major@med.unideb.hu_342_25

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

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Dr. Majoros László

Debrecen, 2025

Tartalom

Rövidítések jegyzéke 4
2. Előszó 5
3. Irodalmi háttér 6
3.1. A *Candida* fertőzések patogenezise 6
3.2. A *Candida* fertőzések epidemiológiája 7
3.3. *Candida orthopsilosis*, *Candida metapsilosis* és a *Candida auris* 15
3.4 Antifungális szerek invazív *Candida* fertőzések kezelésére 17
3.4.1. Amfotericin B 17
3.4.2. 5-fluorocitozin 19
3.4.3. Triazol típusú antifungális szerek 19
3.4.4. Echinocandinok 24
3.4.5. Az echinocandin rezisztencia 28
3.4.6. A nagydózisú echinocandin terápia és a paradox növekedés 29
3.4.7. A szérum echinocandin farmakodinámiára kifejtett hatása 31
3.4.8. Az első generációs echinocandinok klinikai hatékonysága 32
4. Célkitűzések 35
5. Anyagok és módszerek 37
5.1. A sarjadzó gombák eredete 37
5.2. Sarjadzó gombák tenyésztése és azonosítása 37
5.3 Antifungális szerek *in vitro* aktivításának a meghatározása 38
5.3.1. Antifungális szerek feloldása 38
5.3.2. Minimális gátló koncentráció meghatározása leves-hígításos módszerrel 38
5.3.3. Minimális gátló koncentráció meghatározása MIC-teszt sztrip segítségével 40
5.3.4. Minimális fungicid koncentráció meghatározása 40
5.3.5. Az idő-ölés görbék felvétele 40
5.3.6. Az ölési ráta meghatározása 41
5.3.7. Antifungális szerek alkalmazása kombinációban 42
5.4. Antifungális szerek *in vivo* hatékonysága 42
5.4.1. A kísérletben felhasznált egerek immunszuppresszálása 42
5.4.2. A fertőzés menete 43
5.4.3. Antifungális kezelések 43
5.4.4. Szervtenyésztés 44
5.4.5. Vizelet gyűjtése 44
5.4.6. Statisztikai elemzés 44
5.4.7. Szövettani vizsgálat 45
6. Eredmények 46
6.1. Posakonazol *in vitro* akitivitása *Candida* fajok ellen 46
6.1.1. MIC értékek meghatározása mikro-leveshígításos módszerrel 46
6.1.2. Minimális fungicid koncentráció meghatározása 47
6.1.3. Posakonazol *in vitro* aktivitása az idő-ölés görbék alapján 48
6.2. Rezafungin, anidulafungin, kaszpofungin, mikafungin, flukonazol és amfotericin B *in vitro* aktivitása *Candida* fajok és *Saccharomyces cerevisiae* ellen 52
6.3. *Candida* fajok paradox növekedésének a vizsgálata 58
6.3.1. Paradox növekedés vizsgálata a MIC értékek alapján a standard mikro leves-hígításos módszer és MIC-teszt sztrip alapján. 58
6.3.2. Paradox növekedés vizsgálata a minimális fungicid koncentráció és az idő-ölés görbék segítségével alapján 61

6.4. Nikkomicin Z hatása a kaszpofungin, az anidulafungin és a mikafungin ölési aktivitására az idő-ölés görbék alapján 63
6.4.1. Nikkomicin Z hatása a kaszpofungin ölési aktivitására 63
6.4.2. Nikkomicin Z hatása az anidulafungin és a mikafungin ölési aktivitására a *Candida auris* négy fő kládja esetén 66
6.5. Humán szérum hatása a kaszpofungin ölési aktivitására 73
6.6. Kaszpofungin *in vitro* és *in vivo* hatékonysága *Candida glabrata*, *Candida krusei* és *Candida inconspicua* izolátumok ellen 75
6.6.1. Kaszpofungin MIC értékek RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben 75
6.6.2. Kaszpofungin ölési ráta értékek korrelációja az *in vivo* hatékonysággal *Candida glabrata* esetén. 76
6.6.3. Kaszpofungin ölési ráta értékek korrelációja az *in vivo* hatékonysággal *Candida krusei* és *Candida inconspicua* esetén 79
6.7. Antifungális szerek *in vivo* hatékonysága a „*psilosis*” csoport ellen 83
6.7.1. Flukonazol, amfotericin B és kaszpofungin *in vivo* hatékonysága átmenetileg neutropéniás egerek esetén 83
6.7.2.Kaszpofungin *in vivo* hatékonysága tartósan neutropéniás egerek esetén. 85
6.8. *Candida auris* és *Candida albicans* virulenciájának összehasonlító vizsgálata neutropéniás egérmodellben 88
6.8.1. *Candida auris* kládok és *Candida albicans* virulenciája a letalitás alapján 89
6.8.2. *Candida auris* kládok és *Candida albicans* virulenciája a belső szervekből kitenyészett gombasejtek alapján 91
6.8.3. *Candida auris* kládok virulenciája a szív, a vesék, a máj, és a lép szövettani vizsgálata alapján 94
6.8.4. *Candida albicans* virulenciája a szív, a vesék, a máj, és a lép szövettani vizsgálata alapján 96
6.9. Amfotericin B *in vitro* és *in vivo* hatékonysága *Candida auris* ellen 98
6.9.1. Amfotericin B *in vitro* hatékonysága a MIC értékek és az idő-ölés görbék alapján 98
6.9.2. Amfotericin B *in vivo* hatékonysága a letalitás alapján 100
6.9.3. Amfotericin B *in vivo* hatékonységa a szervi perzisztencia alapján 102
6.9.3. Amfotericin B *in vivo* hatékonysága a vizeletből kitenyésztett gombák száma alapján 104
6.9.4. Amfotericin B *in vivo* hatékonysága a szövettani vizsgálatok alapján 104
7. Megbeszélés 107
7.1. Posakonazol *in vitro* hatékonysága *Candida* fajok ellen 107
7.2. Antifungális szerek *in vitro* és *in vivo* hatékonysága a „*psilosis*” csoport ellen 109
7.3. Az echinocandinok hatékonyságának a korlátai a *Candida* fajok ellen 112
7.4. *Candida auris* kládok virulenciája és amfotericin B iránti érzékenysége neutropéniás egérmodellben 119
8. Eredmények összefoglalása 126
9. Új megállapítások 129
10. Köszönetnyilvánítás 130
11. Irodalomjegyzék 131
12. Publikációk 154
12.1. Az értekezést megalapozó *in extenso* közlemények (tematikus sorrendben) 154
12.2. Az MTMT által csatolt publikációs lista idézők számával 157
12.3. Tudománymetriai adatok 171

Rövidítések jegyzéke

AMB	Amfotericin B
ANF	Anidulafungin
AUC	Area under the concentration curve (A koncentráció görbe alatti területe)
ATCC	American Type Culture Collection
BMD	Broth microdilution (mikro leves-hígításos módszer)
CAS	Kaszpofungin
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFU	Colony forming unit
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
C_{max}	A gyógyszer csúcskoncentrációja
ECV	Epidemiological cutoff value (Epidemiológiai határérték)
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
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 (minimális fungicid koncentráció)
MIC	Minimal inhibitory concentration (minimális gátló koncentráció)
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 hematoxilin
RZF	Rezafungin
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Institute Medium
TE	Trailing effect (MIC érték feletti növekedés)
50% szérum	RPMI-1640+50% humán szérum

2. 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 kaszpofungin *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, kaszpofungin és a mikafungin) hatékonyságának. Ezért az *in vivo* viszonyokat jobban reprezentáló, 50% szérumot tartalmazó RPMI-1640 tápközegben is meghatároztuk a nagy fehérjekötődéssel rendelkező kaszpofungin *in vitro* aktivitását számos *Candida* faj ellen, beleértve a paradox növekedést mutató *Candida* fajokat is. Választ kerestünk arra, hogy megjósolható-e a kaszpofungin *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.

3. Irodalmi háttér

3.1. A *Candida* fertőzések patogenezise

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 véráram fertőzésekből eredő halálozás az 1970-es években gyakorlatilag a baktériumokra korlátozódott. Az új béta-laktám antibiotikumok (karbapemenek, a III.-V. generációs cefalosporinok) és a fluorokinolonok terápiás alkalmazása, az intenzív terápiás osztályokon tapasztalható hatékonyabb ellátással együtt javította a betegek túlélését (Kang és mtsai., 2014; Lockhart és mtsai., 2007; Martin és mtsai., 2003; Vincent és mtsai., 2009; Wisplinghoff és mtsai., 2004). A radikális sebészeti beavatkozások és a daganatos betegségben szenvedő betegek legújabb kemoterápiás szerekkel való kezelése miatt bekövetkező neutropénia, hosszabb kórházi tartózkodást és a betegek gombafajokkal történő kolonizációját eredményezte (Martin és mtsai., 2003; Vincent és mtsai., 2009; Wisplinghoff és mtsai., 2004). A *Candida* fajok általi kolonizáció jól magyarázható a különböző virulencia faktorok előfordulásával, illetve azzal, hogy kis csíraszámban a szájüregben, a vastagbélben és a hüvelyben a normál flóra részét képezik. Bár a gombák okozta fertőzések patogenezisét korábban kevésbé ismerték, az utóbbi 20-30 évben sikerült azonosítani azokat a virulencia faktorokat, amelyeknek szerepe van a *Candida* fertőzések kialakulásában. A kolonizációban az ALS fehérje család (agglutinin-like sequence) (Murciano és mtsai., 2012; Oh és mtsai., 2019; Verstrepen és Klis, 2006), a hifa-asszociált Hwp1 fehérje (Mayer és mtsai., 2013; Talapko és mtsai., 2021), valamint a különböző szekretált aszpartil proteinázok a fontosak, míg az invázióban a szekretált aszpartil proteinázok, a foszfolipázok és a lipázok játszanak kulcsfontosságú szerepet (Parra-Ortega és mtsai., 2009; Silva és mtsai., 2014; Wächtler és mtsai., 2012). A *C. albicans* és a *C. dubliniensis* az egysejtű (élesztő) forma mellett hifát is képeznek, amelynek a virulenciában játszott szerepe jól ismert (Moran és mtsai. 2012; Talapko és mtsai., 2021).

Minden olyan tényező, ami a bőr és a nyálkahártyák épségét károsítja, illetve a neutrofil granulociták számát és működését csökkenti, kolonizációhoz majd a steril testtájak inváziójához vezethet (Colombo és mtsai., 2014; Ferreira és mtsai., 2015; Kett és mtsai., 2011; Martin és mtsai., 2003; Pfaller és mtsai., 2012/b; Walsh és Gamaletsou, 2013). A

kemoterápia okozta mukozitisz, a szteroid kezelés, a gyomor-bél traktuson végzett sebészeti beavatkozások és az égési sérülések megnyitják a kaput a különböző virulencia faktorokkal rendelkező gombák előtt, amelyek a vérbe kerülve kandidémiát (fungémiát) okoznak. A centrális és perifériás katéterek által okozott katéter-asszociált fertőzések patogenezisében fontos a kórokozó biofilmet létrehozó képessége (Kovacs és mtsai., 2024; Nobile és mtsai., 2008; Trofa és mtsai., 2008). Katéter-asszociált *Candida* fertőzéseknél a neutropénia nem a fő rizikófaktor, ezért a fertőzött katéter eltávolítása javíthatja a túlélést (Pappas és mtsai., 2016). Kandidémia következtében a belső szervek (szem, máj, lép, vesék, központi idegrendszer) másodlagos fertőzése jöhet létre (akut disszeminált kandidiázis), amelyeknek a mortalitása 70-80%-os is lehet (Colombo és mtsai., 2014; Kollef és mtsai., 2012). A betegség korai szakaszát túlélő betegeknél krónikus disszeminált kandidiázis (hepatoszplenális kandidiázis) alakulhat ki, elsősorban a neutropéniás betegeknél, akiknek a kezelése több hónapot is igénybe vehet (Kontoyiannis. és mtsai., 2000; Majoros és mtsai., 2006; Pappas és mtsai., 2016).

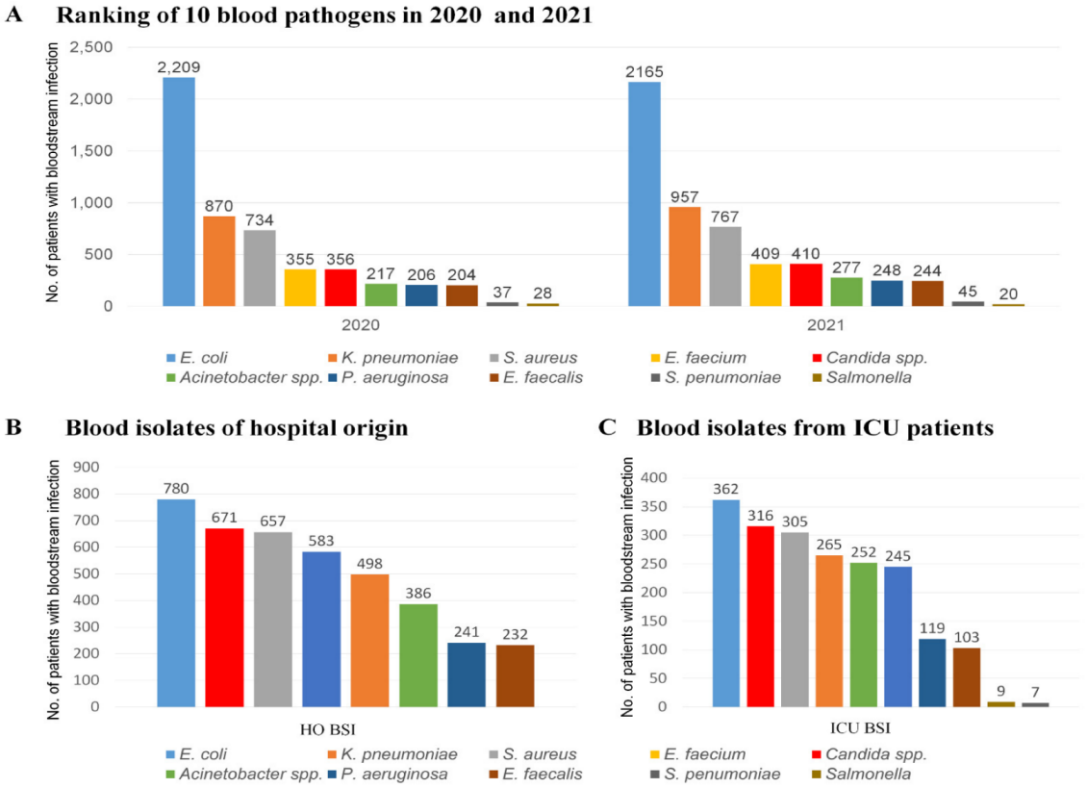
A széles spektrumú antibiotikumok használata, különösen az anaerob baktériumok ellen is hatékony antibiotikumok (pl. az amoxicillin+klavulánsav vagy a metronidazol), szintén az ismert rizikófaktorok közé tartoznak (Colombo és mtsai., 2014; Pfaller és mtsai., 2012/b). Koraszülöttség vagy a túl magas életkor szintén prediszponál az invazív *Candida* fertőzések kialakulására. Elsősorban 1000 gramm alatti újszülötteknél a neutrofil granulociták fagocitózisa csökkent, ami a jó biofilm képző tulajdonsággal rendelkező *C. albicans* és *C. parapsilosis* okozta kandidémiákhoz vezethet (Gácser és mtsai., 2007; Pfaller és Diekema, 2007; Pfaller és mtsai., 2012/b; Trofa és mtsai., 2008). Idősebb betegek *C. glabrata* okozta invazív kandidiázisánál egyértelmű összefüggés van a kolonizáció és a kialakuló kandidémia között, ami az alapbetegségekkel együtt magas halálozást eredményezhet (Pfaller és Diekema, 2007).

3.2. A *Candida* fertőzések epidemiológiája

A *Candida* fajok által okozott invazív fertőzések jelentőségére Wisplinghoff és munkatársai 2004-ben megjelent közleménye hívta fel a figyelmet. A szerzők az 1995-2002 évek közötti időszakban 24179 darab véráramfertőzést vizsgáltak az Amerikai Egyesült Államok kórházaiban. Eredményeik alapján, bár a leggyakoribb véráram fertőző kórokozók továbbra is a Gram-pozitív baktériumok voltak, a negyedik leggyakrabban izolált kórokozókká (9%) a különböző *Candida* fajok léptek elő. A *Candida* fajok a

gyermekgyógyászati és urológiai osztályokon a második, míg az általános sebészeti osztályokon a harmadik leggyakoribb patogének voltak. Eredményeik alapján *Candida* fajok esetén volt a legmagasabb a mortalitás (39,2%), megelőzve a *Staphylococcus aureus* (25,4%), a *Pseudomonas aeruginosa* (38,7%) és az *Acinetobacter baumannii* (34%) fajok okozta mortalitást. Az 1890 *Candida* izolátum közül a *C. albicans* volt a leggyakoribb (54%), amelyet a *C. glabrata* (19%), a *C. parapsilosis* (11%), a *C. tropicalis* (szintén 11%) és a *C. krusei* (2,4%) követtek. A vizsgált időszakban másfélszeres növekedést észleltek a véráram *Candida* fertőzéseit tekintve (Wisplinghoff és mtsai., 2004). A közelmúltban Won és munkatársai (2022) nagyon hasonló eredményeket publikáltak Dél-Koreából, akik a 2021-2022-es években vizsgálták a véráramfertőzések legfontosabb kórokozóinak az eloszlását a nagyobb kórházakban (**1. ábra**).

1. ábra. A tíz leggyakoribb véramfertőzést okozó kórokozó Dél-Korea kórházaiban a 2020-2021-es években (**A**). Kórokozók eloszlása kórházban szerzett véráram fertőzések (**B**) illetve intenzív terápiás osztályok esetén (**C**). (https://doi.org/10.3390/jof8100996)



A 10 legfontosabb véráram fertőzést okozó patogének között a *Candida* fajok az ötödik helyet foglalták el, de a kórházban szerzett véráramfertőzők között és az intenzív terápiás

osztályokon ápolt betegek esetén az *Escherichia coli* után a második leggyakoribb kórokozók voltak (**1. ábra**) (Won és mtsai., 2022).

Ugyanezen vizsgálatokból az is kiderült, hogy az ázsiai országokban a *C. tropicalis* a második leggyakoribb kórokozó, míg a *C. krusei* a ritkább kórokozók közé tartozik (**1. táblázat**) (Won és mtsai., 2022). Számos olyan kórokozó is megtalálható volt, amelyeket az utóbbi 20-30 évben fedeztek fel (pl. *C. auris*) vagy különítettek el más fajtól (pl. *C. dubliniensis*, *C. orthopsilosis,* vagy *C. metapsilosis*) (Bays és mtsai., 2024).

1. táblázat. Kandidémiából izolált kórokozók eloszlása Dél-Korea kórházaiban a 2020-2021-es években. (https://doi.org/10.3390/jof8100996)

Candida faj	Izolátumok száma és százalékos eloszlása (%) az egyes években		
	2020	2021	Összes
C. albicans	172 (48.3)	176 (42.9)	348 (45.4)
C. tropicalis	61 (17.1)	74 (18)	135 (17.6)
C. glabrata	57 (16)	76 (18.5)	133 (17.4)
C. parapsilosis	46 (12.9)	62 (15.1)	108 (14.1)
C. guilliermondii	10 (2.8)	2 (0.5)	12 (1.6)
C. lusitaniae	4 (1.1)	5 (1.2)	9 (1.2)
C. krusei	2 (0.6)	3 (0.7)	5 (0.7)
C. fabianii	1 (0.3)	3 (0.7)	4 (0.5)
C. dubliniensis	1 (0.3)	2 (0.5)	3 (0.4)
C. metapsilosis	0 (0)	3 (0.7)	3 (0.4)
C. orthopsilosis	0 (0)	2 (0.5)	2 (0.3)
C. pelliculosa	0 (0)	1 (0.2)	1 (0.1)
C. bracarensis	1 (0.3)	0 (0)	1 (0.1)
C. haemulonii	1 (0.3)	0 (0)	1 (0.1)
C. auris	0 (0)	1 (0.2)	1 (0.1)
Összesen	356 (100)	410 (100)	766 (100)

Az invazív *Candida* fertőzések jelentős költségnövekedést okoznak az egészségügyi intézményekben, megnövelve a kórházi ellátás időtartamát miközben a mortalitás még mindig jelentős (Heimann és mtsai., 2015; Lortholary és mtsai., 2014; Pappas és mtsai., 2016; Pfaller és Diekema, 2007). 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 kaszpofunginnak (CAS) a 10 évvel későbbi bevezetése a terápiás gyakorlatba egyaránt szerepet játszanak (Farmakiotis és mtsai., 2014; Lortholary és mtsai., 2011; Sipsas és mtsai., 2009).

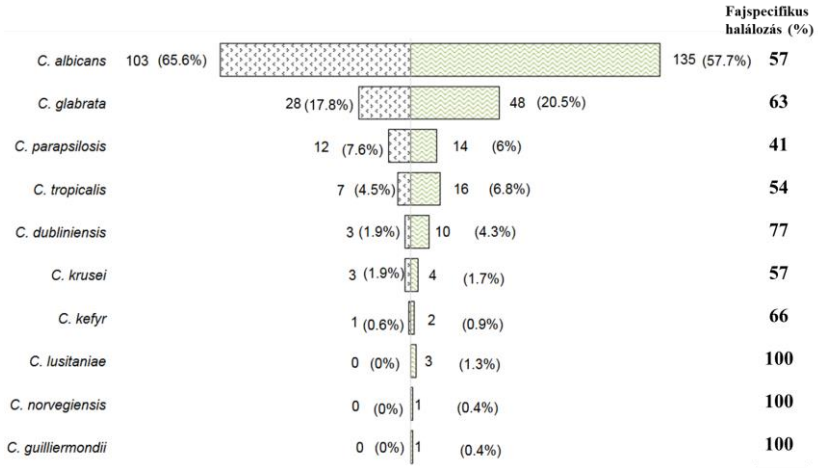
Pfaller és munkatársai (2012/b) prospektív, 3648 beteget érintő vizsgálata a 2004-2008 közötti évek epidemiológiai, antimikotikum felhasználási és mortalitási adatait összegezte, amelyben az Amerikai Egyesült Államokból 23, míg Kanadából két egészségügyi központ vett részt. A leggyakoribb *Candida* faj (42,1%) a *C. albicans* volt, a legfontosabb rizikófaktorok pedig a nem traszplantációs indokkal történt sebészeti beavatkozások, a cukorbetegség, perifériás katéter jelenléte és a szteroid terápia voltak. A második leggyakrabban izolált faj a *C. glabrata* volt (26,7%). A fő rizikófaktorok a cukorbetegség, a perifériás katéter jelenléte, a korábbi szteroid terápia, a magas életkor (az átlag életkor 58 év volt) illetve a profilaktikus antifungális kezelések voltak. A *C. parapsilosis sensu lato* (15,9%) a harmadik leggyakoribb *Candida* faj volt. Elsősorban a gyermekgyógyászati osztályokon, perifériás katétert viselőknél és parenterális táplálásban részesülőknél fordult elő. A *C. tropicalis*-t 8,1%-ban azonosították (297 beteg), elsősorban hematológiai megbetegedésben szenvedőknél, szteroid terápiában részesülteknél, nem traszplantációs sebészeti beavatkozáson átesett betegeknél illetve perifériás katéterrel rendelkező pácienseknél. *C. krusei* okozta kandidémia 113 (3,1%) betegnél fordult elő, akiknél a fő rizikófaktorok a neutropénia, a szteroid terápia és a hematológiai alapbetegségek voltak. A közismert FLU rezisztencia ellenére a betegek egy része FLU kezelésben részesült, bár a terápia döntő mértékben az echinocandinokon alapult (92%). A fajspecifikus halálozás a kandidémia észlelése után 90 nappal a következőképpen alakult: *C. krusei* 46,4%, *C. tropicalis* 44,1%, *C. glabrata* 42,4%, *C. albicans* 37,9% és *C. parapsilosis* 30%, jórészt összhangban a korábbi tanulmányok eredményeivel (Pfaller és Diekema, 2007; Wisplinghoff és mtsai., 2004).

Lortholary és munkatársai (2014) párizsi és a Párizs környéki kórházak intenzív terápiás osztályairól riasztó adatokat közöltek az invazív *Candida* fertőzések okozta mortalitásról. Vizsgálatukban a kandidémia gyakorisága az intenzív terápiás osztályokon és nem-intenzív terápiás osztályokon is szignifikáns mértékben növekedett. A szignifikáns növekedésért a nem-intenzív terápiás osztályokon a *C. albicans* és a *C. glabrata*, míg az intenzív terápiás osztályokon a *C. albicans* volt a felelős. 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 szerző nem

tudott magyarázatot adni ezekre a riasztó adatokra, hiszen az antifungális szerek iránti rezisztencia nagyon alacsony volt. Azt azonban elképzelhetőnek tartotta, hogy a bakteriális szepszisek hatékonyabb kezelése fokozta a betegek túlélését, akik viszont fokozottan érzékenyek voltak a *Candida* fajok okozta invazív fertőzésekre (Lortholary és mtsai., 2014).

Schroeder és munkatársai (2020) a németországi Hamburgban az intenzív terápiás oszályokon 2008-2017 között tanulmányozták a kandidémiák epidemiológiáját, a főbb rizikófaktorokat illetve a betegség végkimenetelét. A fajeloszlás megfelelt az Észak-Amerikában és a nyugat-európai országokban tapasztalható fajeloszlásnak, bár a *C. dubliniensis* gyakoribb volt mint a *C. krusei*. A mortalitást befolyásoló legfontosabb tényezők a májcirrózis, a szeptikus sokk, az emelkedett SOFA score (Sequential Organ Failure Assessment: intenzív terápiás osztályokon a szervkárosodás mértékét jelző, klinikai és laboratóriumi paraméterek alapján számított pontérték), hasi sebészeti beavatkozások versus más sebészeti beavatkozások, a keringés, a légzés és a kiválasztás támogatása, *C. albicans* versus non-albicans *Candida* faj volt a kórokozó, illetve az intenzív osztályon való tartózkodás időtartama. Érdekes módon protektív hatású volt nemcsak az echinocandin terápia, de bármilyen más antifungális terápia is, beleértve a nem megfelelő antifungális szer használatát is. Az összes halálozás 180 nap után nagyon magas (60%-os) volt, 41-100%-os fajspecifikus mortalitással (**2. ábra**) (Schroeder és mtsai., 2020).

2. ábra. 391 kandidémiás, intenzív terápiás osztályon ápolt betegből kitenyészett *Candida* fajok eloszlása és fajspecifikus mortalitása Hamburgban, a 2008-2017-as évek között (Schroeder és mtsai., 2020). Bal oldalon a túlélő, míg jobb oldalon az elhunyt betegekből kitenyészett *Candida* fajok eloszlása látható. A fajspecifikus halálozást a bal és jobb oldali adatok összegzésével készítettem. (doi: 10.1186/s13613-020-00755-8.).



A *Candida* fajok epidemiológiájára a profilaktikusan vagy a terápiásan alkalmazott antifungális szerek is jelentős hatással vannak, ami Sipsas és munkatársainak a 2009-ben publikált eredményeiből is kitűnik (**2. táblázat**).

2. táblázat Vérképzőrendszeri daganatos betegekből illetve őssejt transzplantáción átesett betegekből izolált *Candida* fajok megoszlása (University of Texas M. D. Anderson Cancer Center,Houston).

Faj	Betegek száma (%)		
	1988-1992 N=230	1993-2002 N=281	2003-2007 N=173
C. albicans	79 (34)	38 (13)	41 (24)
C. glabrata	28 (12)	**86 (31)**	**8 (5)**
C. krusei	17 (7)	**68 (24)**	30 (17)
C. parapsilosis	33 (14)	39 (14)	**42 (24)**
C. tropicalis	53 (23)	27 (10)	**37 (21)**
C. guilliermondii	2 (1)	4 (1)	4 (2)
C. lusitaniae	3 (1)	3 (1)	2 (1)
Egyéb *Candida* fajok	-	-	6 (3)
Többféle *Candida*	12 (5)	16 (6)	3 (2)

A FLU bevezetése előtti években (1991) a mikonazol és a ketokonazol voltak használatosak a betegek profilaxisára, aminek következtében a *C. albicans* relatíve alacsonyabb előfordulási gyakorisága (34%) volt megfigyelhető. A második időszakban (1993-2002) a FLU széleskörű használata miatt, a FLU iránt primer (*C. krusei*) és szekunder (*C. glabrata*) rezisztenciával rendelkező fajok előretörése látható. A FLU iránt érzékeny *C. albicans* és *C. tropicalis* okozta invazív megbetegedések száma csökkent. A harmadik vizsgált időszakban (2003-2007) a CAS egyre széleskörűbb használata miatt radikálisan csökkent az echinocandinok iránt kitűnő érzékenységet mutató *C. glabrata* gyakorisága (5%!), miközben az echinocandinok iránt csökkent érzékenységgel rendelkező *C. parapsilosis sensu lato* gyakorisága növekedett. A *C. krusei* prevalenciája stabilan magas maradt, míg a *C. tropicalis* gyakorisága több mint a kétszeresére nőtt (**2. táblázat**) (Sipsas és mtsai., 2009).

Az echinocandinok és a FLU hatása a nem-*Candida albicans* fajok előtörése szempontjából még egyértelműbb, ha az antifungális kezelés mellett kialakuló kandidémiák (az ún. áttöréses, vagy breakthrough kandidémia) faj szerinti eloszlását vizsgáljuk (**3. táblázat**). Az egyik adat a korábbiakban említett M. D. Anderson Cancer Centerből (65 beteg) (Wang és mtsai., 2015), a másik pedig, görögországi hematológiai megbetegedésekkel foglalkozó központokból származik (18 beteg) (Gamaletsou és mtsai., 2014).

Az Amerikai Egyesült Államokból származó tanulmányban a *C. albicans* csupán 1,5%-ban (!) volt izolálható a betegekből. A betegek 74%-a kapott echinocandint (Wang és mtsai., 2015). A görög tanulmány érdekessége, hogy három esetben (14%) *C. orthopsilosis*-t izoláltak. Négy beteg echinocandint (két esetben vorikonazollal és liposzómális amfotericin-B-vel (AMB) kombinálva), 6 beteg liposzómális AMB-t, míg a többiek FLU-t (4 beteg) és posakonazolt (POSA) (3 beteg) kaptak (**3. táblázat**). (Gamaletsou és mtsai., 2014).

3. táblázat. Antifungális kezelés mellett kialakuló kandidémiák faj szerinti eloszlása malignus hematológiai megbetegedésben szenvedőknél (Gamaletsou és mtsai., 2014; Wang és mtsai., 2015).

