Atmung in Abzug gebracht, in der Annahme, daß sie während des Substratabbaus in gleichem Maße stattfindet.

Ohne Tellurit wurden bei pH 6,5 um 40 % Glukose und etwas über 50 % Acetat zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  oxydiert. Dagegen erhöhten sich diese Prozentzahlen bei Einwirkung von  $1 \cdot 10^{-3}$  m Tellurit bis zu 66 % für Glukose und bis zu 75 % für Acetat. Niedrigere Telluritkonzentrationen ( $5 \cdot 10^{-4}$  und  $1 \cdot 10^{-4}$  m) zeigten eine geringere Hemmung der oxydativen Assimilation. Bei Verwendung synthetischer Nährlösungen (z. B. nach WICKERHAM) war die Assimilation mit und ohne Tellurit etwas höher.

Die Beeinträchtigung der oxydativen Assimilation ließ ebenfalls einen ungünstigen Effekt auf das Wachstum erwarten, wie aus den Wachstumskurven der Abb. 12 zu ersehen ist. Während die Kontroll suspension den

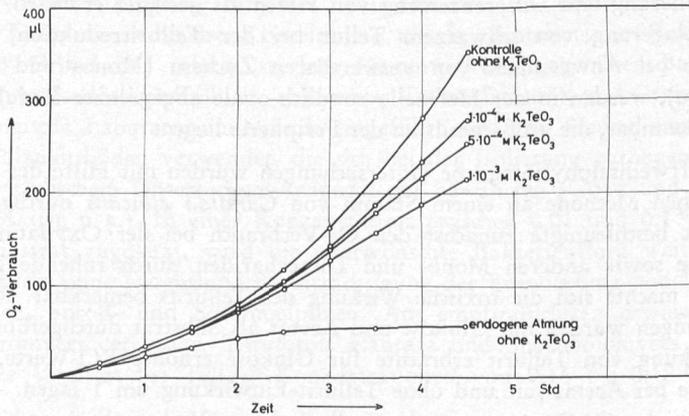


Abb. 12:  $\text{O}_2$ -Verbrauch bei Wachstum von *Candida albicans* in Gegenwart von Tellurit ( $\text{K}_2\text{TeO}_3$ ). 2,2 ml Suspension in synthetischer Nährlösung nach WICKERHAM mit 0,06 m Phosphatpuffer (SÖRENSEN). C-Quelle: Glukose (10 mg/ml). pH = 6,5. Temp. 30 °C

charakteristischen Kurvenverlauf für die logarithmische Wachstumsphase lieferte, ist eine deutliche Aufwärtskrümmung der  $\text{O}_2$ -Kurve bei Telluriteinwirkung ( $1 \cdot 10^{-3}$  m) nur bis zur 3. Stunde erkennbar, sie nimmt dann einen fast geradlinigen Verlauf. Auch die niedrigeren Telluritkonzentrationen von  $5 \cdot 10^{-4}$  m und  $1 \cdot 10^{-4}$  m wiesen eine beachtlich wachstumshemmende Wirkung auf.

Wie sehr Tellurit das Wachstum von *C. albicans* trotz Zugabe der gut verwertbaren Glukose beeinträchtigte, zeigte sich bei den Bestimmungen des Ökonomischen Koeffizienten, d. h. die je 100 g verbrauchten C-Substrates entstandene Hefetrokensubstanz. So wurden bei einer Telluritkonzentration von  $1 \cdot 10^{-3}$  m äußerst niedrige Ökonomische Koeffizienten (wie z. B. 13,7 und 12,3) gefunden. Sie betragen nicht mehr als 40 % von denen bei unbeeinflusstem Wachstum. Die Telluritkonzentration von  $5 \cdot 10^{-4}$  m erbrachte kein besseres Wachstumsergebnis. Ein leicht wahrnehmbarer Alko-

holgeruch während dieser Versuche deutete jedoch darauf hin, daß sich das Wachstum nicht vollwertig vollzog. Offenbar wurde die Zelldichte im Verlaufe der Versuche zu stark, so daß trotz Schüttelbewegung eine ausreichende  $O_2$ -Versorgung nicht mehr möglich war.

Die stoffwechselphysiologischen Untersuchungen haben gezeigt, daß Tellurit auf *C. albicans* zwar eine toxische Wirkung ausübt, daß aber durch Abbau bestimmter Substrate wie Mono- und Disaccharide die Toxizität vermindert werden kann.

### Zusammenfassung

Tellurit-Empfindlichkeit und -Reduktionsvermögen der Hefen sind verschieden stark ausgeprägt, so daß sich tellurithaltige Serum-Nährmedien zur Isolierung und Differenzierung von Hefen als geeignet erwiesen. Durch die Ablagerung von schwarzem Tellur bei der Telluritreduktion, insbesondere bei Anwesenheit von verwertbaren Zuckern (Mono- und Disacchariden), werden in der Hefezelle rundlich-ovale abgegrenzte Reduktionsorte erkennbar, die größtenteils an der Peripherie liegen.

Stoffwechselphysiologische Untersuchungen wurden mit Hilfe der manometrischen Methode an einem Stamm von *Candida albicans* durchgeführt. Tellurit beschleunigte zunächst den  $O_2$ -Verbrauch bei der Oxydation von Glukose sowie anderen Mono- und Disacchariden durch ruhende Zellen; danach machte sich die toxische Wirkung des Tellurits bemerkbar. RQ-Bestimmungen wurden mit Glukose und Acetat als Substrat durchgeführt. Die Einwirkung von Tellurit erbrachte für Glukose erhöhte RQ-Werte, während sie bei Acetat mit und ohne Tellurit-Einwirkung um 1 lagen. — Die Messung der  $O_2$ -Gesamtmenge bei vollständigem Verbrauch einer begrenzten Menge Substrat (Glukose und Acetat) diente der Prüfung der oxydativen Assimilation. In Gegenwart von Tellurit wurde mehr  $O_2$  verbraucht als ohne Telluritzusatz. Die Geschwindigkeit des  $O_2$ -Verbrauchs von wachsenden *Candida albicans*-Zellen mit Glukose als Substrat wurde durch Tellurit stark gehemmt. Der Ökonomische Koeffizient war bei Telluriteinwirkung erheblich vermindert.

### Literatur

1. KAFFKA, A.: Zbl. Bakt. I. Orig. 165, 264, 1956.
2. MARQUARDT, H. und E. BAUTZ: Arch. f. Mikrobiol. 23, 251 (1955).
3. VAN NIEL, C. B. und A. L. COHEN: J. Cell. and Comp. Physiol. 20, 95 (1942).
4. NICKERSON, W. J., W. A. TABER and G. FALCONE: Canad. J. Microbiol. 2, 575 (1956).
5. SMITH, H. G.: J. Gen. Microbiol. 21, 6 (1959).

Priv.-Doz. Dr. Dr. A. KAFFKA,  
Hygien. Institut,  
2 Hamburg 36,  
Gorch-Fock-Wall 15/17