

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS
tézisei

Antifungális szerek *in vitro* és *in vivo*
hatékonyságának a vizsgálata *Candida* fajok ellen



DEBRECENI
EGYETEM

Dr. Majoros László

Debrecen, 2025

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	3
Előszó.....	4
Irodalmi háttér.....	5
Célkitűzések.....	11
Anyagok és módszerek.....	12
Eredmények.....	15
Megbeszélés.....	25
Eredmények összefoglalása.....	32
Új megállapítások.....	35
Köszönetnyilvánítás.....	36
A disszertáció alapjául szolgáló közlemények.....	37
Tudományometriai adatok.....	40

Rövidítések jegyzéke

AMB	Amfotericin B
ANF	Anidulafungin
AUC	Area under the concentration curve (A koncentráció görbe alatti területe)
BMD	Broth microdilution (mikro leves-hígítós módszer)
CAS	Kaszpofungin
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFU	Colony forming unit
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
C_{max}	A gyógyszer csúskoncentrációja
FKS	β -1,3-D-glükán-szintetáz enzimkomplex
FLU	Flukonazol
IDSA	Infectious Diseases Society of America
k -érték	Ölési ráta érték
MCF	Mikafungin
MFC	Minimal fungicidal concentration
MIC	Minimal inhibitory concentration
MIC ₅₀	Az a gyógyszerkoncentráció, amely a gomba izolátumok 50%-át gátolja
MIC ₉₀	Az a gyógyszerkoncentráció, amely a gomba izolátumok 90%-át gátolja
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
NIK	Nikkomicin Z
PAS	Perjódsav-Schiff (Periodic Acid Schiff)
PG	Paradoxical growth (Paradox növekedés)
POSA	Posakonazol
PTAH	Foszfor-volfrám savas hematoxin
RZF	Rezafungin
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Institute Medium
TE	Trailing effect (MIC érték feletti növekedés)
50% szérum	RPMI-1640+50% humán szérum

Előszó

Az életet veszélyeztető gombafertőzések 70-80%-ért a különböző *Candida*, 10-20%-ért az *Aspergillus*, míg a maradék 10%-ért egyéb gombafajok a felelősek. Legtöbbször súlyos alapbetegségben szenvedő betegeknél diagnosztizálunk invazív *Candida* fertőzéseket, amelyeknek mortalitása fajtól függően 20-70% is lehet. A mortalitás annak ellenére ilyen magas, hogy egyre modernebb diagnosztikai módszerek állnak rendelkezésre, illetve az utóbbi két évtizedben az echinocandinok és új triazolok is rendelkezésre állnak a klinikumban.

Munkánk során meghatároztuk az akkoriban legújabb (2000-es évek közepe) triazol, a posakonazol *in vitro* aktivitását a legfontosabb *Candida* fajok ellen. A régi és új típusú antifungális szerek hatékonyságát *C. dubliniensis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* és *C. auris* fajok ellen szintén megvizsgáltuk.

Kísérleteink nagyobb részében az echinocandinok, főleg a kaszpopungin *in vitro* és *in vivo* hatékonyságát vizsgáltuk a klinikailag releváns *Candida* fajok ellen. A szerzett rezisztencia mechanizmussal nem rendelkező („ún. vad típusú”) izolátumok esetében azt vizsgáltuk, hogy milyen tényezők szabnak határt az első generációs echinocandinok (anidulafungin, kaszpopungin és a mikafungin) hatékonyságának. Ezért az *in vivo* viszonyokat jobban reprezentáló, 50% szérumot tartalmazó RPMI-1640 tápközegben is meghatároztuk a nagy fehérjekötődéssel rendelkező kaszpopungin *in vitro* aktivitását számos *Candida* faj ellen, beleértve a paradox növekedést mutató *Candida* fajokat is. Választ kerestünk arra, hogy megjósolható-e a kaszpopungin *in vivo* hatékonysága az 50% szérumban és az RPMI-1640-ben mért ölési ráta értékek alapján. Meghatároztuk a klinikai kipróbálás harmadik fázisában lévő rezafungin *in vitro* hatékonyságát gyakrabban és ritkábban előforduló *Candida* fajok ellen. Végezetül, neutropéniás egérmodellben összehasonlítottuk a *C. auris* négy fő kládjának a virulenciáját a letalitás és a szervi perzisztencia alapján, illetve ugyanezen izolátumok ellen megvizsgáltuk az amfotericin B *in vitro* és *in vivo* hatékonyságát.

A dolgozatban végig a klinikumban jól ismert régebbi nevezéktant használtam.

Irodalmi háttér

Candida fertőzések epidemiológiája

Az életet veszélyeztető invazív gombafertőzések gyakorisága az utóbbi 30-40 évben jelentős növekedést mutat, amelyeknek időben történő felismerése és a hatékony kezelés beindítása alapvető a betegek gyógyulása szempontjából. A *Candida* fajok által okozott invazív fertőzések jelentőségére Wisplinghoff és munkatársai 2004-ben megjelent közleménye hívta fel a figyelmet. Eredményeik alapján a negyedik leggyakrabban izolált kórokozóként (9%) a különböző *Candida* fajok léptek elő. A közelmúltban nagyon hasonló eredményeket publikáltak Dél-Koreából, ahol a *Candida* fajok az intenzív terápiás osztályokon ápolott betegek között a második leggyakoribb kórokozók voltak. Számos olyan kórokozót is izoláltak, amelyeket az utóbbi 20-30 évben fedeztek fel (pl. *C. auris*) vagy különítettek el más fajtól (pl. *C. dubliniensis*, *C. orthopsilosis*, vagy *C. metapsilosis*).

Az invazív *Candida* fertőzések jelentős költségnövekedést okoznak az egészségügyi intézményekben, megnövelve a kórházi ellátás időtartamát miközben a mortalitás még mindig jelentős. A leggyakoribb *Candida* faj még mindig a *C. albicans*, de a nem-*C. albicans* fajok okozta invazív fertőzések száma az utóbbi három évtizedben folyamatosan növekszik. A nem-*C. albicans* fajok előretörésében a flukonazolnak (FLU) az 1991-es, illetve a kaszporfunginnak (CAS) a 10 évvel későbbi bevezetése a terápiás gyakorlatba egyaránt szerepet játszanak.

Párizsi és Párizs környéki intenzív terápiás és nem-intenzív terápiás osztályokon a kandidémia gyakorisága szignifikáns mértékben növekedett. Az intenzív terápiás osztályokon a FLU terápia a 2003-as évi 64,8%-ról, 2009-re 38,8%-ra csökkent, miközben az echinocandin használat a 2003-as évi 4,6%-ról, 48,5%-ra nőtt 2009-re. Mindeközben a halálozás a 2003-as évi 42,7%-ról 53,9%-ra nőtt. Az intenzív terápiás osztályokon a fajspecifikus halálozás 50-50% volt *C. albicans*, *C. glabrata* és *C. tropicalis*, 70% *C. krusei* és *C. kefyr*, míg 30% *C. parapsilosis* esetén. A szerzők nem tudtak magyarázatot adni ezekre a riasztó adatokra, hiszen az antifungális szerek iránti rezisztencia nagyon alacsony volt.

A magyarországi epidemiológiai helyzetről eddig kevés publikáció jelent meg. Munkacsoportunk legutóbbi közleménye alapján a 2020-2023 közötti időszakban a Debreceni Egyetem klinikáin 149 betegnél diagnosztizáltunk kandidémiát, és a nem-*albicans Candida* fajok előretörése volt megfigyelhető. A fajspecifikus halálozás a következőképpen alakult: 62% *C. glabrata*, 51% *C. albicans*, 48% *C. parapsilosis sensu stricto*, 47% *C. tropicalis* és 38% *C. krusei* esetén. A ritka fajok esetén a halálozás 73% volt. Bár amfotericin B (AMB)

terápiát nem kaptak a betegek, a terápia még mindig inkább a FLU volt (53% FLU versus 31% echinocandin).

Candida orthopsilosis, Candida metapsilosis és a Candida auris

A *C. albicans*, a *C. glabrata*, a *C. tropicalis*, a *C. parapsilosis* és a *C. krusei* az invazív *Candida* fertőzések 90-95%-ért felelnek és jól ismertek a rezisztencia viszonyaik is a különféle antifungális szerek iránt. A ritkábban előforduló *Candida* fajok jelentősége az azonosítás nehézsége illetve a kevésbé ismert rezisztencia viszonyaik miatt fontos.

Molekuláris biológiai módszerek segítettek Tavanti és munkatársainak (2005) a korábban I., II., és III.-dik csoportba sorolt *C. parapsilosis sensu lato* tanulmányozásában. Az első csoport maradt a szoros értelemben vett *C. parapsilosis (C. parapsilosis sensu stricto)*. Emellett további két új fajt vezettek be: a *C. orthopsilosis*-t (korábbi II. csoport) és a *C. metapsilosis*-t (korábbi III. csoport). A *C. parapsilosis sensu stricto* a domináns faj, míg a *C. orthopsilosis* és a *C. metapsilosis* a kandidémiák kb. 1-1 %-ért felelnek. *In vitro* a „*psilosis*” csoport tagjainak különböző az antifungális szerekkel szembeni érzékenysége. A MIC értékek közötti különbségeknek a klinikai jelentősége korábban nem volt ismert.

A *C. auris* a WHO által a közelmúltban (2022) közölt lista alapján napjaink elsődleges fontosságú kórokozójának számít a *C. albicans*, a *Cryptococcus neoformans* és az *A. fumigatus* mellett. A *C. auris* világszerte egyre gyakrabban izolálható, tipikusan nozokomiális patogén, amely a kórházi környezetben túlél és nehezen megszüntethető kórházi járványokat képes okozni. Klinikai mintákból pontosan csak molekuláris biológiai és MALDI-TOF (megfelelő adatbázissal) módszerekkel azonosítható. Teljes genom analízissel jelenleg 6 kládját ismerjük (Dél-Ázsiai, Kelet-Ázsiai, Dél-Afrikai, Dél-Amerikai, Iráni és Szingapúri). Az egyes kládok genetikailag jelentősen különböznek egymástól, de egy adott földrajzi területen a törzsek genetikailag hasonlóak. A *C. auris* virulenciájáról emlős állatmodellben korábban kevés adat állt rendelkezésre. Intenzív terápiás osztályokon a *C. auris* által okozott halálozás figyelembe véve a COVID-19 pandémiát is, az adekvát terápia ellenére 60-80%-os. Jelenleg az echinocandinok az elsődlegesen választandó antifungális szerek invazív *C. auris* fertőzés esetén, bár penetrációjuk a húgyutakba, a likvorba és az üvegtestbe minimális.

Antifungális szerek invazív *Candida* fertőzések kezelésére

Amfotericin B

A poliének csoportjába tartozó AMB a membrán ergoszteroljaihoz kötődve csatornát képez a membránban; az ionok kiáramlása és a víz beáramlása miatt a hatás *in vitro fungicid*. *In vitro* és *in vivo* egyaránt hatásos a sarjadzó-, a fonalas- és a dimorf gombák többsége ellen. Az AMB klinikai hatékonysága a C_{max}/MIC (a szérumban mért csúcskoncentráció/MIC érték) farmakokinetikai-farmakodinamikai paraméterekkel mutat szoros összefüggést. Az AMB terápia során kifejlődő rezisztencia ritka.

Triazol típusú antifungális szerek

A szisztémás fertőzések kezelésére használt triazolok a citokróm P-450-dependens lanoszterol-14- α -demetiláz enzim gátlása révén gátolják a lanoszterol-ergoszterol átalakulást. A triazolok klinikai hatékonysága az AUC/MIC (area under the concentration curve, azaz a koncentráció görbe alatti területe/MIC érték) farmakokinetikai-farmakodinamikai paraméterekkel mutat jó korrelációt. A FLU a leggyakrabban alkalmazott antifungális szer, amelyet a profilaxisban is széleskörűen használnak. Hatásos a *Candida* fajok jó része és *C. neoformans* ellen is. A FLU 12%-ban kötődik a szérumban lévő fehérjékhez és lineáris farmakokinetikát mutat. Alkalmazhatóságát szűk spektruma és fungisztatikus hatása korlátozza.

A posakonazol (POSA) a szérumban lévő fehérjékhez 99%-ban kötődik. Nemcsak a *Candida* és az *Aspergillus* fajok ellen mutat kiváló *in vitro* aktivitást, de a járomspórás gombák jó része ellen is. *In vitro* a minimális fungicid koncentráció (MFC) meghatározása során számos *Candida* és *Aspergillus* faj ellen fungicid aktivitást mutatott. Munkacsoportunk 2005-ben kapcsolódott be azokba a vizsgálatokba, amelyek a POSA *in vitro* hatékonyságát vizsgálták a klinikailag fontos *Candida* fajok ellen. A POSA *in vitro* farmakodinámiájára vonatkozó adatok egyáltalán nem álltak rendelkezésre a *Candida* fajok iránt.

