

Válasz Prof. Vágvölgyi Csaba opponensi véleményére

Mindenekelőtt, szeretném megköszönni Vágvölgyi Csaba Professzor Úrnak, hogy a dolgozatom bírálatára időt fordított, munkámat alaposan, mélyrehatóan tanulmányozta és véleményezte. Ugyancsak köszönöm, hogy az értekezést nyilvános vitára javasolja. Kritikai megjegyzéseivel teljes mértékben egyetértek.

Kérdéseire sorrendjük szerint válaszolok.

1. *A kandidémiák és általában a Candida okozta véráramfertőzések jelentősége több helyen növekvő tendenciát mutat, miközben a bakteriális antibiotikum-rezisztencia terjedése is egyre nagyobb kihívást jelent. A jelölt véleménye szerint mi állhat elsősorban a Candida fertőzések arányának, illetve klinikai jelentőségének növekedése mögött: a betegpopuláció megváltozása, az invazív beavatkozások gyakoribbá válása, az antifungális profilaxis és empirikus terápia hatása, vagy más tényezők?*

Válasz: Bár a kérdés elsőre nagyon könnyűnek tűnik, a megválaszolása egyáltalán nem egyszerű.

Először szeretnék egy táblázattal szolgálni, amelyben a 2024-es év vérből és hasüregből izolált gombás kórokozói láthatók Egyetemünk klinikáiról.

Fajok	Vér		Hasüreg	
	darab	%	darab	%
<i>Candida albicans</i>	16	45,7	35	60,4
<i>Candida glabrata</i>	3	8,57	13	22,4
<i>Candida tropicalis</i>	8	22,86	3	5,2
<i>Candida parapsilosis</i>	3	8,57	-	-
<i>C. krusei</i>	3	8,57	-	-
<i>C. pararugosa</i>	1	2,86	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	1	2,86	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	3	5,2
<i>C. kefyr</i>	-	-	2	3,5
<i>Candida lusitanae</i>	-	-	1	1,7
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	1	1,7
Összesen	35	100	58	100

Az táblázat adatai alapján a véráram és a hasüreg, mint steril testtájak együttesen alkotják az invazív candidasis kritériumát (bár a *Saccharomyces cerevisiae* is szerepel a hasüregi kórokozók között). A neutropéniás betegek profilaxisa flukonazollal vagy vorikonazollal egyértelműen csökkentette az utóbbi években az invazív candidasis (és benne a candidemia) gyakoriságát. A

mellkasi és a hasüregi műtétek, illetve a műtétekkel kapcsolatos varratelégtelenség a leggyakoribb rizikófaktorok között szerepelnek. Az alapbetegségek közül a cukorbetegség, a hasnyálmirigy nekrotizáló gyulladása és tályogképződése, vérképzőszervi megbetegedések idősebb betegek esetén egyértelmű rizikófaktorok számítanak. Az újszülötteknél, különösen az alacsony testsúllyal született babáknál nemcsak a véráram, de a központi idegrendszer *Candida* eredetű fertőzésével is számolni kell. Ezeknél a betegeknél előzetesen szinte mindig történt széles spektrumú antibiotikus kezelés (vagy profilaxis), amely további rizikófaktorok számíthat. Szeptikus betegnél, különösen ha kolonizáció is megfigyelhető (nem steril testtájékról, pl. torokból tenyésztett ki valamilyen *Candida* faj) a klinikusok antifungális szerrel is kiegészítik az antibakteriális terápiát. Mivel a széles spektrumú antibakteriális terápia kiirhatja a beteg normál vastagbél flóráját, a betegek probiotikumokat kapnak, amelyben benne lehet a *S. cerevisiae* (ilyen az Enterol készítmény), vagy a *C. kefir* (a kefirben). A táblázat adataiból egyértelműen látható, hogy a *C. albicans* még mindig a leggyakoribb kórokozó, főleg a hasüregi fertőzéseknél, de a nem-*C. albicans* fajok jelentősen előtérbe kerültek. A bőrt könnyen kolonizáló, jó biofilm képződési tulajdonsággal rendelkező *C. albicans*, *C. tropicalis* és a *C. parapsilosis sensu stricto* előfordulása véráramfertőzéseknél nem véletlen, de szembevetve a hasüregi kórokozóknál a *C. glabrata* relatív magas aránya és a *C. parapsilosis sensu stricto* hiánya. Mindenképpen érdekes a bél normál flóráját megőrizni hivatott *C. kefir* és a *S. cerevisiae* jelenléte a hasüregi mintákban.