Fajok	Betegek száma (%)	
	Egyesült Államok	Görögország
C. parapsilosis	23 (33,3)	**10 (48)**
C. orthopsilosis	0 (0)	**3 (14)**
C. tropicalis	16 (23,2)	1 (5)
C. glabrata	12 (17,4)	1 (5)
C. guilliermondii	5 (7,3)	2 (10)
C. kefyr	5 (7,3)	0 (0)
C. lusitaniae	3 (4,4)	0 (0)
C. famata	2 (2,9)	0 (0)
C. krusei	2 (2,9)	1 (5)
C. albicans	**1 (1,5)**	3 (14)
Összes	n=69	n=21

A magyarországi epidemiológiai helyzetről eddig kevés publikáció jelent meg, a korábbi adatok a *C. albicans* dominanciáját mutatták (Dóczi és mtsai., 2002; Majoros és mtsai., 2002; Sinkó és mtsai., 2015). Munkacsoportunk legutóbbi közleménye alapján a 2020-2023 évek közötti időszakban a Debreceni Egyetem klinikáin 149 betegnél diagnosztizáltunk kandidémiát (Kovács és mtsai., 2024), és a nem-albicans *Candida* fajok előretörése volt megfigyelhető. A kandidémiák 41%-ért a *C. albicans*, 20%-ért a *C. parapsilosis sensu stricto*, 14%-ért a *C. glabrata*, 13%-ért a *C. tropicalis*, míg 5%-ért a *C. krusei* feleltek. A maradék 11 izolátum a következő volt: 3-3 *C. fabianii* és *C. lusitaniae*, 2-2 *C. guilliermondii* és *C. metapsilosis* illetve 1 *C. dubliniensis*. A legfontosabb rizikófaktorok a centrális vénás katéter használata (59%), intenzív terápiás osztályon kezelés (50%), teljes parenterális táplálás (44%), invazív lélegeztetés (36%) és pneumonia (34%) voltak. A betegek 53%-kát kezelték FLU-al, 15%-át anidulafunginnal (ANF), 10%-át CAS-al, 6%-kát mikafunginnal (MCF), míg 17 betegnél nem volt adat az antifungális kezelésre vonatkozóan. A 30 napos halálozás 52% (78/149) volt, míg 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% (8/11) volt (Kovács és mtsai., 2024). Adataink nagyon hasonlóak más szerzők eredményeihez, mind a nem-*albicans Candida* fajok előretörése,

mind pedig a magas fajspecifikus mortalitás tekintetében (Lortholary és mtsai., 2014; Schroeder és mtsai., 2020; Won és mtsai., 2022). Bár AMB terápiát nem kaptak a betegek, a terápia még mindig inkább a FLU volt (53% FLU versus 31% echinocandin).

3.3. *Candida orthopsilosis*, *Candida metapsilosis* és a *Candida auris*

Az előző fejezetben felsorolt leggyakoribb *Candida* fajok (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* és *C. krusei*) az esetek nagy részében az invazív *Candida* fertőzések 90-95%-ért felelnek és jól ismertek a rezisztencia viszonyaik is a különféle antifungális szerek iránt (Pfaller és Diekema, 2007). A ritkábban előforduló *Candida* fajok jelentősége az azonosítás nehézsége illetve a kevésbé ismert rezisztencia viszonyaik miatt fontos (Schelenz és mtsai., 2015).

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). Az utóbbi évek epidemiológiai vizsgálatai alapján a „*psilosis*” csoport által okozott invazív fertőzések száma növekszik és a csoporton belül a *C. parapsilosis sensu stricto* a domináns faj. A *C. orthopsilosis* és a *C. metapsilosis* a kandidémiák kb. 1-1 %-ért felelnek (Lockhart és mtsai., 2008; Pemán és mtsai., 2012; Tavanti és mtsai., 2005). A virulencia faktorok széleskörű *in vitro* elemzése alapján a *C. parapsilosis sensu stricto* a leginkább, míg a *C. metapsilosis* a legkevésbé virulens a „*psilosis*” csoporton belül (Gago és mtsai., 2014; Németh és mtsai., 2013; Orsi és mtsai., 2010). Normál immunrendszerű egerek intravénás fertőzése során a három faj virulenciája azonban hasonlónak bizonyult (Trevino-Rangel és mtsai., 2014)

In vitro a *„psilosis”* csoport tagjainak különböző az antifungális szerekkel szembeni érzékenysége; az AMB és az echinocandin MIC (Minimal Inhibitory Concentration=minimális gátló koncentráció) értékek *C. parapsilosis sensu stricto* esetén általában magasabbak, de a FLU MIC értékek alacsonyabbak voltak, mint a *C. metapsilosis* vagy a *C. orthopsilosis* esetén (Cantón és mtsai., 2010; Gomez-Lopez és mtsai., 2008; Lockhart és mtsai., 2008; van Asbeck és mtsai., 2008). A MIC értékek közötti különbségeknek a klinikai jelentősége korábban nem volt ismert.

A *C. auris* az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization, WHO) által a közelmúltban közölt lista alapján napjaink elsődleges fontosságú kórokozójának számít a

C. albicans, a *Cryptococcus neoformans* és az *A. fumigatus* mellett (**4. táblázat**) (WHO, 2022). A *C. auris* világszerte egyre gyakrabban izolálható, tipikusan nozokomiális patogén, amely a kórházi környezetben túlél és nehezen megszüntethető kórházi járványokat képes okozni. Filogenetikailag a *C. krusei*, a *C. lusitaniae* és a *C. haemulonii* fajokhoz áll közel (Lockhart és mtsai., 2017). A hagyományos azonosító módszerek könnyen hamis eredményre vezethetnek, hiszen a *C. auris*-t *C. famata*-nak, *C. haemulonii*-nak, *C. sake*-nek, *Saccharomyces cerevisiae*-nek vagy *Rhodotorula glutinis*-nak azonosíthatják (Satoh és mtsai., 2009; Sekyere, 2018). Klinikai mintákból pontosan csak molekuláris biológiai és MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight) tömegspektrométer (megfelelő adatbázissal) módszerekkel azonosítható a *C. auris*. A *C. auris* eredete az utóbbi időkig nem volt világos (humán?, állati?, vagy környezeti?), de globális terjedése közel egyidőben kezdődött a világban (Lockhart és mtsai., 2017). Teljes genom analízissel jelenleg 6 kládját ismerjük (Dél-Ázsiai, Kelet-Ázsiai, Dél-Afrikai, Dél-amerikai, Iráni és Szingapúri) (Khan és mtsai., 2024; Lockhart és mtsai., 2017; Suphavilai és mtsai., 2024). Az egyes kládok genetikailag jelentősen különböznek egymástól, de egy adott földrajzi területen a törzsek genetikailag hasonlók (Lockhart és mtsai., 2017). Az irodalmi adatok alapján az egyes kládok között a fenotípus és a virulencia alapján jelentős különségek vannak (Borman és mtsai., 2016, Sekyere, 2018, Szekely és mtsai., 2019). A Dél-Afrikai kládhoz tartozó izolátumok 84%-ka fiziológiás sóoldatban spontán nagy aggregátumokat képez és *Galleria mellonella* modellben kevésbé volt virulens mint a nem aggregáló dél-kelet ázsiai izolátumok (Borman és mtsai., 2016). A *C. auris* virulenciájáról emlős állatmodellben korábban kevés adat állt rendelkezésre. Fakhim és munkatársai (2018) ICR immunkompetens egérmodellben a Dél-Ázsiai kládhoz tartozó két izolátum virulenciáját a letalitás (60-80%) és a szöveti perzisztencia alapján a *C. albicans*-hoz találták hasonlónak. Más szerzők immunkompetens illetve átmenetileg neutropéniás BALC/c egér modellekben a letalitás alapján a *C. auris* virulenciáját sokkal kisebbnek találták (Wang és mtsai., 2018, Ben-Ami és mtsai., 2017). Neutropéniás egérmodellben (BALB/c vagy CD-1) Torres és munkatársai (2020) illetve Singh és munkatársai (2019) 100%-os letalitást tapasztaltak az immunkompetens egérmodellel összehasonlítva. Xin és munkatársai (2019) immunkompetens neutrofil elasztáz-deficiens és C57BL/6 BALB/c egérmodellben halálozást még $2x10^8$ CFU/egér dózis esetén sem tapasztaltak, de C5 komplement factor deficiens, neutropéniás A/J egereknél 48 óra múlva 100% volt a letalitás.

In vitro adatok alapján az USA-ban izolált törzsek 90%-ka rezisztens FLU, 30%-ka AMB és 0,5%-ka az echinocandinok iránt (https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html., 2025. május 30.). Intenzív terápiás osztályokon a *C. auris* által okozott halálozás figyelembe véve a COVID-19 pandémiát is, az adekvát terápia ellenére 60-80%-os (Chowdhary és mtsai., 2020; Villanueva-Lozano és mtsai., 2021). Invazív *C. auris* fertőzéseknél jelenleg az echinocandinok az elsődlegesen választandó antifungális szerek, bár penetrációjuk a húgyutakba, a likvorba és az üvegtestbe minimális (Centers for Disease Control and Prevention=CDC) (2025).

4. táblázat. A klinikailag releváns humán kórokozó gombák fontossági sorrendje az Egészségügyi Világszervezet javaslata alapján (WHO, 2022). A félkövér betűkkel szedett fajokat a dolgozatban kísérletesen tanulmányoztuk.

Nagyon fontos csoport	Fontos csoport	Közepesen fontos csoport
Cryptococcus neoformans	***Nakaseomyces glabrata* (*Candida glabrata*)**	*Scedosporium* spp.,
Candida auris	*Histoplasma* spp.,	*Lomentospora prolificans*
Aspergillus fumigatus	Eumycetoma kórokozói*	*Coccidioides* spp.
Candida albicans	Mucorales	***Pichia kudriavzeveii* (*Candida krusei*)**
	Fusarium spp	*Cryptococcus gattii*
	Candida tropicalis	*Talaromyces marneffei*
	Candida parapsilosis	*Pneumocystis jirovecii*
		*Paracoccidioide*s spp

*Madurella spp., Falciformispora senegalensis, Curvularia lunata, Scedosporium spp., Zopfia rosatii, Acremonium spp. és Fusarium spp.,

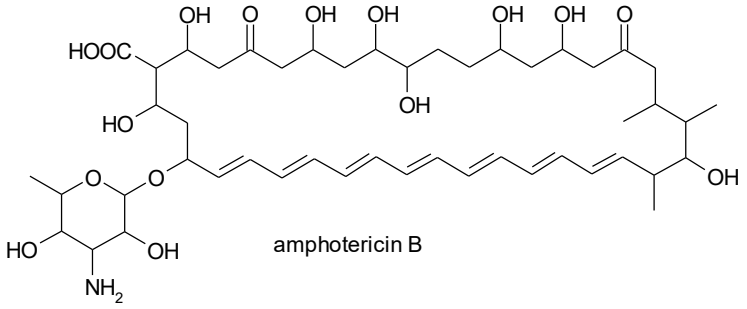
3.4 Antifungális szerek invazív *Candida* fertőzések kezelésére

3.4.1. Amfotericin B

A poliének csoportjába tartozó, a *Streptomyces nodosus* által termelt AMB-deoxikolátot ma már szintetikusan állítják elő. Az AMB többszörösen telítetlen gyűrűjének egyik fele hidrofil a másik hidrofób tulajdonságú oldalláncokból áll (**3. ábra**) (Carolus és mtsai., 2020; Hamill 2013). Az AMB a membrán ergoszteroljaihoz kötődve csatornát képez a membránban; az ionok kiáramlása és a víz beáramlása miatt a hatás érzékeny gomba esetén *in vitro fungicid.* Az intravénásan alkalmazható gyógyszer (Fungizon) évtizedeken keresztül „*gold-standard*”-nak számított az antifungális kezelésben (Hamill, 2013).

Spektruma széles, *in vitro* és *in vivo* egyaránt hatásos a sarjadzó-, a fonalas- és a dimorf gombák többsége ellen. Az *A. terreus* és a *Trichosporon* fajok primer rezisztenciával rendelkeznek az AMB iránt (Hamill, 2013; Pfaller és mtsai., 2004).

3. ábra Az amfotericin B szerkezeti képlete (Majoros és Kardos, 2008)



Két mg/L AMB esetén az ölési ráta (*k* érték) alapján számított, a fungicid hatás eléréséhez szükséges idő *C. albicans, C. dubliniensis, C. glabrata* és *C. lusitaniae* fajoknál gyors (≤13,3 óra), de *C. krusei, C. tropicalis* és *C. parapsilosis* izolátumoknál még 48 óra múlva is élő sejteket lehetett kimutatni (fungisztatikus hatás) (Cantón és mtsai., 2004). Az *in vitro* észlelhető gyenge ölés alapján AMB kezelésnél a klinikai sikertelenség sokszor megjósolható (Cantón és mtsai., 2004). A „*psilosis*" csoport másik két tagja esetén (*C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis*) az AMB *in vitro* hatékonyságáról csak kevés, míg *in vivo* hatékonyságáról egyáltalán nem állt rendelkezésre adat a nemzetközi irodalomban (Gomez- Lopez és mtsai., 2008; Lockhart és mtsai., 2008; van Asbeck és mtsai., 2008). Az AMB *in vitro* ölő aktivitását *C. auris* ellen korábban csak a Dél-amerikai klád esetén vizsgálták (Dudiuk és mtsai., 2019). Ugyanakkor két kutatócsoport vizsgálatai alapján az AMB *in vivo* gyenge fungisztatikus hatást mutatott a négy klád izolátumaival intravénásan fertőzött neutropéniás egerekben (Lepak és mtsai., 2017; Herrada és mtsai., 2021).

Az AMB klinikai hatékonysága a C_{max}/MIC (a szérumban mért csúcskoncentráció/MIC érték) farmakokinetikai-farmakodinamikai paraméterekkel mutat szoros összefüggést (Carolus és mtsai., 2020; Hamill, 2013; Hope és Drusano 2009; Louie és mtsai., 1999). Az AMB nagymértékben (>95%) kötődik a szérumban lévő fehérjékhez, ami a „szabad gyógyszer" hipotézis szerint csökkenti a farmakológiailag aktív gyógyszer mennyiségét. Ráadásul a szabad, aktív gyógyszer szintje az 1 mg/L értéket sohasem éri el szérumban (≤0,744 mg/L), még a lipid-asszociált készítmények esetén sem (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Lewis és Wiederhold, 2003). Ennek az magyarázata, hogy ha a szérumban emeljük a gyógyszer koncentrációját, az AMB kötődése a fehérjékhez fokozódik (95%-ról akár 99%-ig is; *nemlineáris, koncentráció-függő kötődés*). Ezért az

AMB napi dózisának a növelése *Candida* fajok ellen nem fokozza a klinikai hatékonyságot (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Lewis és Wiederhold, 2003).

Az AMB erősen kötődik az emlős sejtek szteroljaihoz is, így jól magyarázhatók az akut mellékhatások (hidegrázás, láz, fejfájás), illetve a 10-14 napos kezelés után létrejövő, akár dialízist is igénylő veseelégtelenség. A veseelégtelenség gyakorisága csökkenthető a lipid-asszociált AMB készítmények (AMB lipid komplex, [Abelcet], AMB koleszterol szulfát [Amphotec], lipószómás AMB [Ambisone]) alkalmazásával, bár a klinikai hatékonyság invazív *Candida* fertőzésnél nem nő (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Hamill, 2013; Lewis és Wiederhold, 2003; Thompson és mtsai., 2009). Az AMB koleszterol szulfát gyártását beszüntették, hiszen a mellékhatásai nagyon hasonlóak voltak az AMB-deoxikolátothoz. Magyarországon jelenleg az AMB lipid komplex és a liposzómás AMB használatosak a klinikumban (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Carolus és mtsai., 2020).

Az AMB terápia során kifejlődő rezisztencia ritka. AMB rezisztens izolátumok ellen a lipid-asszociált AMB készítmények sem hatásosak (Carolus és mtsai., 2020; Hamill. 2013).

3.4.2. 5-fluorocitozin

A timidilát szintetázt gátló 5-fluorocitozin fluor tartalmú pirimidin-származék (Delma és mtsai., 2021; Thompson és mtsai., 2009). Spektruma szűk, a *Candida* fajokra (kivéve *C. krusei*) és a *C. neoformans*-ra korlátozódik. A monoterápia során gyorsan fellépő rezisztencia miatt általában AMB-vel vagy FLU-lal kombinálva alkalmazzák endokarditisz, meningitisz vagy endoftalmitisz kezelésére. Ritkán, FLU iránt rezisztens *C. glabrata* által okozott húgyúti fertőzés vagy vulvovaginitisz esetén is használható (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Delma és mtsai., 2021; Hope és Drusano, 2009; Pappas és mtsai., 2016; Thompson és mtsai., 2009). Kizárólag per os formában hozzáférhető.

3.4.3. Triazol típusú antifungális szerek

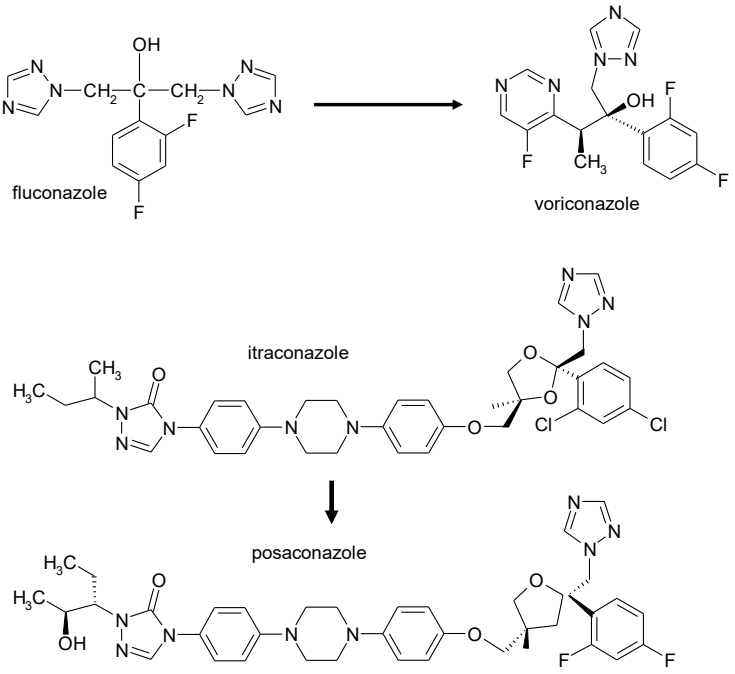
A szisztémás fertőzések kezelésére használt triazolok a FLU, az itrakonazol, a vorikonazol, a POSA és az isavukonazol (Lass-Flörl, 2011; Thompson és mtsai., 2009) (**4. ábra**). A triazolok a citokróm P-450-dependens lanoszterol-14-α-demetiláz enzim gátlása révén gátolják a lanoszterol-ergoszterol átalakulást, a toxikus hatású 14-α-metilált

szterolok ezért felhalmozódnak, ami a szaporodás gátlását eredményezi (fungisztatikus hatás) (Majoros és Kardos, 2008). 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 (Andes és mtsai., 2004; Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Hope és Drusano, 2009; Lass-Flörl, 2011; Thompson és mtsai., 2009).

A **flukonazol** a leggyakrabban alkalmazott antifungális szer, amelyet a profilaxisban is széleskörűen használnak. A *Candida* fajok epidemiológiájában az 1990-es évek közepén bekövetkezett változások a FLU széleskörű használatának a következményei (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Lass-Flörl, 2011; Sipsas és mtsai., 2009). Hatásos a *Candida* fajok jó része és *C. neoformans* ellen is. A *C. krusei*, a *C. inconspicua* és a *C. norvegensis* primer rezisztenciával rendelkeznek a FLU iránt (Pfaller és Diekema, 2007). A másodlagos rezisztencia *C. glabrata* esetén egyes terápiás egységekben a 30%-ot is elérheti (Pfaller és mtsai., 2010).

A FLU 12%-ban kötődik a szérumban lévő fehérjékhez és lineáris farmakokinetikát mutat (a dózis növelése előre megjósolható módon növeli a szérumban lévő FLU koncentrációját) (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Lass-Flörl, 2011; Thompson és mtsai., 2009). Kitűnően penetrál a szövetekbe, ezért érzékeny kórokozó esetén számos testtájék invazív fertőzéseinél jól használható antifungális szer (beleértve az endoftalmitiszt és a meningitiszt is). Alkalmazhatóságát szűk spektruma és fungisztatikus hatása korlátozza.

4. ábra. A szisztémásan alkalmazható triazolok szerkezeti képletei (Majoros és Kardos, 2008)



Jóval a bevezetése után közölt vizsgálat mutatott rá, hogy a klinikai sikertelenségekért sok esetben az aluldozírozás a felelős. Kandidémiás betegek, illetve HIV-pozitív betegek szájüregi *Candida* fertőzései esetén a gyógyulás akkor volt a legnagyobb mértékű, ha az AUC/MIC > 90 volt (Rodriguez-Tudela és mtsai., 2007). Ez az arány nagyobb napi dózissal (400-800 mg/nap) illetve alacsony MIC értékkel rendelkező izolátumnál érhető el a legkönnyebben. Mindazonáltal keringési szempontból instabil betegeknél, korábban triazol terápiában részesülteknél, illetve neutropéniás betegeknél az echinocandinok, esetleg a lipid-asszociált AMB készítmények az elsőként ajánlott antifungális szerek, még az alacsony FLU MIC értékkel rendelkező izolátum ellen is (Pappas és mtsai., 2016).

A **vorikonazol** a FLU származékának tekinthető, amelynek spektruma magában foglalja a FLU iránt érzékeny kórokozókat, de bővült az *Aspergillus* fajokkal (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Lass-Flörl, 2011; Sipsas és mtsai., 2009; Thompson és mtsai., 2009). A zigomikózist okozó gombák (járomspórás gombák) ellen hatástalan. Per os és intravénás formája egyaránt elérhető. A szérumban 58%-ban kötődik fehérjékhez, a felnőttekben nem-lineáris farmakokinetikát mutat. A standard dózisú (telítő dózisként 12 mg/kg, amit napi 6 mg/kg dózisok követnek) terápia során tapasztalható alacsony (<1 mg/L) vagy magas (>5,5 mg/L) szérumszintek a gyógyszer metabolizmusáért felelős májenzimek eltérő mennyiségével és aktivitásával magyarázhatók a populációban. A

vorikonazol szérumszintjét ezért egy héttel a gyógyszer alkalmazása után ellenőrizni kell (Hope és Drusano, 2009; Lass-Flörl, 2011; Pfaller és mtsai., 2011/c; Sipsas és mtsai., 2009). A vorikonazol nem elsőként alkalmazandó antifungális szer a *Candida* fajok ellen (Pappas és mtsai., 2016).

Az **itrakonazol** hosszú lipofil oldallánccal rendelkező molekula, spektruma a FLU-hoz képest az *Aspergillus* fajokkal bővült. Intravénás kiszerelésben 1999 óta hozzáférhető. A vorikonazol piacra kerülésével alkalmazása háttérbe szorult a *Candida* fajok ellen (Lass-Flörl, 2011).

A **posakonazol** az itrakonazol szerkezeti módosításával kifejlesztett antifungális szer. A szérumban lévő fehérjékhez 99%-ban kötődik. Az első preklinikai tanulmányok 1996-ban kezdődtek, amelyekben a legszélesebb spektrumú triazolnak bizonyult (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Lass-Flörl, 2011; Nagappan és Derenski, 2007; Thompson és mtsai., 2009). Nemcsak a *Candida* és az *Aspergillus* fajok ellen mutatott kiváló *in vitro* aktivitást, de a járomspórás gombák jó része ellen is (Sabatelli és mtsai., 2006). *In vitro* a minimális fungicid koncentráció (MFC) meghatározása során számos *Candida* és *Aspergillus* faj ellen fungicid aktivitást mutatott (Espinel-Ingroff, 1998). Kitűnő aktivitásában fontos szerepe van hosszú oldalláncának, amely a lanoszterol demetiláz szubsztrátkötő helyébe szorosan illeszkedik, koordinációs kötést létesítve a hemben lévő Fe^{2+}-val. Ezzel magyarázzák, hogy FLU iránt rezisztens izolátumoknál a POSA MIC érték nem mindig emelkedik jelentősen (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Nagappan és Derenski, 2007; Lass-Flörl, 2011).

Az első, a klinikumban használható formulája az orális szuszpenzió volt (40 mg/mL), amelynek bevezetését a klinikai gyakorlatba 2006-ban engedélyezte az FDA. Egészséges egyéneknél a napi 4x200 mg orális szuszpenzió nagy zsírtartalmú táplálékkal 13,85 mg·h/mL AUC értéket eredményezett, ami négyszerese a zsír nélküli táplálék esetén kapott AUC értékhez képest (3,55 mg·h/mL). Nagy zsírtartalmú táplálék bevitelénél kilenc nap múlva az átlagos szérumkoncentráció 0,49-0,73 mg/L volt (McKeage, 2015). Mivel a kritikus állapotban lévő betegek általában képtelenek a nagy zsírtartalmú táplálék fogyasztására, ezért a POSA szérumszint rendkívül variábilis lehet, ami alacsony szérumszintet, ezáltal terápiás sikertelenséget eredményezhet (McKeage, 2015). A késői felszívódású tabletta a klinikum számára 2013 novemberében vált elérhetővé, majd 2014 márciusában az intravénás változat is. Ez fontos előrelépés volt a POSA biztonságosabb

használata érdekében, hiszen neutropéniás betegeknél a napi 300 mg-os tabletta esetén az AUC érték 35 mg·h/mL, a csúcskoncentráció 1,96 mg/L míg az átlagos koncentráció 1,46 mg/L volt. Ugyanezen értékek 300 mg intravénás POSA használatánál 34,3 mg·h/mL, 2,61 mg/L illetve 1,43 mg/L voltak (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; McKeage, 2015).

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 a nemzetközi irodalomban egyáltalán nem álltak rendelkezésre a *Candida* fajok iránt, ezért a klinikailag fontos *Candida* fajok ellen elvégeztük az idő-ölés görbék felvételét.

Az **isavukonazol** használatát 2015-ben hagyták jóvá. Mivel fő indikációs területe a penészgombák által okozott invazív fertőzések kezelése, ezért bővebben nem tárgyalom (Pappas és mtsai., 2016).

A triazoloknál két fő rezisztencia mechanizmus vezet a MIC értékek emelkedéséhez. Az egyik a lanoszterol-demetiláz megváltozása (amely enzimet az ERG 11 gén kódolja), a másik pedig az aktív efflux (Bellmann és Smuszkiewicz, 2017; Pfaller és mtsai., 2010; Lass-Flörl, 2011). A lanoszterol-demetiláz megváltozása esetén az azol-kötőhely módosulhat, így a gyógyszer nem tud kötődni a targetjéhez. Aktív effluxnál a triazolok eltávolítását a gombasejtből transzportfehérjék végzik. *Candida* fajokban a transzporterek a *CDR* (*Candida drug resistance*) gének termékei, az ABC (*ATP-binding CASette*) transzporterek, míg az *MDR* (*multidrug resistance*) gének által kódolt fehérjék az MF (*major facilitator*) családba tartoznak. (Pfaller és mtsai., 2010; Lass-Flörl, 2011).

Legrészletesebben a *C. albicans*-nál előforduló rezisztenciát tanulmányozták (**5. táblázat**). A FLU MIC értékének az emelkedése alapján megjósolható a többi triazol MIC értékeinek az emelkedése is. Így a részleges, illetve teljes keresztrezisztencia miatt a FLU iránt rezisztens *Candida* izolátumok egyéb triazollal való kezelése nem javasolt (Pappas és mtsai., 2016; Pfaller és mtsai., 2010).

5. táblázat. Különböző flukonazol (FLU) MIC értékkel rendelkező *C. albicans* izolátumokban előforduló rezisztencia mechnizmusok hatása az itrakonazol (ITR), a vorikonazol (VOR) és a posakonazol (POSA) MIC értékekre. A mutációk a *CDR* (*Candida drug resistance*) és az ERG11 (amely a lanoszterol 14 α-demetiláz enzimet kódolja) génekben fordultak elő (Pfaller és mtsai. 2010).

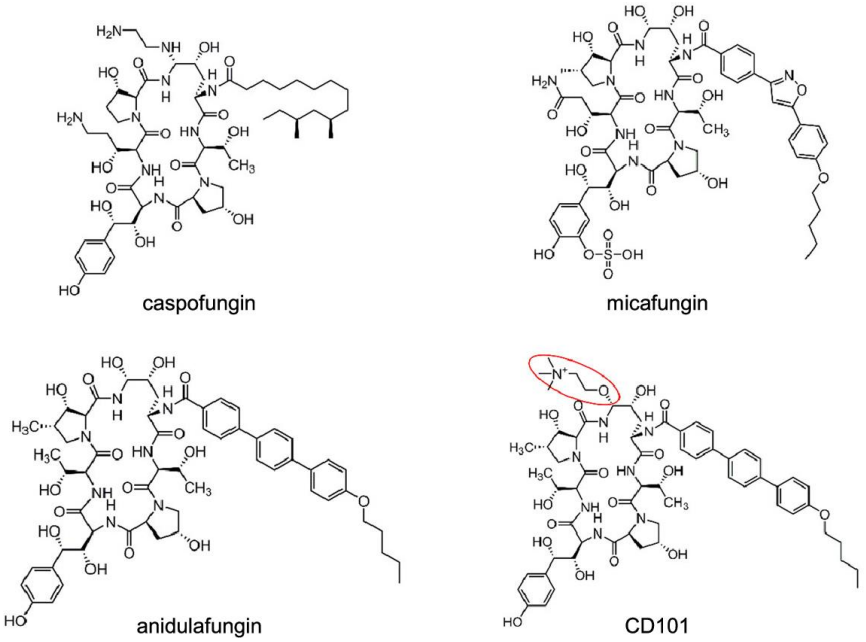
C. albicans törzs	Rezisztencia mechanizmus		MIC (mg/L)			
	CDR[a]	ERG11[b]	FLU	ITR	VOR	POSA
DSY294	alapszintű	WT[c]/WT	0,25	0,015	0,007	0,03
DSY296	fokozott	G645S/G645S	**64**	**0,25**	**2**	**0,25**
DSY3083	alapszintű	G645S/G645S	4	0,03	0,12	0,03
DSY3604	alapszintű	G645S/WT	2	0,03	0,06	0,03
DSY36606	fokozott	WT/WT	**4**	**0,12**	**0,12**	**0,25**

[a]CDR efflux pumpák működése; [b]mutációk az ERG11 (G645S) allélekben, [c]vad típus

3.4.4. Echinocandinok

Az echinocandinok ciklikus lipopeptidek, melyek nem-kompetitív módon gátolják a β-1,3-D-glükán-szintáz enzimkomplexet. A sejtfal szintézisének a gátlása ozmotikus instabilitáshoz majd a sejt halálához vezet (Chen és mtsai., 2011; Denning, 2003; Emri és mtsai., 2013). A glükán-szintáz a gomba sejtmembránjában található, két alegységből (Fksp, Rho) álló enzimkomplex. Az Rho GTP-kötő protein és a glukán-szintetázt szabályozza. A három gén által kódolt (FKS1, FKS2, FKS3) Fksp katalizálja a cukor egységek szállítását az aktivált donor molekulákról (UDP-glükóz) az akceptor molekulákra. Az FKS2 transzkripciója kalcineurin függő. Az FKS3 gén transzkripciója a másik két génhez képest elenyésző (Chen és mtsai., 2011; Denning, 2003; Perlin, 2014).

5. ábra A kaszpofungin, a mikafungin, az anidulafungin és a rezafungin (CD101) szerkezeti képlete (Zhao és mtsai., 2016).