Echinocandinok

Az echinocandinok ciklikus lipopeptidek, melyek nem-kompetitív módon gátolják a β -1,3-D-glükán-szintáz enzimkomplexet. Jelenleg négy echinocandin kapható a kereskedelmi forgalomban. Csak intravénásan alkalmazhatók, az első generációs echinocandinoknál [anidulafungin (ANF), CAS és mikafungin (MCF)] a napi egyszeri adagolás az ajánlott. A közelmúltban engedélyezett rezafungin (RZF) (korábban CD101) az ANF származékának

tekinthető. *In vitro*, az echinocandinok a legtöbb *Candida* faj ellen fungicid, míg az *Aspergillus* fajok ellen fungisztatikus hatást mutatnak.

Az echinocandinok hatásosak invazív *Candida* fertőzések kezelésére és az AMB-vel összehasonlítva jóval kevesebb mellékhatással kell számolni. Az echinocandinok klinikai hatékonysága az AUC/MIC, illetve kisebb mértékben a C_{\max} /MIC farmakodinámiás paraméterekkel áll szoros kapcsolatban. A RZF az első generációs echinocandinokhoz képest 2-3-szoros C_{\max} , illetve 8-10-szeres AUC₀₋₂₄ értékeket eredményez. A RZF-t ezért elégséges hetente egyszer adagolni.

Az echinocandinok iránti csökkent érzékenység vagy rezisztencia oka az FKS1 gén mutációja, ami aminosav szubsztitúcióhoz vezet az Fks1p alegység két, úgynevezett forró területén, a „hot-spot” (HS) régióban. A „psilosis” komplex mindhárom tagja esetén (*C. parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis*) az Fks1p fehérje 660. pozíciójában bekövetkező prolin-alanin természetes aminosav csere a csökkent érzékenység oka.

Az echinocandin terápia során kialakuló másodlagos rezisztencia leggyakrabban *C. glabrata* esetén fordul elő, amelynél az egyidejű FLU rezisztencia aránya is magas. Mivel az echinocandinok iránt rezisztens klinikai izolátumoknak a száma világszerte még mindig nagyon alacsony, ezért az echinocandin rezisztencia semmiképpen sem magyarázza az invazív *Candida* fertőzéseknel tapasztalható, még mindig igen magas halálozást.

A nagy dózisú echinocandin terápia és a paradox növekedés

Az invazív *Candida* fertőzések okozta magas mortalitás csökkentésére az egyik lehetséges módszer a relatíve kevés mellékhatással rendelkező echinocandinok napi dózisének az emelése. Több közlemény alapján a nagyobb napi dózisú CAS vagy MCF terápiák nem voltak szignifikánsan jobbak a standard napi dózisú CAS vagy MCF terápiáknál. Sőt, a *C. tropicalis* okozta invazív *Candida* fertőzések kezelésénél a klinikai siker a napi 150 mg-os CAS terápiánál kisebb volt (56,3%), mint a standard napi dózisú (70/50 mg) terápia esetén (72,2). Ennek egyik lehetséges magyarázata a szerzők szerint a paradox növekedés (paradoxical growth=PG) lehetett.

A PG-t először CAS MIC meghatározásnál észlelték a *C. albicans* elleni standard, mikro leveshígítós (Broth microdilution=BMD) módszer alkalmazásánál. A PG a MIC érték felett a táplemez üregeiben egy vizuálisan jól látható növekedés. Ilyenkor 2-3, kettes léptékű hígítási fokkal a MIC érték felett teljesen tiszta üregeket látunk, majd a következő üregektől

kezdve jól látható erős növekedést tapasztalunk. Nem tévesztendő össze a trailing hatással (Trailing Effect=TE), ami a MIC érték feletti üregekben megfigyelhető, a kontrollhoz képest gyengébb, de folyamatos növekedés és fungisztikus szerekre jellemző. A PG *in vivo* készítheti a kórokozó eliminálását, így lehetőség nyílik arra, hogy a továbbiakban FKS mutáció révén a gomba valódi, stabil rezisztenciát fejlesszen ki az echinocandinok ellen. Munkacsoportunk abból kiindulva, hogy nagy CAS koncentrációkon élő gombasejteket lehet találni, az MFC és az idő-ölés görbék felvételével kezdte tanulmányozni a PG-t.

A szérumban echinocandin farmakodinámiára kifejtett hatása

Mind a négy echinocandin nagymértékben kötődik a szérumban lévő fehérjékhez, ami jelentősen megváltoztatja az echinocandinok *in vitro* és *in vivo* aktivitását. A fehérjékhez kötődés mértéke CAS-nál 96,5%, MCF-nál 99,8%, míg ANF és RZF esetében 99%. Ez azt jelenti, hogy a szérumban lévő gyógyszer mennyiségnek csupán 0,2-3,5% lesz szabad, azaz biológiailag aktív formában. A CAS-nak, a MCF-nak és az ANF-nak a szérumban mért MIC értékei a *Candida* fajok ellen nagyon közel vannak egymáshoz és a szélső értékek is szűkebb tartományban vannak, mint az RPMI-1640-ben mért MIC értékek. A szérumban tehát kiegyenlíti az echinocandinoknak az RPMI-1640-ben mért különböző MIC értékeit, így a három echinocandinál az RPMI-1640-ben tapasztalt különböző MIC értékeknek, ugyanazon izolátum ellen nincs jelentősége.

A szérumban végzett *in vitro* vizsgálatok segíthetnek még pontosabban megérteni az echinocandinok hatásmechanizmusát, így az *in vivo* hatékonyság még pontosabban becsülhető.

Az első generációs echinocandinok klinikai hatékonysága

A három elsőgenerációs, fungicid hatású echinocandin bevezetése a terápiás gyakorlatba nagy reményekkel kecsegtetett, számos randomizált klinikai vizsgálattal. A CAS a klinikai vizsgálatokban legalább olyan hatásosnak bizonyult mint az AMB. Hasonlóan, invazív *Candida* fertőzések kezelésére a MCF is legalább olyan hatékony volt (kevesebb mellékhatással) mint az AMB, illetve az ANF klinikailag hatékonyabb volt a FLU-nál.

Bretagne és munkatársai a 2004-2017 közötti időszakban elemezték a Párizs környéki kórházakban a *Candida* fajok epidemiológiáját, a rizikófaktorokat és az antifungális szerekek használatának a hatását a mortalitásra. A vizsgált időszak alatt a FLU használat drasztikusan csökkent (a 2004-es évi 64,4%-ról, 27,7%-ra a 2017-es évre), nőtt az echinocandin (döntően a CAS) felhasználás (a 2004 évi 11,6%-ról, 57,8%-ra a 2017-es évre), miközben a mortalitás, a

kórokozók epidemiológiája és az antifungális rezisztencia változatlan maradt. Az antifungális kezelések a *C. parapsilosis sensu stricto* kivételével szignifikánsan fokozták a betegek túlélését, illetve a *C. krusei* okozta kandidémia esetén volt a legnagyobb rizikó a halálra. Az elsődlegesen ajánlott antifungális szer (FLU a vizsgálati periódus elején, majd később az echinocandinok) típusa nem volt hatással a túlélésre, sőt az echinocandin kezelés a FLU-al összehasonlítva hátrányosan befolyásolta a betegség végekimenetelét (P=0,041!). Ellentétben az USA kórházaival, nem izoláltak gyakrabban multirezisztens *C. glabrata* és FLU rezisztens *C. parapsilosis* törzseket sem. Rekurrens kandidémia esetén szignifikáns mértékben csökkent a *C. albicans*, illetve nőtt a *C. parapsilosis* és a *C. krusei* gyakorisága. A 30 napos mortalitás nagyobb volt ha a beteget intenzív terápiás osztályokon kezelték, ha a beteg 70 év feletti volt, daganatos alapbetegségek esetén, ha a beteg az első 48 órában nem kapott antifungális szert és echinocandin kezelést kapott (a FLU-val összehasonlítva). Ezek az adatok azt jelzik, hogy az echinocandinok annak ellenére, hogy széles spektrumú, fungicid hatású szerek nem elégségesek az invazív *Candida* fertőzések kimenetelét jelentősen javítani.

Célkitűzések

1. Meghatároztuk a posakonazol *in vitro* aktivitását a klinikailag jelentős *Candida* fajok ellen a minimális gátló koncentráció, a minimális fungicid koncentráció és az idő-ölés görbék segítségével.
2. Összehasonlítottuk a rezafungin, az anidulafungin, a kaszpopungin, a mikafungin, a flukonazol és az amfotericin B *in vitro* aktivitását a standard mikrodilúciós módszerrel meghatározott MIC értékek alapján a klinikailag fontos *Candida* fajok és *Saccharomyces cerevisiae* ellen.
3. A standard mikrodilúciós módszerrel meghatározott MIC értékek és MIC teszt-sztrip segítségével meghatároztuk rezafungin, anidulafungin, kaszpopungin és mikafungin esetén a paradox növekedés gyakoriságát 13 *Candida* faj 365 izolátumát vizsgálva.
4. A minimális fungicid koncentrációk és az idő-ölés görbék felhasználásával tanulmányoztuk a kaszpopungin paradox módon csökkent *in vitro* aktivitását *Candida tropicalis* klinikai izolátumok ellen.
5. Az idő-ölés görbék segítségével megvizsgáltuk a kitin szintézisét gátló nikkomicin Z és a humán szérum hatását a kaszpopungin paradox módon csökkent ölü aktivitására hét *Candida* faj esetén.
6. Az idő-ölés görbék és az ölési ráta értékek segítségével meghatároztuk a nikkomicin Z hatását az anidulafungin és a mikafungin ölési aktivitására a *Candida auris* négy fő kládjá esetén
7. *Candida glabrata*, *Candida krusei* és *Candida inconspicua* fajok esetén korrelációt kerestünk a kaszpopungin RPMI-1640 és RPMI-1640+50% szérum tápközegekben mért ölési aktivitása és az *in vivo* hatékonyság között.
8. Neutropéniás egérmodellben megvizsgáltuk a flukonazol, a kaszpopungin és az amfotericin B hatékonyságát a „*psilosis*” csoportba tartozó gombák ellen.
9. Tartósan neutropéniás egerekben összehasonlítottuk a *Candida auris* négy fő kládjának és a *Candida albicans* virulenciáját a letalitás, a szervi perzisztencia (szív, máj, vesék és lép) és kórszövettani vizsgálatok alapján.
10. Megvizsgáltuk az amfotericin B *in vitro* aktivitását a *Candida auris* négy fő kládjába tartozó klinikai és környezeti izolátumok ellen, majd neutropéniás egérmodellben a napi 1 mg/kg amfotericin B hatékonyságát határoztuk meg a letalitás, a szervi perzisztencia (agy, szív és vesék) és a kórszövettani vizsgálatok alapján.

Anyagok és módszerek

Az értekezésben szereplő összes kísérletet a Debreceni Egyetem, Orvosi Mikrobiológiai Intézetében végeztük el.

Antifungális szerek *in vitro* hatékonysága

A felhasznált sarjadzó gombákat 2002-2018 között klinikai mintákból izoláltuk. A fajszintű azonosítást a MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight) tömegspektrométer segítségével végeztük el. Az egyes *C. auris* izolátumok kládszintű besorolásához 28S rRNS és/vagy ITS1 régiókra irányuló szekvenálás történt. A 2023-as évre a *C. auris* izolátumok Teljes Genom Szekvenálása is elkészült.

Kísérleteinkben a következő antifungális szereket használtuk: AMB (Sigma), nikkomicin Z (NIK) (Sigma), FLU (Pfizer), POSA (Schering-Plough), ANI (Molcan Corporation), CAS (Merck és Molcan Corporation), MCF (Molcan Corporation) és RZF (Cidara Therapeutics).

A MIC érték meghatározását kísérleteink döntő részében a standard mikrodilúciós (BMD) módszer segítségével végeztük el, 96 üregű ELISA-táplemezt alkalmazva, 200 µl végtérfogattal, RPMI-1640 tápközegben. A MIC értékek meghatározásához szöveti tenyésztésre alkalmas táplemezt használtunk. Ugyanezen táplemezeket használtuk az MFC meghatározásához is. A nagy fehérje kötődéssel rendelkező CAS esetén, humán szérummal (Sigma, Budapest) kiegészített RPMI-1640 tápközeget is alkalmaztunk (50% szérum). A PG kimutatására ANF és MCF MIC-teszt sztripet is használtunk. A táplemezeket felhasználásig - 70 °C-on tároltuk. Az érzékenységi eredmények kategorizálását mindig a kísérletek idején érvényes NCCLS/CLSI ajánlás alapján végeztük.

Az AMB MIC értéke az antifungális szer azon legkisebb koncentrációja volt, amely a gombakontrollhoz képest nem okozott látható növekedést (*teljes gátlás*), míg a többi gyógyszer MIC értéke az a koncentráció volt, amely a kontrollhoz képest legalább 50 %-os növekedés csökkenést mutatott (*prominens gátlás*)

Az MFC meghatározásánál a kezdő inokulum mennyisége POSA esetén $\sim 10^4$ CFU/mL, míg CAS esetén $\sim 10^5$ CFU/mL volt. Az MFC-nek a gyógyszernek azt a koncentrációját tekintettük, ahol a sarjadzó gombáknak legalább 99,9 %-ka elpusztult.