Összegezve: a Tisztelt Bíráló által felvetett okok mellett az idősödő betegpopuláció, a súlyos alapbetegségek, az intenzív osztályokon tapasztalható eredményesebb betegápolás, az alacsonyabb virulenciájú, de jó biofilm képződési kapacitással rendelkező nem-*albicans Candida* fajok előretörése következtében egyre nagyobb számú invazív *Candida* fertőzést, beleértve a véráramfertőzéseket is diagnosztizálunk.

2. A posakonazol esetében a *C. parapsilosis* izolátumoknál a jelölt az MFC alapján több esetben fungicid hatást észlelt, míg az idő-ölés görbék ezt nem támasztották alá. A dolgozatban ennek egyik lehetséges magyarázataként az antifungális carryover jelenség merül fel. Milyen további, egyszerűen kivitelezhető kontroll kísérlettel lehetne ezt a lehető legmeggyőzőbben igazolni vagy kizárni?

Válasz: A jelenség mögött az állhat, hogy a 200 µL térfogatú üregben túl nagy volt a posakonazol koncentráció. Miután az üreg teljes tartalmát kioltottuk 2 darab Sabouraud agarra, majd száradás után kaccsal eltávolítottuk a gyógyszer forrásától (azaz a gombafoltról „kihúztuk” a gombákat), valószínűleg a kaccsal is tovább vittük a posakonazolt.

Legegyszerűbben úgy járhatunk el, ha az üregek tartalmát 5 vagy 10 mL-es fiziológiás sóoldatot vagy desztillált vizet tartalmazó csőbe pipettázzuk. Ezáltal a posakonazol koncentráció lecsökken, de a gombák száma nem változik. Ezután alkalmazhatunk vákuum filtrációt (pórus méret 0,45 µm), amelynek hálóján a gombasejtek fennakadnak. A filtert Sabouraud agarra helyezük, majd inkubáljuk. Ha történik növekedés, az antifungális carryover bizonyítottnak vehető.

3. A nagykoncentrációjú echinocandinok mellett megfigyelt csökkent öltő aktivitás kapcsán a jelölt több helyen a kitintartalom növekedésének lehetséges szerepét említi. Mennyiben tartja ezt általános mechanizmusnak, és mennyiben lát inkább faj-, illetve izolátum specifikus eltéréseket a háttérben?

Válasz: A négy echinocannal végzett kísérleteinkben talán túl sok faj/echinocandin kombinációban észleltük a jelenséget. Az viszont tény, hogy olyan alacsony caspofungin koncentrációk hatására is mint 0,015 mg/L (*C. albicans* esetén), illetve 0,05 mg/L (*C. auris*

esetén), a fő stresszválasz útvonalak aktiválódnak (<https://doi.org/10.1038/s41467-025-61678-1>). A sejtfal merev részében a β -1,3 glukán mennyisége *C. albicans* esetén az eredeti 94%-ról 47%-ra, és *C. auris*-nál 80%-ról 41% értékekre csökkent, míg a kitin az eredeti 1-3%-ról mindkét fajnál 44-48%-ra növekedett. Ezen *in vitro* eredmények birtokában, illetve a korábbi irodalmi adatok alapján is az echinocandin stressznek *in vivo* is indukálni kell valamilyen mértékű kitin szint növekedést a gombában. Jelenlegi tudásom alapján, én egy általános mechanizmusnak tartom ezt a jelenséget

Hangsúlyozni kell, hogy a paradox növekedés egy olyan *in vitro* jelenség, amelynek a szerepét *in vivo* még senki sem tudta bizonyítani. Mivel 50% szérumban a jelenséget nem észleljük, általánossá vált a vélemény, hogy *in vivo* nincsenek olyan magas echinocandin koncentrációk (a szabad gyógyszer hipotézis alapján), amelyek *in vivo* paradox módon növelnék a terápiás sikertelenséget nagydózisú echinocandin kezelés során.