Jelenleg négy echinocandin kapható a kereskedelmi forgalomban. A CAS (**5. ábra**) a *Glarea lozoyensis* fermentlevéből izolált pneumocandin B módosított változata. A MCF a *Coleophoma empedri* pneumocandin A0 molekulájának modifikált változata (**5. ábra**), és 2004-ben engedélyezték a használatát (Emri és mtsai., 2013). Az ANF 2006 óta van forgalomban, és az *Aspergillus nidulans* által termelt echinocandin B módosított formája. A közelmúltban engedélyezett rezafungin (RZF) (korábban CD101) az ANF származékának tekinthető (James és mtsai., 2017; Zhao és mtsai., 2016).

In vitro, az echinocandinok a legtöbb *Candida* faj ellen fungicid, míg az *Aspergillus* fajok ellen fungisztatikus hatást mutatnak. Hatástalanok *C. neoformans,* a *Fusarium* fajok és a járomspórás gombák (*Zygomycetes)* ellen (Chen és mtsai., 2011; Denning, 2003). Az egyes *Candida* fajok echinocandinok iránti MIC értéke általában alacsony (0,03-0,06 mg/L), de *C. parapsilosis* és *C. guilliermondii* esetén a MIC érték akár a százszorosa is lehet a *C. albicans*-nál tapasztalt alacsonyabb MIC értékeknek. Ennek ellenére az echinocandinok e két magasabb MIC értékkel rendelkező faj ellen is kitűnő klinikai hatékonyságot mutatnak (Mora-Duarte és mtsai., 2002; Pfaller és mtsai., 2011/a; Reboli

és mtsai., 2007). Az echinocandinok hatásosak invazív *Candida* fertőzések kezelésére és az AMB-vel összehasonlítva jóval kevesebb mellékhatással kell számolni (Mora-Duarte és mtsai., 2002). Az echinocandinok hatékonynak bizonyultak gyermekek, sőt újszülöttek invazív *Candida* fertőzéseinek a kezelésében is (Chen és mtsai., 2011; Pappas és mtsai., 2016).

Csak intravénásan alkalmazhatók, az első generációs echinocandinoknál (ANF, CAS és MCF) a napi egyszeri adagolás az ajánlott. Felnőtteknél CAS és ANF esetén 70 illetve 200 mg-os első napi telítő dózist kell adni, amit CAS-nál 50 illetve ANF-nál 100 mg-os fenntartó napi dózisok követnek. MCF-nál telítő dózis nem kell, napi 100 mg az ajánlott terápia (Pappas és mtsai., 2016). Az itt leírt ajánlott napi dózisokat standard napi dózisnak is nevezik. A RZF klinikailag hatékony jelenlegi adagolása első héten 400 mg, a másodikon 200 mg (400 mg/200 mg) (Thompson és mtsai., 2023). A RZF-t tehát hetente egyszer kell adagolni.

6. táblázat. A klinikumban használt echinocandinok farmakokinetikai jellemzői.

Echinocandin	C_{max}, (mg/L)	$AUC_{0–24}$ (mg·h/l)	t½, (h)	CL_t, (l/h)	V_d, (L)	Fehérjékhez kötődés, %
Anidulafungin	7.20	110.30	24–26	0.96	35.20	99
Kaszpofungin	12.09	97.63	9–11	0.63	9.67	97
Mikafungin	7.20	132.60	11–17	1.30	25.60	99
Rezafungin	22.70	1160	129–133	0.23	35.90	99

Az echinocandinok klinikai hatékonysága az AUC/MIC, illetve kisebb mértékben a C_{max}/MIC farmakodinámiás paraméterekkel áll szoros összefüggésben (Gumbo, 2007; Hope és Drusano, 2009; Louie és mtsai., 2005; Perlin, 2014). A RZF az első generációs echinocandinokhoz képest 2-3-szoros C_{max}, illetve 8-10-szeres AUC_{0-24} értékeket eredményez (**6. táblázat**). Az echinocandinok kiváló hatékonyságához két további tényező járulhat hozzá. Az egyik a hosszú posztantifungális hatás, a másik pedig a gyógyszercsoport jellegzetes farmakokinetikája.

A posztantifungális hatás azt jelenti, hogy amikor a gyógyszer koncentrációja a MIC érték alá csökken, a kórokozó szaporodása továbbra is gátolt marad. Az echinocandinoknál fajtól függően általában hosszú posztantifungális hatással lehet számolni (>12 óra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* és *C. parapsilosis*), (Clancy és mtsai., 2006; Ernst és mtsai., 2000 és 2002; Nguyen és mtsai., 2009 és 2010), míg más fajoknál (*C. guilliermondii*, *C. kefyr*, és *C. lusitaniae*) nem tapasztaltak posztantifungális hatást (Di Bonaventura és mtsai., 2004). *In vitro,* RPMI-1640 táptalajban a posztantifungális hatást vizsgáló kísérletekben az ölés mértéke (1 órás gyógyszer expozíció esetén) összemérhető az idő-ölés görbék (24-48 órás gyógyszer expozíció) esetén tapasztalható öléssel (Clancy és mtsai., 2006; Nguyen és mtsai., 2009 és 2010).

Az echinocandinok farmakokinetikáját legrészletesebben CAS-nál vizsgálták. Az egyszeri és többszörös dózis beadását követően a gyógyszer plazmakoncentrációja polifázikus csökkenést mutat. Közvetlenül az infúziót követően egy rövid disztribúciós fázis (α-fázis), majd egy dózisfüggő, 6-48 óráig tartó β-fázis következik. A magasabb dózisoknál 2-3 napig tartó γ-fázis is megfigyelhető (Stone és mtsai., 2002).

A CAS farmakokinetikájának még pontosabb megértését Louie és munkatársainak (2005) a vizsgálatai segítették, akik a CAS terminális féléletidejét határozták meg egérmodellben. Ha csak a szérumban lévő gyógyszermennyiség időbeli változását vizsgálták, a féléletidő 20,2 óra volt. Amikor azonban figyelembe vették a vesékben lévő CAS-t is, a szérumban és vesékben együttesen mérhető féléletidő 59,2 órára nőtt. Ezt azt jelenti, hogy az intravénásan beadott CAS a vérből a belső szervek (máj, lép, vesék stb.) szöveteibe lép, ott felhalmozódik, és a szervekből mint rezervoárokból a gyógyszer folyamatosan visszaáramlik a szérumba. Az echinocandinok szöveti akkumulációját más szerzők is bizonyították (Sandhu és mtsai., 2004). Ennek a farmakokinetikának azért van jelentősége, mivel a gombák nemcsak a vérben, hanem a szövetekben is megtalálhatók, így lehetőség van a gombák eliminációjára nemcsak a vérből, hanem a nagy echinocandin koncentrációjú szövetekből is. A leghosszabb felezési idővel (~130 óra) (**6. táblázat**) rendelkező rezafungin koncentrációját a hasüregi tályogokban magasabbnak találták mint a mutáns preventív koncentráció értéke (az a legkisebb rezafungin koncentráció amely megakadályozza a rezisztens mutánsok kiszelektálódását) (Sofjan és mtsai., 2018; Szymański és mtsai., 2022; Zhao és mtsai., 2017).

3.4.5. Az echinocandin rezisztencia

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. A *C. guilliermondii* szintén primer, csökkent érzékenységgel rendelkezik az echinocandinok iránt (**7. táblázat**) (Garcia-Effron és mtsai., 2008).

Az echinocandin terápia során kialakuló másodlagos rezisztencia leggyakrabban *C. glabrata* esetén fordul elő, amelynél az egyidejű FLU rezisztencia aránya is magas (Alexander és mtsai., 2013; Beyda és mtsai., 2014; Farmakiotis és mtsai., 2014; Fernandez-Silva és mtsai., 2014; Shields és mtsai., 2013). Mieloid leukémiában szenvedő beteg *C. kefyr* okozta véráramfertőzésének a kezelése során, hét napos CAS terápia echinocandin rezisztenciához vezetett (Fekkar és mtsai., 2013). Dufresne és munkatársai (2014) MCF profilaxis/terápia során észleltek *C. kefyr* okozta áttöréses (breakthrough) kandidémiát, következményes echinocandin rezisztenciával. Egyéb fajoknál a rezisztencia ritka (Arendrup és mtsai., 2010; Ben-Ami és mtsai., 2011; Desnos-Ollivier és mtsai., 2008; Slater és mtsai., 2011; Staab és mtsai., 2014).

A **7. táblázat** a rezisztens izolátumokban megtalálható leggyakoribb aminosav változásokat mutatja. *C. glabrata*-nál az FKS1 és az FKS2 génekben bekövetkező mutációk egyaránt szerepet játszanak a rezisztencia kialakulásában (Perlin, 2014).

Az FKS mutációval rendelkező *C. albicans* izolátumok virulenciája és életképessége alacsonyabb, mint a „vad típusú" izolátumoké illetve *in vitro* csökkent glukán-szintáz aktivitást, megvastagodott sejtfalat és megnövekedett kitin tartalmat észleltek. A szerzők szerint a populációban való széleskörű elterjedésük nem valószínű, így epidemiológiai hatásuk is korlátozott (Ben-Ami és mtsai., 2011). Bár az echinocandinok napi dózisának a növelése a farmakodinámiai jellemzők miatt (*koncentráció-függő hatás*) elméletileg hatékony lehet a rezisztens izolátumok ellen, nem-neutropéniás állatmodellben az emelt dózisok hatástalanok voltak (Wiederhold és mtsai., 2011).

7. táblázat. Aminosav változások az FKS gének által kódolt fehérjékben és azok hatása az echinocandin érzékenységre (Perlin, 2014). A „forró területek” első aminosavának a sorszáma jelezve.

Faj	Fks1		Fks2	
	HSP1	HSP2	HSP1	HSP2
C. parapsilosis	F_{652} LTLSIRD***A***	D_{1369}WIRRYTL	-	-
C. orthopsilosis	F_{39} LTLSIRD***A***	D_{756}W***V***RRYTL	-	-
C. metapsilosis	F_{104} LTLSIRD***A***	D_{821}WIRRYTL	-	-
C. guilliermondii	**F**$_{632}$ ***MA***LSIRDP	D_{1347}WIRRYTL	-	-
C. albicans	**F**$_{641}$ LT**L**SLRDP	D_{1357}WIR**R**YTL	-	-
C. dubliniensis	**F**$_{641}$ LTL**S**LRDP	D_{1357}WIRRYTL	-	-
C. glabrata	**F**$_{625}$ LIL**S**LRDP	D_{1340}WIRRYTL	**F**$_{659}$LIL**S**LRDP	D_{1374}**WIR**RYTL
C. tropicalis	**F**$_{76}$LT**LS**IRDP	D_{792}WIRRYTL	-	-
C. krusei	**F**$_{655}$ LI**L**SIR**D**P	D_{1364}WIR**R**YTL	-	-
C. kefyr	**F**$_{54}$LTL**S**L**R**DP	D_{769}**W**IRRYTL	-	-

Félkövér, dőlt betű: természetes polimorfizmus
Félkövér, nagyobb betű: prominens rezisztencia
Aláhúzott, nagybetű: a rezisztencia gyenge

F: Pha, L: Leu, T: Tre, S: Ser, I: Ile, R: Arg, A: Ala, Y: Tyr, V: Val, P: Pro, W:Trp

Szerencsére az echinocandinok iránt rezisztens klinikai izolátumoknak a száma világszerte még mindig nagyon alacsony (Farmakiotis és mtsai., 2014; Perlin 2014, Shields és mtsai., 2013). Ezért az echinocandin rezisztencia semmiképpen sem magyarázza az invazív *Candida* fertőzéseknél tapasztalható, még mindig igen magas halálozást.

3.4.6. A nagydózisú 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 dózisának az emelése (Wiederhold, 2007/a). Betts és munkatársai (2009), illetve Pappas és munkatársai (2007) közleményei 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%), bár statisztikailag szignifikáns különbség a két kezelt

csoport között nem volt. Ennek egyik lehetséges magyarázata a szerzők szerint a paradox növekedés (paradoxical growth=PG) lehetett (Betts és mtsai., 2009).

A PG-t először CAS MIC meghatározásnál észlelték a *C. albicans* elleni standard, mikro leveshígításos (Broth microdilution=BMD) módszer alkalmazásánál. A PG a MIC érték felett a táplemez üregeiben egy vizuálisan jól látható növekedés. Ilyenkor 2-3 (vagy több), kettes léptékű hígítási fokkal a MIC érték felett teljesen tiszta üregeket látunk, majd a következő üregektől kezdve jól látható erős növekedést tapasztalunk (Fleischhacker és mtsai., 2008; Stevens és mtsai., 2004). Nem tévesztendő össze a trailing hatással (trailing effect=TE), ami a MIC érték feletti üregekben megfigyelhető, a kontrollhoz képest gyengébb, de folyamatos növekedés és fungisztatikus szerekre jellemző (Fleischhacker és mtsai., 2008). Munkacsoportunk abból kiindulva, hogy nagy CAS koncentrációkon valószínűleg élő gombasejteket lehet találni, az MFC és az idő-ölés görbék felvételével kezdte tanulmányozni a PG-t. Első kéziratunk benyújtásakor ismert volt, hogy a PG echinocandin- és fajspecifikus. *In vitro* a MIC meghatározása során a PG leggyakrabban a CAS-nál volt tapasztalható (*C. albicans* 60%, *C. parapsilosis* 90%, *C. tropicalis* 40%, *C. krusei* 10%), és kevésbé gyakori MCF (*C. tropicalis* 70%, *C. krusei* 60%) és ANF (*C. albicans* 40%, *C. tropicalis* 20%) esetében (Chamilos és mtsai., 2007). Ugyancsak ismert volt, hogy a PG-t mutató *C. albicans* sejtek sejtfalában a glukán tartalom lecsökkent, miközben a kitin szint 9-szeresére növekedett (Stevens és mtsai., 2006). A PG klinikai relevanciáját nem lehetett egyértelműen kizárni, mivel *C. albicans*-sal szisztémásan fertőzött egereknél a napi 20 mg/kg CAS adagolásánál nagyobb volt a vesékből kitenyészett gombasejtek száma, mint a napi 5 mg/kg-os CAS dózisnál (Clemons és mtsai., 2006). Wiederhold (2007/a) szerint *in vivo* nincsenek olyan magas echinocandin koncentrációk, hogy a PG-nek szerepe lehetne a terápiás sikertelenségben. Ezzel ellentétes nézet szerint (Perlin, 2014) a PG *in vivo* késleltetheti a kórokozó eliminálását, így lehetőség nyílhat arra, hogy a továbbiakban FKS mutáció révén a gomba valódi, stabil rezisztenciát fejlesszen ki az echinocandinok ellen.

Mindenesetre a nagy echinocandin koncentráció jelenlétében történő, fokozott növekedése a gombáknak fontos kérdése a mikológiának, hiszen ha a nagydózisú echinocandin terápia *in vivo* fokozza a gomba növekedését, a terápiás sikertelenség még gyakoribb lehet.

3.4.7. A szérum echinocandin farmakodinámiára kifejtett hatása

A *Candida* fajok extracellulárisan elhelyezkedő kórokozók, amelyek a véráram által egyéb belső szervek fertőzéseit okozhatják (Felton és mtsai., 2014). Az antifungális szereknek a fertőzés helyén megfelelő koncentrációt kell elérniük, hogy a gombát eradikálni lehessen. Extracellulárisan elhelyezkedő kórokozóknál a terápia sikeressége szempontjából az intersticiális folyadék gyógyszer koncentrációja a releváns, ami viszont a szérumban lévő, szabad (fehérjéhez nem kötött) gyógyszer koncentrációjával mutat szoros összefüggést. A gyógyszerek fehérjékhez kötődése fontos a hatékonyság és a mellékhatások szempontjából, mivel csak a fehérjékhez nem kötött, szabad gyógyszer lesz farmakológiailag aktív („szabad gyógyszer" hipotézis). Klinikailag relevánsnak tartják, ha a gyógyszer >85-90%-ban kötődik fehérjékhez (Felton és mtsai., 2014; Gonzalez és mtsai., 2013).

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% (döntően albuminhoz), MCF-nál 99,8% (albuminhoz és alfa-1-savas glikoproteinhez), míg ANF és RZF esetében 99% (**6. táblázat**). Ez azt jelenti, hogy a szérumban lévő gyógyszermennyiségnek csupán 0,2-3,5% lesz szabad, azaz biológiailag aktív formában (Gonzalez és mtsai., 2013). A kevés számú irodalmi közlemény adatai a fenti elméletet alátámasztották, és 10-50%-os szérumtartalmú tápközegekben az echinocandinok *in vitro* aktivitásának a csökkenését tapasztalták a *Candida* és az *Aspergillus* fajok esetén (Garcia-Effron és mtsai., 2011; Ishikawa és mtsai., 2009; Odabasi és mtsai., 2007; Paderu és mtsai., 2007). Bizonyított, hogy a peritoneális és a pleurális térben az antifungális szerek koncentrációja jóval kisebb mint a szérumban, ráadásul a gyulladásos exudátumoknak a fehérje tartalma jelentős, ami alapján a nagy fehérje kötődéssel rendelkező AMB-nek illetve az echinocandinoknak csökken a „szabad", azaz biológiailag aktív koncentrációja (García-de-Lorenzo és mtsai., 2016; Grau és mtsai., 2015; Maseda és mtsai., 2023; Moriyama és mtsai., 2011; Nigo és mtsai., 2016; Novy és mtsai., 2023; Yamada és mtsai., 2011; Tóth és mtsai., 2018).

Paderu és munkatársai (2007) a CAS, a MCF és az ANF hatását vizsgálták klinikai *Candida* izolátumok ellen RPMI-1640+50% humán szérum (=50% szérum) tápközegben. CAS-nál az 50% szérumban mért MIC értékek 1-16-szor voltak magasabbak, mint az RPMI-1640-ben mért MIC értékek. MCF-nál ugyanez az arány 32-128-szoros, míg ANF-nál 8-256-szoros volt. Hasonló mértékű MIC érték emelkedésről számoltak be Odabasi és

munkatársai is (2007). A két tanulmány eredményei nem teljesen korreláltak a „szabad gyógyszer hipotézis" elméletével, hiszen a MIC értékeknek az eredetihez képest 500-1000-szeresére kellett volna növekedniük. Ennek valószínű oka, hogy a fehérjékhez kötődés gyenge, reverzibilis és a gyógyszer a fehérjékről leválva hozzákapcsolódhat a gombához és kifejtheti antifungális hatását (Gonzalez és mtsai., 2013).

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 (Garcia-Effron és mtsai., 2011; Ishikawa és mtsai., 2009; Paderu és mtsai., 2007; Wiederhold és mtsai., 2007/b). A szérum tehát kiegyenlíti az echinocandinoknak az RPMI-1640-ben mért különböző MIC értékeit, így a három echinocandinnál az RPMI-1640-ben tapasztalt különböző MIC értékeinek, ugyanazon izolátum ellen nincs jelentősége (Garcia-Effron és mtsai., 2011).

Andes és munkatársai (2010) neutropéniás egerek veséiből kitenyésztett CFU változásból meghatározták a fungisztatikus és az egy nagyságrendnyi CFU csökkenéshez szükséges farmakodinámiás targetet a három echinocandinnál *C. albicans*, *C. glabrata* és *C. parapsilosis* esetén. *C. parapsilosis sensu lato* ellen a sztatikus hatáshoz szükséges napi CAS dózis (3,56±3,08 mg/kg) szignifikánsan kisebb volt, mint az ANF (51±35 mg/kg) és a MCF (32,3±24,0 mg/kg) dózisok. Ezek a statisztikailag szignifikáns különbségek teljesen eltűntek, ha a szabad, (a fehérjékhez nem kötött) echinocandin koncentrációkat használták a farmakodinámiás target, az $AUC_{0\text{-}24h}$/MIC kiszámításához (a target ANF-nál 11,5±10,9, CAS-nál 16,8±26,4, illetve MCF-nál 4,95±3,6 voltak). Hasonló eredményt kaptak *C. albicans* és *C. glabrata* esetén is (Andes és mtsai., 2010).

A szérumban végzett *in vitro* vizsgálatok segíthetnek még pontosabban megérteni az echinocandinok hatásmechanizmusát, így az *in vivo* hatékonyság még pontosabban becsülhető. A szérummal végzett érzékenységi vizsgálatok azonban nem standardizáltak (Garcia-Effron és mtsai., 2011; Nasar és mtsai., 2013).

3.4.8. Az első generációs echinocandinok klinikai hatékonysága

Az Iowa-i Egyetem Klinikájáról származó, több mint 30 éve készült tanulmányban invazív kandidiázisban szenvedő betegeknél 38%-os, a *Candida* fajoknak közvetlenül köszönhető halálozást publikáltak. Ekkoriban a standard terápia az AMB deoxikolát volt (Wey és mtsai., 1988). Ugyanezen a klinikán 15 évvel később, amikor már bevezették a FLU-t, a gombáknak közvetlenül köszönhető halálozás 49%-ra nőtt. Ezek az adatok azt

jelezték, hogy a FLU mint szűk spektrumú és fungisztatikus hatású szer nem elégséges az invazív *Candida* fertőzések kimenetelét jelentősen javítani (Gudlaugsson és mtsai., 2003).

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 (összes halálozás 34,2% a CAS és 30,4% az AMB csoportban, míg a *Candida* fajoknak tulajdonított halálozás 4,4% illetve 7,2% voltak) (Mora-Duarte és mtsai., 2002). Hasonlóan, invazív *Candida* fertőzések kezelésére a MCF is legalább olyan hatékony volt (kevesebb mellékhatással) mint az AMB (Pappas és mtsai., 2007), illetve az ANF klinikailag hatékonyabb volt a FLU-nál (Reboli és mtsai., 2007). Ezek az adatok sokkal jobbak voltak mint a korábban közölt halálozási adatok (Gudlaugsson és mtsai., 2003; Wey és mtsai., 1988). A nagyfokú különbségnek valószínűleg a jól meghatározott beteg beválogatási feltétel volt a magyarázata, hiszen a vizsgálatból eleve kizárták azokat a betegeket, akiknél a várható élettartam a randomizáció előtt kevesebb volt mint öt nap, neutropéniások voltak, endokarditisz vagy meningitisz volt a diagnózisuk. Így nem meglepő, hogy azokban a randomizált vizsgálatokban, ahol a cél egy új echinocandin bevezetése volt invazív *Candida* fertőzések kezelésére, az összes, illetve közvetlenül a *Candida* fajoknak tulajdonítható halálozás sokkal kisebb mértékű volt (Mora-Duarte és mtsai 2002; Pappas és mtsai 2007; Reboli és mtsai 2007).

Cornely és munkatársai (2020) az echinocandinok hatását vizsgálták invazív kandidiázisban szenvedő betegekben. A 30 napos, a *Candida* fajoknak tulajdonított mortalitás 27% volt, amely bár sokkal nagyobb volt mint az echinocandinok klinikumba való bevezetéséért végzett tanulmányokban szerepelt mortalitási adatok (Mora-Duarte és mtsai., 2002; Pappas és mtsai., 2007; Reboli és mtsai., 2007), de kisebb, mint a legkorábbi vizsgálatokban szerepelt halálozási értékek (Gudlaugsson és mtsai., 2003; Wey és mtsai., 1988). Ez utóbbi különbséget a szerzők az echinocandinok jobb klinikai hatékonyságának tulajdonították (Cornely és mtsai., 2020).

Bretagne és munkatársai (2021) folytatva munkacsoportjuk korábbi munkáját (Lortholary és mtsai., 2014), a 2004-2017 közötti időszakban elemezték a Párizs környéki kórházakban a *Candida* fajok epidemiológiáját, a rizikófaktorokokat és az antifungális szerek használatának a hatását a mortalitásra (YEAST program). A 3092 beteg kandidémiájának a vizsgálata azt mutatta, hogy a vizsgált időszak alatt a FLU használat drasztikusan csökkent (a 2004-es évi 64,4%-ról, 27,7%-ra a 2017-es évre), miközben 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. A hematológiai egységekben nagyobb volt a nem-*albicans Candida* fajok aránya, de az intenzív terápiás osztályokon és a nem- intenzív terápiás osztályokon a fajeloszlás hasonló volt. Az antifungális kezelések a *C. parapsilosis sensu stricto* kivételével szignifikánsan fokozták a betegek túlélését, illetve *C. krusei* okozta kandidémia esetén volt a legnagyobb rizikó a halálra. Echinocandin terápiánál a túlélés szignifikánsan jobb volt *C. glabrata* és *C. parapsilosis sensu stricto* esetén, a *C. albicans*-sal összehasonlítva. Az elsődlegesen ajánlott antifungális szer (a vizsgálati periódus elején a FLU, majd később az echinocandinok) típusa nem volt hatással a túlélésre, sőt az echinocandin kezelés a FLU-al összehasonlítva hátrányosan befolyásolta a betegség végkimenetelét (P=0,041!). *C. tropicalis*-nál az echinocandin terápiával összehasonlítva csak az egyéb antifungális terápiák (liposzómás AMB, vorikonazol, POSA vagy kombinációs terápia) javítottak a túlélésen. 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. Multivariáns analízis alapján 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) (Bretagne és mtsai., 2021).

A három elsőgenerációs echinocandin tehát nem teljesen váltotta be a hozzájuk fűződő reményeket, aminek több oka is lehet. Egyrészt a kritikus állapotban lévő, sokszervi (keringés, légzés, máj és vesefunkciók romlása stb.) működési zavarban szenvedő betegek száma növekedett az utóbbi időben (Bretagne és mtsai., 2021; Lortholary és mtsai., 2014). Másrészt az alacsony vérnyomás, a kapilláris permeabilitás növekedése, a következményes vesefunkció romlás, a plazmafehérjék mennyiségi csökkenése és a sav-bázis egyensúly eltolódása a megváltozott clearence-el hátrányosan befolyásolja az antibakteriális és az antifungális szerek farmakokinetikáját (Nasar és mtsai., 2013; Liu és mtsai., 2020). Ezért a normál dózisban adott antifungális szerek C_{max}/MIC illetve AUC/MIC értékei a csökkent penetráció és a fokozott clearence miatt nem érik el a klinikailag hatékony értéket, ami a kórokozó csökkent eliminációjához majd fokozott mortalitáshoz vezet (Liu és mtsai., 2020; Tóth és mtsai., 2018).

4. Célkitűzések

4.1. 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.

4.2. Összehasonlítottuk a rezafungin, az anidulafungin, a kaszpofungin, 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.

4.3. A standard mikrodilúciós módszerrel meghatározott MIC értékek és MIC teszt-sztrip segítségével meghatároztuk rezafungin, anidulafungin, kaszpofungin és mikafungin esetén a paradox növekedés gyakoriságát 13 *Candida* faj 365 izolátumát vizsgálva.

4.4. A minimális fungicid koncentrációk és az idő-ölés görbék felhasználásával tanulmányoztuk a kaszpofungin paradox módon csökkent *in vitro* aktivitását *Candida tropicalis* klinikai izolátumok ellen.

4.5. Az idő-ölés görbék segítségével megvizsgáltuk a kitin szintézisét gátló nikkomicin Z és a humán szérum hatását a kaszpofungin paradox módon csökkent ölő aktivitására hét *Candida* faj esetén.

4.6. 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 kládja esetén

4.7. *Candida glabrata*, *Candida krusei* és *Candida inconspicua* fajok esetén korrelációt kerestünk a kaszpofungin RPMI-1640 és RPMI-1640+50% szérum tápközegekben mért ölési aktivitása és az *in vivo* hatékonyság között.

4.8. Neutropéniás egérmodellben megvizsgáltuk a flukonazol, a kaszpofungin és az amfotericin B hatékonyságát a „*psilosis*” csoportba tartozó gombák ellen.

4.9. 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.

4.10. 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.

5. Anyagok és módszerek

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

5.1. A sarjadzó gombák eredete

A felhasznált sarjadzó gombákat 2002-2018 között klinikai mintákból izoláltuk. A jobb áttekinthetőség kedvéért csak az „Eredmények" különböző alfejezeteiben lesznek feltüntetve, hogy az adott kísérletben szereplő sarjadzó gombákat milyen testtájékról, melyik évben izoláltuk. Ugyancsak ott lesznek feltüntetve azok az izolátumok is, amelyeket hazai, illetve külföldi Kollégáktól szereztünk be, amelyeknek pontos azonosítása molekuláris biológiai módszerekkel a Kollégák által már korábban megtörtént. A referenciaként használt ATCC (American Type Culture Collection) törzsek és típustörzsek szintén az „Eredmények" fejezet megfelelő alfejezeteiben lesznek feltüntetve.

5.2. Sarjadzó gombák tenyésztése és azonosítása

A sarjadzó gombák tenyésztésére kloramfenikolt tartalmazó Sabouraud-agar táptalajt használtunk. A fajok előzetes azonosítására és a tenyészetek tisztaságának az ellenőrzésére a kromogén szubsztrátot tartalmazó táptalajt, a CHROMagar Candida-t (Becton Dickinson) alkalmaztuk. A fajszintű azonosítást az API ID 32C (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France), a MICRONAUT-Candida System (Merlin Diagnostika Gmbh, Bornheim, Germany) (Szabó és mtsai., 2008) és a MALDI-TOF tömegspektrométer segítségével végeztük el.

Az egyes *C. auris* izolátumok kládszintű besorolásához Borman Professzor Úr és munkatársai 28S rRNS és/vagy ITS1 régiókra irányuló szekvenálást alkalmaztak (Borman és mtsai., 2016). A 2023-as évre a *C. auris* izolátumok Teljes Genom Szekvenálása is elkészült (**6.4.2. alfejezet**). A könyvtár készítés Illumina DNAFlex Library Prep kit (Illumina, San Diego, CA, USA) segítségével ment végbe a gyártó utasításainak megfelelően. A 300bp méretű szakaszok páros végű (paired-end) szekvenálása Illumina MiSeq platformon történt. A nyers szekvenciák referencia genomhoz (*C. auris* B8441) történő illesztése a Burrows–Wheeler illesztő algoritmus

segítségével történt. Az egyes genetikai variánsok (egypontos nukleotid-polimorfizmus, mutáció, indel variánsok) meghatározása GATK (Genome Analysis Toolkit) algoritmus használatával történt. A könyvtárkészítés, a szekvenálás és a szekvenálási adatok elemzése a Debreceni Egyetem Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratóriumában valósult meg (Balla és mtsai., 2022).

5.3 Antifungális szerek *in vitro* aktivításának a meghatározása

5.3.1. Antifungális szerek feloldása

Kísérleteinkben a következő antifungális szereket használtuk: AMB (Sigma), nikkomicin Z (NIK) (Sigma), FLU (Pfizer), POSA (Schering-Plough) és CAS (Merck). A „**Célkitűzés**" fejezet **4.2.** és **4.3.** pontjaiban szereplő RZF-t a Cidara Therapeutics (San Diego, CA) biztosította a kísérleteinkhez, míg a CAS, a MCF és az ANF a Molcan Corporation (Richmond Hill, ON, Canada) cégtől származtak. Az antifungális szerek törzsoldatait az NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) M27A-2 (2002), illetve a CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ajánlásai alapján készítettük (CLSI M27-A3, 2008; M27-A4, 2012 és M27-A4, 2017a és 2017b, M27M44S, 2022/b). A FLU és a CAS feloldására steril desztillált vizet, míg a többi gyógyszernél 100 %-os dimetil-szulfoxidot használtunk. 2012-től az echinocandinokat 100 %-os dimetil-szulfoxidban oldottuk fel (CLSI, M27-A4, 2012). Az antifungális szerek koncentráció határait az egyes kísérleteknél fogom jelezni. A táplemezeket felhasználásig -70 ^{o}C-on tároltuk.