Az idő-ölés kísérleteket RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben végeztük, és a szérumban maximálisan elérhető koncentrációkat is vizsgáltuk. Fungicid hatásúnak tekintettük a

gyógyszert, ha az életképes sejtek számát a kiindulási sejtszámhoz képest legalább 99,9 %-kal (≥ 3 log) csökkentette.

Az antifungális szerek ölési kinetikáját az $N_t = N_0 \times e^{-kt}$, összefüggés alapján számoltuk ki, ahol a N_t az élő sejtek száma adott időpontban, az N_0 a kísérlet kezdetén mért élő sejtszám, a k az ölési ráta, a t pedig az inkubációs idő. Pozitív k érték a gombasejtek ölését, míg a negatív k érték a gombasejtek növekedését jelenti. A különböző izolátumok és koncentrációk közötti eltéréseket a Tukey-féle teszttel kiegészített egyszempontos varianciaanalízissel (one-way ANOVA) vizsgáltuk mindkét tápközegben. Ugyanazon antifungális szer koncentrációk különböző teszközegekben kapott értékeinek összehasonlítását a Student-féle T-próbával végeztük. Szignifikánsnak tekintettük az eredményeket $p < 0,05$ érték esetén.

Antifungális szerek alkalmazása kombinációban

A paradox növekedés vizsgálatánál arra voltunk kíváncsiak, hogy a 16-32 mg/L echinocandin koncentrációnál a több *Candida* faj esetén megfigyelhető PG-re, milyen hatással van a NIK. A vizsgálatokat az idő-ölés görbék segítségével végeztük. Az echinocandinok és a NIK kombinációja szinergista volt, ha legalább 2 nagyságrenddel (100-ad részére) csökkentette a gombasejtek számát az egyedül alkalmazott, a hatásosabb szer által kifejtett öléshez képest. Ha a csíraszám csökkenés kisebb mértékű volt, akkor additív (indifferensnek) volt tekinthető a kombináció..

Antifungális szerek in vivo hatékonysága

A kísérletekben BALB/c egereket alkalmaztunk (Charles River Laboratories), melyeket a „Laboratóriumi Állatok Alkalmazása és Gondozása” című útmutatóban leírtak szerint tartottunk. Az *in vivo* kísérletek engedély számai: 12/2008 és 12/2014 DE MÁB. A vizsgált csoportokban 7-11 egeret használtunk. Az egerek *tartós* vagy *átmenetileg neutropéniás* állapotát ciklofoszfamid (Endoxan, Egyetemi Gyógyszertár, Debrecen) intraperitoneális adagolásával értük el.

Az egereket a laterális farokvénán keresztül fertőztük a megfelelő koncentrációjú gombaszuszpenzióval (200 μ L gombaszuszpenzió/egér). Szervi perzisztencia kísérleteinkben olyan dózist alkalmaztunk, hogy elhullás ne legyen a kontroll állatok között, de a vizsgált szerveikből nagy legyen a kitenyészett gombasejtek száma.

Az egereket a fertőzést követően 24 órával a megfelelő antifungális szerekkel intraperitoneálisan kezdtük kezelni. A gyógyszereket 0,5 ml térfogatban adagoltuk öt napon keresztül. A kontroll csoportok 0,5 mL steril fiziológiás sóoldatot kaptak.

Szervtenyésztés

A kontroll és a kezelt egereket cervikális diszlokációval leöltük, majd felboncoltuk. A belső szerveket eltávolítottuk majd steril dörzscsészében homogenizáltuk. A homogenizátumhoz 1 mL steril fiziológiás sóoldatot adtunk, majd 1:10-es alapú hígítási sorozatot készítettünk. A kimutatás alsó határa 50 sejt/vesék, illetve 50 sejt/szövet (gramm) voltak.

Vizelet gyűjtése

A *C. auris* által intravénásan fertőzött egerektől a letalitási kísérletek során, a fertőzés utáni negyedik napon (kétnapi AMB kezelés után) vizelet mintát gyűjtöttünk az AMB kezelt illetve kontroll egerektől (6-6 egér). Az AMB kezelt illetve kontroll csoportokból kitenyészett gombák számának az összehasonlítását a Student-féle T-próbával végeztük.

Statisztikai elemzés

A letalitási kísérletekben a Kaplan-Meier görbék felvétele után a statisztikai elemzést log-rank teszttel végeztük. A táptalajon kitenyészett gombák statisztikai vizsgálatához Dunn féle post-hoc teszttel kiegészített Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztunk (GraphPad Prism 4.03, Windows). Szignifikánsnak tekintettük az eredményt $p < 0,05$ érték esetén.

Szövettani vizsgálat

A *C. auris* által fertőzött egerek veséiből, májaiból, lépeiből, szíveiből illetve a nagy-és kisagyaikból hisztopatológiai vizsgálatokat végeztünk. Minden szervből haematoxylin & eosin és PAS festés (Perjódsvav-Schiff) festés készült. Szív esetén Mallory-féle *foszfor-volfrám savas hematoxilin*- (PTAH) festést is alkalmaztunk.

Eredmények

Posakonazol MIC értékek meghatározása mikro-leveshígítási módszerrel

Kísérleteinkben a DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézetében a 2002-2005-ig terjedő időszakban izolált *Candida* fajok 209 db ((32 db *C. albicans*, 30 db *C. glabrata*, 21 db *C. tropicalis*, 29 db *C. krusei*, 28 db *C. parapsilosis*, 50 db *C. inconspicua*, 13 db *C. kefyr* és 5 db *C. famata*) izolátumával dolgoztunk. Az izolátumok nagy része vérmintákból származott. A kísérleteink során vizsgált nyolc *Candida* faj POSA MIC értékeinek geometriai átlaga 0,04 és 0,71 mg/L között volt.

POSA ölé aktivitásának vizsgálata az MFC és az idő-ölés görbék alapján

A POSA az MFC értékek alapján alacsony koncentrációkon (≤ 2 mg/L) is fungicid hatásának bizonyult minden *C. inconspicua* és *C. lusitaniae* izolátummal szemben, valamint a *C. krusei* (24/29, 83%), a *C. parapsilosis* (20/28, 71%), illetve a *C. kefyr* (9/13, 69%) izolátumok többsége ellen is. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* és *C. guilliermondii* izolátumok esetében a POSA fungisztikus hatású volt.

Az idő-ölés görbék megerősítették a POSA fungicid hatását a *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr* és a *C. inconspicua* klinikai izolátumok ellen. A POSA a *C. albicans*, a *C. tropicalis* és a *C. guilliermondii* izolátumok növekedését alacsony MIC értékeken gátolta, de a *C. glabrata* izolátumok ellen csak gyenge fungisztikus hatást mutatott. Bár a MFC értékek alapján több *C. parapsilosis* izolátum ellen a POSA fungicid hatású volt (MFC: 0,5- \rightarrow 8 mg/L), az idő-ölés görbék ezt egyetlen esetben sem igazolták.

Rezafungin, anidulafungin, kaszpfungin, mikafungin, flukonazol és amfotericin B *in vitro* aktivitása *Candida* fajok és *Saccharomyces cerevisiae* ellen.

A RZF már alacsony ($\leq 0,12$ mg/L) koncentráción gátolta a *C. albicans*, a *C. dubliniensis*, a *C. africana* illetve *C. tropicalis* fajokat. A RZF MIC értékek hasonlóak voltak az ANF és a MCF esetén kapott MIC értékekhez, de CAS iránt csak a *C. albicans* izolátumok 70,4%-ka volt érzékeny. A RZF *in vitro* aktivitása hasonló volt a *C. glabrata* izolátumok ellen (MIC₉₀=0,12 mg/L) mint az ANF és a MCF aktivitása (MIC₉₀=0,06 mg/L, mindkét echinocandin esetén). Az izolátumok 100%-ka érzékeny volt ANF és MCF iránt, de CAS esetén az érzékenység csak 4,6% volt. A MIC értékek eloszlása és az érzékenység hasonló volt a négy echinocandin esetén a *C. krusei* illetve a *C. inconspicua* izolátumok ellen, és az összes *C. krusei* izolátum

érzékeny volt a RZF iránt. Az echinocandinok aktivitása a „*psilosis*” csoport és a *C. guilliermondii* ellen hasonló volt.

A RZF MIC_{50/90} értékek *C. kefyr*-nél 0,06/0,12, míg *C. lusitaniae* esetén 0,12/0,25 mg/L voltak. A RZF *in vitro* aktivitása *S. cerevisiae* ellen (MIC_{50/90}:0,25/0,5 mg/L) hasonló volt a másik három echinocandinhoz. A *C. auris* izolátumok mindegyikét ≤0,25 mg/L RZF már gátolta. A RZF MIC₉₀ érték *C. fabianii* esetén 0,12 mg/L, míg a *C. sojae*, a *C. lipolytica* és a *C. pulcherrima* klinikai izolátumoknál 0,06 mg/L voltak. Az ANF és MCF MIC₉₀ értékek *C. fabianii*, *C. sojae* és *C. pulcherrima* esetén hasonlóak voltak a RZF-hoz. A MCF MIC értékek *C. lipolytica* esetén magasabbak voltak a RZF-hoz és az ANF-hoz képest.

C. albicans és *C. glabrata* fajoknál a FLU rezisztencia alacsony volt (5,6% *C. albicans* illetve 4,9% *C. glabrata* esetén). Két (3,4%) *C. parapsilosis sensu stricto* izolátum dóziszfüggően volt érzékeny a FLU iránt. A vizsgált 689 izolátum AMB MIC értékei alacsonyak voltak (≤1 mg/L), kivéve két *C. albicans*, három *C. glabrata* és szintén három *C. krusei* izolátumot (mindegyik esetben a MIC értékek 2 mg/L voltak).

Paradox növekedés vizsgálata a MIC értékek alapján a standard mikro leves-hígítási módszer és MIC-teszt sztrip alapján.

Az izolátumok előző kísérletünkből származtak. A négy echinocandint 0,06-32 mg/L tartományban vizsgáltuk. A PG és a TE gyakorisága 24 és 48 óra után echinocandin- és fajspecifikus volt. Negyvennyolc óra után a négy echinocandin közül leggyakrabban a CAS-al tapasztaltuk a PG jelenségét *C. albicans*, *C. tropicalis* és *C. parapsilosis sensu stricto* fajok esetén. RZF-nál PG-t csak a *C. albicans* (5%) és a *C. tropicalis* (12%) klinikai izolátumoknál figyeltünk meg. *C. tropicalis*-nál a MCF gyakran indukált (62%) PG-ét. A CAS, a MCF és az ANF *C. inconspicua* esetén 39-77%-ban eredményeztek PG-t. *C. krusei*-nél egyik echinocandin sem, míg a *C. glabrata*-nál csak az ANF (24%) indukált PG-t.

C. albicans és *C. tropicalis* izolátumoknál ANF, CAS és MCF esetén ha a PG 24 és 48 óra után egyaránt észlelhető volt, akkor 48 óra múlva a PG már alacsonyabb koncentrációkon kezdődött (1-2 mg/L), mint 24 óra (16-32 mg/L) után. A 24 óra után tapasztalható PG esetén szintén *C. albicans* és *C. tropicalis* fajoknál 48 óra után nagyon gyakran TE volt megfigyelhető, mind a négy echinocandinnál. A jelenséget CAS-nál *C. guilliermondii* és *C. inconspicua* fajoknál is észleltük.

A négy echinocandin *C. auris*-nál nem eredményezett PG-t, de 50-100%-ban figyeltük meg a TE-t. A TE gyakori volt CAS esetén *C. tropicalis* (42%) és *C. guilliermondii* (75%), illetve mind a 4 echinocandinnál *C. dubliniensis* (55-68%) izolátumoknál.

A MIC vizsgálatok során kapott szokatlan növekedés (PG plusz TE) a négy echinocandinnal a következő volt a vizsgált 13 *Candida* faj 365 izolátumánál: RZF (3,1+14,58=17,68%) < MCF (15,8+10=25,8%) < ANF (21+14,86=35,86%) < CAS (31,4+16,3=47,7%).