4. *A kaszpopungin dózisemelésével kapcsolatban a dolgozat egyik fontos megállapítása, hogy az emelt dózis in vivo nem bizonyult hatékonyabbnak a standard kezelésnél. A jelölt szerint ebben inkább farmakokinetikai, farmakodinámiás vagy modell-specifikus tényezők játszanak elsődleges szerepet, és mi lenne a legjobb következő lépés e kérdés tisztázására?*

Válasz: A nagy fehérje kötődésű echinocandinok esetén a szabad gyógyszer szint egy hipotetikus 10, 20 vagy 30 mg/L-es csúskonzentrációk esetén 97%-os fehérje kötődéssel számolva nem több, mint 0,3, 0,6 illetve 0,9 mg/L, amely értékek 99%-os kötődéssel számolva a harmadukra esnek le. Mivel a csúskonzentrációk (C_{max}) csak 1-2 óráig figyelhetők meg, és a minimális koncentrációk (C_{min}) nem nagyobbak mint 2 mg/L, ezért a vérben alacsonyabbak lesznek azok az echinocandin koncentrációk, amelyek a gombákkal kapcsolatba lépnek. A belső szervekben ezeknél a koncentrációknál jóval kevesebb mérhető. Azaz farmakokinetikai/farmakodinámiái szempontból a további elimináció nehéz.

A neutropéniás modell választása azért előnyös, mert így „tisztán” az antimikotikum hatását tudjuk mérni, hiszen egy normál immunrendszerű, nőstény egér esetén teljesen más eredményeket kaphatnánk. Ez azt jelenti, hogy az immunrendszer működése miatt a vesékben, mint célszervekben sokkal alacsonyabb lenne a gombaszám mind a kontroll, mind pedig a kezelt egerekben, még nagyobb beadott gombadózisok esetén is. Ezzel együtt korlátozó tényező a túl magas oltási csíraszám, hiszen fajtól függően az oltóanyagban összecsapódott gombák a létfontosságú szerveket embolizálva 1-2 nap elpusztítják a kísérleti állatot (mint, ahogy számos elő-kísérletünkben ez meg is történt). Nagyon nehéz lenne modellezni a katéter használatával összefüggő fertőzéseket is, illetve egy alapbetegség (pl. hasüregi műtét) miatti intermittáló kórokozó beáramlást a keringési rendszerbe. A neutropéniás modell ezeket a korlátozó tényezőket kiküszöböli, ráadásul a nőstény és a hím egerek egyformán használhatóak voltak a kísérletekben (doi: 10.3389/fimmu.2022.956448.).

5. *Hogyan értelmezendők klinikailag a „psilosis” csoporton belüli in vitro MIC különbségek, ha a jelölt in vivo modellben azt találta, hogy terápiás szempontból nincs érdemi különbség a fajok között?*

Válasz:

Egyezve a nemzetközi irodalommal (DOI 10.1099/jmm.0.001640), az általunk vizsgált törzsek flukonazol, amphotericin B és caspofungin MIC értékei 24 órás inkubáció után egyaránt alacsonyak voltak (a dolgozat **20. táblázata**). Az átmenetileg neutropéniás egérmodellben a napi 20 mg/kg flukonazol, és a napi 1 mg/kg amphotericin B dózisok számomra megnyugtató