5.3.2. Minimális gátló koncentráció meghatározása leves-hígításos módszerrel

In vitro kísérleteinket még 2002-ben kezdtük végezni, amikor még csak az NCCLS, M27-A-2 (2002) ajánlása létezett a sarjadzó gombák érzékenységének a meghatározásához. Bár a későbbiekben az EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (Arendrup és mtsai., 2012; Pfaller és mtsai., 2014) is elkészítette saját javaslatait a sarjadzó gombák érzékenységének a meghatározásához, munkánk során végig az NCCLS (később CLSI) éppen aktuális ajánlásait követtük a munkánkban. Ennek megfelelően, az érzékenységi eredmények kategorizálását mindig az akkoriban érvényes NCCLS/CLSI alapján végeztük.

A MIC érték meghatározását kísérleteink döntő részében a standard BMD segítségével végeztük el, 96 üregű ELISA-táplemezt alkalmazva, 200 µl végtérfogattal. Ugyanezen

táplemezeket használtuk az MFC meghatározásához is. A fiziológiás sóoldatban, denzitométerrel 0,5 McFarland sűrűségűre állított gombaszuszpenziók előállításához 24 órás Sabouraud-agaron tenyésztett gombatelepeket használtunk, majd a megfelelő csíraszám beállításhoz (~10^3 CFU/mL) RPMI-1640 folyékony táptalajt alkalmaztunk. Az ettől eltérő kezdő csíraszámokat a megfelelő kísérleteknél fogom jelezni. Minden esetben gombakontroll (antifungális szert nem tartalmazó) és táptalajkontroll (sarjadzó gombát nem tartalmazó) üregeket is beállítottunk (NCCLS M27-A2, 2002, CLSI M27-A3, 2008; M27-A4, 2012 és M27-A4, 2017a és 2017b, M27M44S, 2022/b).

A tápfolyadék az esetek döntő részében RPMI-1640 volt (3-N-morfolino-propánszulfonsav pufferrel kiegészített). A nagy fehérje kötődéssel rendelkező CAS esetén humán szérummal (Sigma, Budapest) kiegészített RPMI-1640 tápközeget is alkalmaztunk (50% szérum) (Garcia-Effron és mtsai., 2011; Ishikawa és mtsai., 2009; Paderu és mtsai., 2007). Mivel 50%-os szérum alkalmazásánál nehéznek bizonyult a MIC érték szabad szemmel történő meghatározása, ezért néhány esetben a makro leves-hígításos módszer segítségével (1 ml végtérfogatban) határoztuk meg a CAS MIC értékeket.

A táplemezek inkubálása mindig az akkoriban érvényben lévő CLSI (NCCLS) ajánlás szerint történt (NCCLS M27-A2, 2002, CLSI M27-A3, 2008; M27-A4, 2012 és M27-A4, 2017a és 2017b, M27M44S, 2022/b), 35 °C-on; korai kísérleteinkben (2012-ig) az AMB, a FLU, a POSA és a NIK esetén 48 óra, míg az echinocandinoknál 24 óra után határoztuk meg a MIC értékeket. A 2012-es év után minden kísérletben a MIC értékek leolvasása 24 órás inkubáció után történt. A paradox növekedést vizsgáló kísérleteinkben (**4.3. pont a „Célkitűzések" fejezetben**) a táplemezeket 48 óra múlva is megvizsgáltuk, keresve a PG, valamint a TE jeleit.

Az AMB MIC értéke az AMB 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) (NCCLS M27-A2, 2002, CLSI M27-A3, 2008; M27-A4, 2012 és M27-A4, 2017a és 2017b, M27M44S, 2022/b). A vizsgált ATCC teszttörzsek MIC értékei mindig a megadott határok között voltak.

5.3.3. Minimális gátló koncentráció meghatározása MIC-teszt sztrip segítségével

A vizsgálathoz 2% glükózzal kiegészített RPMI-1640 táptalajt és 24 órás tenyészetekből, fiziológiás sóoldatban elkészített, 0,5 McFarland sűrűségű gombaszuszpenziókat használtunk. A szuszpenziókat steril tampon segítségével egyenletesen kikentük az RPMI tápagarok felszínére, amelyekre megszáradásuk után helyeztük el a tesztcsíkokat. A MIC értékeket 35 ºC-on 24 és 48 órán keresztül történő inkubálás után határoztuk meg, keresve a PG, valamint a TE jeleit (Pfaller és mtsai., 2001/b, 2003/b és 2004).

5.3.4. Minimális fungicid koncentráció meghatározása

Az MFC meghatározásánál a kezdő inokulum mennyisége POSA esetén ~10^4 CFU/mL (Cantón és mtsai., 2003), míg CAS esetén ~10^5 CFU/mL volt (Majoros és mtsai., 2005). Emelt csíraszám alkalmazása azért volt szükséges az MFC meghatározásánál, hogy a definíció szerinti 99,9%-os csíraszám csökkenést mérni tudjuk (Cantón és mtsai., 2003). Az inkubálás 35 ºC-n történt. POSA-nál a 48 órás MIC meghatározás után a táplemez teljesen tiszta üregeinek a tartalmát két db Sabouraud-agarra oltottuk ki (100-100 µl). CAS esetén 24 és 48 óra után a táplemez üregeinek a teljes tartalmát már az első részleges gátlást mutató üregtől kezdve kioltottuk (**Célkitűzések, 4.4 pont**) (Majoros és mtsai., 2005). Száradás után steril kaccsal a Sabouraud-agar felületére szélesztettük („húztuk ki") a kioltott gomba szuszpenziót. A táplemezek inkubálása 48 órán át 35 ºC-n történt. Az MFC-nek a gyógyszernek azt a koncentrációját tekintettük, ahol a sarjadzó gombáknak legalább 99,9 %-ka elpusztult (<5 telep/táplemezek POSA, illetve <50 telep/táplemezek CAS esetén) (Cantón és mtsai., 2003; Majoros és mtsai., 2005).

5.3.5. Az idő-ölés görbék felvétele

Az idő-ölés kísérleteket a Klepser és munkatársai (1998) által megadott módszer alapján végeztük. Denzitométer segítségével ~10^5 CFU/mL kiindulási csíraszámú gombaszuszpenziót készítettünk RPMI-1640 tápközegben. A vizsgált antifungális szerek koncentráció tartományai az „Eredmények" fejezetben lesznek feltüntetve, de minden esetben arra törekedtünk, hogy a szérumban maximálisan elérhető koncentrációkat is vizsgáljuk.

A táptalajt, gombaszuszpenziót, valamint a különböző koncentrációjú antifungális szereket tartalmazó csöveket folyamatosan rázatva (10 mL végtérfogatban) 35 °C-os sötét termosztátban, 48 óráig inkubáltuk. A csövekből 0, 4, 8, 12, 24 és 48 óránként kivett 100-

100 µL gombaszuszpenziót, 1:10-es léptékben, fiziológiás sóoldatban hígítottuk majd a hígításokból Sabouraud-agarok felszínére 4×30 µL-t cseppentettünk (Klepser és mtsai., 1998). Az ettől eltérő mintavételi időpontokat az „Eredmények" fejezetben jelzem. Ha előzetes tapasztalataink alapján valószínűsíthető volt, hogy a kinőtt telepek száma <1000 CFU/mL lesz, akkor a gombákat hígítás nélkül is (direkt kioltás) kioltottuk. A detektálás alsó határa 50 CFU/mL. Negyvennyolc óra múlva a kinőtt telepeket megszámoltuk és a hígítási fokok figyelembe vételével kiszámítottuk a gombasejtek számát. A kapott csíraszámokat az idő függvényében grafikusan ábrázoltuk (Klepser és mtsai., 1998).

A magyarra nehezen fordítható „antifungal carryover" (talán antifungális szerátvitel?) jelenségét a kísérletek előtt 500 CFU/mL kezdő csíraszámmal vizsgáltuk meg. A táptalaj, a gyógyszer és a gombaszuszpenzió megfelelő mennyiségeinek összemérése után 4x30 µL-t Sabouraud-agarra oltottunk és 48 órás inkubálást követően meghatároztuk a kinőtt telepszámot. Antifungális szerátvitelről akkor beszélünk, ha a különböző gyógyszer koncentrációkon tenyésztett izolátumoknál a kontrollhoz képest 25%-kal kisebb CFU értéket tapasztalunk (Klepser és mtsai., 1998). Az antifungális szerátvitelt nem észleltük a kísérleteink során.

Minden idő-ölés kísérletet legalább kétszer végeztünk el, a kapott eredményeket átlagoltuk. Az idő-ölés görbék készítésénél a computer curve-fitting software programot használtuk (GraphPad Prism 4.03 Windows verzió).

Fungicid hatásúnak tekintettük a gyógyszert, ha az életképes sejtek számát a kiindulási sejtszámhoz képest legalább 99,9 %-kal (≥3 log) csökkentette. Az ennél kisebb (<99,9 %; <3 log) mértékű csíraszám csökkenést okozó antifungális szereket fungisztatikus hatásúnak tekintettük (Klepser és mtsai., 1998).

5.3.6. Az ölési ráta meghatározása

Az ölési kinetikát 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 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. Az ölési ráta mértékegysége az 1/h, ami az egy óra alatt bekövetkező csíraszám változást (CFU/mL) jelenti. Az illesztés jóságának vizsgálatát az r^2 használatával ellenőriztük (>0,8) (Cantón és mtsai., 2004; 2009; 2010). A 99,9%-os sejtszámcsökkenéshez szükséges időt (h) az egyes antifungális szer koncentrációknál a $T_{99,9}=3/k$ összefüggés alapján számoltuk ki (Cantón és mtsai., 2004; 2009; 2010).

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.

5.3.7. Antifungális szerek alkalmazása kombinációban

PG esetén az echinocandinok csökkent ölő képessége elsősorban a nagyobb koncentrációkon volt megfigyelhető, ezért arra voltunk kíváncsiak, hogy a 16-32 mg/L CAS koncentrációnál a több *Candida* fajnál megfigyelhető PG-re, milyen hatással van a NIK (**Célkitűzések fejezet, 4.5.**). Hasonlóan vizsgáltuk a NIK hatását az ANF és a MCF ölő aktivitására a négy fő kládba tartozó *C. auris* izolátumok ellen (**Célkitűzések fejezet, 4.6.**). A vizsgálatokat az idő-ölés görbék segítségével végeztük (Kiraz és mtsai., 2010).

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 additívnak (indifferensnek) volt tekinthető a kombináció. Ha pedig a két szer együttesen két nagyságrenddel nagyobb mértékű növekedést eredményezett a hatékonyabb szerhez képest, akkor antagonizmusról beszélünk (Kiraz és mtsai., 2010).

5.4. Antifungális szerek *in vivo* hatékonysága

5.4.1. A kísérletben felhasznált egerek immunszuppresszálása

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 neme és testtömege az egyes kísérleteknél részletezett.

Az egerek *tartósan neutropéniás* állapotát ciklofoszfamid (Endoxan, Egyetemi Gyógyszertár, Debrecen) intraperitoneális adagolásával értük el: a fertőzést megelőző negyedik nap 150 mg/kg, a fertőzés előtti első nap 100 mg/kg, a fertőzést követő második és ötödik nap adott 100 mg/kg dózisokat használtunk (Andes és mtsai., 2010). A 21 napig tartó letalitási kísérletekben az ötödik nap után minden harmadik napon adagolt 100 mg/kg ciklofoszfamiddal idéztük elő a tartósan neutropéniás állapotot. Egy

kísérletsorozatban, a fertőzés előtti harmadik napon egyetlen, 200 mg/kg dózissal végeztünk immunszuppresszálást, *átmeneti neutropéniát* előidézve.

A kísérletben résztvevő egereket naponta legalább kétszer ellenőriztük. Ha a szisztémás fertőzés súlyos jeleit mutatták (pl. nem voltak képesek mozogni, önállóan enni és inni), akkor cervikális diszlokációval elpusztítottuk őket a további szenvedés elkerülése miatt.

5.4.2. A fertőzés menete

A felfrissített izolátumokat 3-4 Sabouraud-agar táptalaj felületére szélesztettük. A 24 órás, 35 °C-on történő inkubálás után a kinőtt gombapázsitot a táptalajok felszínéről steril vattatamponnal eltávolítottuk és steril fiziológiás sóoldatban elszuszpendáltuk. A szuszpenziókat 3000g fordulaton 10 percig centrifugáltuk, majd a felülúszót eltávolítottuk. A leülepedett gombasejtekhez 25 mL steril fiziológiás sóoldatot pipettáztunk és újabb 10 percen át centrifugáltuk. A mosási folyamatot még 2-szer megismételtük, majd a felülúszó eltávolítása után 8 mL fiziológiás sóoldatot adtunk a gombasejtekhez. A Bürker-kamrában történő számoláshoz a szuszpenzióból két lépésben 1:100 arányú hígítást készítettünk. A csíraszám beállítást kvantitatív kioltással ellenőriztük (Andes és mtsai., 2010).

Az egereket a laterális farokvénán keresztül fertőztük (200 µL gombaszuszpenzió/egér). Az egyes *Candida* fajoknál a beadott dózisokat előkísérleteink alapján határoztuk meg. Szervi perzisztencia kísérleteinkben olyan dózist alkalmaztunk, hogy elhullás ne legyen a kontroll állatok között, de a vizsgált szerveikből nagy legyen a kitenyésztett gombasejtek száma (Bayegan és mtsai., 2011).

5.4.3. Antifungális kezelések

Az egereket a fertőzést követően 24 órával a megfelelő antifungális szerekkel intraperitoneálisan kezdtük kezelni. Néhány kísérletünkben a kezelés megkezdése előtt (azaz a fertőzés másnapján) 3-4 egeret felboncoltunk, hogy ismerjük a szervekben lévő kiindulási gombamennyiséget. A gyógyszereket 0,5 ml térfogatban adagoltuk öt napon keresztül. Az egyes kezelési sémákat a megfelelő kísérletek részletezése tartalmazza. A kontroll csoportok 0,5 mL steril fiziológiás sóoldatot kaptak (Bayegan és mtsai., 2011).

5.4.4. Szervtenyésztés

A fertőzést követő hatodik napon a kontroll és a kezelt egereket cervikális diszlokációval leöltük, majd felboncoltuk. Az ettől eltérő boncolási időpontokat az egyes alfejezetekben külön fogom jelezni. 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 különböző hígításokból 100 µL-t oltottunk ki Sabouraud-agar táptalajra, majd 48 órás 35°C-on történő inkubálás után a kinőtt telepeket megszámoltuk. Az *in vivo* kísérletek nagy részében a kitenyészett gombák számát CFU/gramm értékben adtuk meg, mivel a belső szervek eltávolítása után azok tömegét le is mértük. A kimutatás alsó határa 50 sejt/vesék, illetve 50 sejt/szövet (gramm) voltak (Bayegan és mtsai., 2011).

5.4.5. Vizelet gyűjtése

Az intraperitoneális oltások során a személyes védőeszközöket (kesztű, köpeny, stb.) az egerek szinte minden esetben levizelték. Figyelembe véve, hogy *C. auris*-nál a húgyúti fertőzés vagy a kolonizáció gyakori, ezért a kandidúria kimutatására 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 egerek hasára a húgyhólyag felett gyenge nyomást gyakorolva 50-80 µL vizeletet nyertünk, amelyet steril Petri-csészébe gyűjtöttünk. Sorozathigítás után a mintákat közvetlenül Sabouraud-dextróz agarra oltottuk, majd 48 óra múlva a kinőtt telepeket megszámoltuk. Az AMB kezelt illetve kontroll csoportokból kitenyészett gombák számának az összehasonlítását a Student-féle T-próbával végeztük.

5.4.6. 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 (Andes és mtsai., 2010; Bayegan és mtsai., 2011).

5.4.7. Szövettani vizsgálat

A *C. auris* által fertőzött egerek veséiből, májaiból, lépeiből, szíveiből illetve a nagy-és kisagyaikból hisztopatológiai vizsgálatokat végeztünk. A szövettani mintákat 10%-os formalinos fixálást követően a Debreceni Egyetem Kenézy Gyula Kórház Patológiai Intézetébe küldtük, ahol paraffinba ágyazás és mikrotómmal 4 μm vastagságú szeletek metszése történt. Minden szervből haematoxylin & eosin és PAS festés (Perjódsav-Schiff) festés készült. Szív esetén Mallory-féle foszfor-volfrám savas hematoxilin (phosphotungstic acid haematoxylin=PTAH) festést is alkalmaztunk.

6. Eredmények

6.1. Posakonazol *in vitro* akitivitása *Candida* fajok ellen

6.1.1. MIC értékek meghatározása mikro-leveshígításos módszerrel

Kísérleteinkben a DE OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézetében a 2002-2005-ig terjedő időszakban izolált *Candida* fajok 209 db izolátumával dolgoztunk (**8. táblázat**). Az izolátumok nagy része vérmintákból származott, másik részét légúti mintákból, sebekből, peritoneális és pleurális üregekből valamint genitális mintákból izoláltuk.

Minden izolátum esetén meghatároztuk a FLU iránti MIC értékeket is. Az érzékenységi kategorizálás az NCCLS 2002-es ajánlása alapján történt (érzékeny az izolátum, ha a FLU MIC értéke ≤8 mg/L). A *C. krusei* izolátumokat primer FLU rezisztenciájuk miatt nem vizsgáltuk, illetve a *C. inconspicua* izolátumok MIC értéke három izolátum kivételével a dózisfüggően érzékeny kategóriába tartozott (MIC értékek: 16-32 mg/L). Három *C. inconspicua* izolátum rezisztens volt FLU iránt (MIC>64 mg/L). A *C. albicans* izolátumok közül két db, míg a *C. glabrata* izolátumok közül három db volt FLU rezisztens (MIC≥64 mg/L). Egy *C. glabrata* izolátum dózisfüggően érzékeny volt (MIC=16 mg/L). A többi izolátum érzékeny volt FLU iránt (MIC ≤2 mg/L) (NCCLS, M27A-2, 2002).

A POSA-t a MIC és az MFC meghatározás során 0,015-8 mg/L határok között vizsgáltuk. A CLSI alapján sem korábban, sem jelenleg nincs elfogadott POSA klinikai határérték a *Candida* fajok ellen. A kézirat megjelenése idején a ≤1 mg/L MIC értékkel rendelkező izolátumokat érzékenynek tekintették (Ostrosky-Zeichner és mtsai., 2003; Pfaller és mtsai., 2001/a). A napjainkban használatos epidemiológiai határértékeket (epidemiológiai „cut-off" =ECV) az egyes *Candida* fajoknál a **8. táblázat** foglalja össze (CLSI M59, 2018; Espinel-Ingroff és mtsai., 2014; Pfaller és mtsai., 2011/b). Az ECV azt a MIC értéket jelöli, amely magába foglalja a „vad" típusú gomba izolátumok legalább 95%-ának a MIC értékét (másképpen: a „vad" típusú izolátumok MIC értékének a felső határát) (CLSI, 2012; Pfaller és mtsai., 2010, 2011/a, b és c).

A 48 órás inkubálás után kapott geometriai és MIC_{90} ($MIC_{90=}$ az a gyógyszerkoncentráció, amely a gomba izolátumok 90%-át gátolja) értékek nem haladták meg az ECV értékeket (CLSI M59, 2018, Espinel-Ingroff és mtsai., 2014; Pfaller és

mtsai., 2011/b). Egy *C. albicans* és két *C. glabrata* izolátum POSA MIC értéke >8 mg/L volt (mindhárom FLU rezisztens volt).

8. táblázat. *Candida* fajok posakonazol MIC értékei a standard mikro-leveshígításos módszer alapján. Az egyes fajok epidemiológiai határértékeit (ECV) feltüntettem (Espinel-Ingroff és mtsai., 2014; Pfaller és mtsai., 2011/b, CLSI M59, 2018).

Vizsgált fajok (db)	GM[1] (mg/L)	MIC tartomány (mg/L)	MIC_{90} (mg/L)	ECV (mg/L)
C. albicans (32)	0,04	0,015->8	0,06	0,06
C. glabrata (30)	0,71	0,25->8	1	1
C. tropicalis (21)	0,05	0,015-0,06	0,06	0,12
C. krusei (29)	0,22	0,06-0,5	0,5	0,5
C. parapsilosis (28)	0,06	0,03-0,12	0,12	0,25
C. inconspicua (50)	0,21	0,12-0,25	0,25	NA[2]
C. kefyr (13)	0,08	0,03-0,25	0,12	0,25
C. famata (5)	0,05	0,03-0,06	NA[2]	NA[2]

[1] Geometriai átlag. [2]NA: Nem alkalmazható.

6.1.2. Minimális fungicid koncentráció meghatározása

Az MFC vizsgálatokban és az idő-ölés kísérletekben a MIC meghatározás alkalmával használt öt *C. famata* törzs helyett 3-3 db *C. lusitaniae* és *C. guilliermondii* izolátumot vizsgáltunk. Az MFC vizsgálatok során magasabb kezdő csíraszámmal (~10^4 sejt/mL) dolgoztunk (Cantón és mtsai., 2003). A kapott MIC értékek megegyeztek, vagy egy hígítási fokkal voltak magasabbak a standard inokulum (~10^3 sejt/mL) használata során tapasztalt MIC értékekhez képest (**6.1.1. alfejezet, 8. táblázat**). A kísérletben szereplő *C. lusitaniae* izolátumok MIC értékei 0,06 mg/L, míg a *C. guilliermondii* izolátumok MIC értékei 0,25 mg/L voltak, azaz nem haladták meg az ECV értékeket (*C. lusitaniae* esetén a 0,06 mg/L, míg *C. guilliermondii* esetén a 0,5 mg/L értékeket) (CLSI M59, 2018; Espinel-Ingroff és mtsai., 2014; Pfaller és mtsai., 2011/b)

Az MFC értékek eloszlása a **9. táblázatban** látható. A POSA alacsony koncentrációkon (≤2 mg/L) is fungicid hatásúnak 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. A *C. albicans,* a *C. glabrata,* a *C. tropicalis* és a *C. guilliermondii* izolátumok esetében a POSA fungisztatikus hatású volt (**9. táblázat**).

9. táblázat: Posakonazol minimális fungicid koncentráció (MFC) értékeinek a megoszlása, az MFC értékek geometriai közép értékei és a vizsgált izolátumok $MFC_{50/90}$ értékei 9 *Candida* faj esetén. $MFC_{50/90}$: az a posakonazol koncentráció, amely a gomba izolátumok 50, illetve 90%-a esetén fungicid hatású.

Vizsgált fajok (db)	MFC értékek megoszlása (mg/L)									
	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	>8	GM[1]	$MFC_{50/90}$
C. albicans (32)	-	-	-	-	-	-	-	32	>8	>8/>8
C. glabrata (30)	-	-	-	-	-	-	-	30	>8	>8/>8
C. tropicalis (21)	-	-	-	-	-	-	-	21	>8	>8/>8
C. krusei (29)	-	-	1	12	11	3	2	-	1,69	2/4
C. parapsilosis (28)	-	-	3	10	7	-	8	-	2	2/8
C. inconspicua (50)	1	7	23	19	-	-	-	-	0,57	0,5/1
C. kefyr (13)	-	-	8	-	1	1	1	2	1,38	0,5/>8
C. lusitaniae (3)	-	-	-	-	3	-	-	-	2	NA[2]
C. guilliermondii (3)								3	>8	NA[2]

[1] Geometriai átlag[2]. Nem alkalmazható.

6.1.3. Posakonazol *in vitro* aktivitása az idő-ölés görbék alapján

A vizsgált izolátumok és ATCC teszttörzsek MIC, illetve MFC értékeit a **10. táblázat** mutatja.

A vizsgált *Candida* fajok közül a POSA fungicid hatásúnak bizonyult a *C. krusei*, a *C. lusitaniae*, a *C. kefyr* és a *C. inconspicua* klinikai izolátumok ellen.

A *C. krusei* ATCC 6258-as számú teszttörzsnél 4 mg/L (16xMIC) POSA már 24 óra múlva fungicid hatású volt. Negyvennyolc óra múlva hét klinikai izolátum ellen 1 mg/L, míg két izolátum esetén a 2 mg/L POSA fungicid hatású volt. A *C. krusei* izolátumokra vonatkozó reprezentatív idő-ölés görbe, a **6. ábrán** látható.

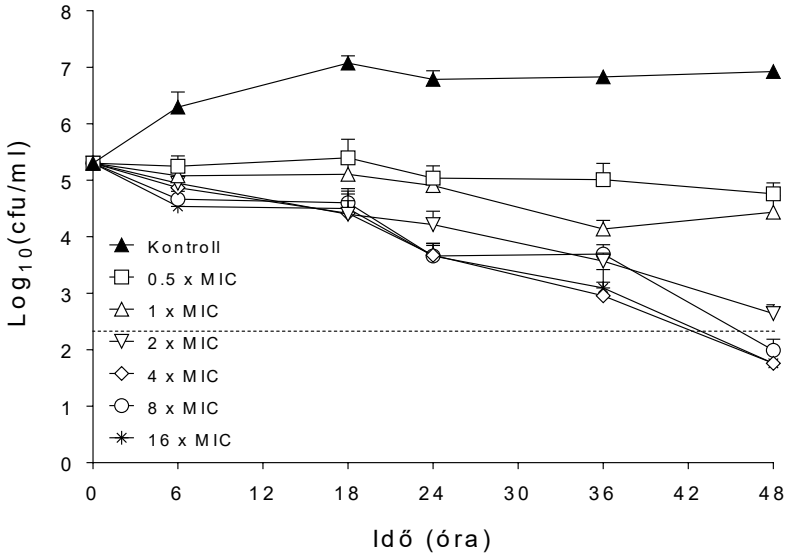
10. táblázat: Idő-ölés kísérletekben vizsgált *Candida* fajok és ATCC teszttörzsek posakonazol MIC és MFC értékei.

Vizsgált fajok (db)	A vizsgált izolátumok	
	MIC tartománya (mg/L)	MFC tartománya (mg/L)
C. albicans (4)	0,03->8	>8
C. glabrata (3)	0,5->8	>8
C. tropicalis (2)	0,06-0,25	>8
C. parapsilosis (12)	0,06-0,12	0,5->8
C. krusei (9)	0,25	0,5-8
C. inconspicua (4)	0,12-0,25	0,5-1
C. lusitaniae (3)	0,06	2
C. guilliermondii (3)	0,25	>8
C. kefyr (3)	0,06	0,5-8
C. albicans ATCC 14053	0,12	>8
C. tropicalis ATCC 750	0,5	>8
C. parapsilosis ATCC 22019	0,12	>8
C. krusei ATCC 6258	0,25	0,5
C. inconspicua ATCC 16783	0,12	0,5
C. guilliermondii ATCC 6260	0,25	>8
C. norvegensis ATCC 22977	0,12	0,25

A POSA 48 óra múlva mindhárom *C. lusitaniae* izolátum esetén fungicid hatású volt már 0,25 mg/L (4xMIC) koncentráción. Egy mg/L POSA két izolátumnál már 24 óra, míg 36 óra múlva mindhárom izolátum ellen fungicid volt.

Két *C. kefyr* izolátum ellen (MFC=0,5 mg/L) az 1 mg/L POSA (16xMIC) már 24 óra múlva fungicidnek bizonyult. Ugyanezen izolátumoknál a 0,12 mg/L (0,5-1xMIC) POSA 36 óra után mutatott fungicid hatást. A POSA a harmadik izolátum esetén, korrelációban a MFC értékkel (>8 mg/L) fungisztatikus hatású volt.

6. ábra: Posakonazol reprezentatív idő-ölés görbéi a *C. krusei* 22855-ös izolátum esetén (MIC= 0,25 mg/L). A pontozott vonal a fungicid határt jelöli.

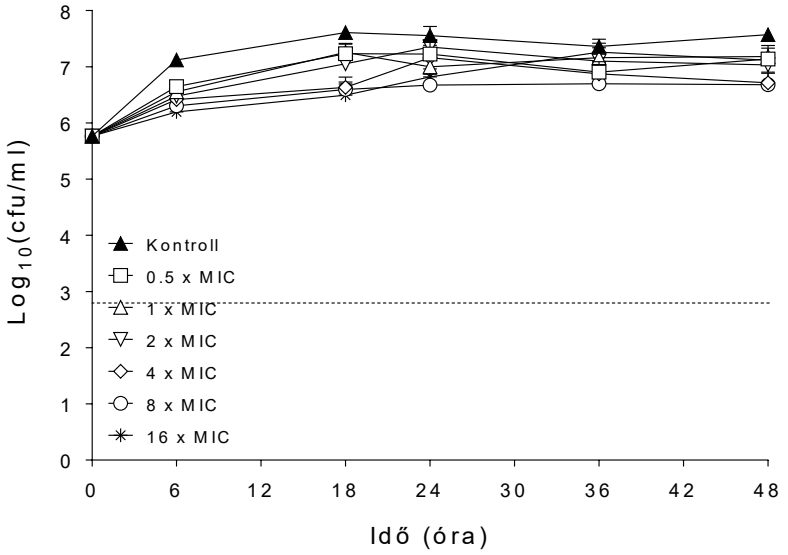


Egy mg/L (4-8xMIC) POSA már 24 óra múlva fungicid hatású volt a három *C. inconspicua* klinikai izolátum, illetve az ATCC teszttörzs ellen. Ezen izolátumok ellen a 0,06 mg/L (0,5xMIC) POSA 36 óra után is fungicid hatásúnak mutatkozott. A negyedik izolátum ellen 0,25-2 mg/L (4-16xMIC) POSA csak 48 óra után volt fungicid hatású. A *C. norvegensis* ATCC 22977 teszttörzzsel szemben a POSA 36 óra múlva 1-16xMIC koncentrációkon fungicidnek bizonyult (**10. táblázat**).

A POSA a *C. albicans,* a *C. glabrata,* a *C. tropicalis* és *C. guilliermondii* fajok ellen, megerősítve a MFC meghatározás során kapott eredményeket fungisztatikus hatásúnak bizonyult. A POSA a *C. albicans,* a *C. tropicalis* és a *C. guilliermondii* izolátumok növekedését 2-16xMIC értékeken gátolta. A magas POSA MIC értékkel rendelkező *C. albicans* (>8 mg/L) izolátum idő-ölés görbéje 16-32 mg/L POSA esetén is a kontrollhoz volt hasonló, azaz gátlást nem tapasztaltunk.

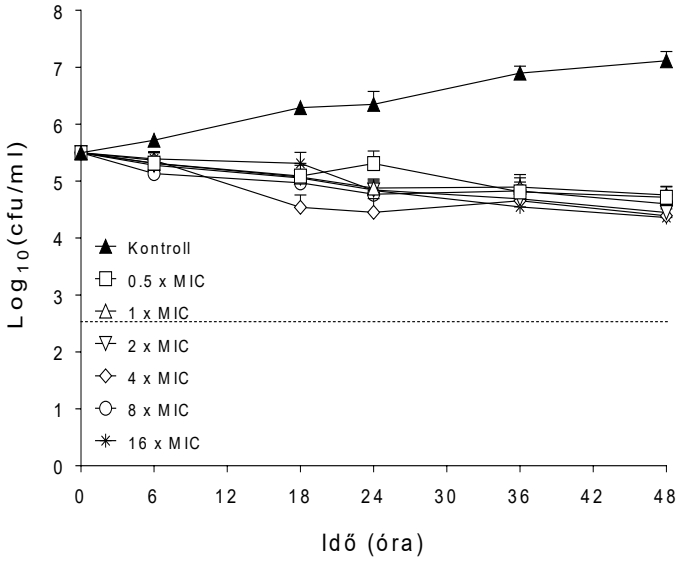
A POSA a *C. glabrata* izolátumok ellen gyenge fungisztatikus hatást mutatott (**7. ábra**). A nagy POSA MIC-kel (> 8 mg/L) rendelkező *C. glabrata* izolátum idő-ölés görbéje 16-32 mg/L POSA esetén a kontrollhoz volt hasonló.