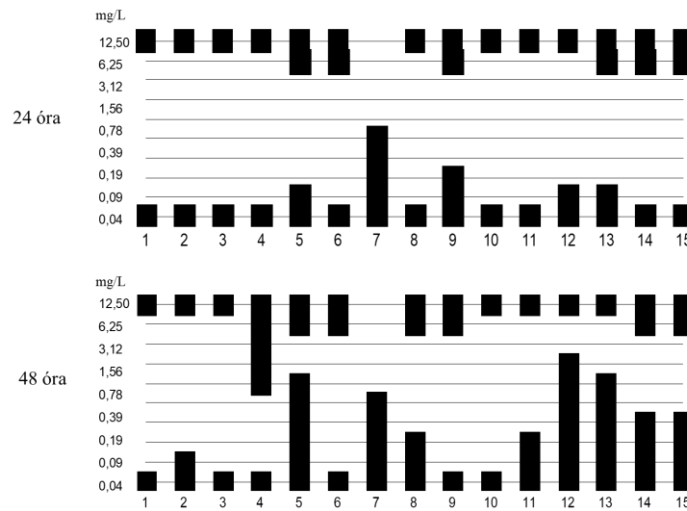
A rutin laboratóriumi munkánkban jelenleg használatos ANF és MCF MIC teszt sztrip-eket használtuk a PG és TE kimutatására. A 10-10 *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* és *C. auris* izolátumok esetén megegyező eredményt kaptunk a BMD-vel kapott eredményekkel. *C. inconspicua* esetén az ellipszis alakú gátlási zónán belül növekedést azonban nem észleltünk.

Paradox növekedés vizsgálata a minimális fungicid koncentráció és az idő-ölés görbék segítségével alapján

Elsőként használtuk az MFC meghatározást a PG kimutatására, ahol az MFC értékeket 24 és 48 óra múlva is meghatároztuk a 15 *C. tropicalis* klinikai izolátum és az ATCC (American Type Culture Collection) 750 tesztörzs esetében (**1. ábra**). A vizsgált koncentráció tartományok 0,024-12,5 mg/L voltak és magasabb ($\sim 10^5$ CFU/mL) kezdő csíraszámokkal dolgoztunk. A 15 klinikai izolátum közül csak egy izolátum (az **1. ábrán** a 7-es számú) nem mutatott növekedést a két legmagasabb koncentráción (MFC=0,78 mg/L). A többi izolátumnál a CAS csökkent ölőképessége 6,25 és 12,5 mg/L esetén 24 és 48 óra múlva jól látható (sötét területek az ábrán).

Az idő-ölés görbék segítségével is sikerült bizonyítani, hogy PG-nél a legnagyobb vizsgált koncentrációkon csökkent ölés figyelhető meg (fungisztikus hatás), míg az alacsonyabb koncentrációkon a hatás fungicid.

1. ábra. Kaszpfungin minimális fungicid koncentrációi 15 *C. tropicalis* klinikai izolátum esetén (1-15) RPMI-1640 tápközegben 24 és 48 óra után. A sötét területek növekedést jeleznek az adott koncentráción.



Nikkomicin Z hatása a kaszpfungin ölési aktivitására

A NIK a kitin szintáz szubsztrátjának, az UDP-N-acetilglükózaminnak a kompetitív analógjaként gátolja a kitinszintézist. A CAS idő-ölés görbéit 0,12-16 mg/L, míg NIK esetén $\geq 0,5 \times \text{MIC}$ értékeken vettük fel. A két szer kombinációjánál a CAS-t 0,12-16 mg/L értékek között vizsgáltuk.

A CAS MIC értékei a *C. albicans*, a *C. dubliniensis*, a *C. tropicalis* és a *C. glabrata* izolátumoknál 0,015-0,06 mg/L között változtak, míg a legmagasabb MIC értékeket a *C. parapsilosis sensu stricto* esetén mértünk (0,5-1 mg/L). Az idő-ölés kísérletekben a NIK a ≤ 4 mg/L MIC értékekkel rendelkező izolátumokkal szemben fungisztatikus hatást mutatott.

A kombinációs kísérletekben a NIK minden esetben helyreállította a nagykoncentrációjú CAS csökkent ölési aktivitását. Szinergizmust egyidejű fungicid hatással egy-egy *C. albicans* és *C. tropicalis*, illetve két-két *C. glabrata* és a *C. parapsilosis* izolátumoknál tapasztaltunk. A többi esetben a két szer kombinációja indifferens volt, mely nagyrészt fungicid hatással párosult. Antagonizmus a CAS és a NIK között nem fordult elő.

Nikkomicin Z hatása az anidulafungin és a mikafungin ölési aktivitására a *Candida auris* négy fő kládja esetén

Tizenöt *C. auris* izolátumot vizsgáltunk a négy fő kládból. A teljes genom szekvenálás során nyert adatok alapján a Dél-Ázsiai klád egy-egy izolátuma hordozta az S639Y és a S639P pontmutációt az FKS1 gén hot-spot 1 régiójában. A Dél-Ázsiai klád harmadik izolátumánál az FKS1 gén hot-spot 2 régiójában sikerült egy pontmutációt azonosítani (R1354H). A szekvenálási adatok alapján a többi izolátum vad-típusúnak volt tekinthető. Megvizsgáltuk, hogy a fix koncentrációban adott NIK (8 mg/L) hogyan befolyásolja az ANF és a MCF ölü aktivitását. A két echinocandin vizsgált koncentrációi 0.25, 1, 8, 16 és 32 mg/L voltak.

Az ANF és MCF MIC értékek az S639Y mutációval rendelkező izolátum kivételével alacsonyabbak voltak, mint a CDC (Centers for Disease Control and Prevention) által javasolt határértékek (≤ 2 mg/L mind a két echinocandin esetén). A MCF MIC értékek azonosak vagy 1-3 hígítási fokkal magasabbak voltak az ANF-al összehasonlítva. Az idő ölés görbék alapján 32 mg/L NIK még az alacsonyabb (2-4 mg/L) MIC értékkel rendelkező izolátumoknál sem volt fungisztikus hatású.

Az ANF és a MCF egyedüli alkalmazása esetén nagyon gyakori volt az átmeneti csíraszám csökkenés után az újránövekedés (re-growth jelenség). Az ANF kombinációja a NIK-vel a vad típusú izolátumoknál nagyon gyakran fungicid (25/60=41,7%), illetve szinergista (22/60=36,7%) hatást eredményezett. Antagonizmust nem észleltünk. Eredményeink nagyon hasonlóak voltak MCF esetén, illetve amikor a MCF-t NIK-el kombináltuk. A MCF kombinációja NIK-el 20%-ban (12/60) fungicid illetve 40%-ban (24/60) szinergista interakciót eredményezett. Antagonizmust a MCF plusz NIK esetén sem észleltünk.

A két prominens mutációval rendelkező izolátumnál a NIK kombinációja az ANF-el és a MCF-al mindig negatív k értékeket eredményezett.

Humán szérum hatása a kaszpfungin ölési aktivitására

Hét *Candida* faj, 11 izolátumánál elvégeztük az idő-ölés görbék felvételét RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben. Az idő-ölés görbék esetén 0,12, 1 és 16 mg/L CAS-t alkalmaztunk.

A *C. albicans*, *C. dubliniensis* és *C. tropicalis* izolátumok CAS MIC értékei 50% humán szérumban 0,12 mg/L voltak, ami 2-8-szoros növekedést jelent az RPMI-1640-hez képest. A *C. glabrata* (MIC=0,5 mg/L), a *C. parapsilosis* (MIC= 8 mg/L) és a *C. orthopsilosis* (1 mg/L)

izolátumoknál a CAS MIC értékek 8-16-szoros emelkedést mutattak. A *C. metapsilosis* izolátum MIC értéke a 4x-esére emelkedett (1 mg/L).

Az idő-ölés kísérletekben a 16 mg/L CAS a *C. albicans* és a *C. tropicalis* izolátumok ellen fungisztatikus hatású volt, míg a 0,12 és 1 mg/L CAS fungicid hatású volt. Ötven százalék humán szérum helyreállította a CAS RPMI-1640-ben tapasztalt csökkent ölképességét a legmagasabb (16 mg/L) koncentráción. Alacsonyabb koncentrációkon a CAS ölképesítő aktivitása csökkent. Egy mg/L CAS a „*psilosis*” csoport egyik tagja esetén sem gátolta a gombák növekedését.

Kaszpofungin *in vitro* és *in vivo* hatékonysága *Candida glabrata*, *Candida krusei* és *Candida inconspicua* izolátumok ellen

A CAS által kifejtett ölés mértékét az ölési ráta (*k*-érték) segítségével határoztuk meg RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben. Ugyanazon izolátumokkal neutropéniás egereket fertőztünk, majd emelkedő dózisú CAS kezelést alkalmazva korrelációt kerestünk az *in vitro* és *in vivo* eredmények között.

C. glabrata esetén négy vérből származó klinikai izolátumot, és két echinocandin rezisztens klinikai izolátumot vizsgáltunk. Mindhárom *C. krusei* törzs vérből származott; a három *C. inconspicua* izolátum vérből, hasüregi folyadékból és sebváladékból származtak. Egy echinocandin rezisztens *C. krusei* izolátumot szintén vizsgáltunk. Ötven százalék szérumban az izolátumok MIC értékei 4-8-szeresére növekedtek.

C. glabrata esetén 50% szérumban a CAS fungicid hatása növekedett, a *k* értékek 4-32 mg/L CAS esetén *izolátum függőek*, de *koncentrációtól függetlenek* voltak ($p > 0,05$, minden összehasonlításban). Neutropéniás egérmódelünkben $2,5 \times 10^7$ CFU/ml fertőző dózist alkalmaztunk. A CAS iránt érzékeny izolátumoknál minden dózis (napi 1, 2, 3, 5 és 20 mg/kg), csökkentette a vesékből kitenyészett gombasejtek számát ($p < 0,05-0,001$). Az egyes CAS dózisok hatékonysága között szignifikáns eltérés nem volt ($p > 0,05$) és egyik CAS dózis sem csökkentette a vesékből kitenyészett gombasejtek számát 10^5 CFU/gramm érték alá. A CAS a rezisztens izolátumok ellen hatástalan volt ($p > 0,05$).

C. krusei esetén 50% szérumban a hatásos CAS koncentrációkon (4-32 mg/L) az átlagos *k* értékek (0,42–0,57 1/h) között szignifikáns különbség nem volt ($p > 0,05$), azaz *koncentráció-független* ölkést tapasztaltunk. Neutropéniás egérmódelünkben a *C. krusei* klinikai izolátumok ellen a napi 3, 5 és 15 mg/kg CAS hatékony volt ($p < 0,05-0,001$), de a hatékony dózisok

között szignifikáns eltérés nem volt ($p > 0,05$). Az echinocandin rezisztens izolátum ellen a 15 mg/kg CAS hatékony volt ($p < 0,01$).

Mindhárom *C. inconspicua* izolátumnál az 50% szérum szignifikánsan fokozta a CAS ölési aktivitását az összes vizsgált koncentráción (1-32 mg/L; k : 1,12–1,44 1/h) ($p < 0,0003$). Az átlagos k értékek között szignifikáns különbség nem volt ($p > 0,05$). A CAS bármelyik dózisa (napi 1, 2, 3, 5 és 15 mg/kg), mindkét *C. inconspicua* izolátumnál legalább két nagyságrenddel alacsonyabb csíraszámot eredményezett a kontrollokhöz viszonyítva ($p < 0,05-0,001$); a dózisok között szignifikáns eltérés nem volt ($p > 0,05$, minden összehasonlításban).

Antifungális szerek *in vivo* hatékonysága a „*psilosis*” csoport ellen

Hat *C. parapsilosis sensu stricto*, a három *C. orthopsilosis* és a négy *C. metapsilosis* klinikai izolátumot vizsgáltunk a kísérletekben.

Átmenetileg neutropéniás egerekben a 10 és 20 mg/kg FLU mindhárom faj, minden izolátuma esetén hatásos volt ($p < 0,05-0,01$). Csak a napi 5 mg/kg CAS volt mindkét *C. parapsilosis sensu stricto* ellen hatásos ($p < 0,05$). A napi 2 és 5 mg/kg CAS mindegyik *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* izolátum esetén statisztikailag is szignifikáns módon csökkentette a vesékből kitenyészett gombasejtek számát ($p < 0,05-0,001$). Az AMB mindhárom faj, mindegyik izolátuma ellen hatékony volt ($p < 0,05-0,001$).

Tartósan neutropéniás egerekben a napi 5 mg/kg CAS mindkét *C. parapsilosis sensu stricto* izolátummal fertőzött egérmél hatékony volt ($p < 0,05-0,01$), de az 1 mg/kg CAS egyik *C. parapsilosis sensu stricto* ellen sem volt hatásos ($p > 0,05$). A *C. orthopsilosis* és a *C. metapsilosis* izolátumokkal fertőzött egerekben a 2 és 5 mg/kg CAS minden esetben szignifikáns mértékben csökkentette a vesékből kitenyészett gombák számát ($p < 0,05-0,001$). Az *in vivo* hatékony CAS dózisok között szignifikáns eltérés egyik faj esetén sem volt ($p > 0,05$, minden összehasonlításban).