eredményt adtak, azaz mindhárom faj ellen hatékony volt mindkét gyógyszer. Az echinocandinok iránti genetikai, csökkent érzékenység miatt a tartósan neutropeniás egérmódelben bíztam jobban. Mindkét módelben, mindhárom faj ellen a napi 5 mg/kg caspofungin hatékonynak bizonyult, ami embernél napi 70 mg napi dózisnak felel meg. A kísérlet elvégzése idején MALDI-TOF még csak nagyon kevés laboratóriumban állt rendelkezésre a rutin diagnosztikában, és a szénhidrát-asszimiláción alapuló tesztek nem voltak képesek a „psilosis” csoportba tartozó három fajt elkülöníteni egymástól. A több mint 10 évvel ezelőtti diagnosztikai viszonyokat figyelembe véve, ha a „psilosis” csoportba tartozó kórokozók echinocandin, amphotericin B és flukonazol MIC értékei alapján nem merül fel szerzett rezisztencia mechanizmus, akkor a csoport bármelyik tagja esetén a normál dózisú amphotericin B vagy flukonazol, illetve valamelyik emelt napi dózisú echinocandin alkalmazása esetén terápiás siker várható.

6. *A jelölt szerint veszítünk-e klinikailag releváns információt azzal, hogy a rutin MIC leolvasás jellemzően 24 óránál történik, miközben a paradox növekedés és a trailing egy része csak 48 óránál válik jól láthatóvá?*

Válasz: A paradox növekedés és a trailing jelenségeket a standard mikrodilúciós módszer során lehet a leggyakrabban megfigyelni, azaz a kutatások során találkozunk inkább velük. A rutin diagnosztikai MIC meghatározás során az a legfontosabb, hogy a beteg kezelése minél hamarabb elkezdődjön az *in vitro* hatékony gyógyszer(ek) alapján. Mivel a 24 és a 48 órás MIC eredmények között nem volt akkora hígítási különbség, hogy az érzékenységi kategória is megváltozzon, ezért mind a CLSI, mind pedig az EUCAST elégségesnek tartja a MIC értékek meghatározását 24 órás inkubáció után (<https://doi.org/10.1016/j.drug.2011.01.004>). Véleményem szerint a legfontosabb, hogy a rutin diagnosztikában dolgozó mikrobiológusok tudjanak ezekről a jelenségekről, és tudják az eredményeket megfelelően értékelni. Különösen vonatkozik ez olyan helyzetekre, amikor E-teszttel vagy MIC-teszt sztrippel végzünk MIC érték meghatározást, és a dolgozatban szereplő növekedéseket tapasztaljuk a plasztik csík körül (**10. ábra** a dolgozatban).

Természetesen új antifungális szerek bevezetésénél mind a paradox növekedést, mind pedig trailing jelenséget érdemes vizsgálni, adatokat gyűjteni. Valószínűleg nem veszítünk releváns információkat, illetve több haszonnal jár a betegek szempontjából, ha a MIC értékeket 24 óra múlva határozzuk meg.

7. *Ha invazív *C. auris* fertőzésben az echinocandinok az elsődleges választandó szerek, ugyanakkor penetrációjuk a húgyutakba és a központi idegrendszerbe csekély, miközben az amphotericin B a dolgozat szerint a meningoencephalitis kezelésében hatástalan volt, akkor a jelölt milyen terápiás stratégiát tartana reálisnak CNS- vagy húgyúti érintettség esetén?*

Válasz: A dolgozatban csak olyan izolátumokkal dolgoztunk, amelyeknek a MIC értéke ≤ 1 mg/L volt, így az CDC javaslata alapján *in vitro* az érzékeny kategóriába tartoztak, azaz eredményeinket ennek a tudatában kell értékelni. Eredményeink azt jelentik, hogy az *in vitro* érzékenynek minősülő izolátumok ellen sem várhatunk minden esetben jó terápiás hatást. A központi idegrendszer fertőzései esetén az amphotericin B kombinációja (akár liposzómás formában is) az 5-flucitozinnal egy lehetséges alternatíva, hiszen az 5-flucitozin értékek az első öt klád ellen rendkívül alacsonyak ($\leq 0,25$ mg/L, doi: 10.1128/jcm.00399-25). Magas amphotericin B MIC értékeknél (>1 mg/L) vorikonazol, micafungin vagy caspofungin a lehetséges alternatívák, ha a MIC értékek nem magasak (doi: 10.1016/j.wneu.2025.124775.). Az echinocandinok pozitív hatását több esetben klinikailag is dokumentálták, jelezve, hogy