7. ábra: Posakonazol reprezentatív idő-ölés görbéi a *C. glabrata* 69 -es számú izolátum esetén (MIC=0,5 mg/L). A pontozott vonal a fungicid határt jelöli.



Bár a MFC értékek alapján több *C. parapsilosis* izolátum ellen a POSA fungicid hatású volt (MFC: 0,5-> 8 mg/L), az idő-ölés görbék a 12 izolátum vizsgálatánál ezt egyetlen esetben sem igazolták. A POSA azonban már 0,5xMIC értékeken is fungisztatikus hatású volt az összes vizsgált izolátum ellen **(8. ábra**).

8. ábra: Posakonazol reprezentatív idő-ölés görbéi a *C. parapsilosis* 25329--es számú izolátum esetén (MIC= 0,12 mg/L). A pontozott vonal a fungicid határt jelöli.



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

A klinikai kipróbálás harmadik fázisában lévő RZF *in vitro* aktivitását hasonlítottuk össze az ANF, a CAS, a MCF, a FLU és az AMB hatékonyságával 14 ATCC teszttörzs és típustörzs illetve 689 klinikai izolátum ellen RPMI-1640 tápközegben (**11.** és **12. táblázatok**). Az izolátumok az összes *C. auris* illetve öt darab *C. fabianii* törzs kivételével a Laboratóriumunkba érkező klinikai mintákból származtak (2005 január és 2018 december közötti időszak). A *C. auris* klinikai izolátumok a Dél-Ázsiai és a Dél-Afrikai kládokba tartoztak (Bormann és mtsai., 2016). Az összes *C. albicans, C. glabrata, C. tropicalis, C. parapsilosis sensu stricto, C. krusei, C. rugosa, C. catenulata, Lodderomyces elongisporus* és a *S. cerevisiae* izolátumok steril testtájakról származtak (vér, likvor, pleurális és peritoneális folyadék). A többi faj esetén is az izolátumoknak legalább egyharmada szintén streril testtájakról származott. A MIC értékek meghatározásához szöveti tenyésztésre alkalmas táplemezt használtunk (TPP Techno Plastic Products AG, Switzerland; cat. no. 92097). A koncentrációhatárok az echinocandinoknál 0,004-2 mg/L, AMB esetén 0,015-8 mg/L illetve FLU-nál 0,06-32 mg/L voltak. A „psilosis" csoportnál az echinocandin koncentrációhatárok 0,015-8 mg/L voltak (CLSI M27-Ed4., 2017/a).

A RZF-nál a kézirat beküldése idején sem klinikai határértékek, sem pedig ECV értékek nem voltak meghatározva a *Candida* fajok illetve *S. cerevisiae* esetén. A többi antifungális szer és a vizsgált *Candida* fajoknál a korábbi irodalmi adatok ajánlásai alapján végeztük az érzékenységi kategorizálást (CLSI M60-Ed1., 2017/b; Pfaller és mtsai., 2011/b és 2012/a). *C. auris*-nál a CDC által ajánlott kategóriákat használtuk (CDC. https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html.).

A *C. krusei* ATCC 6258 és a *C. parapsilosis* ATCC 22019 törzsekkel kapott 24 órás RZF MIC értékek (25 különböző napon végeztük el) minden esetben a CLSI által előzetesen elfogadott MIC érték határokon belül voltak (January 2018 Subcommittee on Antifungal Susceptibility Tests meeting; *C. krusei* ATCC 6258: 0,015–0,12 mg/L illetve *C. parapsilosis* ATCC 22019: 0,25–1 mg/L). A többi antifungális szer esetén is a MIC értékek a korábban közölt szélsőérték határokon belül voltak (CLSI M27-Ed4., 2017/a).

11. táblázat Rezafungin (RZF), anidulafungin (ANF), kaszpofungin (CAS), micafungin (MCF), flukonazol (FLU) és amfotericin B (AMB) MIC értékei *Candida* ATCC teszttörzsek és típustörzsek ellen RPMI-1640 tápközegben.

ATCC és típustörzsek	MIC (mg/L)					
	RZF	**ANF**	**CAS**	**MCF**	**FLU**	**AMB**
C. krusei ATCC 6258	0,03-0,06	0,03-0,06	0,5-1	0,12-0,25	8-32	0,5-1
C. parapsilosis ATCC 22019	0,5-1	0,5-2	0,5-1	1-2	0,5-1	0,25-1
C. albicans ATCC 10231	0,03	0,015	0,25	0,008	0,25	0,25
C. glabrata ATCC 90030	0,06	0,0015	0,5	0,03	>32	0,5
*C. tropicalis*ATCC 750	0,06	0,015	0,12	0,03	1	1
C. dubliniensis CD36	0,03	0,015	0,06	0,015	0,25	0,25
C. auris típustörzs (NCPF 13029=CBS 10913)	0,06	0,03	0,25	0,12	0,5	0,5
C. inconspicua ATCC 16783	0,06	0,008	0,12	0,03	32	0,5
C. orthopsilosis ATCC 96139	2	1	1	0,5	0,5	0,5
C. metapsilosis ATCC 96144	0,5	0,5	0,25	0,25	1	0,5
C. africana ATCC 2669	0,03	≤0,004	0,12	0,06	0,12	0,25
C. sojae CBS 7871	0,06	≤0,004	0,25	0,015	0,25	0,12
C. rugosa ATCC 2142	0,03	0,06	0,12	0,12	1	0,25
C. guilliermondii ATCC 6260	1	0,5	0,5	2	1	0,5

A RZF már alacsony (≤0,12 mg/L) koncentráción gátolta a *C. albicans* és a *C. albicans*-hoz genetikailag közel álló *C. dubliniensis* és *C. africana,* illetve *C. tropicalis* izolátumokat (**12. táblázat**). 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 2022-ben a *C. albicans* és a *C. dubliniensis* fajokra meghatározott RZF klinikai határértékek alapján (0,25 mg/L *C. albicans* illetve 0,12 mg/L a *C. dubliniensis* esetén) az összes *C. albicans* és a *C. dubliniensis* izolátum érzékeny volt RZF iránt (CLSI M27M44S-Ed3., 2022/a és b). A RZF *in vitro* aktivitása hasonló volt a *C. glabrata* izolátumok ellen (MIC_{90}=0,12 mg/L) mint az ANF és a MCF aktivitása (MIC_{90}=0,06 mg/L, mindkét echinocandin esetén). Az izolátumok 100%-ka érzékeny volt ANF és MCF iránt, de CAS-nál az érzékenység csak 4,6% volt (**12. táblázat**). Az összes *C. glabrata* izolátum RZF MIC értéke alacsonyabb volt mint a későbbiekben megállapított klinikai határérték (0,5 mg/L) (CLSI M27M44S-Ed3., 2022/a és b). A MIC értékek eloszlása és az érzékenység hasonló volt a négy echinocandinnál a *C. krusei* illetve a *C. inconspicua* izolátumok ellen (bár utóbbi esetén sem klinikai határérték sem ECV jelenleg nincs elfogadva). Az új klinikai határérték alapján (0,25 mg/L) az összes *C. krusei* izolátum érzékeny volt a RZF iránt (CLSI M27M44S-Ed3., 2022/a).

A négy echinocandin aktivitása a „*psilosis*” csoport és a *C. guilliermondii* ellen hasonló volt; a legérzékenyebb a *C. metapsilosis* volt (a MIC_{90} érték 0,5 mg/L volt). *C.*

orthopsilosis-nál az izolátumok 53,3%-ának a CAS MIC értéke nagyobb volt mint az ECV (0,5 mg/L) érték (**12. táblázat**). Az új klinikai határérték alapján az összes *C. parapsilosis sensu stricto* és *C. guilliermondii* izolátumok érzékenyek voltak RZF iránt (a klinikai határérték: 2 mg/L) (CLSI M27M44S-Ed3., 2022/a).

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 két faj ellen az ANF volt a leghatékonyabb. A CAS MIC értékek *C. kefyr* esetén minden izolátumnál nagyobbak voltak az ECV értéknél (0,03 mg/L) (CLSI M60-Ed1., 2017/b; Pfaller és mtsai., 2011/b és 2012/a). A RZF *in vitro* aktivitása *S. cerevisiae* ellen ($MIC_{50/90}$:0,25/0,5 mg/L) hasonló volt a másik három echinocandinhoz (**12. táblázat**). A *C. auris* izolátumok mindegyikét ≤0,25 mg/L RZF már gátolta. Az újonnan bevezetett 0,25 mg/L MIC klinikai határérték alapján utólag minden *C. auris* törzs érzékeny volt RZF iránt (M27M44S-Ed3. CLSI, 2022.). Az ANF, a CAS és a MCF MIC értékek *C. auris*-nál nem haladták meg a CDC által javasolt határértékeket [≤1 mg/L CAS illetve ≤2 mg/L ANF és MCF esetében, (CDC. https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html)] (**12. táblázat**).

A RZF MIC_{90} 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 MIC_{90} értékek *C. fabianii, C. sojae* és *C. pulcherrima* fajoknál hasonlóak voltak a RZF-hoz. A MCF MIC értékek *C. lypolytica* esetén nagyobbak voltak a RZF-hoz és az ANF-hoz képest, a 10-ből öt izolátumnak a MCF MIC értékei 0,5-1 mg/L között voltak (**12. táblázat**).

A kevesebb mint 10 izolátummal rendelkező élesztőgombáknál (*C. pararugosa, C. africana, C. catenulata, C. rugosa, Lodderomyces elongisporus, C. intermedia* és a *C. carpophila*) a *C. carpophila* kivételével ≤0,25 mg/L RZF MIC értékeket mértünk (**12.** táblázat).

12. táblázat Rezafungin, anidulafungin, caspofungin, micafungin, flukonazol és amfotericin B MIC értékei *Candida* fajok és S. *cerevisiae* klinikai izolátumok ellen RPMI-1640 tápközegben.

Faj (n)	Gyógyszer	MIC (mg/L)				Érzékenység (%)			MIC értékek az ECV felett (%)
		Range	Módusz	MIC_{50}	MIC_{90}	É	M/DÉ	R	
C. albicans (125)	RZF	0,008-0,12	0,03	0,03	0,06				
	ANF	≤0,004-0,06	≤0,004	0,008	0,03	100			
	CAS	0,06-0,5	0,25	0,25	0,5	70,4	29,6		
	MCF	≤0,004-0,25	0,015	0,015	0,06	100			
	FLU	0,12->32	0,12	0,12	0,25	94,4		5,6	
	AMB	0,12-2	0,5	0,5	1				
C. glabrata (81)	RZF	0,06-0,25	0,06	0,06	0,12				
	ANF	0,008-0,12	0,03	0,03	0,06	100			
	CAS	0,12-1	0,5	0,5	0,5	4,9	32,1	63	
	MCF	0,008-0,06	0,015	0,03	0,06	100			
	FLU	0,25->32	4	2	16		95,1	4,9	
	AMB	0,25-2	0,5	0,5	1				
C. parapsilosis sensu stricto (59)	RZF	0,5-2	1	1	2				
	ANF	0,25-2	1	1	2	100			
	CAS	0,25-2	1	1	2	100			
	MCF	0,5-2	2	2	2	100			
	FLU	0,12-4	0,5	0,5	1	96,6	3,4		
	AMB	0,12-1	0,5	0,5	1				
C. tropicalis (51)	RZF	0,015-0,12	0,06	0,06	0,06				
	ANF	≤0,004-0,06	0,03	0,015	0,03	100			
	CAS	0,03-0,5	0,25	0,25	0,5	70,6	29,4		
	MCF	0,015-0,12	0,03	0,03	0,06	100			
	FLU	0,06-0-5	0,25	0,25	0,5	100			
	AMB	0,25-1	0,5	0,5	1				
C. krusei (53)	RZF	0,06-0,12	0,06	0,06	0,12				
	ANF	0,015-0,25	0,06	0,06	0,12	100			
	CAS	0,12-1	1	1	1	11,3	22,6	66,1	
	MCF	0,03-0,25	0,25	0,25	0,25	100			
	FLU	8->32	32	32	>32				
	AMB	0,5-2	1	1	1				
C. kefyr (52)	RZF	0,015-0,25	0,06	0,06	0,12				
	ANF	0,008-0,12	0,03	0,03	0,06				
	CAS	0,25-1	0,25	0,25	0,5				100
	MCF	0,008-0,12	0,06	0,06	0,12				
	FLU	0,12-4	0,12	0,12	0,5				1,9
	AMB	0,25-1	0,5	0,5	1				
C. lusitaniae (46)	RZF	0,015-0,5	0,12	0,12	0,25				
	ANF	0,008-0,25	0,03	0,03	0,06				
	CAS	0,12-1	0,5-1	0,5	1				
	MCF	0,015-0,5	0,12	0,12	0,25				
	FLU	0,06-32	0,25	0,25	4				10,9
	AMB	0,12-1	0,5	0,5	1				

12. táblázat folytatása

Faj (n)	Gyógyszer	MIC (mg/L)				Érzékenység (%)			MIC értékek (%) az ECV felett
		Range	Módusz	MIC_{50}	MIC_{90}	É	M/DÉ	R	
C. guilliermondii (27)	RZF	0,5-2	1	1	1				
	ANF	0,25-2	1	1	2	100			
	CAS	0,25-1	0,5	0,5	1	100			
	MCF	0,5-2	1	1	2	100			
	FLU	1-32	2	2	4				7,4
	AMB	0,25-1	0,5	0,5	1				
C. dubliniensis (22)	RZF	0,015-0,06	0,06	0,06	0,06				
	ANF	≤0,004-0,03	0,015	0,015	0,03				
	CAS	0,03-0,5	0,25	0,12	0,25				50
	MCF	0,008-0,12	0,03	0,03	0,03				
	FLU	0,06-0,25	0,12	0,12	0,25				
	AMB	0,06-0,5	0,12	0,25	0,5				
C. auris (19)	RZF	0,03-0,25	0,12-0,25	0,12	0,25				
	ANF	0,03-0,5	0,03	0,06	0,25				
	CAS	0,25-1	0,5	0,5	1				
	MCF	0,06-2	0,25	0,25	0,5				
	FLU	0,5->32	>32	>32	>32				68,4
	AMB	0,12-1	1	0,5	1				
C. orthopsilosis (15)	RZF	0,12-1	1	0,5	1				
	ANF	0,12-1	1	1	1				
	CAS	0,5-1	1	0,5	1				53,3
	MCF	0,25-1	0,5	0,5	1				
	FLU	0,12-0,5	0,25	0,25	0,5				
	AMB	0,12-0,5	0,25	0,25	0,5				
C. metapsilosis (15)	RZF	0,25-0,5	0,5	0,5	0,5				
	ANF	0,12-0,5	0,25	0,25	0,5				
	CAS	0,12-1	0,25	0,25	0,5				
	MCF	0,06-0,5	0,25	0,25	0,5				
	FLU	0,5-16	0,5-1	1	1				
	AMB	0,25-1	0,25-0,5	0,25	0,5				
S. cerevisiae (21)	RZF	0,03-0,5	0,5	0,25	0,5				
	ANF	0,015-0,5	0,12	0,12	0,5				
	CAS	0,5-1	1	1	1				
	MCF	0,12-0,5	0,25	0,25	0,25				
	FLU	2-8	4	4	8				
	AMB	0,25-1	0,5	0,5	1				
C. fabianii (15)	RZF	0,03-0,12	0,06	0,06	0,12				
	ANF	0,015-0,25	0,06	0,06	0,12				
	CAS	0,5-1	1	1	1				
	MCF	0,06-0,5	0,06	0,06	0,12				
	FLU	0,12-2	0,5	0,5	2				
	AMB	0,25-1	0,5	0,5	1				

12. táblázat folytatása

Faj (n)	Gyógyszer	MIC (mg/L)				Érzékenység (%)			MIC értékek az ECV felett (%)
		Range	Módusz	MIC_{50}	MIC_{90}	É	M/DÉ	R	
C. inconspicua (41)	RZF	0,015-0,06	0,06	0,06	0,06				
	ANF	≤0,004-0,015	0,008	0,008	0,015				
	CAS	0,03-0,5	0,25	0,25	0,5				
	MCF	≤0,004-0,12	0,03	0,03	0,06				
	FLU	8->32	16	32	>32				
	AMB	0,06-1	0,5	0,5	1				
C. sojae (10)	RZF	0,03-0,06	0,06	0,06	0,06				
	ANF	≤0,004-0,03	0,03	0,015	0,03				
	CAS	0,12-1	0,5	0,25	0,5				
	MCF	0,015-0,12	0,06	0,03	0,06				
	FLU	0,12-0,25	0,25	0,25	0,25				
	AMB	0,12-1	0,5	0,5	0,5				
C. lipolytica (10)	RZF	0,03-0,06	0,06	0,06	0,06				
	ANF	0,03-0,12	0,12	0,06	0,12				
	CAS	0,12-1	0,25	0,25	0,5				
	MCF	0,06-1	1	0,25	1				
	FLU	0,5-2	0,5	0,5	1				
	AMB	0,12-0,5	0,25	0,25	0,5				
C. pulcherrima (10)	RZF	0,015-0,06	0,03	0,03	0,06				
	ANF	0,015-0,06	0,015	0,015	0,06				
	CAS	0,12-1	1	0,5	1				
	MCF	0,008-0,5	0,06	0,06	0,25				
	FLU	0,12-0,5	0,25	0,25	0,25				
	AMB	0,12-1	0,5	0,5	1				
Egyéb élesztő fajok (17)*	RZF	≤0,004-0,5	0,03, 0,06	0,06	0,25				
	ANF	≤0,004-1	0,03	0,03	0,25				
	CAS	0,06-1	0,12	0,25	0,5				
	MCF	≤0,004-0,5	0,03	0,03	0,25				
	FLU	0,06-8	0,12, 0,25,	0,25	4				
	AMB	0,06-1	0,25	0,25	1				

RZF–rezafungin; ANF–anidulafungin; CAS–kaszpofungin; MCF–mikafungin; FLU–flukonazol; AMB–amfotericin B. É: érzékeny, M: mérsékelten érzékeny, DÉ: dózisfüggően érzékeny, R: rezisztens. MIC_{50}: Az a gyógyszerkoncentráció, amely a gomba izolátumok 50%-át gátolja. MIC_{90}: Az a gyógyszerkoncentráció, amely a gomba izolátumok 90%-át gátolja. ECV: epidemiological cutoff value (epidemiológiai határérték).

*Egyéb élesztő fajok: *C. pararugosa* (n=6), *C. africana* (n=3), *C. catenulata* (n=2), *C. rugosa* (n=2), *Lodderomyces elongisporus* (n=2), *C. intermedia* (n=1) and *C. carpophila* (n=1)

C. albicans és *C. glabrata* izolátumoknál a FLU rezisztencia alacsony volt (5,6% *C. albicans* illetve 4,9% *C. glabrata* esetén. Két (3,4%) *C. parapsilosis sensu stricto* izolátum dózisfüggő módon volt érzékeny a FLU iránt.

A FLU MIC értékek a *C. guilliermondii* izolátumok 7,4%-kánál, a *C. kefyr*-nél 1,9%-ban, míg *C. lusitaniae* esetén 10,9%-ban voltak nagyobbak az ECV értékeiknél. A *C. auris* izolátumok 68,4%-ának voltak magasabbak a FLU MIC értékei a CDC által ajánlott ECV-nél (https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html., 2025. május 30.).

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).

6.3. *Candida* fajok paradox növekedésének a vizsgálata

A legtöbb kísérletet a legkorábban bevezetett CAS-al végeztük a különböző *Candida* fajok vizsgálata során. Feltételeztük, hogy a PG jelensége összefüggésben lehet az echinocandinok csökkent ölő képességével, ezért az MFC illetve az idő-ölés görbék vizsgálatát is elvégeztük. Megvizsgáltuk azt is, hogy a kitin szintézisét gátló NIK és a szérum hatással vannak-e az RPMI-1640 tápközegben tapasztalható PG-re?

2018-ban lehetőségünk nyílt a RZF vizsgálatára is, ezért a MIC értékek meghatározásával az ANF, a CAS, a MCF és a RZF esetében is elvégeztük a PG és a TE vizsgálatát, 13 *Candida* faj 349 klinikai izolátumával.

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

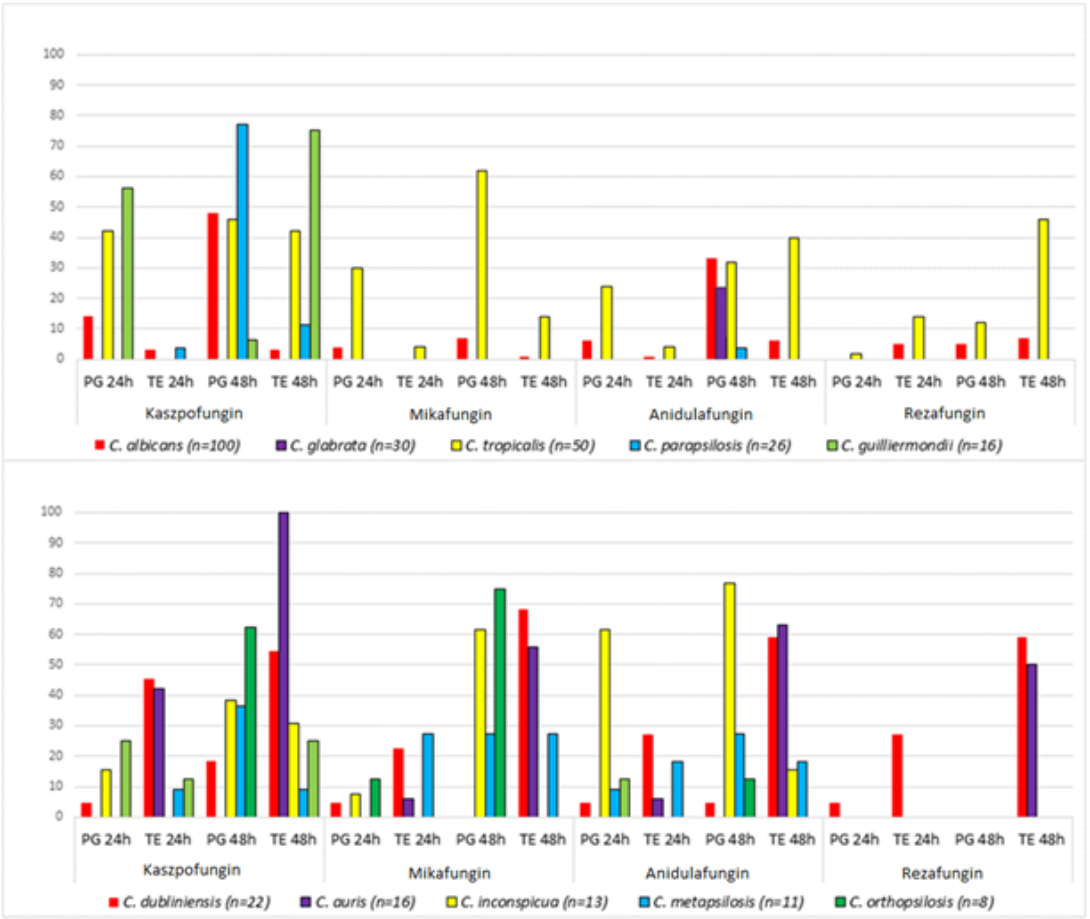
Az izolátumok előző kísérletünkből származtak (**6.2.**). A négy echinocandint 0,06-32 mg/L tartományban vizsgáltuk. A PG és a TE vizsgálatát 24 és 48 óra inkubáció után is elvégeztük.

A PG és a TE gyakorisága 24 és 48 óra után echinocandin- és fajspecifikus volt (**9. ábra** és **13. táblázat)**. 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 (**9. ábra**). RZF-nál PG-t csak a *C. albicans* (5%) és a *C. tropicalis* (12%) klinikai izolátumoknál figyeltünk meg, illetve a *C. dubliniensis* CD36 típustörzsnél 24 óra múlva, amit 48 óra után TE követett. *C. tropicalis*-nál a MCF gyakran (62%) indukált 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%) esetén figyeltünk meg PG-t (**9. ábra)**.

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, ugyanazon izolátumoknál 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-nál *C. tropicalis* (42%) és *C. guilliermondii* (75%), illetve mind a négy echinocandinnál *C. dubliniensis* (55-68%) izolátumoknál (**13. táblázat** és **9. ábra.)**.

9. ábra. A paradox növekedés (PG) és a trailing hatás (TE) gyakorisága a gyakrabban (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*) és a ritkábban (*C. guilliermondii*, *C. dubliniensis*, *C. auris*, *C. inconspicua*, *C. metapsilosis* és *C. orthopsilosis*) izolálható *Candida* fajok között.



13. táblázat. A rezafungin (RZF), az anidulafungin (ANF), a kaszpofungin (CAS) és a micafungin (MCF) MIC értékeinek a megoszlása 13 *Candida* faj esetén. A szürke cellák azokat a koncentráció-tartományokat jelzik az egyes fajok és az echinocandinok esetén, ahol a paradox növekedést a leggyakrabban észleltük.

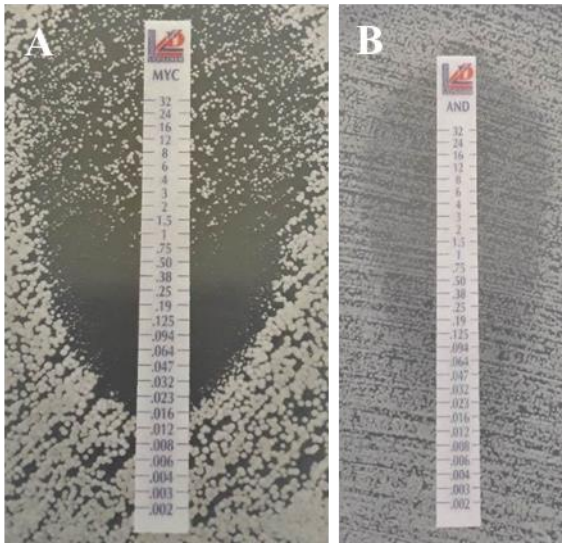
Faj (n)	**Echino-candin**	**Az izolátumok száma amelyeknél az egyes koncentrációkon gátlás figyeltünk meg (MIC) (mg/L)**									
		≤0,06	**0,12**	**0,25**	**0,5**	**1**	**2**	**4**	**8**	**16**	**32**
C. albicans (100)	RZF	100									
	ANF	100									
	CAS	9	5	52	34						
	MCF	99	1								
C. glabrata (30)	RZF	18	12								
	ANF	30									
	CAS		1	11	18						
	MCF	30									
C. parapsilosis sensu stricto (26)	RZF				5	11	10				
	ANF				4	10	12				
	CAS				4	16	6				
	MCF				3	14	9				
C. tropicalis (50)	RZF	50									
	ANF	50									
	CAS	2	9	24	15						
	MCF	48	2								
C. krusei (30)	RZF	16	14								
	ANF	27	2	1							
	CAS			2	6	22					
	MCF		9	21							
C. kefyr (16)	RZF	10	6								
	ANF	15	1								
	CAS			12	4						
	MCF	11	5								
C. lusitaniae (27)	RZF	3	17	7							
	ANF	26	1								
	CAS		1	4	12	10					
	MCF	9	11	6	1						
C. guilliermondii (16)	RZF				3	12	1				
	ANF				3	11	2				
	CAS			1	9	6					
	MCF				7	7	2				
C. dubliniensis (22)	RZF	22									
	ANF	22									
	CAS	2	8	10	2						
	MCF	22									
C. auris (16)	RZF	4	6	6							
	ANF	9	4	2	1						
	CAS			4	7	5					
	MCF		6	10							
C. orthopsilosis (8)	RZF			3	2	3					
	ANF		1	1	3	3					
	CAS				3	5					
	MCF			1	4	3					
C. metapsilosis (11)	RZF			2	9						
	ANF		4	5	2						
	CAS		1	5	5						
	MCF		1	6	4						
C. inconspicua (13)	RZF	13									
	ANF	13									
	CAS	2	4	7							
	MCF	13									

A PG gyakorisága 48 óra múlva legalacsonyabb a RZF-nál (3,1%) volt, amit a MCF (15,8%), az ANF (21%) és a CAS (31,4%) követtek. A legalacsonyabb koncentrációk ahol a PG észlelhető volt CAS-nál és RZF-nál 2 mg/L, míg az ANF és MCF esetén 0,5 mg/L voltak.

A MIC vizsgálatok során kapott „szokatlan" növekedés (PG plusz TE) a négy echinocandinnal a következő volt a vizsgált 13 *Candida* faj 365 izolátuma esetén: 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 sztripeket használtuk a PG és a TE kimutatására. A 10-10 *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis, C. krusei* és *C. auris* izolátumoknál megegyező eredményt kaptunk a BMD-vel kapott eredményekkel (**10. ábra**); az ellipszis alakú gátlási zónán belül növekedést a nagyobb koncentrációkon (PG) (**10/A ábra**), vagy növekedést mikrokolóniákkal (TE) (**10/B ábra**), vagy teljesen tiszta gátlási zónát. *C. inconspicua* esetén az ellipszis alakú gátlási zónán belül növekedést nem észleltünk.

10. ábra. Paradox növekedés és trailing hatás detektálása micafungin (A) és anidulafungin (B) MIC teszt sztripekkel *C. tropicalis* (A) illetve *C. auris* (B) esetén.