***Candida auris* és *Candida albicans* virulenciájának összehasonlító vizsgálata neutropéniás egérmodellben**

A kísérletekben 19 *C. auris* és két *C. albicans* izolátumot használtunk. A tartósan neutropéniás BALB/c egerek 10^7 CFU/mL gombamennyiséget kaptak mind a négy vizsgált *C. auris* klád törzsei esetén, mind a letalitási, mind pedig a szervi perzisztencia kísérletekben. *C. albicans*-nál a letalitási kísérletben 10^5 CFU/mL, a szervi perzisztencia kísérletben pedig 5×10^4 CFU/mL gombaszuszpenziót kaptak az egerek.

C. auris esetén a Dél-Amerikai kládroz tartozó, izraeli törzsekkel fertőzött egerek kivételével az egerek nem mutatták a súlyos szepszis jeleit, és központi idegrendszeri tüneteket sem észleltünk.

A 21 napos nyomonkövetés alapján a legvirulensebbnek a *Dél-Amerikai klád* bizonyult (az átlagos halálozás 96% volt, 90-100%-os halálozással az egyes izolátumok esetén), amit a *Dél-Ázsiai klád* követett (80%-os átlagos halálozás, 50-100%-os halálozással az egyes izolátumok esetén). A *Dél-Afrikai kládnál* az átlagos halálozás 45%-os volt, (0-100%-os halálozással az egyes izolátumok esetén), míg a *Kelet-Ázsiai klád* esetén szintén 45%-os volt az átlagos halálozás, (30-70%-os halálozással az egyes izolátumoknál). Kládon belül szignifikáns különbségek voltak a letalitásban; a Dél-Amerikai esetén $p=0,0005$, a Dél-Ázsiainál $p=0,001$, a Dél-Afrikainál $p<0,0001$, míg a Kelet ázsiai esetén $p=0,0255$ voltak. A dél-amerikai és a dél-ázsiai izolátumokkal fertőzött egerek pusztulása már 3-4 nap múlva elkezdődött, míg a kevésbé virulens dél-afrikai és kelet-ázsiai izolátumoknál a halálozás csak 7-8 nap múlva kezdődött. A két *C. albicans* törzssel fertőzött egerek halálozása 90-100% volt ($p>0,05$). A kísérletben minden egér mutatta a súlyos szisztémás fertőzés tüneteit (nehéz mozgás, felborzolt szőr, nem akartak enni-inni, stb.).

C. auris esetén a belső szervekből kitenyészett gombasejtek száma alapján kládoztól függetlenül a szív és a vesék voltak a legjobban érintett szervek. A lépék és a májak érintettsége kisebb mértékű volt. A *C. albicans*-al fertőzött egereknél a hatodik napra, a második nappal összehasonlítva szignifikáns mértékben nőtt a csíraszám a szívben ($p=0,016$), a vesékben ($p=0,008$) és a lépben ($p=0,008$).

C. auris-nál kládoztól függetlenül az egyes szervekben csak blasztokonidiumokat és bimbózó sejteket találtunk, de hifát és pszeudohifát soha. Függetlenül a halál okától (pusztulás a letalitási kísérletekben vagy célzott szövettani vizsgálat a hatodik napon) a lépeket kivéve, PAS festéssel minden szervben nagy *gombasejt-aggregátumokat* találtunk. A szív korai érintettsége már egy nappal az intravénás fertőzés után felfedezhető volt. Minden vizsgált szívnél nagyszámú gombasejt aggregátum volt látható a szívizomrostok között, a szívizomsejtek koagulációs nekrozisával. A letalitási kísérletekben frissen elhullott egereknél illetve a hatodik napon boncolt egereknél is Mallory-féle PTAH festéssel igazolható volt a *miofibrilláris degeneráció* vagy másnéven a *kontrakciós-sáv nekrozis*.

C. albicans esetén blasztokonidiumok, bimbózó gombasejtek, pszeudihifák és hifák egyaránt megfigyelhetők voltak a szívben a vesékben és a lépben. A májban valódi hifát nem találtunk.

A szívben nagy nekrotikus területek voltak megfigyelhetők az endokardiumban és a miokardiumban egyaránt. Kontrakciós-sáv nekrozist nem találtunk.

Amfotericin B *in vitro* és *in vivo* hatékonysága *Candida auris* ellen

Tizenkilenc klinikai és a három környezeti izolátumot vizsgáltunk. Az AMB MIC értékek soha nem voltak magasabbak, mint a CDC által javasolt érzékenységi határérték (1 mg/L). A legalacsonyabb (0,12-0,25 mg/L) és a legmagasabb (0,5-1 mg/L) MIC-érték tartományokat a Kelet-Ázsiai illetve a Dél-Ázsiai kládoknál találtuk. Az AMB $\geq 0,5 \times \text{MIC}$ értékeken koncentráció-függő ölü aktivitást mutatott a *C. auris* izolátumokkal szemben. A CFU-csökkenés azonban gyakran átmeneti volt, és 12 óra elteltével még kétszeres MIC értéknél is újranoelkedés volt megfigyelhető.

A Dél-ázsiai klád két izolátuma ellen az AMB nem fokozta a túlélést. Ezzel ellentétben mindkét kelet-ázsiai izolátummal fertőzött egércsoportban az AMB szignifikánsan fokozta a túlélést ($p < 0,0009$), és több esetben ataxiát észleltünk. Az *ataxia* már 2-3 nappal az állatok halála előtt észlelhető volt. A Dél-Afrikai kládnál az AMB kezelés csak az egyik izolátummal fertőzött egereknél csökkentette a halálozást ($p = 0,0189$), és ugyanebben a csoportban egy egernél a halála előtti 2-3 napon észleltük az ataxiát.

A négy, Dél-Amerikai kládból származó izolátumokkal fertőzött egerek közül csak egy, az egyik izraeli véráramfertőzésből származó törzzsel fertőzött egereknél volt hatásos az AMB ($p = 0,0017$). A környezeti izolátummal fertőzött egereknél kezeléstől függetlenül a hetedik napra a halálozás 100% volt.

A belső szervekből kitenyészett gombasejtek száma alapján az AMB kezelés egyik Dél-Ázsiai izolátum ellen sem volt hatásos ($p > 0,05$, mindhárom szerv esetén); a vesékből és a szívekből $\sim 10^8$ CFU/gramm, míg az agyakból $\sim 10^6$ CFU/gramm gombasejtet tudtunk kitenyészteni. A Kelet ázsiai és a Dél-Afrikai kládba tartozó izolátumokkal fertőzött egereknél mindkét izolátummal fertőzött egereknél, az AMB szignifikánsan csökkentette a vesékből ($p < 0,01$), a szívekből ($p < 0,01$) és az agyakból ($p < 0,05$) kitenyészett gombasejtek számát. Mindkét kládnál egy-egy egernél a vesék és a szív sterilek voltak. A Dél-Amerikai kládnál az AMB csak az egyik izolátummal fertőzött egereknél volt hatásos, közel két nagyságrendnyi csíraszámcsökkenést okozva a vesékben és a szívekben ($p < 0,01$ mindkét esetben). Az agyban az átlagos csíraszámcsökkenés kisebb volt egy nagyságrendnél ($p < 0,05$).

Két nap AMB kezelés legalább egy nagyságrendnyi CFU csökkenést eredményezett az AMB-vel kezelt neutropéniás egerek vizeletéből kitenyésztett gombasejtek számában.

Szövetteni vizsgálattal a második napon vizsgált AMB-kezelt és kontroll egereknél a szívnek és a vesének relative kisméretű, multifokális PAS pozitív infiltrációját láthattuk, a központi idegrendszer érintettsége nélkül. A 4-6 nap között felboncolt egereknél kládtól függetlenül a szívek és a vesék nagy, multifokális infiltrációját, a nagyagy és a kisagy érintettségével lehetett látni. A szíveknél mindig megfigyelhető volt a kontrakciós-sáv nekrozis. Számos ataxiás egernél a nagyagy és a kisagy érintettsége nyilvánvaló volt, de a vesékben és a szívben gombát nem találtunk.

Megbeszélés

Posakonazol *in vitro* hatékonysága *Candida* fajok ellen

Elsőként határoztuk meg a POSA *in vitro* farmakodinámiáját a klinikailag fontos *Candida* fajok ellen. A POSA a vizsgált *Candida* fajok ellen *koncentráció-* és *időfüggő* ölü hatást mutatott. A szérumban elérhető átlagos és csúcskoncentrációkon a POSA kitűnő fungicid (*C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. inconspicua* és *C. kefyr*) és fungisztatikus (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* és *C. parapsilosis*) hatást mutatott a klinikailag fontos *Candida* fajok ellen. Az MFC meghatározás eredményei a *C. parapsilosis* kivételével, jó korrelációt mutattak az idő-ölés görbék által kapott eredményekkel. A POSA *in vitro* farmakodinámiájára vonatkozó eredményeinket más szerzők *in vitro* és *in vivo* eredményei megerősítették. Az IDSA 2016-os ajánlása alapján a POSA alkalmazhatósága *Candida* fertőzések kezelésére korlátozott. A POSA-t csak FLU terápiára nem reagáló szájüregi és nyelőcső *Candida* fertőzések kezelésére ajánlják, illetve *Candida* fajok által okozott endokarditisz fenntartó terápiájára, miután a lipid-asszociált AMB+5-FC vagy az echinocandin terápia után a beteg állapota stabilizálódott. Immunszupprimált betegek profilaxisában viszont továbbra is fontos szerepe van a POSA-nak. A legújabb vizsgálatok alapján a farmakokinetikai-farmakodinámiás target ($fAUC_{0-24}/MIC$) vad típusú *C. albicans* izolátumnál ($MIC \leq 0,06$ mg/L), figyelembe véve a POSA nagymértékű kötődését a szérumfehérjékhez 169-nek adódott. Ez az érték az orális POSA szuszpenzió adagolásával nem érhető el, de elérhető a késői felszívódású tablettá (napi 2x900 mg) vagy az intravénás formula (napi 2x600 mg) felhasználásával, ha az első napon nagyobb (telítő) dózist adunk. Ezen adatok alapján nem lehet kizárni, hogy a közeljövőben az echinocandin-rezisztens *Candida* fajok terápiájában az alacsony MIC értékkel rendelkező izolátumoknál a POSA-nak szerepe lehet invazív kandidiázis kezelésében.

Antifungális szerek *in vitro* és *in vivo* hatékonysága a „*psilosis*” csoport ellen

Átmeneti neutropéniában szenvedő egereknél a napi 10 és 20 mg/kg FLU a „*psilosis*” csoport mindhárom tagja ellen egyaránt hatékony volt. Ezek az FLU dózisok emberben nagyon alacsony napi dózissal felelnek meg (a napi 20 mg/kg egérdózis napi 100 mg-nak felel meg emberben). Csak a napi 5 mg/kg CAS volt hatékony mindkét *C. parapsilosis sensu stricto* ellen (ami napi 70 mg humán dózissal felel meg), de a napi 2 mg/kg (alacsonyabb mint emberben a standard dózis) CAS a 3-3 *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* izolátum ellen egyaránt statisztikailag is szignifikáns módon csökkentette a vesékből kitenyészett gombák

számát. Az AMB szintén kitűnő *in vivo* hatékonyságot mutatott. A hatékony FLU, CAS és AMB dózisok között egyik izolátum esetén sem volt statisztikailag szignifikáns különbség.

Tartósan neutropéniás egerekben a napi 1, 2 és 5 mg/kg CAS hatékonyságát vizsgálva teljesen azonos eredményeket kaptunk. Eredményeink azt jelentik, hogy a napi 5 mg/kg CAS hatékony a „*psilosis*” csoport mindegyik tagja ellen. Munkacsoportunktól függetlenül más szerzők hasonló eredményt közöltek. Jelenleg az AMB használata az IDSA ajánlásában jelentősen limitált, de gyermekeknél (főleg az 1 év alattiak esetén) a *C. parapsilosis sensu stricto* okozta invazív fertőzéseknek a kezelésében, még mindig fontos szerepe van.

Bár a három faj pontos azonosítása epidemiológiai szempontból továbbra is fontos, *in vivo* adataink alapján egyértelmű, hogy terápiás szempontból a „*psilosis*” csoport tagjai között nincs különbség. Ráadásul, az echinocandinok biofilmek ellen is hatásosak, ami szintén a használatuk mellett szól. Mindezek mellett szem előtt kell tartani, hogy az echinocandin prevenció/kezelés alatt áttöréses (breakthrough) kandidémia is kialakulhat.

Az echinocandinok hatékonyságának a korlátai a *Candida* fajok ellen

A klinikai gyakorlatban alkalmazott három echinocandinnal (CAS, ANF és MCF) és a klinikai kipróbálás harmadik fázisában lévő RZF-al végzett kísérleteink az echinocandinok hatékonyságának még pontosabb megismerését szolgálták a különböző *Candida* fajok ellen. Vizsgálataink választ adhatnak arra a kérdésre, hogy az „echinocandin érában” az első generációs echinocandinok bevezetése az invazív kandidiázisban szenvedő betegek kezelésére vajon miért nem vezetett az echinocandin rezisztenciával nem rendelkező *Candida* fajok esetén még nagyobb terápiás sikerhez? Mivel a RZF PG-t indukáló hatásáról a nemzetközi irodalomban nem volt még adat, ezért a MIC értékek vizsgálatával mind a négy echinocandinnal meghatároztuk a PG és a TE gyakoriságát a gyakrabban és a ritkábban izolálható *Candida* fajok esetén.