valamilyen mértékű diffúziójuk lehetséges a központi idegrendszerbe. Újabban (lévén más lehetőség nincs!), az intratekális vagy intraventrikuláris caspofungin (napi 10 mg/kg) vagy a liposzómás amphotericin B (0,125-0,25 mg másnaponta, 2 gramm kumulatív dóziséig) (doi: 10.1007/s40263-024-01065-4.) terápiás lehetőségeket is alkalmaznak. Ezen adagolási módok nem veszélytelenek, de számos esetben terápiás sikereket értek el (doi: 10.1016/j.wneu.2025.124775.).

Bár több alkalommal kontaminánsnak vélelmezték az alsó húgyutakból kitenyészett *C. auris*-t, Fen és munkatársai eredményei alapján akár a kolonizált betegek 20%-ánál is candidemia fejlődhet ki (<https://doi.org/10.2147/IDR.S551745>). Először tehát azt kell eldönteni, hogy a kitenyészett *C. auris*-nak van-e klinikai jelentősége. Ha úgy tartjuk, hogy igen, akkor az echinocandinok ajánlottak, annak ellenére, hogy az echinocandinok kiválasztódása kismértékű a vizeletbe. Terápiás sikertelenség esetén echinocandin plusz amphotericin B deoxikolát lehet a választás. Ismert echinocandin rezisztencia esetén amphotericin B deoxikolát plusz 5-flucitozin, amely kombinációhoz az amphotericin B deoxikolát húgyhólyag öblítést is ajánlják (50 mg/L) (<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1013138>; <https://doi.org/10.2147/IDR.S551745>).

8. A jelölt a *C. auris* esetében új jelenségként írja le a miokardium kontrakciós sáv nekrozisát. Mennyire tartja ezt fajspecifikus, illetve modellspecifikus megfigyelésnek, és lát-e benne olyan lehetőséget, hogy a kevésbé virulensnek tekintett *Candida* fajok okozta véráramfertőzésekben a szívérintettséget a gyakorlatban alul becsülhetjük?

Válasz: Az intravénás fertőzéssel bekerült kórokozók a vérrel együtt bármely szerbe eljuthatnak, aminek szepszis-szeptikus sokk lesz a következménye a több-szervi működési elégtelenséggel együtt. A szív ilyen típusú érintettségét a baktériummal vagy gombával fertőzött egérben még nem vizsgálták. Véleményem szerint a szepszishez társult myocarditis ami a szív működésének a csökkenését eredményezi (vezetési zavarok, szisztolés és diasztolés diszfunkció, stb.) kevésbé virulens kórokozóknál is, mindenképpen figyelmet érdemel. Hiszen egy virulensebb kórokozóval (*Staphylococcus aureus* vagy a gombáknál maradv, a *C. albicans*) való fertőzés egy gyorsabb lefutású szisztémás fertőzést fog eredményezni, döntően az endocardium érintettségével. A myocardiumban nagyon sűrűn elhelyezkedő nagy aggregátumok már fizikai jelenlétük miatt is funkcióromlást idéznek elő, miközben a szepszis-szindróma következtében erőteljes katekolamin kiáramlás történik. A nagymértékű katekolamin kiáramlás egyik következménye lehet a kontrakciós sáv nekrozis. Úgy vélem ez magának a patogenezisnek a következménye, így nem tartom kizártnak, hogy egyéb kisebb virulenciájú *Candida* fajnál is megtalálható, de akár baktériumok okozta myocarditisnél is felfedezhető. Invazív *Candida* fertőzések esetén ezért a myocardium érintettsége valószínűleg sokkal gyakoribb.

Debrecen, 2026. június 07.

Dr. Majoros László