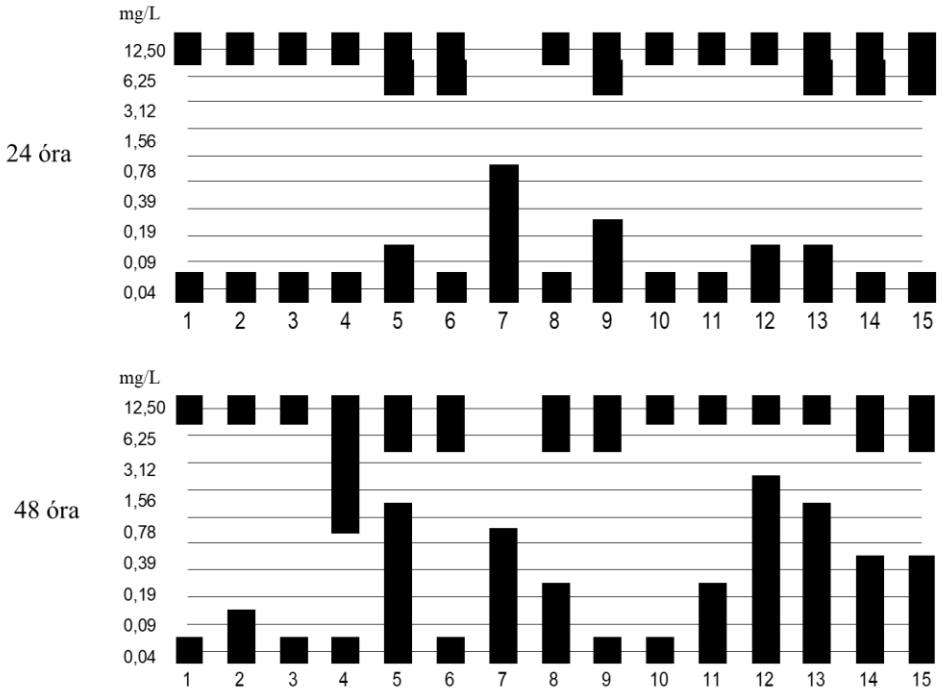


6.3.2. Paradox növekedés vizsgálata a minimális fungicid koncentráció és az idő-ölés görbék segítségével alapján

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 750 teszttörzs esetében (**11. ábra**). A vizsgált koncentráció tartományok 0,024-12,5 mg/L

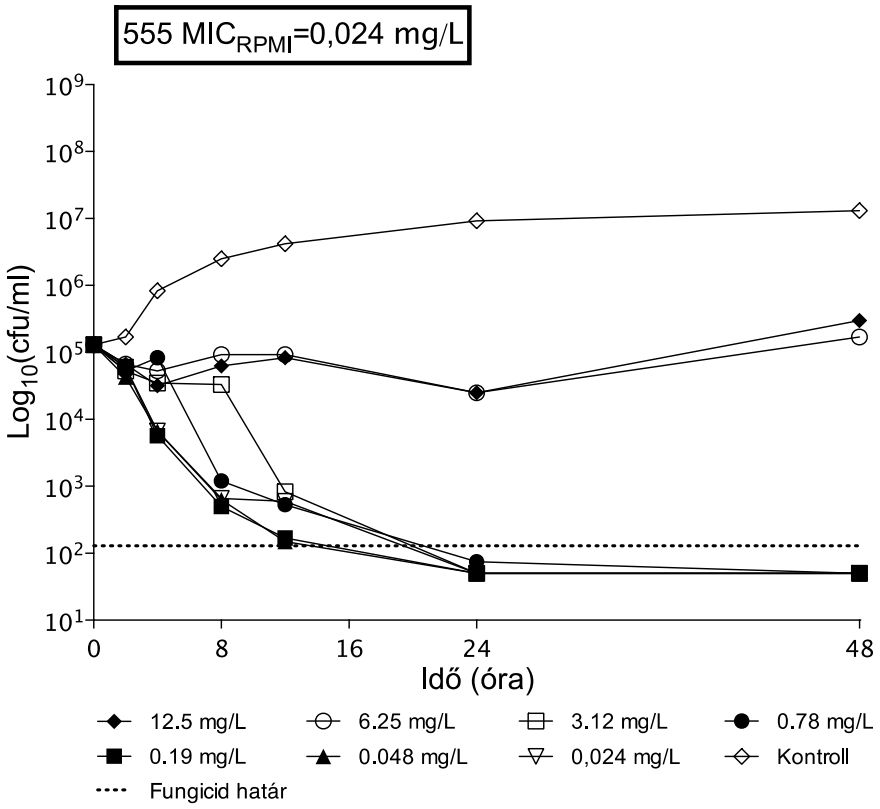
voltak és nagyobb (~10^5 CFU/mL) kezdő csíraszámmal dolgoztunk (Cantón és mtsai., 2003). A kapott MIC értékek a normál csíraszámmal (~10^3 CFU/mL) kapott MIC értékekkel megegyeztek vagy csupán egy hígítási fokkal voltak magasabbak. A 15 klinikai izolátum közül csak egy izolátum (a **11. ábrán** a 7-es számú) nem mutatott növekedést a két legnagyobb koncentráción (MFC=0,78 mg/L). A többi izolátumnál a CAS csökkent ölőképessége 6,25 és12,5 mg/L esetén 24 és 48 óra múlva jól látható (sötét területek az ábrán).

11. ábra. Kaszpofungin 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.



Az idő-ölés görbék segítségével is sikerült bizonyítani, hogy PG-nél a legnagyobb vizsgált koncentrációkon csökkent ölés figyelhető meg (fungisztatikus hatás), míg az alacsonyabb koncentrációkon a hatás fungicid. A 0,024 mg/L MIC értékkel rendelkező 555-ös számú izolátum ellen a CAS az 1xMIC (0,024 mg/L), a 2xMIC (0,048 mg/L), a 8xMIC (0,19 mg/L), a 32xMIC (0,78 mg/L) és a 128xMIC (3,12 mg/L) koncentrációkon fungicid hatású volt, de a 256xMIC (6,25 mg/L) és az 512xMIC (12,5 mg/L) koncentrációkon a hatás csupán fungisztatikus volt (**12. ábra**).

12. ábra. Kaszpofungin reprezentatív idő-ölés görbéi az 555-ös számú *C. tropicalis* izolátum esetén RPMI-1640 tápközegben.



6.4. Nikkomicin Z hatása a kaszpofungin, az anidulafungin és a mikafungin ölési aktivitására az idő-ölés görbék alapján

6.4.1. Nikkomicin Z hatása a kaszpofungin ölési aktivitására

A NIK a kitin szintáz szubsztrátjának, az UDP-N-acetilglükózaminnak a kompetitív analógjaként gátolja a kitinszintézist (Sandovsky-Losica és mtsai., 2008.). Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a nagykoncentrációjú CAS *in vitro* csökkent akitivitása összefüggésben van az emelkedett kitin tartalommal (Bizerra és mtsai., 2011; Stevens és mtsai., 2006). Ezért kíváncsiak voltunk arra, hogy a NIK *in vitr*o képes-e megakadályozni a CAS ölő hatásának a csökkenését PG-t mutató izolátumok esetén?

Az idő-ölés görbék segítségével olyan *C. albicans* és *C. tropicalis* izolátumokat szelektáltunk, amelyek RPMI-1640-ben PG-t mutattak (**14. táblázat**). Mivel *in vitro C. glabrata*-nál is kimutatták, hogy a nagykoncentrációjú CAS serkenti a kitin-szintáz enzimet, ezért öt *C. glabrata* izolátumot is megvizsgáltunk (Cota és mtsai., 2008). Két *C. glabrata* izolátumnál (69-es és 6605-ös) a CAS 24 óra után 0,12-4 mg/L-en fungicid, míg

8-16 mg/L-en fungisztatikus hatású volt, de 48 óra múlva ≥0,12 mg/L CAS már fungicid volt. Megvizsgáltuk a „*psilosis*" csoportot illetve két *C. dubliniensis* izolátumot is, amelyek korábbi munkáinkban szerepeltek (Varga és mtsai., 2008a és 2008b). Két *C. parapsilosis sensu stricto* és egy *C. orthopsilosis* izolátumnál 8 mg/L CAS esetén csökkent ölés volt megfigyelhető az alacsonyabb koncentrációkkal összehasonlítva (**14. táblázat**). Az idő-ölés görbék felvétele során a nagyobb echinocandin koncentrációkon tapasztalt csökkent ölést Cantón és munkatársai (2010) alapján mini-PG-nek is nevezik. Ilyenkor a MIC érték meghatározásánál nem figyelhető meg PG.

A NIK MIC meghatározást 0,12-8 mg/L határok között végeztük. A CAS idő-ölés görbéit 0,12-16 mg/L, míg NIK esetén ≥0,5xMIC értékeken vettük fel. A két szer kombinációjánál a CAS-t 0,12-16 mg/L értékek között vizsgáltuk. Alacsonyabb NIK MIC (0,25-4 mg/L) értékeknél az aktuális NIK MIC értéktől maximum 8 mg/L-ig végeztük a kombinációs kísérleteket. Ha a MIC≥8 mg/L volt csak a 8 mg/L NIK-et vizsgáltuk a kombinációs kísérletben.

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, a legmagasabb MIC értékeket a *C. parapsilosis sensu stricto* esetén mértünk (0,5-1 mg/L) (**14. táblázat**). A *C. tropicalis* és *C. glabrata* izolátumoknál a NIK MIC értékek minden esetben nagyobbak voltak 8 mg/L-nél. A többi faj NIK MIC értékei 1-8 mg/L között változtak.

Az idő-ölés kísérletekben a NIK a ≤4 mg/L MIC értékekkel rendelkező izolátumokkal szemben fungisztatikus hatást mutatott (**14. táblázat**). A ≥8 mg/L NIK MIC értékek esetén (*C. albicans* 10920, *C. parapsilosis* 9150, *C. orthopsilosis* CP85 valamint az összes *C. tropicalis* és *C. glabrata*), az idő-ölés görbék a kontrollokhoz voltak hasonlók.

14. táblázat. Kaszpofungin (CAS) és nikkomicin Z (NIK) MIC értékei *Candida* izolátumokkal szemben, illetve az idő-ölés kísérletek eredményei RPMI-1640 tápközegben.

Faj/izolátum	CAS		NIK		CAS +NIK kombináció, az idő-ölés kísérletekben
	MIC (mg/L)	idő-ölés kísérletek	MIC (mg/L)	idő-ölés kísérletek	
C. albicans					
4780*	≤0,015	PG (8)	4	gátlás	ölés, indifferens
10920	≤0,015	PG (4)	8	gátlás	ölés, **szinergizmus**
19627	0,03	PG (4)	2	gátlás	ölés, indifferens
17433	≤0,015	PG (8)	0.25	gátlás	ölés, indifferens
19888	≤0,015	PG (4)	4	gátlás	ölés, indifferens
C. dubliniensis					
1081	0,06	gátlás	4	gátlás	gátlás, indifferens
2953	0,06	gátlás	4	gátlás	gátlás, indifferens
C. tropicalis					
3404*	0,03	PG (8)	>8	NI	ölés, indifferens
555*	0,03	PG (8)	>8	NI	ölés, **szinergizmus**
375	≤0,015	PG (8)	>8	NI	ölés, indifferens
5093	0,03	PG (16)	>8	NI	ölés, indifferens
8640	0,03	PG (16)	>8	NI	ölés, indifferens
C. glabrata					
69	0,03	ölés (0,12)	>8	NI	ölés, **szinergizmus****
6605	0,03	ölés (0,12)	>8	NI	ölés, **szinergizmus****
2712	0,03	gátlás	>8	NI	gátlás, indifferens
14545	0,03	gátlás	>8	NI	gátlás, indifferens
27510	0,06	gátlás	>8	NI	gátlás, indifferens
C. *parapsilosis sensu stricto*					
9150	1	PG (8)	8	NI	ölés, **szinergizmus**
CP117	0,5	PG (8)	4	gátlás	ölés, indifferens
CP120	0,5	gátlás	1	gátlás	ölés, indifferens
CP121	1	gátlás	2	gátlás	ölés, **szinergizmus**
C. orthopsilosis					
CP85	0,12	PG (8)	8	NI	ölés, indifferens
CP125	0,12	ölés (16)	2	gátlás	ölés, indifferens
C. metapsilosis					
CP5	0,25	ölés (≥1)	4	gátlás	ölés, indifferens
CP86	0,25	ölés (≥8)	1	gátlás	ölés, indifferens

* paradox növekedést (PG) mutató izolátumok a CLSI mikrodilúciós teszttel. A PG utáni zárójelben lévő szám azt a koncentrációt jelzi, ahol a PG kezdődött.
** a gyógyszerkombináció 24 óra után fungicid volt az adott izolátummal szemben
NI: nincs gátlás (no inhibition), gátlás: fungisztatikus hatás, ölés: fungicid hatás

A kombinációs kísérletekben a NIK minden esetben helyreállította a nagykoncentrációjú CAS csökkent ölő aktivitását. Szinergizmust egyidejű fungicid hatással a *C. albicans* 10920, a *C. tropicalis* 555, a *C. glabrata* 69 és 6605, illetve a *C. parapsilosis* 9150 és CP121 izolátumoknál tapasztaltunk (**14. táblázat**). A szinergista hatás a 10920-as számú *C. albicans* izolátumnál már 0,125xMIC (1 mg/L) NIK esetén is megfigyelhető volt. A többi esetben a két szer kombinációja indifferens volt, mely nagyrészt fungicid hatással párosult, kivéve a *C. dubliniensis* és a szinergizmust nem mutató *C. glabrata* izolátumokat, amelyeknél a hatás fungisztatikus volt (**14. táblázat**).

Antagonizmus a CAS és a NIK között nem fordult elő.

6.4.2. 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 (**15. táblázat**). A Dél-amerikai kládból két izolátum kórházi környezetből származott.

A teljes genom szekvenálás során nyert adatok alapján a Dél-Ázsiai klád egy-egy izolátuma hordozta az S639Y (28-as izolátum) és a S639P (208-as izolátum) pontmutációt az FKS1 gén hot-spot 1 régiójában (**15. táblázat**). A 20-as izolátumnál (Dél-Ázsiai klád) az FKS1 gén hot-spot 2 régiójában sikerült egy pontmutációt azonosítani (R1354H). A szekvenálási adatok alapján a kísérletekben használt többi izolátum vad-típusúnak volt tekinthető (**15. táblázat**).

Megvizsgáltuk, hogy a fix koncentrációban adott NIK (8 mg/L) hogyan befolyásolja az ANF és a MCF ölő aktivitását. A két echinocandin vizsgált koncentrációi 0.25, 1, 8, 16 és 32 mg/L voltak.

Az ANF és MCF MIC értékek a 28-as számú izolátum kivételével alacsonyabbak voltak, mint a CDC által javasolt határértékek (≤2 mg/L mind a két echinocandin esetén). A MCF MIC értékek azonosak vagy 1-3 higítási fokkal magasabbak voltak az ANF-al összehasonlítva. A NIK MIC értékek 2->16 mg/L között voltak (**15. táblázat**).

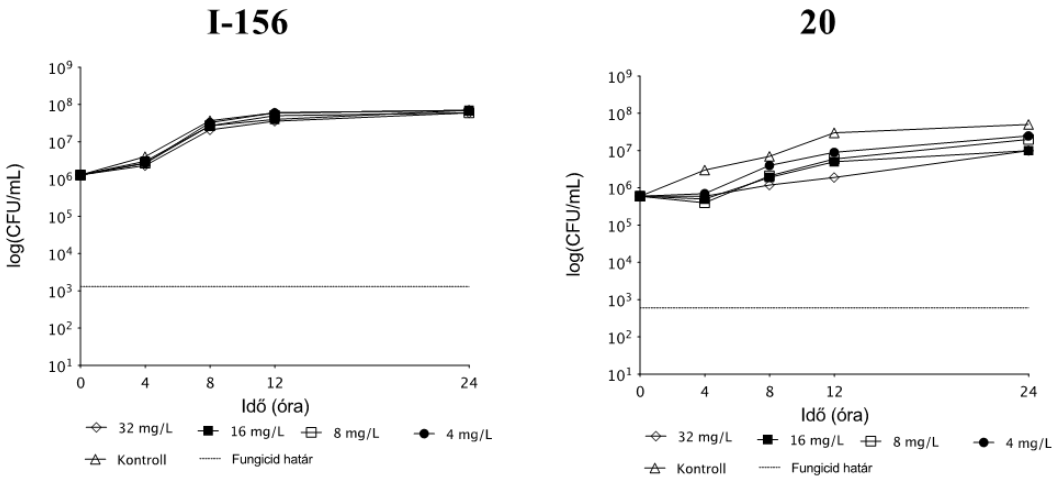
15. táblázat. Anidulafungin (ANF), micafungin (MCF) és nikkomicin Z (NIK) MIC értékekei RPMI-1640 tápközegben *Candida auris* izolátumok és a típustörzs ellen.

Klád	Izolátum száma	**Testtájék**	**FKS mutáció**	**MIC (mg/L)**		
				ANF	**MCF**	**NIK**
Dél-Ázsiai	20	Sebváladék	HS1 WT HS2 R1354H	0,25	0,25	2
	27 (NCPF 8991)	Pleurális folyadék	HS1 WT HS2 WT	0,12	0,25	>16
	28 (NCPF 8992)	Centrális katéter	HS1 S639Y HS2 WT	4	4	16
	196	Vér	HS1 WT HS2 WT	0,12	0,25	>16
	208	Törlet	HS1 S639P HS2 WT	0,5	2	16
Kelet-Ázsiai	Típus törzs (NCPF 13029= CBS 10913)	Külső fül	HS1 WT HS2 WT	0,03	0,12	>16
	12372 (CBS 12372)	Vér	HS1 WT HS2 WT	0,03	0,03	>16
	12373 (CBS 12373)	Vér	HS1 WT HS2 WT	0,06	0,06	16
Dél-Afrikai	2 (NCPF 8977)	Likvor	HS1 WT HS2 WT	0,03	0,25	8
	204	Traheosztóma	HS1 WT HS2 WT	0,03	0,12	>16
	206	Vér	HS1 WT HS2 WT	0,06	0,25	4
Dél-Amerikai (Izrael)	I-24	Vér	HS1 WT HS2 WT	0,06	0,12	4
	I-156	Vér	HS1 WT HS2 WT	0,06	0,12	4
Dél-Amerikai (Kolumbia)	13108 (CDC B-13108)	Kórházi környezet	HS1 WT HS2 WT	0,06	0,12	4
	16565 (CDC B-16565)	Kórházi környezet	HS1 WT HS2 WT	0,015	0,06	8

Az idő ölés görbék alapján 32 mg/L NIK még az alacsonyabb (2-4 mg/L) MIC értékkel rendelkező izolátumoknál sem volt fungisztatikus hatású (**13. ábra**); 24 óra után a kontrollhoz teljesen hasonló eredményt kaptunk.

Az idő-ölés kísérletekben tapasztalt maximális csíraszám változásokat (log csökkenés vagy növekedés) az **16. táblázatban** tüntettem fel. Az ANF egyedüli alkalmazása esetén nagyon gyakori volt az átmeneti csíraszám csökkenés után az újranövekedés (re-growth jelenség); a kitenyészett gombasejtek száma 24 óra múlva gyakran sokkal nagyobb volt mint a kezdő csíraszám (0 óra).

13. ábra. Nikkomicin Z reprezentatív idő-ölés görbéi az I-156-os (MIC=4 mg/L) és a 20-as (MIC=2 mg/L) *C. auris* izolátumok esetén RPMI-1640 tápközegben.



A Dél-Ázsiai klád két vad típusú izolátuma (27-es és 196-os izolátumok) ellen az ANF fungisztatikus hatású volt, újranövekedés nélkül. A két prominens mutációval rendelkező izolátumnál (a 28-as és a 208-as) csíraszám csökkenés csak az első 4-8 órában volt, majd újranövekedés indult (**16. táblázat**); az ölési ráta (*k*) értékek mindig negatívak voltak. Nyolc mg/L NIK a két vad típusú izolátumnál fokozta az ölést (fungicid hatás) illetve mind az öt kombináció a 196-os izolátumnál szinergista hatást eredményezett (**16. táblázat,** és **14. ábra)**. A mutációval rendelkező izolátumok közül csak a 20-nál tapasztaltunk minden vizsgált koncentrációnál tartós csíraszám csökkenést. A 28-as izolátumnál (HS1 S639Y) 8 mg/L NIK a tesztelt ANF koncentrációkon csak átmeneti csíraszám csökkenést eredményezett, mindig negatív *k* értékekkel (növekedés). A 208-as izolátumnál (S639P), azonban a 8-32 mg/L ANF+8 mg/L NIK kombinációk pozitív ölési ráta értékeket eredményeztek. Szinergizmust ezeknél az izolátumoknál nem tapasztaltunk (**16. táblázat,** és **14. ábra)**.

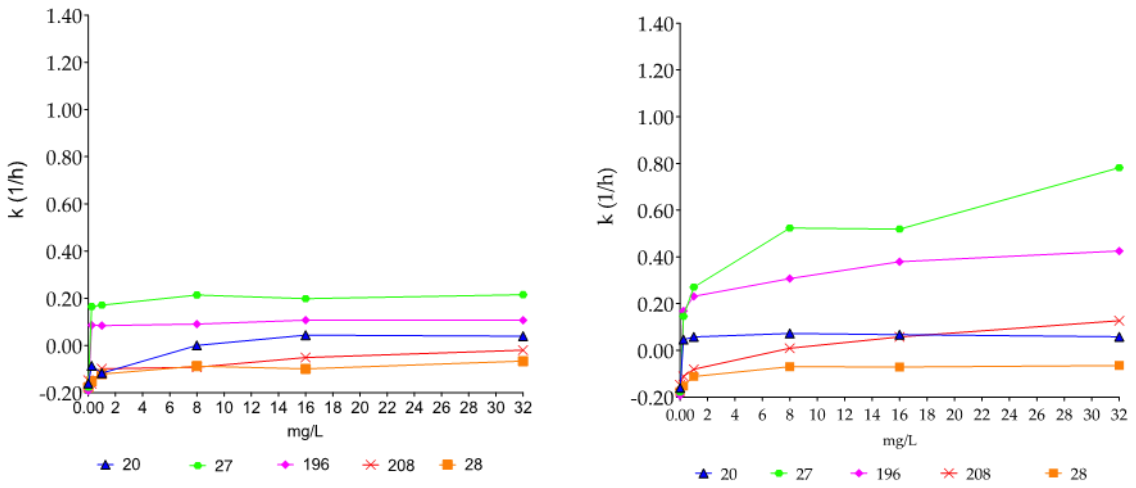
16. táblázat. Az anidulafungin és az anidulafungin+nikkomicin Z idő-ölés vizsgálatokban tapasztalható maximális csíraszám változások (log). Negatív értékek csíraszám csökkenést, pozitív értékek csíraszám növekedést jelentenek. A szinergista hatást félkövér, míg a fungicid (≥3 log CFU/mL csökkenés) hatást aláhúzott számokkal jelöltem.

Klád	Izolátum száma	Az anidulafungin és az anidulafungin+nikkomicin Z idő-ölés vizsgálatokban tapasztalható maximális csíraszám változása (log)									
		Anidulafungin (mg/L)					Anidulafungin (mg/L)+nikkomicin Z (mg/L)				
		0,25	1	8	16	32	0,25+8	1+8	8+8	16+8	32+8
Dél-Ázsiai	20	-0,27*	-0,22*	-0,29*	-0,88	-0,74	-0,69	-1,0	-1,57	-1,48	-1,57
	27	-0,61	-1,04	-1,4	-1,32	-1,4	-2,3	-2,78	-3,16	-3,22	-3,05
	28	+2,39	-0,22*	-0,19*	+0,88	+0,54	+1,42	-0,05*	-0,10*	-0,10*	-0,08*
	196	-0,39	-0,57	-0,42	-0,62	-0,96	**-2,54**	**-3,02**	**-3,02**	**-3,02**	**-3,02**
	208	-0,08*	+1,24	+1,22	+0,82	+0,52	+1,40	+1,10	-0,15*	-0,10*	-0,43
Kelet-Ázsiai	Típus-törzs**	-1,15*	-1,54*	-1,98	-1,98	-3,0	-1,0	-1,13	-2,13	**-3,9**	**-3,9**
	12372	-0,58*	-0,54*	-1,42*	-1,18*	-1,23*	-0,87*	**-1,92**	**-3,85**	**-3,85**	**-3,85**
	12373	-0,52*	-0,62*	-0,62*	-0,70*	-0,80*	-1,0	**-2,22**	**-4,0**	**-4,0**	**-4,0**
Dél-Afrikai	2	+0,45	+0,24	+0,26	+0,32	+0,26	-1,28	-1,30	-1,41	-1,48	-1,60
	204	-0,35*	-0,03*	-0,19*	+0,33	-0,15*	-0,83	-0,95	-1,20	-1,32	**-1,82**
	206	+0,48	+0,51	+0,54	-0,19*	-0,92*	-0,34*	-0,21*	-0,22*	-0,29*	-0,44*
Dél-Amerikai (Izrael)	I-24	-0,33*	-0,27*	-0,22*	-0,19*	-0,11*	-0,57	-0,69	-0,77	-0,82	-1,32
	I-156	-0,35*	-0,18*	-0-14*	-0,22*	-0-15*	-0,85	-1,22	-1,41	-1,71	**-2,26**
Dél-Amerikai (Kolumbia)	13108	-0,96	-0,77	-0,78	-0,78	-0,48	**-4,08**	**-4,08**	**-4,08**	**-4,08**	**-4,08**
	16565	-2,3	-1,7	-1,09	-0,79	-0,99	-4,15	**-4,15**	**-4,15**	**-4,15**	**-4,15**

*Újranövekedés
**(NCPF 13029=CBS 10913)

A Kelet-Ázsiai kládnál az ANF csak a típus törzsnél volt fungicid hatású (32 mg/L-en). A többi izolátumnál az ANF fungisztatikus volt, gyakori újranövekedéssel. Az ANF-hoz adott 8 mg/L NIK a három törzsnél a 15 vizsgált kombinációból 10 esetben szinergista volt, nyolc esetben fungicid hatással (**16. táblázat**).

14. ábra. Az anidulafungin (0.25, 1, 8, 16 és 32 mg/L) által kifejtett ölési ráta a *C. auris* Dél-Ázsiai kládjába tartozó 5 izolátum esetén (bal oldalt) illetve 8 mg/L-es nikkomicin Z kombinációval (jobb oldalt). A regressziós egyeneseket a jobb láthatóság kedvéért eltávolítottuk.

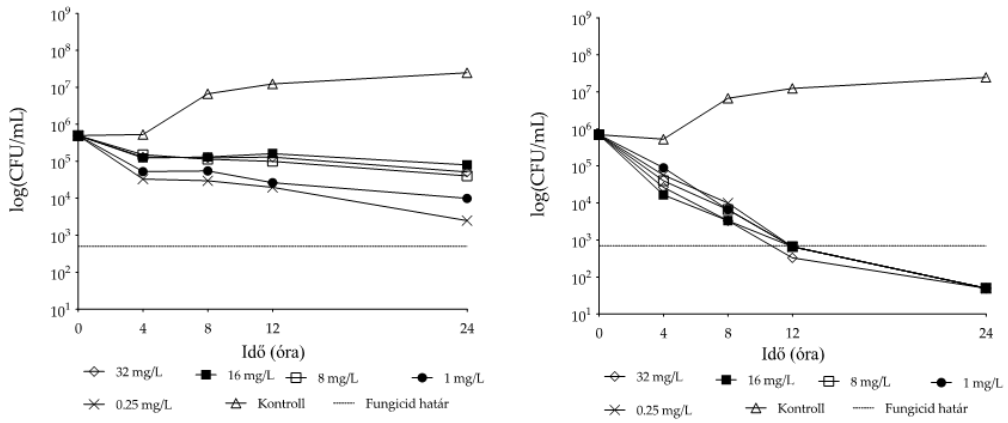


Az ANF a Dél-Afrikai klád izolátumai ellen nagyon gyenge fungisztatikus hatást mutatott, mindig negatív *k* értékekkel. A NIK-kel való kombináció a 2-es és a 204-es izolátumoknál szignifikánsan fokozta az ANF ölő hatását, mindig pozitív *k* értékekkel, újranövekedés nélkül. A 32 mg/L ANF+8 mg/L NIK kombináció a 204-es izolátumnál szinergista hatású volt. A NIK a 206-os számú törzsnél nem fokozta az ANF *in vitro* aktivitását (**16. táblázat**).

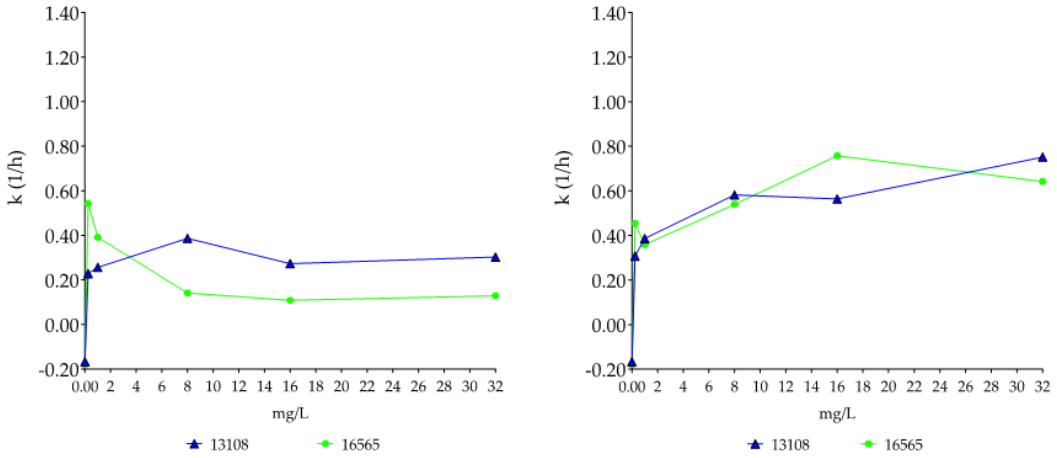
A Dél-amerikai klád izraeli klinikai izolátumai ellen gyenge fungisztatikus hatás volt megfigyelhető, jelentős csíraszám növekedéssel. A NIK-el való kombináció minden vizsgált koncentráción, mindkét izolátumnál pozitív ölési rátát eredményezett. Az I-156-es izolátumnál a 32 mg/L ANF+8 mg/L NIK kombinációja szinergista volt (**16. táblázat**).

A Dél-amerikai klád, kolumbiai környezeti izolátumainál az ANF fungisztatikus volt és a 16565-ös izolátumnál a nagyobb koncentrációkon kisebb volt az ölés, mint az alacsonyabb koncentrációkon (mini-PG: a nagyobb koncentrációkon gyengébb az ölés, mint az alacsonyabb koncentrációkon) (**15. és 16. ábra**). Nyolc mg/L NIK minden vizsgált ANF koncentráción, mindkét izolátumnál gyors fungicid hatást eredményezett. Szinergizmust kilenc esetben találtunk a 10 kombinációból (**16. táblázat**).

15. ábra. Anidulafungin (0.25, 1, 8, 16 és 32 mg/L) (bal oldalt) illetve anidulafungin (0.25, 1, 8, 16 és 32 mg/L) plusz 8 mg/L nikkomicin Z reprezentatív idő-ölés görbéi a 16565-ös *C. auris* izolátum esetén RPMI-1640 tápközegben.



16. ábra. Az anidulafungin (0.25, 1, 8, 16 és 32 mg/L) által kifejtett ölési ráta a *C. auris* Dél-amerikai kládjába tartozó 2 környezeti izolátum esetén (bal oldalt) illetve 8 mg/L-es nikkomicin Z kombinációval (jobb oldalt). A regressziós egyeneseket a jobb láthatóság kedvéért eltávolítottuk.



Összegezve: az ANF kombinációja a NIK-vel a vad típusú izolátumok esetén nagyon gyakran fungicid (25/60=41,7%), illetve szinergista (22/60=36,7%) hatást eredményezett.

Antagonizmust nem észleltünk.

Eredményeink nagy hasonlóak voltak MCF esetén, illetve amikor a MCF-t NIK-el kombináltuk (**17. táblázat**).

17. táblázat. A mikafungin és a mikafungin+nikkomicin Z idő-ölés vizsgálatokban tapasztalható maximális csíraszám változások (log). Negatív értékek csíraszám csökkenést, pozitív értékek csíraszám növekedést jelentenek. A szinergista hatást félkövér, míg a fungicid (>3 log CFU/mL csökkenés) hatást aláhúzott számokkal jelöltem.