Egyezve más szerzők adataival eredményeink alapján a PG mind a gyakrabban (*C. albicans*, *C. tropicalis* és a *C. parapsilosis*), mind pedig a ritkábban (*C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* és *C. inconspicua*) izolálható *Candida* fajok esetén a CAS-nál volt a leggyakrabban megfigyelhető. Gyakori volt a PG a MCF-nál is a *C. tropicalis*, a *C. orthopsilosis* és a *C. inconspicua* fajoknál. Az ANF származéknak tekinthető RZF-nál csak a *C. albicans* és a *C. tropicalis* klinikai izolátumoknál észleltük a PG-t, míg az ANF-nál hét fajnál is.

Eredményeink alapján szoros az összefüggés a PG és a TE között, hiszen számos *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. dubliniensis* és *C. inconspicua* izolátum 24 órás inkubálás után PG-t mutatott, de ugyanezen izolátumoknál 48 órás leolvasás után jól látható TE volt megfigyelhető (azaz, a MIC feletti összes üregben, ha kisebb denzitással is, de növekedés volt látható a kontrollhoz képest). Ez azt jelenti, hogy hosszabb inkubációs idő után alacsonyabb koncentrációról indulva jól látható növekedés indul a nagyobb koncentrációk felé, ami vagy továbbra is PG-ét, vagy TE-ét eredményez.

Elsőként használtuk a PG kimutatására az MFC meghatározást és az idő-ölés görbék felvételét, amelyek elkülönítették az alacsonyabb CAS koncentrációkon bekövetkező fungicid hatást a nagyobb koncentrációkon jelentkező fungisztatikus hatástól. Hasonló eredményeket kaptunk a *C. glabrata* vizsgálatánál is, de *C. krusei* és *C. inconspicua* fajoknál nem tapasztaltuk a nagykoncentrációjú CAS csökkent ölképességét az alacsonyabb koncentrációkkal összehasonlítva. A nagykoncentrációjú ANF és MCF csökkent ölképességét *C. auris* klinikai izolátumoknál az idő-ölés görbék illetve az ölési ráta értékek számítása által is megerősítettük.

Az idő-ölés görbék segítségével igazoltuk, hogy a nagykoncentrációjú (8-16 mg/L) CAS paradox módon csökkent ölképesítő aktivitása *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* és *C. orthopsilosis* izolátumok ellen ≤ 8 mg/L NIK hatására megszűnik, számos esetben szinergista hatás révén. Teljesen hasonló eredményeket kaptunk, amikor vad típusú *C. auris* izolátumok ellen az ANF-t és a MCF-t kombináltuk 8 mg/L NIK-el, és a hatás szinergista (36,7% az ANF és 40% a MCF esetén) illetve fungicid (41,7% az ANF és 20% a MCF esetén) volt. A két prominens mutációval rendelkező izolátumnál (HS1 S639P és S639Y) a szinergizmus hiánya valószínűleg azzal áll összefüggésben, hogy a kitin szintjük eleve magasabb, illetve az indukálható kitin szintáz aktivitás is nagyobb. Ezek az adatok azt is jelentik, hogy a szinergizmus nagymértékben függ a mutáció típusától.

Mivel az első fázisú klinikai vizsgálatokban a NIK kitűnően tolerálható szer volt és a NIK nagyon szelektív a gombákra (az emlős sejtekben nincs kitin), a jövőben egy echinocandin plusz NIK kombinációs terápia tovább javíthatja az invazív *Candida* fertőzésekben szenvedő betegek túlélését.

Ötven százalék szérumban nyolc *Candida* faj, 11 izolátumával elvégeztük a CAS MIC meghatározását és az idő-ölés görbék felvételét. PG-t nemcsak a MIC érték meghatározása, de az idő-ölés görbék felvétele során sem tapasztaltunk. Az 50% szérumban mért k értékek *C.*

glabrata és *C. albicans* esetén szintén megerősítették, hogy nagy CAS koncentrációknál a CAS paradox módon csökkent ölü aktivitása nem figyelhető meg. Az 50% szérumban elvégzett vizsgálataink alapján nem valószínű, hogy a CAS terápia során a szabad CAS koncentrációja *in vivo* olyan magas szintet érjen el, hogy az a CAS csökkent ölü képességéhez vezessen. A PG szerepe viszont nem zárható ki a biofilmmel fertőzött katéterek nagy koncentrációjú echinocandinnal való átmosása esetén („catheter lock therapy”).

A CAS-al végzett vizsgálataink világosan mutatták, hogy a CAS aktivitása csökken 50% szérumban, de a szérumban mért MIC érték felett fajtól függően létrejöhetett a fungicid hatás. Ötven százalék szérumban *C. glabrata*, *C. krusei* és *C. inconspicua* fajok esetén a hatásos koncentrációk felett (ahol csíraszám csökkenés figyelhető meg), a CAS koncentrációjának a növelése nem növelte az ölés mértékét, azaz az ölés *koncentráció-független* volt. Ennek valószínű oka a CAS nagymértékű kötődése a fehérjékhez, így hiába növeljük a CAS koncentrációját, a farmakológiailag aktív gyógyszer mennyisége nem növekszik olyan mértékben, hogy az ölü hatás is fokozódjon.

C. glabrata esetén a neutropéniás egerek veséiből kitenyésztett gombasejtek számában a napi 1, 2, 3 és 5 és 20 mg/kg CAS kezelések között szignifikáns eltérés nem volt ($\geq 10^5$ CFU/gramm átlagos csíraszám bármelyik kezelt csoportban). Az 50% szérumban mért *k* értékek (*koncentráció-független* ölés) és az *in vivo* hatékonyság (napi dózistól független csíraszám csökkenés) között tehát jó volt a korreláció, de az egyes izolátumoknál tapasztalt nagyobb *k* értékek ellenére az *in vivo* hatékonyság nem növekedett. Echinocandin rezisztens *C. glabrata* klinikai izolátum ellen a napi 20 mg/kg CAS is hatástalan volt.

C. inconspicua ellen már a napi 1 mg/kg CAS (napi 35 mg CAS dózisonak felel meg a humán terápiában), míg *C. krusei* ellen a napi 3 mg/kg CAS (a standard napi dózisonak felel meg) dózisok hatékonyak voltak. Hasonlóan a *C. glabrata* esetén kapott eredményekhez a *C. krusei* izolátumokkal fertőzött egerek veséiből is legalább 10^5 CFU/gramm gombasejt tenyésztett ki, még a napi 15 mg/kg CAS esetén is. Neutropéniás egérmodellünkben tehát echinocandin érzékeny *C. glabrata*, *C. krusei* és *C. inconspicua* ellen a CAS napi dózisának az emelése a vesékből kitenyésztett gombasejtek száma alapján nem jár terápiás előnnyel. A humán terápiában ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy a jelentős költségnövekedés ellenére a terápiás hatékonyság nem nő.

A RZF-al végzett *in vitro* eredményeink összhangban voltak a gyakrabban izolálható *Candida* fajok (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) más

szerzők által mért *in vitro* MIC értékeivel. A várakozásnak megfelelően mind a négy echinocandin MIC értékei magasabbak voltak *C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* és *C. carpophila* fajok esetén. A RZF *in vitro* aktivitásáról a ritkábban előforduló sarjadzó gombák ellen a nemzetközi irodalomban egyáltalán nem, vagy csak kevés faj esetén voltak adatok.

Egyezve a korábbi irodalmi adatokkal a CAS MIC értékek a „*psilosis*” csoport és a *C. guilliermondii* kivételével sokkal magasabbak voltak, mint a másik három echinocandin MIC értékei. Különösen *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* és *C. kefyr* esetén mértünk magasabb CAS MIC értékeket. Fothergill és munkatársai (2016) összehasonlították a polisztrénnel kezelt (szöveti tenyésztésre alkalmas) illetve nem kezelt táplemezekkel kapott CAS MIC értékeket *C. albicans*, *C. glabrata* és *C. krusei* izolátumoknál. Eredményeik alapján a szöveti tenyésztésre alkalmas táplemezek használatánál a MIC értékek sokkal magasabbak, és nem lehet megkülönböztetni egymástól az echinocandin érzékeny és rezisztens izolátumokat. Véleményük szerint ez lehet az egyik ok, ami miatt a CAS MIC értékek magasabbak mint az ANF-al és a MCF-al kapott MIC értékek. Az általunk kapott RZF MIC értékeket befolyásolhatta, hogy szöveti tenyésztésre alkalmas táplemezt használtunk, de az így kapott MIC értékeink nagyon hasonlóak voltak az ANF-al kapott MIC értékeinkhez.

A FLU rezisztencia alacsony volt mind a *C. albicans*, mind a *C. glabrata* esetén. Bár a világ sok országából jelentették a *C. parapsilosis sensu stricto* magasabb FLU MIC értékeit, FLU rezisztens izolátumot nem diagnosztizáltunk.

A felnőtt betegek kandidémiájának és invazív kandidiázisának a kezelésére a közelmúltban engedélyezett RZF (Rezzayo™) kivételes farmakokinetikájával új lehetőség nyílhat az invazív *Candida* fertőzések még hatékonyabb kezelésére. A magas szérum C_{max} és AUC-n kívül a RZF belső szervekbe történő penetrációja is többszöröse az első generációs echinocandinokhoz képest.

***Candida auris* kládok virulenciája és amphotericin B iránti érzékenysége neutropéniás egérmodellben**

Egyezve más munkacsoportok eredményeivel neutropéniás egérmodellünkben a négy fő *C. auris* klád virulenciája a mortalitás és a szöveti perzisztencia alapján szignifikánsan alacsonyabb volt mint a *C. albicans* virulenciája. A *C. auris* kládok virulenciája között szignifikáns különbséget észleltünk: Dél-Amerikai klád>Dél-Ázsiai klád>Dél-Afrikai klád=Kelet-Ázsiai klád. A mortalitás alapján az egyes kládokon belül is szignifikáns eltérések

voltak. Figyelemre méltó, hogy a két környezeti izolátum 90%-os mortalitást okozott. Ennek azért van jelentősége, mivel a kórházba újonnan bekerült betegek egy eleve virulens kórokozóval kolonizálódhatnak, majd a bőr és a nyálkahártyák integritásának a sérülésével bekerülhetnek a normálisan steril testtájukba is.

A virulenciát vizsgáló kísérleteinkben nem láttunk a központi idegrendszer inváziójára utaló jeleket, ezért az agy szöveti perzisztencia vizsgálatát sem végeztük el. Ezzel ellentétben, az AMB kezelt neutropéniás egereknél (de azok kontrolljainál soha) a Kelet-Ázsiai, a Dél-Afrikai és a Dél-Amerikai kládokkal oltott egereknél 2-3 nappal a elpusztulásuk előtt ataxiát észleltünk. A szöveti perzisztencia vizsgálatokban az AMB kezelt egerek agyából kitenyészett gombasejtek száma nem csökkent 10^5 CFU/gramm alá, és a PAS pozitív gombasejteket a nagyagyból és a kisagyból egyaránt ki lehetett mutatni, könnyen magyarázva ezzel az ataxiás tüneteket. Az intravénás fertőzés utáni második napon boncolt AMB kezelt és kontroll egerek agyából nem, de a negyedik-ötödik napokon elpusztult egerek agyából szövettani vizsgálattal mindig sikerült kimutatni a gombasejteket. Érdekesség, hogy a letalitási kísérletekben a kísérleti periódus vége felé elpusztult AMB kezelt egerek nagy- és kisagyai PAS pozitív gombasejteket mutattak, míg a szívekben és a vesékben nem találtunk gombát.

Neutropéniás egérmodellünkben a hatodik napon elvégzett szöveti perzisztencia vizsgálatok alapján egyértelművé vált, hogy kládtól és izolátumtól függetlenül a fő célszervek a szív, a vesék és az agy voltak. Ugyancsak kládtól és izolátumtól függetlenül bizonyítottuk, hogy a vesékben, a szívben és a májban a negyedik-ötödik naptól boncolt egerekben mindig *nagy, multiplex gombasejt-aggregátumok* figyelhetők meg. A nagy aggregátumok védelmet nyújthatnak a hatékony immunválasz és az antifungális szerek ellen, ami a kórokozók folyamatos replikációját illetve a fertőzés perzisztálását eredményezheti. A nagy aggregátumok az adott szerv funkció romlását eredményezik, hiszen a kisebb virulenciájú izolátumokkal fertőzött egereknél ha 10-14 nap múlva is, de elkezdődött az egerek pusztulása.