Klád	Izolátum száma	A mikafungin és a mikafungin+nikkomicin Z idő-ölés vizsgálatokban tapasztalható maximális csíraszám változás (log)									
		Mikafungin (mg/L)					Mikafungin (mg/L) +nikkomicin Z (mg/L)				
		0,25	1	8	16	32	0,25+8	1+8	8+8	16+8	32+8
Dél-Ázsiai	20	+1,02	-0,47*	-0,35*	-0,52*	-0,44*	**-1,78**	**-1,68**	-1,13	-0,95	-1,38*
	27	-1,68	-2,51	-1,43	-1,27	-1,30	-2,38	-2,40	-2,51	-2,84	**-3,6**
	28	+1,45	+1,34	-0,83*	-0,35*	-0,44*	+1,52	-0,16*	-0,70*	-0,57*	**-0,52***
	196	-0,51	-0,69	-0,32	-0,24	-0,24	-2,32	-2,15	**-2,62**	**-2,62**	**-2,72**
	208	+1,67	+1,89	-0,08*	-0,14*	+1,13	+1,72	+1,52	-0-04*	-0,04*	-0,13*
Kelet-Ázsiai	Típus-törzs**	-0,67*	-0,60	-0,56	-0,49*	-0,51*	-0,69	-0,64	-0,64	-0,54	-0,62
	12372	-0,54*	-0,67*	-0,54*	-0,64*	-0,72*	**-1,51**	**-1,90**	**-2,12**	**-2,54**	**-3,15**
	12373	-0,30*	-0,39*	-0,52*	-0,33*	-0,39*	-1,47	-1,49	**-1,70**	**-1,74**	**-2,64**
Dél-Afrikai	2	+0,37	+0,34	+0,26	+0,36	+0,21	-1,46	-1,50	-1,60	**-1,67**	**-2,48**
	204	-0,08*	-0,11*	-0,05*	-0,05*	-0,11*	-0,56	-0,65	-0,65	-0,78	-0,88
	206	+0,54	+0,51	+0,60	+0,48	+0,48	-0,23*	-0,23*	-0,23*	-0,16*	-0,22*
Dél-Amerikai (Izrael)	I-24	-0,30*	-0,24*	-0,19*	-0,15*	-0,24*	-0,65	-0,83	-0,69*	-0,83	-0,79
	I-156	-0,18*	-0,30*	-0,35*	-0,35*	-0,30*	-1,30	-1,52	-1,49	-1,48	-1,42
Dél-Amerikai (Kolumbia)	13108	-0,86*	-0,86*	-0,95*	-1,08*	-1,08	**-3,13**	**-3,35**	**-4,26**	**-4,26**	**-4,26**
	16565	-1,15	-1,15	-0,79*	-0,59*	-0,77*	**-4,26**	**-4,26**	**-4,26**	**-4,26**	**-4,26**

*Újranövekedés **(NCPF 13029=CBS 10913)

A MCF mini-PG-t nemcsak a Dél-amerikai kládba tartozó 16565-ös izolátumnál eredményezett, de a Dél-Ázsiai kládba tartozó 27-es és 196-os számú izolátumoknál is. Az alacsony MCF MIC értékkel rendelkező mutáns izolátumnál (HS2 R1354H) a NIK-el való kombináció minden esetben pozitív *k* értékeket eredményezett, ráadásul a 0,25-1 mg/L MCF + 8 mg/L NIK kombinációk szinergista hatást eredményeztek (**17. táblázat**). A két prominens mutációval rendelkező izolátumnál (28-as és 208-as) csak az első 4 órában volt CFU csökkenés, utána erőteljes újranövekedést figyeltünk meg, mindig negatív *k* értékekkel.

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.

6.5. Humán szérum hatása a kaszpofungin ölési aktivitására

Korábbi irodalmi adatokból ismert volt, hogy 5-50%-os állati vagy humán eredetű szérumban az echinocandin MIC értékek emelkednek, illetve 50% szérum tápközegben a PG nem figyelhető meg (Shields és mtsai., 2011/a). Ezért a korábbi alfejezetben (**6.4.1.**) szereplő fajok mindegyikével elvégeztük az idő-ölés görbék felvételét RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben (**18. táblázat**). Az idő-ölés görbék esetén 0,12, 1 és 16 mg/L CAS-t alkalmaztunk.

A nagykoncentrációjú CAS paradox módon csökkent *in vitro* aktivitása a *C. albicans* és a *C. tropicalis* izolátumok ellen könnyen felismerhető a **18. táblázat** alapján, hiszen 0,12 és/vagy 1 mg/L CAS fungicid hatást eredményezett (≥3 log CFU/mL csökkenés), míg 16 mg/L-nél a hatás fungisztatikus (<3 log CFU/mL csökkenés) volt. A két *C. parapsilosis sensu stricto* és *C. orthopsilosis* izolátumoknál a CAS fungicid hatása 2-4 mg/L-en jelentkezett (mini-PG).

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).

Ötven százalék humán szérum helyreállította a CAS RPMI-1640-ben tapasztalt csökkent ölőképességét a legmagasabb koncentráción. Alacsonyabb koncentrációkon a CAS ölő aktivitása csökkent (**18. táblázat)**.

Egy mg/L CAS a „*psilosis*” csoport egyik tagja esetén sem gátolta a gombák növekedését. A *C. parapsilosis sensu stricto* 9150 izolátumnál még a legnagyobb koncentráció esetén is (16 mg/L) erőteljes növekedést észleltünk (**18. táblázat)**.

18. táblázat. Kaszpofungin (CAS) *in vitro* ölő aktívitása *C. albicans, C. dubliniensis, C. tropicalis, C. glabrata, C. parapsilosis sensu stricto, C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* klinikai izolátumok ellen, RPMI-1640 és 50% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegben az idő-ölés kísérletekben. A gombasejtek számának a változását log CFU/mL-ben adtuk meg. Negatív érték csíraszám csökkenést, míg pozitív érték csíraszám növekedést jelent.

Klinikai izolátumok	CAS (mg/L)	Gombasejtszám változás (log_{10} CFU/mL)	
		RPMI-1640	50% szérum
C. albicans 10920	16	-1,28*	-3,08
	1	-3,50	-1,75
	0,12	-3,38	+1,46
C. albicans 17433	16	-1,33*	-3,25
	1	-3,50	-3,25
	0,12	-2,38	+1,03
C. dubliniensis 2953	16	-1,48	-0,34
	1	-0,31	-0,04
	0,12	-0,24	+1,09
C. tropicalis 555	16	-1,18*	-3,30
	1	-3,25	-3,08
	0,12	-2,15	+1,82
C. tropicalis 375	16	-1,23*	-3,30
	1	-3,30	-3,08
	0,12	-2,25	+0,83
C. glabrata 6605	16	-3,78**	-4,0
	1	-3,78	-4,0
	0,12	-3,08	+1,75
C. glabrata 14545	16	-1,08	-1,26
	1	-1,38	-0,40
	0,12	-1,35	+1,62
C. parapsilosis sensu stricto 9150	16	-1,07*	+1,49
	1	-1,40	+1,71
	0,12	+1,40	+1,73
C. parapsilosis sensu stricto CP117	16	-1,60*	-0,10
	1	-2,56	+1,52
	0,12	+1,18	+1,68
C. orthopsilosis CP85	16	-1,59*	-1,21
	1	-1,19	+1,24
	0,12	+1,54	+1,51
C. metapsilosis CP5	16	-3,60	-2,08
	1	-3,60	+0,60
	0,12	-0,63	+1,04

*mini-PG-t mutató izolátum idő-ölés kísérlet során 48 óra után
**mini-PG-t mutató izolátum idő-ölés kísérlet során 24 óra után

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

Ebben a fejezetben a CAS által kifejtett ölés mértékét az ölési ráta segítségével határoztuk meg RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben. Ugyanazon izolátumokkal azután neutropéniás egereket fertőztünk, majd emelkedő napi dózisú CAS kezelést alkalmazva, korrelációt kerestünk az *in vitro* és *in vivo* eredmények között.

6.6.1. Kaszpofungin MIC értékek RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben

A CAS MIC értékeket RPMI-1640 és 50% szérum tápközegekben 24 óra inkubálás után a standard makrodilúciós módszer alapján határoztuk meg (**19. táblázat**).

A négy vérből származó ***C. glabrata*** klinikai izolátumot a 2013-14-es években izoláltuk. Két echinocandin rezisztens (DPL27, FKS S663P és DPL245, FKS S629P) klinikai izolátumot szintén vizsgáltunk, amelyeket David Perlin Laboratóriumában azonosítottak. RPMI-1640-ben mind a négy vérből származó klinikai izolátum és az ATCC teszttörzs is érzékenyek volt CAS iránt (M27M44S-Ed3. CLSI, Wayne, PA, USA, 2022.). Ötven százalék szérumban a MIC értékek 4-8-szorosára nőttek. Tesztközegtől függetlenül a DPL27 és DPL245-ös számú izolátumok rezisztensek voltak CAS iránt (**19. táblázat**).

Mindhárom ***C. krusei*** törzs vérből származott. Egy echinocandin rezisztens, heterozigóta mutációval rendelkező klinikai izolátumot szintén vizsgáltunk (DPL45, FKS F645F/C). A ***C. inconspiuca*** izolátumok vérből, hasüregi folyadékból és sebváladékból származtak.

RPMI-1640-ben a *C. krusei* klinikai izolátumok érzékenyek voltak CAS iránt (CLSI, M27M44S-Ed3., 2022/b), míg a DPL45-ös izolátum rezisztens volt. Ötven százalék szérumban az izolátumok MIC értékei 4-8-szeresére növekedtek (**19. táblázat**). *C. inconspicua* esetén jelenleg sem klinikai, sem pedig epidemiológiai határérték nincs, de az izolátumok MIC értékei alacsonyak voltak. Ötven százalék szérumban a MIC értékek 4-szeresére nőttek (**19. táblázat**).

19. táblázat. A kaszpofungin MIC értékei *Candida glabrata*, *Candida krusei* és *Candida inconspicua* klinikai izolátumok és 3 ATCC teszttörzs esetén a standard mikrodilúciós módszerrel RPMI-1640 (RPMI) és RPMI-1640+50% szérum (50% szérum) tápközegekben.

Faj/izolátum	MICs (mg/L)		Arány[1]
	RPMI	50 % szérum	
C. glabrata ATCC 90030	≤0,03	0,125	4
C. glabrata 11900	≤0,03	0,25	8
C. glabrata 9098	≤0,03	0,125	4
C. glabrata 18910	≤0,03	0,125	4
C. glabrata 15242	≤0,03	0,25	8
C. glabrata DPL27	8	8	1
C. glabrata DPL245	>32	>32	≥1
C. krusei ATCC 6258	0,25	2	8
C. krusei 5029	0,25	2	8
C. krusei 4363	0,25	2	8
C. krusei 27393	0,25	2	8
C. krusei DPL45	8	32	4
C. parapsilosis ATCC 22019	0,5	1	2
C. inconspicua 12060	0,125	0,5	4
C. inconspicua 22027	0,125	0,5	4
C. inconspicua 20114	0,06	0,25	4

[1]A MIC értékek arányai (50% szérum/RPMI-1640).

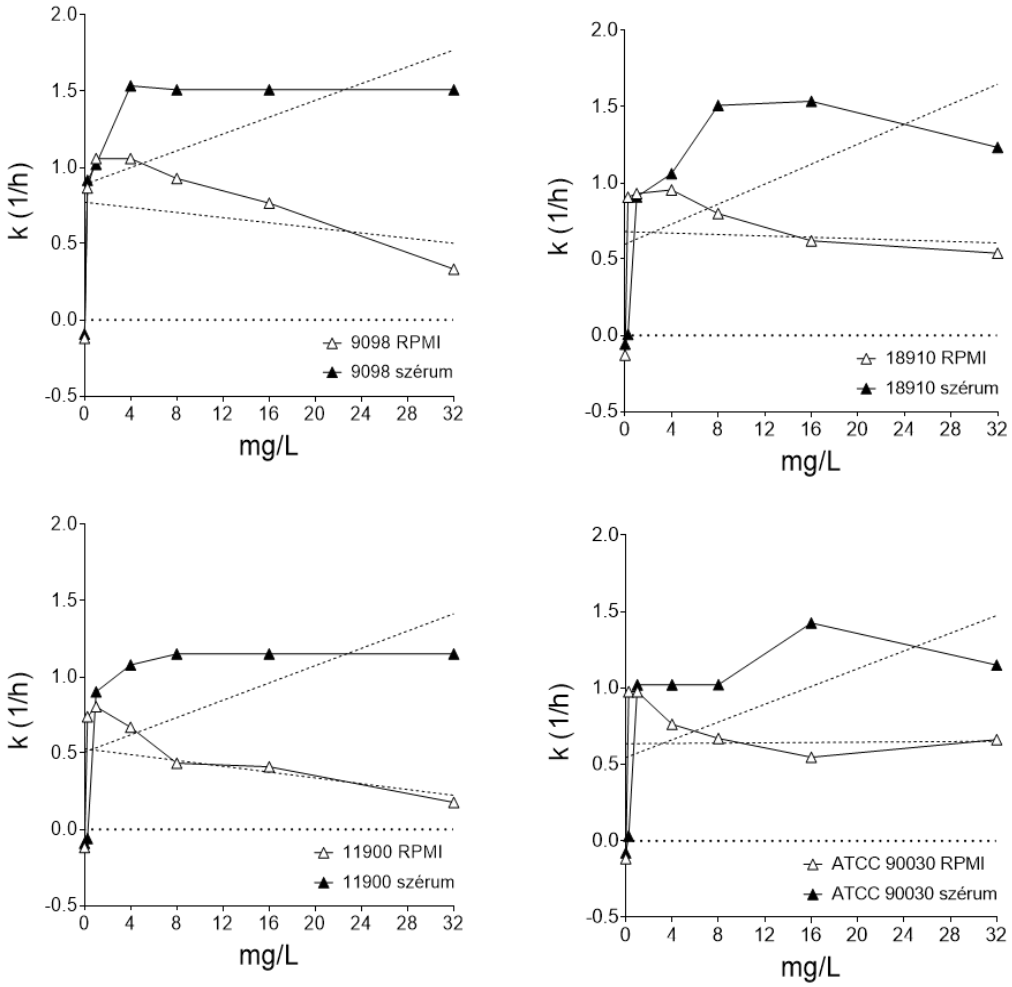
6.6.2. Kaszpofungin ölési ráta értékek korrelációja az *in vivo* hatékonysággal *Candida glabrata* esetén.

Az ölési ráta és a vizsgált CAS koncentrációk közötti kapcsolat mindkét tesztközegben lineáris volt. RPMI-1640-ben az ölési ráta a 11900-as, a 18910-es, a 9098-as számú izolátumoknál és az ATCC teszttörzs esetén is szignifikánsan nagyobb volt 0,25-1 mg/L CAS esetén, mint 16-32 mg/L-nél (mini-PG) ($p<0,05$-$0,001$) (**17. ábra**). A 15242-es izolátumnál a *k* értékek 0,25, 1 és 32 mg/L koncentrációkon szignifikánsan magasabbak voltak, mint a köztes koncentrációkon. A két echinocandin rezisztens izolátumnál a *k* értékek negatívak voltak, kivéve a DPL27-es izolátumot 32 mg/L CAS esetén (k=0,177 1/h).

Ötven százalék szérumban a CAS ölő hatása növekedett. A legalacsonyabb koncentráción a *k* érték csak a 11900-as izolátumnál volt negatív (k=-0,059 1/h) (**17 ábra**). A *k* értékek 4-32 mg/L CAS-nál izolátum-függőek, de koncentrációtól függetlenek voltak ($p>0,05$, minden összehasonlításban). A DPL27-es számú izolátumnál a *k* értékek

16 mg/L-nél 0,065, míg 32 mg/L-nél 0,354 1/h voltak, azaz 50% szérum fokozta az ölést az RPMI-1640 tápközeghez képest. A DPL245 izolátumnál minden *k* érték negatív volt.

17. ábra. Kaszpofungin ölési ráta értékek a *C. glabrata* 9098, 18910, 11900 izolátumok és az ATCC 90030-as számú tesztttörzs esetén RPMI-1640-ben, valamint 50% szérumban. A szaggatott vonal a regressziós egyenest szimbolizálja.

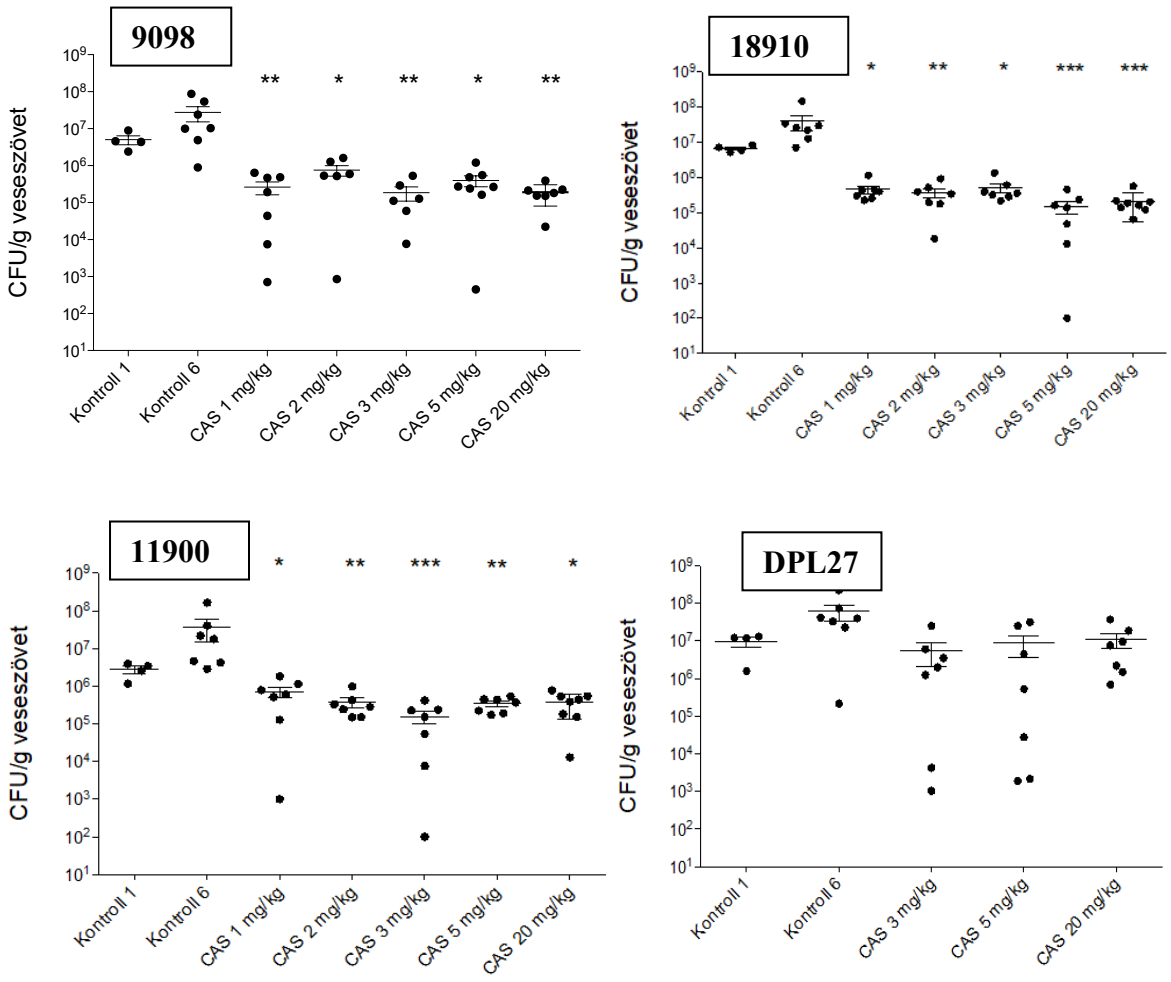


Előkísérleteinkben a $7x10^7$ CFU/mL inokulum a két echinocandin rezisztens izolátummal fertőzött egerek mindegyikét 5 napon belül elpusztította, de minden egér életben maradt az echinocandin érzékeny klinikai izolátumoknál. A rezisztens izolátumoknál ezért csak $2,5x10^7$ CFU/mL fertőző dózist alkalmaztunk, hogy a kísérlet végére minden egér életben maradjon.

A fertőzés másnapján, 4-4 egér veséiből meghatároztuk a gombák számát (első napi kontrollok). Az átlagos CFU/gramm értékek az érzékeny izolátumoknál $4,4x10^6$-$6,7x10^6$, míg a rezisztens izolátumoknál $9,7x10^6$-$1,4x10^7$ voltak. A CAS iránt érzékeny izolátumoknál napi 1, 2, 3, 5 és 20 mg/kg CAS (Howard és mtsai., 2011), míg a

rezisztens izolátumnál napi 3, 5 és 20 mg/kg CAS-t használtunk 5 napon át. A kontroll egerek veséiben a hatodik napra az első napi gombák számával összehasonlítva kevesebb, mint 1 log növekedést tapasztaltunk (**18. ábra**).

18. ábra. Napi 1, 2, 3, 5 és 20 mg/kg CAS *in vivo* hatékonysága neutropéniás egerekben a *C. glabrata* 9098, 18910, 11900 és DPL27-es számú izolátumok ellen. A „kontroll 1" és a „kontroll 6" az első és a hatodik napi kontroll egereket jelentik.



(*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001)

A CAS iránt érzékeny izolátumoknál minden alkalmazott dózis csökkentette a vesékből kitenyészett gombasejtek számát, mind az első napi, mind pedig a hatodik napi kontrollokhoz képest (p<0,05-0,001). Az egyes CAS dózisok hatékonysága között szignifikáns eltérés nem volt (p>0,05), és semelyik CAS dózis sem csökkentette a vesékből kitenyészett gombasejtek számát 10^5 CFU/gramm érték alá (**18. ábra**).

A DPL245 izolátumnál bármelyik kezelt csoportnál a hatodik napi kontrollhoz hasonló csíraszám tenyészett ki. A DPL27-es törzsnél az első napi kontrollhoz képest szaporodás gátlást tapasztaltunk, de a hatodik napi kontrollokhoz képest statisztikailag szingnifikáns csíraszám csökkenést nem tapasztaltunk (**18. ábra**).

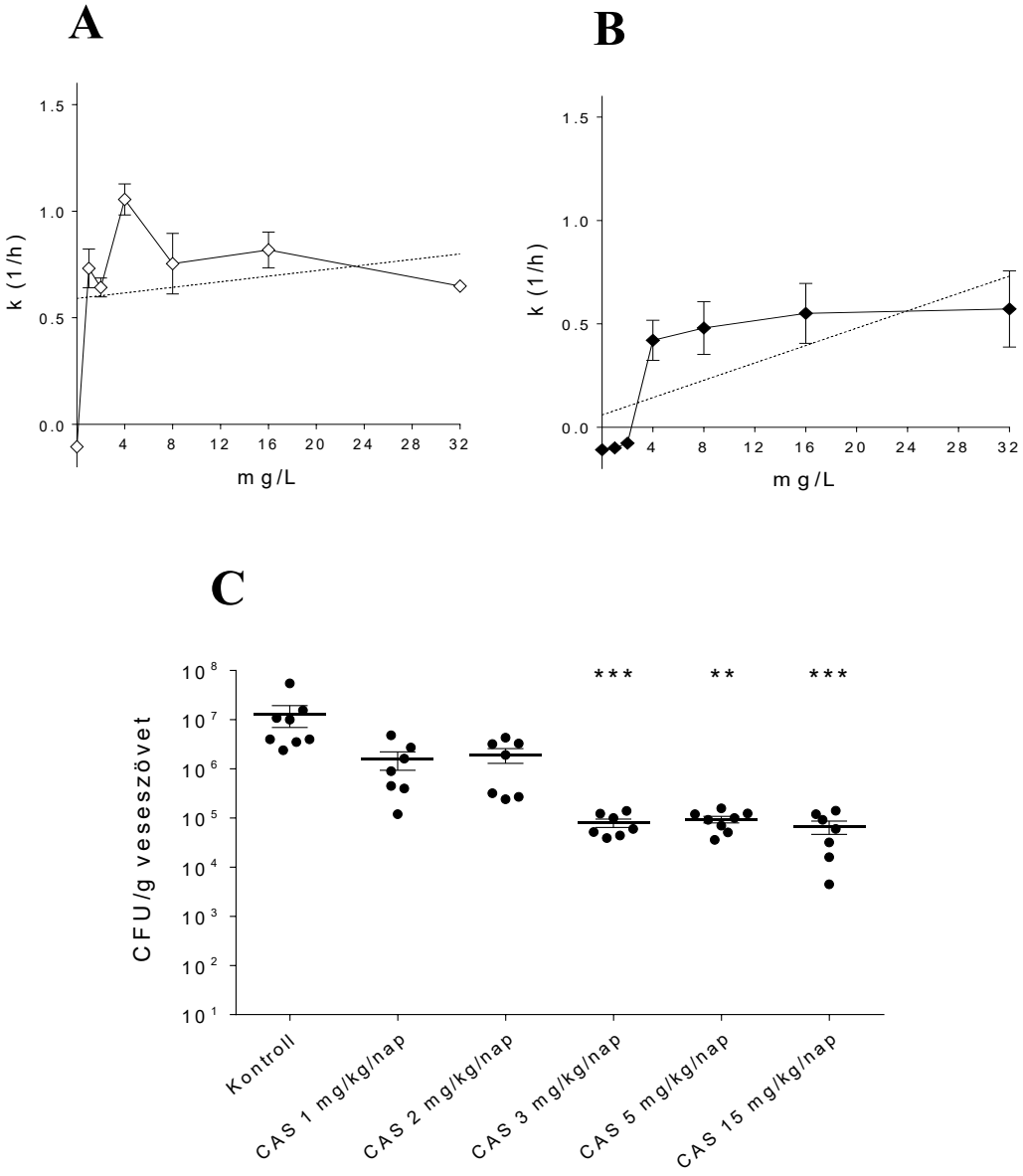
6.6.3. Kaszpofungin ölési ráta értékek korrelációja az *in vivo* hatékonysággal *Candida krusei* és *Candida inconspicua* esetén

Az ölési ráta és a vizsgált CAS koncentrációk közötti kapcsolat mindkét vizsgált tesztközegben, mindkét *Candida* fajnál lineáris volt. RPMI-1640-ben a *C. krusei* klinikai izolátumoknál a legnagyobb *k* értéket 4 mg/L-en tapasztaltuk (**19/A. ábra**), ami szignifikánsan nagyobb volt, mint a 2 és 32 mg/L CAS-nál kapott *k* értékek ($p<0,05$).

C. krusei izolátumoknál 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* ölést tapasztaltunk (**19/B ábra**). A *k* értékek 1, 2 és 4 mg/L CAS-nál szignifikánsan nagyobbak voltak RPMI-1640-ben, mint 50% szérumban ($p<0,01$-0,005) (**19/A és B ábrák**). Az ATCC 6258 törzsnél a *k* értékek 2-32 mg/L CAS-nál szignifikánsan nagyobbak voltak 50% szérumban, mint RPMI-1640-ben ($p<0,01$). A DPL45-ös izolátumnál csak RPMI-1640-ben tapasztaltunk 32 mg/L CAS-nál ölést (k=1,12 1/h) (**20/A és B. ábrák**).

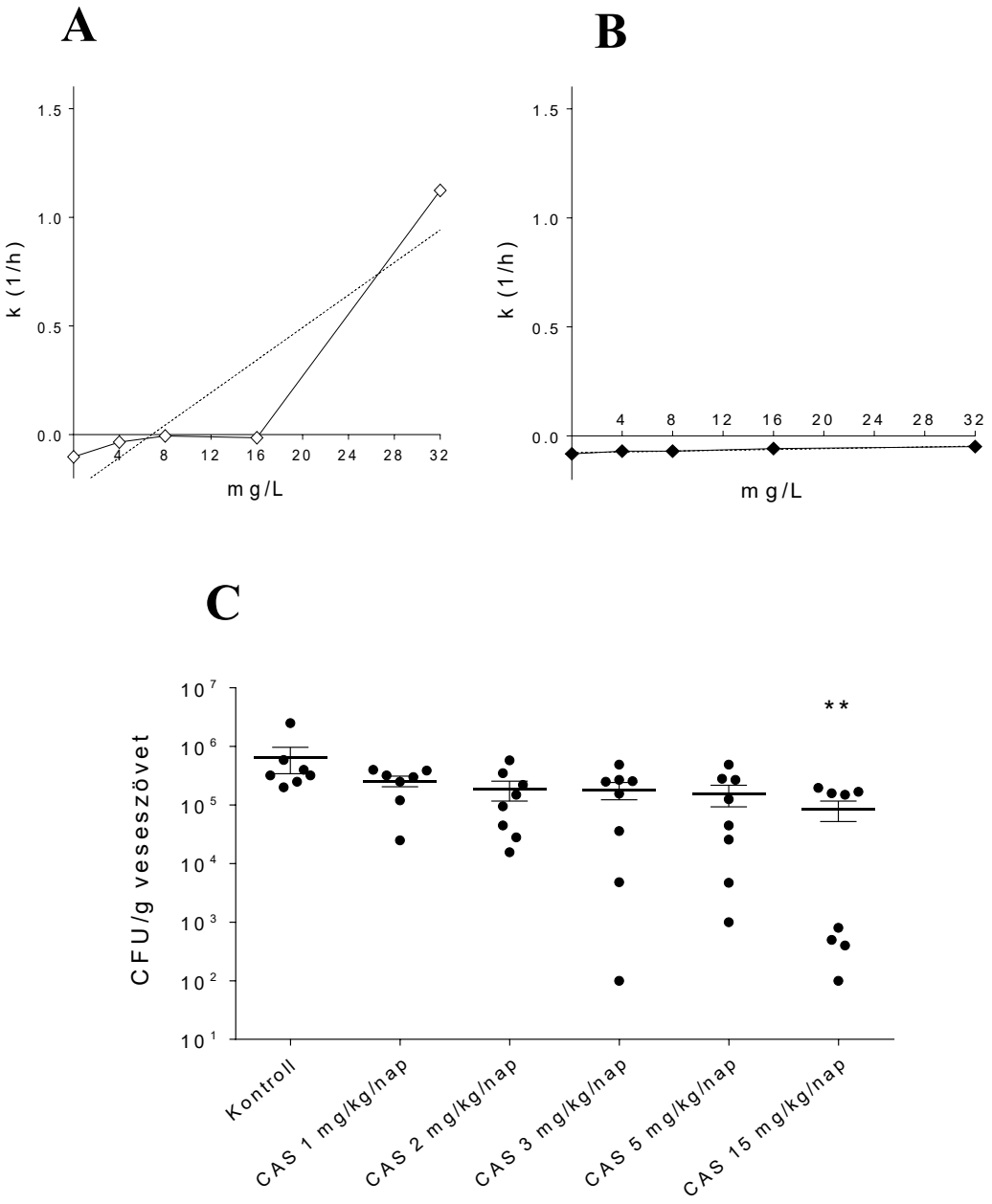
A CAS a neutropéniás egérmodellben az 5029-es (**19/C ábra**) és a 27393-as *C. krusei* klinikai izolátumok ellen csak a napi 3, 5 és 15 mg/kg-os dózisokban volt hatékony ($p<0,05$-0,001), de a hatékony dózisok között szignifikáns eltérés nem volt ($p>0,05$, minden összehasonlításban). A DPL45-ös izolátum ellen a 15 mg/kg CAS statisztikailag is szignifikáns mértékben csökkentette a vesékből kitenyészett gombák számát ($p<0,01$) (**20./C ábra**).