A *C. auris* által létrehozott disszeminált fertőzés neutropéniás egérmodellünkben számos pontban különbözik a *C. albicans*-nál tapasztalható képest. A két nagyságrenddel nagyobb fertőző dózis (10^7 versus 10^5 CFU/mL) által előidézett halálozás dinamikája csak a Dél-Amerikai kládnál (mind az öt izolátumnál), a Dél-ázsiai klád három izolátumánál, illetve a Dél-Afrikai klád egy izolátumnál volt hasonló a *C. albicans*-hoz. A többi izolátummal fertőzött egerek elhullása sokszor csak a 10-12 nap körül kezdődött, és ezek az egerek relatíve jó kondícióban voltak, elhullásuk előtt nem mutatták a súlyos fertőzés jeleit. *C. auris*-nál a

hatodik napon illetve a moribund egereken bármelyik napon elvégzett kórszöveti vizsgálatok multiplex, nagy aggregátumokkal telített belső szerveket mutattak.

A szívnél, ellentétben a *C. albicans*-sal ahol a szív érintettsége az endokardium, illetve a szubendokardiális területeken volt a legkifejezettebb (azaz az invázió az endokardium felől történt a miokardium felé), *C. auris* esetén a miokardium érintettsége volt a szembetűnőbb, ami a hematogén eredetre utal. A nagy gombasejt aggregátumok miatt az izomrostok disztorziója is jól megfigyelhető, ami önmagában is funkcióvesztést eredményez. Új jelenséget írtunk le nemcsak az elhullott állatok, de a moribund egerek szívében is, a *kontrakciós sáv nekrozist*.

A szívben lévő nagy mennyiségű gomba már a fertőzés kezdetén (második nap) negatívan befolyásolhatta a miokardium normális kontraháló képességét, hozzájárulva a hipotóniához és a következményes vesefunkció romláshoz. A hematogén disszemináció minden szervet, beleértve a központi idegrendszert is érintette, amit a fertőzés utáni negyedik napon boncolt egereknél is láthattunk. Az AMB terápiaiban nem részesült egereknél a szívekben és a vesékben lévő nagy számú gomba miatt kialakuló szív- és veseelégtelenség együttesen voltak felelősek az állatok pusztulásáért, még mielőtt a központi idegrendszer érintettségét jelző klinikai tünetek (pl. ataxia) manifesztté váltak volna. Másrészt, a napi 1 mg/kg AMB kládtól és izolátumtól függően hatékony lehet a gombasejtek eradikációjára a szívből és a vesékből, de a központi idegrendszer érintettsége esetén nem.

Neutropeniás egérmodellünkben a letalitás és a szöveti perzisztencia alapján a hifát és pszeudohifát nem képző *C. auris* virulenciája kládtól függetlenül szignifikánsan kisebb mint a *C. albicans* virulenciája. A *Candida* fajok okozta kísérletes véráramfertőzések jól ismert vese, máj, lép, központi idegrendszer és a szív érintettsége a szöveti perzisztencia alapján a *C. auris* esetén is bizonyítást nyert. Új jelenségként írtuk le moribund egerek miokardiumában a *kontrakciós sáv nekrozist*, ami a súlyos szívizomkárosodásra hívja fel a figyelmet a kisebb virulenciával rendelkező *C. auris* esetén. Ugyancsak új eredménynek számít, hogy a vesékben, a szívekben és a májakban nagy, PAS pozitív, *multifokális gomba-aggregátumokat* detektáltunk. Napi 1 mg/kg AMB kezelés klád- és izolátum függő hatékonyságot mutatott a szívből és a vesékből kitenyészett gombasejtek száma alapján. Kládtól függetlenül, két nap AMB kezelés szignifikánsan csökkentette a vizeletből kitenyészett gombasejtek számát. *C. auris* okozta meningoencefalitisz kezelésében az amfotericin B hatástalan volt.

Eredmények összefoglalása

1. Az idő-ölés görbék segítségével elsőként bizonyítottuk, hogy a posakonazol a szérumban könnyen elérhető koncentrációkon koncentráció- és idő-függő ölü aktivitást mutat a klinikailag fontos *Candida* fajok ellen. A posakonazol fungisztatikus hatást mutatott a *C. albicans*, a *C. glabrata*, a *C. tropicalis*, a *C. parapsilosis* és a *C. guilliermondii* fajok ellen. A posakonazol mindegyik *C. krusei*, *C. inconspicua* és *C. lusitaniae* izolátum esetén fungicid hatású volt és izolátumtól függően fungicid hatást tapasztaltunk *C. kefyr* esetén.
2. Neutropéniás egérmodellben elsőként bizonyítottuk, hogy a *C. parapsilosis sensu stricto* ellen hatékony flukonazol, kaszporfungin és amfotericin B dózisok *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* ellen is hatékonyak.
3. RPMI-1640 tápközegben a standard mikrodilúciós módszerrel végzett anidulafungin, kaszporfungin, mikafungin és rezafungin MIC meghatározások 13 *Candida* faj 349 klinikai izolátuma esetén bizonyították, hogy a paradox növekedés echinocandin-, faj- és izolátum-specifikus *in vitro* jelenség. A paradox növekedés szoros összefüggésben van a MIC érték feletti folyamatos növekedéssel, a „trailing hatással”.
4. A kaszporfungin MIC meghatározás során paradox növekedést mutató, illetve paradox növekedést nem mutató *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis sensu stricto* és *C. orthopsilosis* izolátumoknál az idő-ölés görbék segítségével bizonyítottuk, hogy a kaszporfungin ölü aktivitása nagyobb koncentrációkon gyengébb, mint alacsonyabb koncentrációkon. A kitin szintézist gátló nikkomicin Z additív vagy szinergista interakciók révén megszüntette a nagykoncentrációjú kaszporfungin csökkent ölü aktivitását.
5. A nikkomicin Z additív vagy szinergista interakciók által fokozta az anidulafungin és a mikafungin ölü aktivitását a *C. auris* négy fő kládjába tartozó, FKS mutációval nem rendelkező izolátumok ellen. FKS mutációval rendelkező izolátumoknál a szinergizmus a mutáció típusától függ.
6. Ötven százalék humán szérumban a nagykoncentrációjú kaszporfungin RPMI-1640-ben tapasztalt csökkent ölükéességét *C. albicans*, *C. tropicalis* és *C. glabrata* izolátumok ellen nem tapasztaltuk.

7. Ötven százalék szérumban a kaszporfungin koncentráció-független *in vitro* aktivitást mutatott a *C. glabrata*, a *C. krusei* és *C. inconspicua* fajok ellen. Neutropéniás egérmodellben a kaszporfungin napi dózisének az emelése 15 vagy 20 mg/kg-ra nem volt szignifikánsan hatásosabb, mint a napi 3 vagy 5 mg/kg kaszporfungin dózisok, de nem is indukáltak paradox növekedést.
8. Összehasonlítottuk a rezafungin *in vitro* aktivitását a CLSI standard mikrodilúciós módszer alapján az anidulafungin, a kaszporfungin, a mikafungin, a flukonazol és az amfotericin B *in vitro* aktivitásával a gyakrabban, illetve ritkábban izolálható *Candida* fajok (668 izolátum) és *S. cerevisiae* (21 izolátum) klinikai izolátumok ellen. A rezafungin MIC₉₀ érték 0,06 mg/L volt *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. inconspicua*, *C. sojae*, *C. lipolytica* és *C. pulcherrima*, 0,12 mg/L *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefyr* és *C. fabianii*, 0,25 mg/L *C. lusitaniae* és *C. auris*, 0,5 mg/L *C. metapsilosis* és *S. cerevisiae*, 1 mg/L *C. orthopsilosis* és *C. guilliermondii*, illetve 2 mg/L *C. parapsilosis sensu stricto* esetén. Ugyanezen izolátumok kaszporfungin MIC₉₀ értékei 0,25-2 mg/L voltak, míg az anidulafungin és mikafungin MIC₉₀ értékek a rezafunginhoz voltak hasonlóak. A *C. albicans* izolátumok 5,6%-ka, illetve a *C. glabrata* izolátumok 4,9%-ka volt rezisztens flukonazol iránt. Az amfotericin B MIC értékek két *C. albicans*, három *C. glabrata* és szintén három *C. krusei* izolátum kivételével nem haladták meg az 1 mg/L értékeket.
9. Neutropéniás egérmodellben a *C. auris* négy fő kládjának a virulenciája a letalitás és a szöveti perzisztencia alapján szignifikánsan kisebb volt, mint a *C. albicans* virulenciája. A *C. auris* kládok közül a legvirulensebbnek a Dél-Amerikai klád bizonyult, amelyet a Dél-Ázsiai, majd a Dél-Afrikai és a Kelet-Ázsiai kládok követtek. Az egyes kládokon belül az izolátumok virulenciái között is szignifikáns eltérések voltak. A Dél-Amerikai kládba tartozó környezeti izolátumok virulenciája hasonló volt, mint a klinikai izolátumoké.
10. A *C. auris* izolátumokkal intravénásan fertőzött egerekben a szív, a vesék és a központi idegrendszer voltak a fő érintett szervek. Kládotól függetlenül az egyes szervekben csak blasztokonidiumokat és bimbódzó sejteket találtunk. A vesékben, a szívekben és a májakban nagy, multifokális gomba-aggregátumokat detektáltunk.
11. A *C. auris*-sal fertőzött, frissen elhullott, illetve moribund egerek miokardiumában Mallory-féle PTAH festéssel minden esetben felfedezhető volt a kontrakciós-sáv

- nekrózis. A *C. albicans*-sal fertőzött egereknél az endokardium és a miokardium egyaránt érintett volt.
12. Az amfotericin B *in vitro* aktivitása az idő-ölés görbék és az ölési ráta értékek alapján a *C. auris* négy fő kládjába tartozó 22 törzs ellen klád- és izolátum-függő volt. A klinikailag elérhető (≤ 1 mg/L) koncentrációkon az amfotericin B csak nyolc izolátum ellen volt fungicid hatású.
 13. A *C. auris*-sal intravénásan fertőzött neutropéniás egerekben napi 1 mg/kg amfotericin B klád- és izolátum-függő módon szignifikáns módon növelte a túlélést, illetve csökkentette a szívből és a vesékből kitenyészett gombasejtek számát.
 14. Az amfotericin B kezelés kládtól és izolátumtól függetlenül hatástalan volt a *C. auris* okozta meningoencefalitisz kezelésében.

Új megállapítások

1. A posakonazol a szérumban könnyen elérhető koncentrációkon koncentráció- és időfüggő ölü aktivitást mutatott a klinikailag fontos *Candida* fajok ellen.
2. Terápiás szempontból a „*psilosis*” csoport tagjai között nincs különbség.
3. A nagykoncentrációjú echinocandinoknak számos *Candida* faj ellen tapasztalható paradox módon csökkent *in vitro* ölü aktivitása, a kitin szintézisét gátló nikkomicin Z hatására additív vagy szinergista interakciók által fokozódik.
4. A kaszporfungin 50% szérumban fiziológiás és szuprafiziológiás koncentrációkon számos *Candida* faj ellen koncentráció-független *in vitro* ölü aktivitást mutatott.
5. Neutropéniás egerekben az emelt napi dózisu kaszporfungin kezelések a standard napi dózisu kaszporfungin terápiával összehasonlítva *C. glabrata*, *C. krusei* és *C. inconspicua* fajok ellen nem hatékonyabbak, de nem is indukálnak paradox növekedést.
6. A rezafungin *in vitro* aktivitása a gyakrabban és a ritkábban izolálható sarjadzó gombák esetén hasonló, mint az anidulafungin és a mikafungin *in vitro* aktivitása.
7. Neutropéniás egérmódelben a *C. auris* négy fő kládjának a virulenciája a letalitás és a szervi perzisztencia alapján szignifikánsan kisebb volt, mint a *C. albicans* virulenciája.
8. Kládtól függetlenül a *C. auris* okozta invazív kandidiázis esetén a szívben, a vesékben és a májban nagy, multifokális gomba-aggregátumok figyelhetők meg.
9. Az amfotericin B kládtól és izolátumtól függően hatásos lehet *C. auris* okozta miokarditisz, illetve a veséket érintő megbetegedések kezelésében, de hatástalan meningoencefalitisz esetén.
10. Kevésbé virulens *Candida* fajok okozta véráramfertőzések következményeként a nehezen diagnosztizálható és kezelhető miokarditisz a feltételezettnél jóval gyakoribb lehet.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm a Családomnak, hogy elfogadták távolléteimet a sokszor éjszakákba nyúló kísérletek és a kéziratok írása miatt. Köszönöm feleségemnek Vágó Juditnak, fiamnak Leventének és lányomnak Ágnesnek megértő türelmüket, akik otthoni munkámat látva sokszor csak annyit mondtak, hogy „apa megint gépezik”.

Hálával tartozom Szüleimnek, hogy tanulmányaim során végig mellettem álltak és erejükön felül támogattak. Sajnos Édesapám már nem érthette meg dolgozatom elkészültét. Ugyanígy hálás vagyok 102 éves anyai Nagymamámnak a támogatásáért.

Köszönet illeti Rozgonyi Ferenc Professzor Urat, hogy gyakorlatvezetőként felkeltette az érdeklődésemet a mikrobiológia iránt és PhD támavezetőmnek Szabó Béla főiskolai tanárnak, aki a sarjadzó gombák vizsgálatát javasolta kutatási témámnak.

Kiemelt köszönet jár Pappné Falusi Erzsébetnek, akivel a kísérletes módszereket közösen állítottuk be, és ötleteivel az adódó nehézségeken mindig átsegített.

Köszönöm az utóbbi 20 év minden PhD hallgatójának a lelkiismeretes munkáját.

Hálásan köszönöm a munkáját, a segítségét és a jó munkahelyi légkört Kovács Renátó Lászlónak és Tóth Zoltánnak.

Köszönöm Kardos Gábor barátomnak az önzetlen segítségét.

Külön köszönet illeti Gesztelyi Rudolf és Juhász Béla barátaimat a statisztikai elemzésekért és az ötletekért.

Köszönöm Simonné Miszti Ceciliának, Csoma Eszternek, Bánk Józsefnek és Hartmann Zsoltnak valamint az Orvosi Mikrobiológiai Intézet minden munkatársának, hogy munkájukkal lehetővé tették, hogy a kutatásokra megfelelő mennyiségű időt szakíthattam.

Köszönet illeti a külföldi Kollégákat, Arianna Tavantit, Paul McNicholast, David Perlint, Jeff Locket és Andy Bormannt, akikkel az évek során számos közös kézirat született.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm jelenlegi Intézetvezetőnknek Kónya József Professzor Úrnak és korábbi Intézetvezetőnknek Gergely Lajos Professzor Úrnak, hogy lehetőséget teremtettek a kísérletes munka elvégzésére.

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények

1. Sóczó, G ; Kardos, G ; McNicholas, PM ; Falusi, E ; Gergely, L ; Majoros, L
Posaconazole susceptibility testing against *Candida* species: Comparison of broth microdilution and E-test methods
MYCOSES 50 : (3) pp. 178-182. , 5 p. (2007)
IF: 1.327
Független idéző: 5 Függő idéző: 1 Összesen: 6
2. Soczo, G ; Kardos, G ; McNicholas, PM ; Balogh, E ; Gergely, L ; Varga, I ; Kelentey, B ; Majoros, L
Correlation of posaconazole minimum fungicidal concentration and time-kill test against nine *Candida* species
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 60 : (5) pp. 1004-1009. , 6 p. (2007)
IF: 4.038
Független idéző: 29 Függő idéző: 5 Összesen: 34
3. Tóth, Zoltán ; Forgács, Lajos ; Locke, Jeffrey B ; Kardos, Gábor ; Nagy, Fruzsina ; Kovács, Renátó ; Szekely, Adrien ;Borman, Andrew M ; Majoros, László
In vitro activity of rezafungin against common and rare *Candida* species and *Saccharomyces cerevisiae*
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 74 : (12) pp. 3505-3510. , 6 p. (2019)
IF: 5.439
Független idéző: 64 Függő idéző: 7 Összesen: 71
4. Tóth, Zoltán ; Forgács, Lajos ; Kardos, Tamás ; Kovács, Renátó ; Locke, Jeffrey B. ; Kardos, Gábor ; Nagy, Fruzsina ;Borman, Andrew M. ; Adnan, Awid ; Majoros, László
Relative Frequency of Paradoxical Growth and Trailing Effect with Caspofungin, Micafungin, Anidulafungin, and the Novel Echinocandin Rezafungin against *Candida* Species
JOURNAL OF FUNGI 6 : (3) Paper: 136 , 9 p. (2020)
IF: 5.816
Független idéző: 11 Függő idéző: 2 Összesen: 13
5. Soczo, G ; Kardos, G ; Varga, I ; Kelentey, B ; Gesztelyi, R ; Majoros, L
In vitro study of *Candida tropicalis* isolates exhibiting paradoxical growth in the presence of high concentrations of caspofungin

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY 51 : (12) pp. 4474-4476. , 3 p. (2007)

IF: 4.39

Független idéző: 15 Függő idéző: 6 Összesen: 21

6. Szilágyi, J ; Földi, R ; Bayegan, S ; Kardos, G ; Majoros, L

Effect of nikkomycin Z and 50% human serum on the killing activity of high-concentration caspofungin against *Candida* species using time-kill methodology

JOURNAL OF CHEMOTHERAPY 24 : (1) pp. 18-25. , 8 p. (2012)

IF: 0.825

Független idéző: 10 Függő idéző: 10 Összesen: 20

7. Adnan, Awid ; Borman, Andrew M. ; Tóth, Zoltán ; Forgács, Lajos ; Kovács, Renátó ; Balázs, Dávid ; Balázs, Bence ; Udvarhelyi, Gergely ; Kardos, Gábor ; Majoros, László

In Vitro Killing Activities of Anidulafungin and Micafungin with and without Nikkomycin Z against Four *Candida auris* Clades

PHARMACEUTICS 15 : (5) Paper: 1365 , 16 p. (2023)

IF: 4.9

Független idéző: 2 Függő idéző: 1 Összesen: 3

8. Domán, M ; Kovács, R ; Perlin, DS ; Kardos, G ; Gesztelyi, R ; Juhász, B ; Bozó, A ; Majoros, L

Dose escalation studies with caspofungin against *Candida glabrata*

JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY 64 : (9) pp. 998-1007. , 10 p. (2015)

IF: 2.269

Független idéző: 9 Függő idéző: 4 Összesen: 13

9. Kovács, R ; Gesztelyi, R ; Berényi, R ; Domán, M ; Kardos, G ; Juhász, B ; Majoros, L

Killing rates exerted by caspofungin in 50% serum and its correlation with *in vivo* efficacy in a neutropenic murine model against *C. krusei* and *C. inconspicua*

JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY 63 : (2) pp. 186-194. , 9 p. (2014)

IF: 2.248

Független idéző: 5 Függő idéző: 13 Összesen: 18

10. Szilágyi, J ; Földi, R ; Gesztelyi, R ; Bayegan, S ; Kardos, G ; Juhász, B ; Majoros, L

Comparison of the Kidney Fungal Burden in Experimental Disseminated Candidiasis by Species of the *Candida parapsilosis* Complex Treated with Fluconazole, Amfotericin B and Caspofungin in a Temporarily Neutropenic Murine Model

CHEMOTHERAPY 58 : (2) pp. 159-164. , 6 p. (2012)

IF: 2.066

Független idéző: 8 Függő idéző: 2 Összesen: 10

11. Földi, R ; Kovács, R ; Gesztelyi, R ; Kardos, G ; Berényi, R ; Juhász, B ; Szilágyi, J ; Mózes, J ; Majoros, L
 Comparison of *In Vitro* and *In Vivo* Efficacy of Caspofungin Against *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* and *C. albicans*
 MYCOPATHOLOGIA 174 : (4) pp. 311-318. , 8 p. (2012)
 IF: 1.489
 Független idéző: 11 Fügő idéző: 11 Összesen: 22
12. Forgács, Lajos ; Borman, Andrew M. ; Prépost, Eszter ; Tóth, Zoltán ; Kardos, Gábor ; Kovács, Renátó ; Szekely, Adrien ; Nagy, Fruzsina ; Kovacs, Ilona ; Majoros, László
 Comparison of *in vivo* pathogenicity of four *Candida auris* clades in a neutropenic bloodstream infection murine model
 EMERGING MICROBES & INFECTIONS 9 : (1) pp. 1160-1169. , 10 p. (2020)
 IF: 7.163
 Független idéző: 64 Fügő idéző: 10 Összesen: 74
13. Papp, Zoltán ; Borman, Andrew M. ; Forgács, Lajos ; Kovács, Renátó ; Tóth, Zoltán ; Chun-Ju, Chiu ; Kardos, Gábor ; Juhász, Béla ; Szilvássy, Judit ; Majoros, László
 Unpredictable *In Vitro* Killing Activity of Amfotericin B against Four *Candida auris* Clades
 PATHOGENS 10 : (8) Paper: 990 , 11 p. (2021)
 IF: 4.531
 Független idéző: 7 Fügő idéző: 2 Összesen: 9
14. Forgács, Lajos ; Borman, Andrew M. ; Kovács, Renátó ; Balázs, Dávid ; Tóth, Zoltán ; Balázs, Bence ; Chun-Ju, Chiu ; Kardos, Gábor ; Kovacs, Ilona ; Majoros, László
In Vivo Efficacy of Amfotericin B against Four *Candida auris* Clades
 JOURNAL OF FUNGI 8 : (5) Paper: 499 , 16 p. (2022)
 IF: 4.7
 Független idéző: 4 Fügő idéző: 1 Összesen: 5
- Összes IF: 51,201

A teljes közlemény lista MTMT szerint külön csatolva

Tudománymetriai adatok

Majoros László tudományos és oktatói munkásságának összefoglalása (2025.06.05)
MTA VIII. Biológiai Tudományok Osztálya

Tudományos közlemények	Száma		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Tudományos folyóiratcikk²	<u>98</u>		<u>1184</u>	<u>1583</u>
teljes cikk, nemzetközi folyóiratban		<u>82</u>	<u>1072</u>	<u>1435</u>
teljes cikk, hazai idegen nyelvű folyóiratban		<u>6</u>	<u>44</u>	<u>58</u>
teljes cikk, hazai magyar nyelvű folyóiratban		0	0	0
teljes cikk, rövid közlemény		<u>10</u>	<u>68</u>	<u>90</u>

SJR értékelés	Száma		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Meghatározó szerzős	Összesen	Meghatározó szerzős
Q1 kategóriájú folyóiratcikk	<u>59</u>	<u>25</u>	<u>1114</u>	<u>522</u>
- ebből D1 kategóriájú folyóiratcikk	<u>23</u>	<u>12</u>	<u>691</u>	<u>415</u>
Q2 kategóriájú folyóiratcikk	<u>29</u>	<u>16</u>	<u>352</u>	<u>184</u>
Q3 kategóriájú folyóiratcikk	<u>9</u>	<u>2</u>	<u>113</u>	<u>22</u>
Q4 kategóriájú folyóiratcikk	0	0	0	0

Tudományos közlemények	Száma		Hivatkozások	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
II. Könyvek	0		0	0
a) Szakkönyv, tankönyv, szerzőként	0		0	0
Szakkönyv, kézikönyv idegen nyelvű		0	0	0
Szakkönyv, kézikönyv magyar nyelvű		0	0	0
Felsőoktatási tankönyv		0	0	0
b) Szakkönyv szerkesztőként	0			
Szakkönyv, kézikönyv, idegen nyelvű		0		
Szakkönyv, kézikönyv, magyar nyelvű		0		
Felsőoktatási tankönyv		0		
III. Könyvfejezet, szaktanulmány	<u>1</u>		0	0
Könyvfejezet idegen nyelvű		0	0	0
Könyvfejezet magyar nyelvű		0	0	0
Felsőoktatási tankönyvfejezet		<u>1</u>	0	0
IV. Konferenciaközlemények	0		0	0
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	<u>99</u>		<u>1184</u>	<u>1583</u>
V. Egyéb tudományos	<u>5</u>		<u>28</u>	<u>41</u>
Egyéb tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkekét és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkekét is		<u>1</u>	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok		<u>4</u>	<u>28</u>	<u>41</u>
VI. Absztrakt	<u>56</u>		<u>4</u>	<u>8</u>
VII. Oltalmi formák	<u>2</u>		0	0
a, oltalmi forma		0	0	0
b, szabadalom		<u>2</u>	0	0
Összesen	<u>162</u>		<u>1216</u>	<u>1632</u>
Összesített impakt faktor	<u>310,652</u>			
Hirsch index¹	<u>22</u>			

Speciális tudánymetriai adatok	Adat
Első szerzős folyóiratcikkek száma (az összes %-ban) ³	<u>5</u> (5,1%)
Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma (az összes %-ban)	<u>39</u> (39,8%)
Levelező szerzős folyóiratcikkek száma	<u>36</u>
Első és utolsó szerzőségű folyóiratcikkek impakt faktorai	<u>130,003</u>
Az utolsó tudományos fokozat (PhD 2005) elnyerése utáni tudományos folyóiratcikkek összegzett impakt faktora az összes %-ban	97%
Magyar nyelven megjelent tudományos teljes folyóiratcikkek száma	0
Az utolsó 10 év tudományos teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma	<u>61</u>
Impakt faktor összege	<u>237,025</u>
Folyóiratcikkek, 15-nél több szerzővel	<u>1</u>

Megjegyzések:

Azok a teljes ("in extenso") cikkek nem kerülnek a táblázatba, amelyek folyóiratának nem ismert a lektoráltsága.

1 A hivatkozások a disszertáció és egyéb típusú idézők nélkül számolva.

2 A teljes (in extenso) folyóiratcikk

3 Az egy szerzős cikkeket is ideértve