19. ábra. Kaszpofungin (CAS) átlagos ölési ráta értékek (±SD) az 5029, a 4363-as és a 27393-as számú *C. krusei* izolátumok esetén RPMI-1640-ben (**A**) és 50% humán szérum jelenlétében (**B**) illetve a napi 1, 2, 3, 5 és 15 mg/kg CAS hatékonysága neutropéniás egérmodellben az 5029-es számú izolátum ellen (**C**). Az ölési rátákat mutató ábráknál a szaggatott vonalak a regressziós egyeneseket szimbolizálják.



(*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001)

20. ábra. Kaszpofungin (CAS) ölési ráta értékek a *C. krusei* DPL45-ös számú izolátum esetén RPMI-1640 (**A**) és 50% humán szérum tápközegekben (**B**), illetve ugyanezen izolátum ellen, a napi 1, 2, 3, 5 és 15 mg/kg CAS *in vivo* hatékonysága neutropéniás egérmodellben (**C**). Az ölési rátát mutató ábránál a szaggatott vonal a regressziós egyenest szimbolizálja.

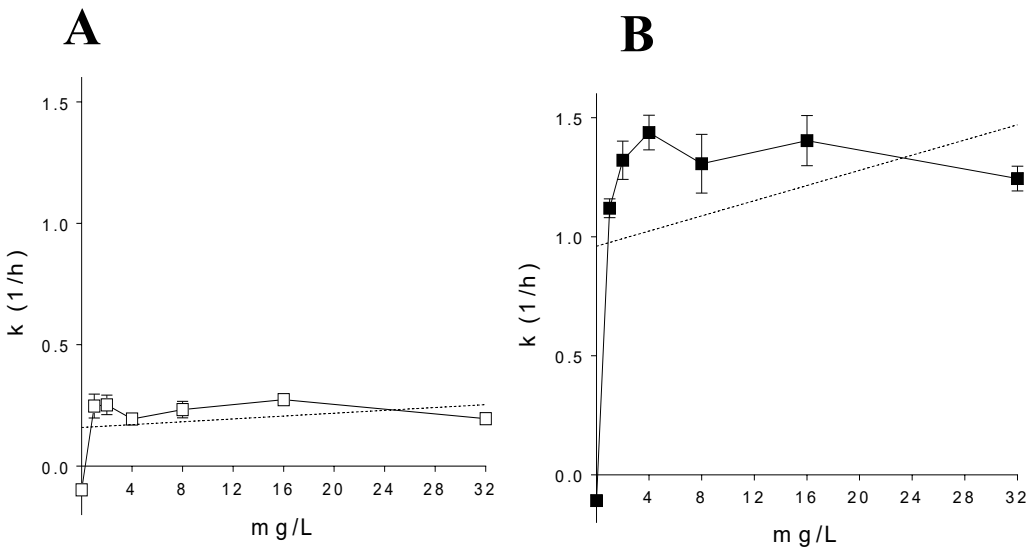


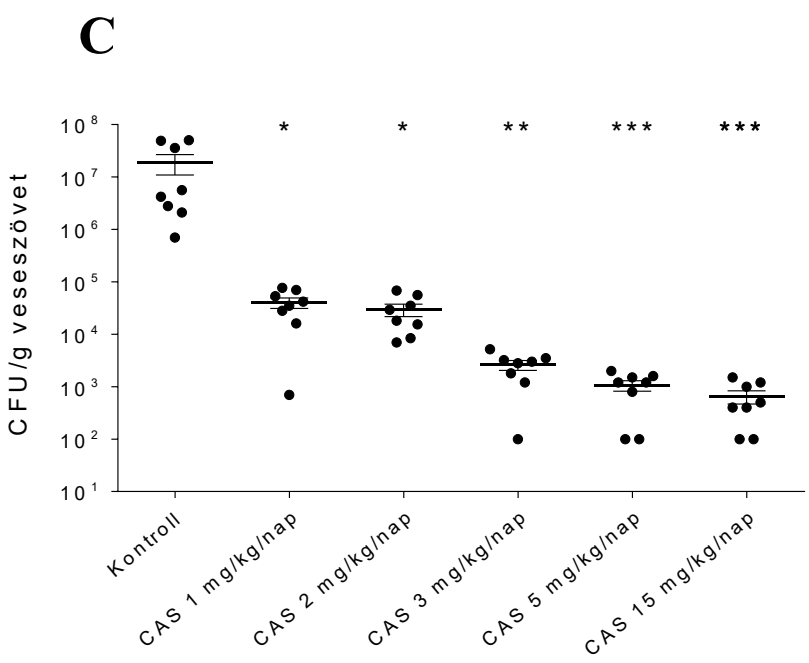
(*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001)

Mindhárom *C. inconspicua* izolátumnál 50% szérum szignifikánsan fokozta a CAS ölő aktivitását az összes vizsgált koncentráción (1-32 mg/L; *k*:1,12–1,44 1/h) (P<0,0003) (**21./A és B ábrák**). A átlagos *k* értékek között szignifikáns különbség nem volt (p>0,05), azaz koncentráció-független ölést tapasztaltunk.

A CAS bármelyik dózisa mindkét *C. inconspicua* izolátumnál legalább két nagyságrenddel alacsonyabb csíraszámot eredményezett a kontrollokhoz viszonyítva ($p<0,05$-$0,001$); a dózisok között szignifikáns eltérés nem volt ($p>0,05$, minden összehasonlításban) (**21./C ábra**).

21. ábra. Kaszpofungin (CAS) átlagos ölési ráta értékek (±SD) az 12060, a 22027 és a 20114-es számú *C. inconspicua* izolátumok esetén RPMI-1640-ben (**A**) és 50% szérumban (**B**) illetve a napi 1, 2, 3, 5 és 15 mg/kg CAS *in vivo* hatékonysága neutropéniás egérmodellben a 20114-es számú izolátum ellen (**C**). Az ölési rátákat mutató ábráknál a szaggatott vonalak a regressziós egyeneseket szimbolizálják.





(*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001)

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

6.7.1. Flukonazol, amfotericin B és kaszpofungin *in vivo* hatékonysága átmenetileg neutropéniás egerek esetén

A vizsgálatban 26-28 gramm tömegű nőstény egereket használtunk. A fertőző dózisok *C. metapsilosis* esetén $5x10^7$ CFU/egér míg *C. parapsilosis sensu stricto* és *C. orthopsilosis* esetén $2x10^7$ CFU/egér voltak. *C. parapsilosis sensu stricto* esetén azt a két izolátumot használtuk, amelyek előkísérleteinkben megfelelő növekedést mutattak.

A három antifungális szer MIC értékeit 24 órás inkubálás után határoztuk meg (**20. táblázat)** (Pfaller és mtsai., 2010 és 2011/a). *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* esetén a MIC értékek nem haladták meg az ECV értéket (CLSI, M27M44S-Ed3., 2022/b).

20. táblázat. Flukonazol (FLU), amfotericin B (AMB) és kaszpofungin (CAS) MIC értékei a „*psilosis*” csoport tagjai ellen.

Izolátumok	MIC (mg/L)		
	FLU	AMB	CAS
C. parapsilosis 896/1	0,5	1	1
C. parapsilosis 9150	1	1	1
C. orthopsilosis CP25	2	0,25	0,5
C. orthopsilosis CP85	1	0,5	0,12
C. orthopsilosis CP125	0,5	0,5	0,12
C. metapsilosis CP5	2	1	0,25
C. metapsilosis CP92	2	0,5	0,5
C. metapsilosis CP86	1	0,5	0,25

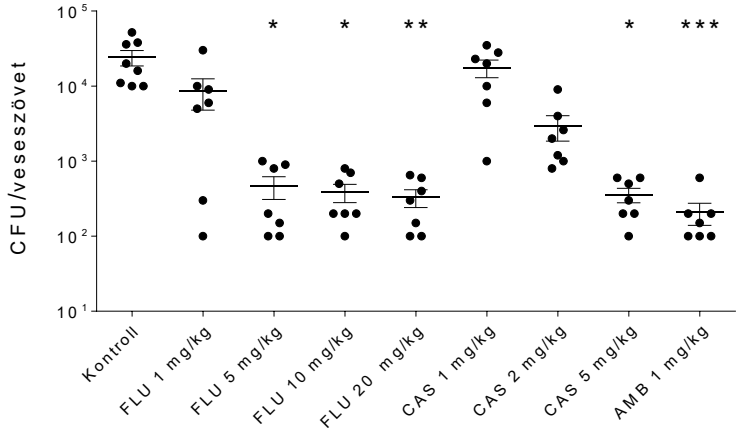
Az intraperitoneális AMB (1 mg/kg/nap), FLU (1, 5, 10, és 20 mg/kg/nap) és CAS (1, 2 és 5 mg/kg/nap) kezeléseket a fertőzés után 24 órával kezdtük el. A dózisok tervezésénél figyelembe vettük, hogy a napi 1 mg/kg AMB egérnél 3,2, míg embernél 1,6 mg/L C_{max} értékeket eredményez. A napi 25 mg/kg FLU egereknél és a napi 100 mg FLU embernél hasonló (90 mg·h/L) AUC_{24h} értéket eredményez (Louie és mtsai., 1999). A napi 1, 2 és 4 mg/kg CAS kezelések egereknél 59, 118 és 164 mg·h/L átlagos AUC_{24h} értékeket eredményeznek, amelyek hasonlóak a humán terápia esetén alkalmazott napi 35, 50 és 70

mg CAS dózisok által kapott 55, 100 és 114 mg·h/L átlagos AUC_{24h} értékekhez (Cornely és mtsai., 2011; Flattery és mtsai., 2011; Migoya és mtsai., 2011; Stone és mtasi., 2002; Würthwein és mtsai., 2013). A kezeléseket 5 napon át folytattuk.

A 10 és 20 mg/kg FLU mindhárom faj, minden izolátuma ellen hatásos volt (p<0,05-0,01). Az 5 mg/kg FLU mindkét *C. parapsilosis sensu stricto* és *C. metapsilosis* (p<0,05), illetve a CP125-ös *C. orthopsilosis* (p<0,05) izolátumokkal fertőzött egerekben is hatékony volt.

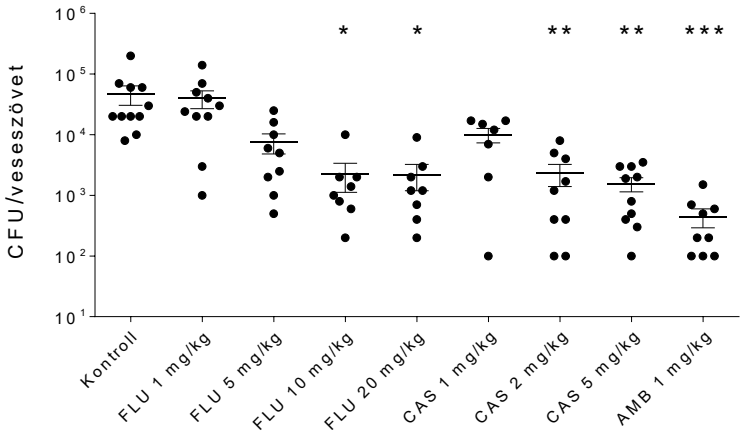
A napi 1 mg/kg CAS mindkét *C. parapsilosis sensu stricto* ellen hatástalan (p>0,05), míg a napi 5 mg/kg mindkét izolátum ellen hatékony volt (p<0,05). A 2 mg/kg CAS csak a 896/1-es számú izolátum ellen volt hatékony (p<0,05). A napi 2 és 5 mg/kg CAS mindegyik *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* izolátum ellen 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). A hatékony dózisok között szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk (p>0,05, minden összehasonlításban). *C. parapsilosis sensu stricto* és *C. orthopsilosis* esetén egy-egy reprezentatív eredmény a **22.** és a **23**. ábrán láthatók.

22. ábra. A flukonazol (FLU), az amfotericin B (AMB) és a kaszpofungin (CAS) *in vivo* hatékonysága a *C. parapsilosis sensu stricto* 9150-es számú izolátummal fertőzött neutropéniás egérmodellben.



* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001

23. ábra: A flukonazol (FLU), az amfotericin B (AMB) és a kaszpofungin (CAS) *in vivo* hatékonysága a *C. orthopsilosis* CP25-es számú izolátummal fertőzött neutropéniás egérmodellben.



* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001

6.7.2.Kaszpofungin *in vivo* hatékonysága tartósan neutropéniás egerek esetén.

Átmeneti neutropéniában szenvedő egerekben a „*psilosis*" csoport tagjai a kontroll egereknél csupán 10^4-10^5 CFU/veseszövet csíraszámot erdményeztek. Ezért kíváncsiak voltunk arra, hogy a CAS tartósan neutropéniás egerekben is hatásos-e a csoport tagjai ellen? A tartósan neutropéniás egérmodellben az előző kísérletben szereplő izolátumokat használtuk, illetve az echinocandinok iránt nagymértékben érzékeny *C. albicans* izolátumokat is vizsgáltunk az összehasonlítás miatt (**21. táblázat)**.

Az izolátumok *in vitro* farmakodinámiáját 50% szérumban is meghatároztuk (**19. táblázat**). Az összes *C. albicans* illetve a 2-2 *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* izolátum ellen a CAS fungisztatikus vagy fungicid hatású volt a szérumban klinikailag elérhető átlagos CAS koncentráción (4,7 mg/L). A *C. parapsilosis sensu stricto* izolátumok gátlása csak a szérumban mérhető csúcskoncentrációval volt elérhető (Flattery és mtsai., 2011; Migoya és mtsai., 2011; Stone és mtasi., 2002).

21. táblázat. Kaszpofungin MIC értékei RPMI-1640 (RPMI), és RPMI-1640+50% szérum (50% szérum) tápközegekben, és az idő-ölés kísérletek eredményei 50% szérumban *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto, C. orthopsilosis és C. metapsilosis* izolátumokkal szemben.

Izolátumok	MIC (mg/L		Arány[1]	Idő-ölés görbék eredményei 50% szérumban (mg/L)
	RPMI	50 % szérum		
C. albicans 17433	0,015	0,25	16	≥0,25 gátlás*
C. albicans 10920	0,015	0,25	16	≥0,25 gátlás
C. parapsilosis 896/1	1	8	8	≥8 gátlás
C. parapsilosis 9150	1	8	8	≥16 gátlás
C. orthopsilosis CP25	0,12	2	16	≥2 gátlás**
C. orthopsilosis CP85	0,12	2	16	≥2 gátlás
C. orthopsilosis CP125	0,12	4	32	≥8 gátlás
C. metapsilosis CP5	0,25	1	4	≥2 gátlás
C. metapsilosis CP86	0,25	4	16	≥8 gátlás
C. metapsilosis CP92	0,5	1	2	≥2 gátlás***

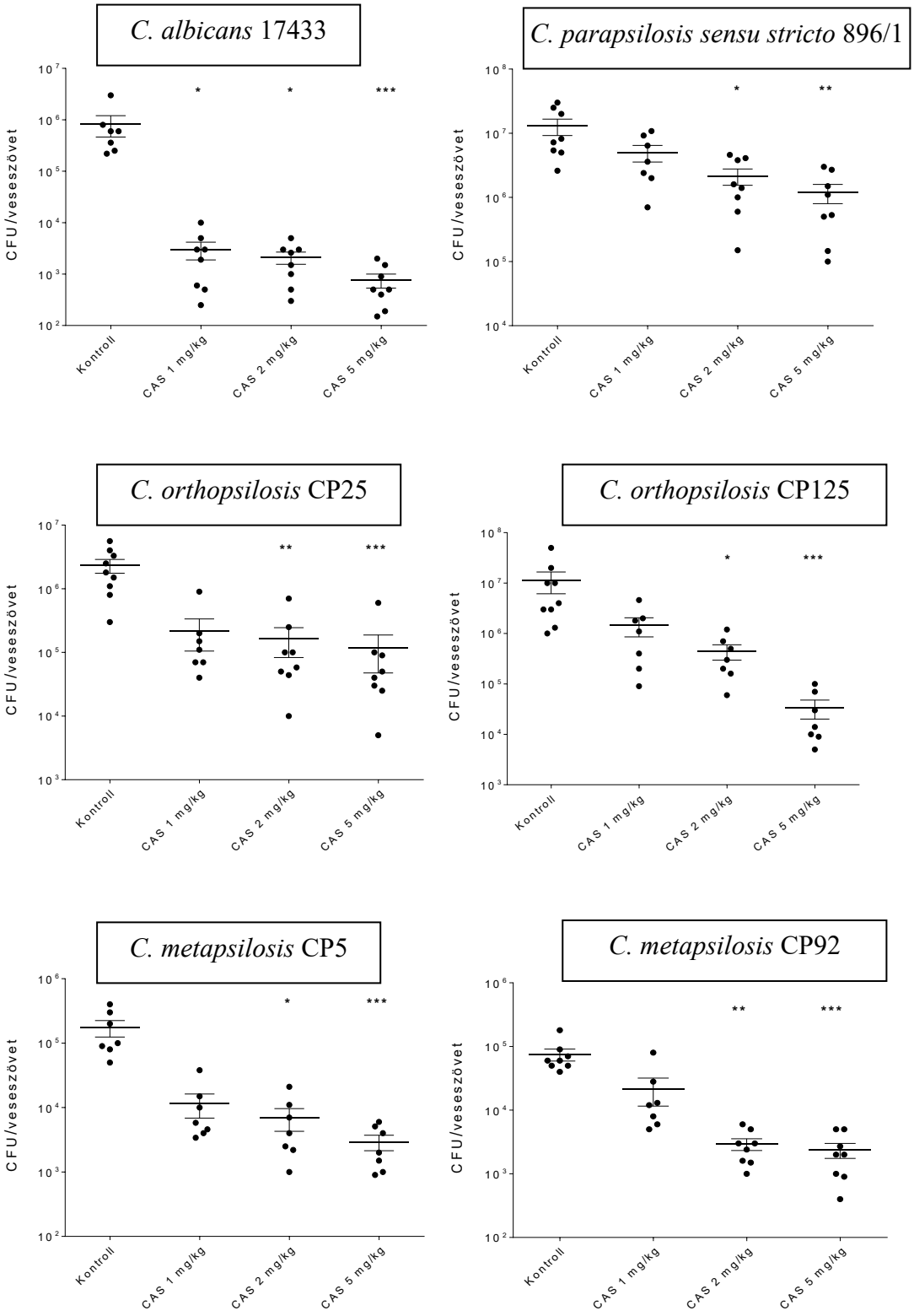
[1] Az 50%-os szérumban és RPMI-1640-ben mért MIC értékek hányadosa.
*≥1 mg/l-en a CAS fungicid hatású volt; **≥4 mg/l-en a CAS fungicid hatású volt;
***≥8 mg/l-en a CAS fungicid hatású volt.

A hím 23-25 grammos egereket *C. albicans* esetén $8x10^4$ CFU/egér, míg a "*psilosis*" csoportnál $4x10^6$ CFU/egér dózisokkal fertőztük. A napi 1, 2 és 5 mg/kg-os CAS kezeléseket a fertőzés után 24 órával kezdtük.

Mindhárom CAS dózis hatékony volt mindkét *C. albicans* ellen ($p<0,05$-$0,001$, **24. ábra**). Egy mg/kg CAS nem ($p>0,05$), de 5 mg/kg CAS mindkét *C. parapsilosis sensu stricto* izolátum ellen hatékony volt ($p<0,05$-$0,01$). Két mg/kg CAS a 896/1-es számú izolátummal fertőzött egerekben szintén szignifikáns mértékben csökkentette a vesékből kitenyészett gombák számát ($p<0,05$, **24. ábra**).

A *C. orthopsilosis* és a *C. metapsilosis* izolátumokkal fertőzött egerekben 1 mg/kg CAS nem ($p>0,05$), de a 2 és 5 mg/kg CAS minden esetben szignifikáns mértékben csökkentette a vesékből kitenyészett gombák számát ($p<0,05$-$0,001$, **24. ábra**). Az *in vivo* hatékony CAS dózisok között szignifikáns eltérés egyik faj esetén sem volt ($p>0,05$, minden összehasonlításban).

24. ábra: Napi 1, 2 és 5 mg/kg kaszpofungin (CAS) *in vivo* hatékonysága *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* izolátumokkal fertőzött, tartósan neutropéniás egerekben.



* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001

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

A kísérletekben használt 19 *C. auris* és két *C. albicans* izolátumokra vonatkozó fontosabb információk a **22. táblázatban** szerepelnek.

22. táblázat. A letalitási kísérletekben használt 19 *Candida auris* és két *Candida albicans* izolátumok származási helye, és a *C. auris* izolátumok aggregációs képessége fiziológiás sóoldatban. A félkövér betűkkel szedett izolátumokat használtuk a szöveti perzisztencia, illetve a szövettani vizsgálatokban.

Klád	Faj és izolátum száma	Ország	Testtájék	Aggregáció
Dél-Ázsiai	***C. auris* 196**	Omán	Vér	-
	C. auris 20 (NCPF 8985)	Anglia	Sebváladék	-
	***C. auris* 164**	Anglia	Törlet	-
	C. auris 10 (NCPF 8971)	Anglia	Sebváladék	-
	C. auris 27 (NCPF 89891)	Anglia	Pleurális folyadék	-
Kelet-Ázsiai	*C. auris* típus törzs (NCPF 13029=CBS 10913)	Japán	Külső fül	-
	***C. auris* 15** (NCPF 8984)	Japán	Külső fül	+
	C. auris 12372 (CBS 12372)	Dél-Korea	Vér	+
	***C. auris* 12373 (CBS 12373)**	Dél-Korea	Vér	+
Dél-Afrikai	*C. auris* 185	Anglia	Vér	+
	C. auris 228	Anglia	Bőr	+
	***C. auris* 206 (NCPF 13042)**	Anglia	Vér	+
	***C. auris* 204**	Anglia	Traheosztóma	+
	C. auris 2 (NCPF 8977)	Anglia	Likvor	+
Dél-Amerikai	***C. auris* I-24**	Izrael	Vér	-
	C. auris I-156	Izrael	Vér	-
	C. auris I-172	Izrael	Vér	-
	C. auris 13108 (CDC B-13108)	Panama	Kórházi környezet	-
	***C. auris* 16565 (CDC B-16565)**	Kolumbia	Kórházi környezet	-
-	***C. albicans* 3666**	Magyarország	Vér	-
-	*C. albicans* 2606	Magyarország	Vér	-

Mivel fiziológiás sóoldatban a Dél-Afrikai kládból származó izolátumoknál 10^6 és 10^7 CFU/mL inoculumnál makroszkóposan is jól látható aggregátumok képződtek, ezért PBS-ben (foszfáttal pufferolt sóoldat) készítettük az inokulumokat. 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* esetén a letalitási kísérletben 10^5 CFU/mL, a szervi perzisztencia kísérletben pedig $5x10^4$ CFU/mL gombaszuszpenziót kaptak az egerek.

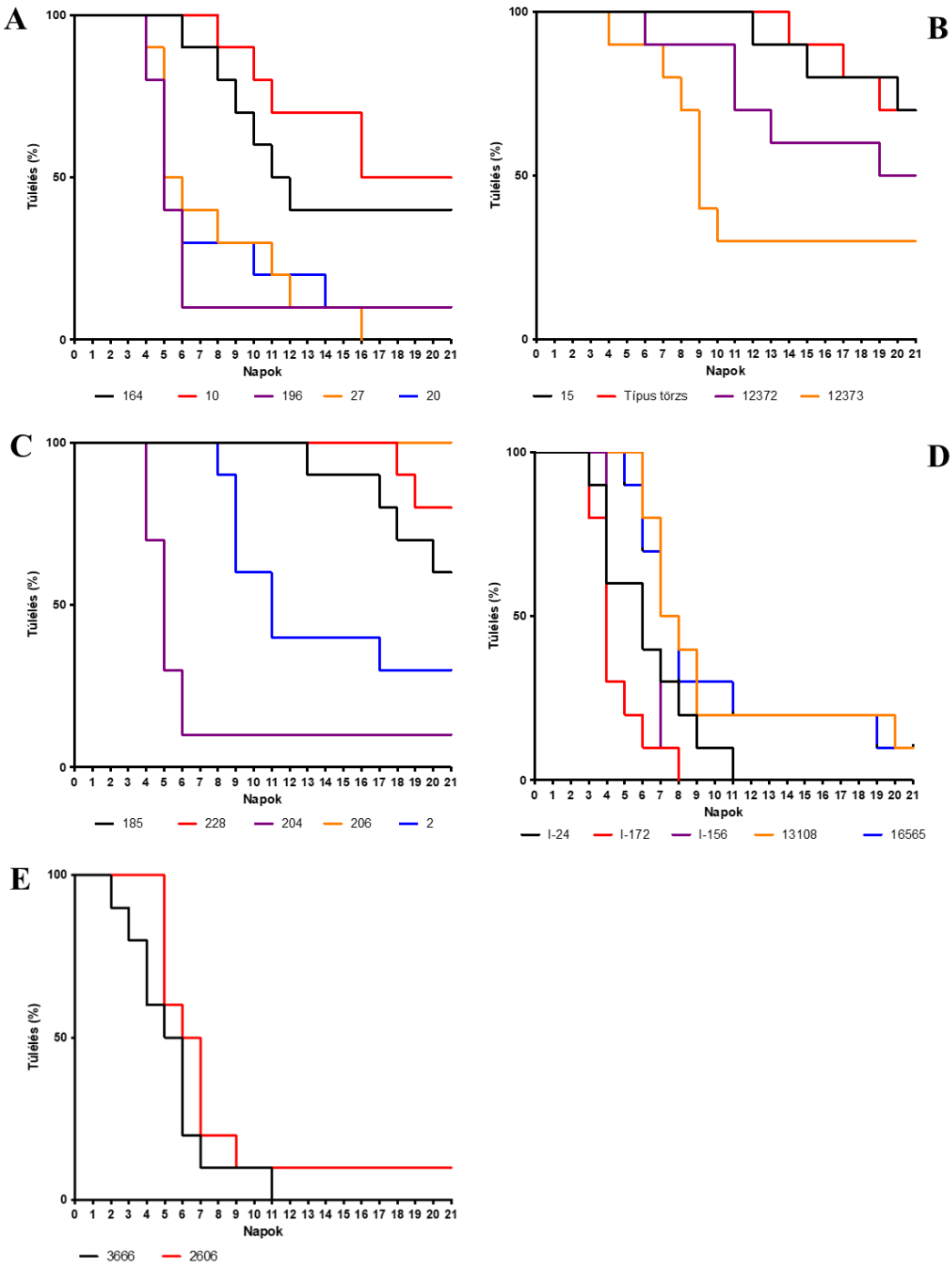
6.8.1. *Candida auris* kládok és *Candida albicans* virulenciája a letalitás alapján

C. auris esetén a Dél-Amerikai kládhoz tartozó, izraeli törzsekkel fertőzött egerek kivételével az egerek nem mutatták a súlyos szepszis jeleit; a halálozásuk előtt normálisnak tüntek, elhullásuk nem várt módon következett be. Központi idegrendszeri tüneteket nem 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) (**25. ábra**). 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) (**25. ábra**). 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 (**25. ábra**). A vérből származó dél-koreai izolátumoknál a halálozás 50-70% volt.

A két *C. albicans* törzzsel fertőzött egerek halálozása 90-100% volt ($p>0,05$), annak ellenére, hogy az inokulált gomba mennyisége századrésze volt a *C. auris*-sal oltott egerekhez képest (**25. ábra**). A kísérletben minden egér mutatta a súlyos szisztémás fertőzés tüneteit (nehéz mozgás, felborzolt szőr, nem akartak enni-inni, stb.).

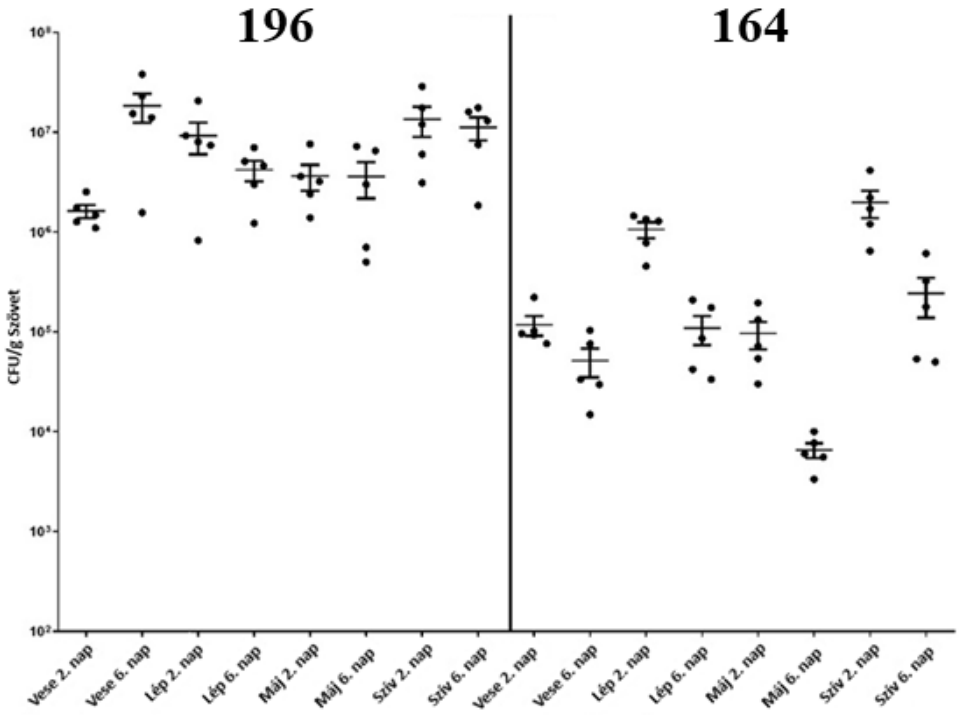
25. ábra. Neutropéniás, *Candida auris* (**A-D**)-és *Candida albicans* (**E**) klinikai izolátumokkal intravénásan oltott BALB/c egerek túlélése. *Candida auris* esetén a Dél-Ázsiai kládból 5 (**A**), a Kelet-ázsiai kládból 4 (**B**), a Dél-Afrikai kládból 5 (**C**) és a Dél-Amerikai kládból 5 (**D**) izolátumot vizsgáltunk.



6.8.2. *Candida auris* kládok és *Candida albicans* virulenciája a belső szervekből kitenyészett gombasejtek alapján

Kládoktól függetlenül a szív és a vesék voltak a legjobban érintett szervek (**26. és 27. ábrák**). Eredményeink alapján szoros összefüggés volt a virulencia és a szervekből kitenyészett gombasejtek között, azaz a letalitási kísérletekben virulensebb izolátumok esetén a négy belső szervből nagyobb csíraszámban sikerült a kórokozókat kitenyészteni. Azoknál az izolátumoknál, amelyeknél a letalitás 90-100% volt, a hatodik napon a szívekből és a vesékből legalább egy nagyságrenddel nagyobb számú gombát tenyésztettünk ki, mint a közepes vagy kis virulenciájú (30-60%-os letalitás) izolátumokkal fertőzött egerekből (**25.-27. ábrák**). A szívből és a vesékből a nagy virulenciájú izolátumoknál a második nappal összehasonlítva, a hatodik napon általában nagyobb számú gombát tenyésztettünk ki (**26. és 27. ábrák**).

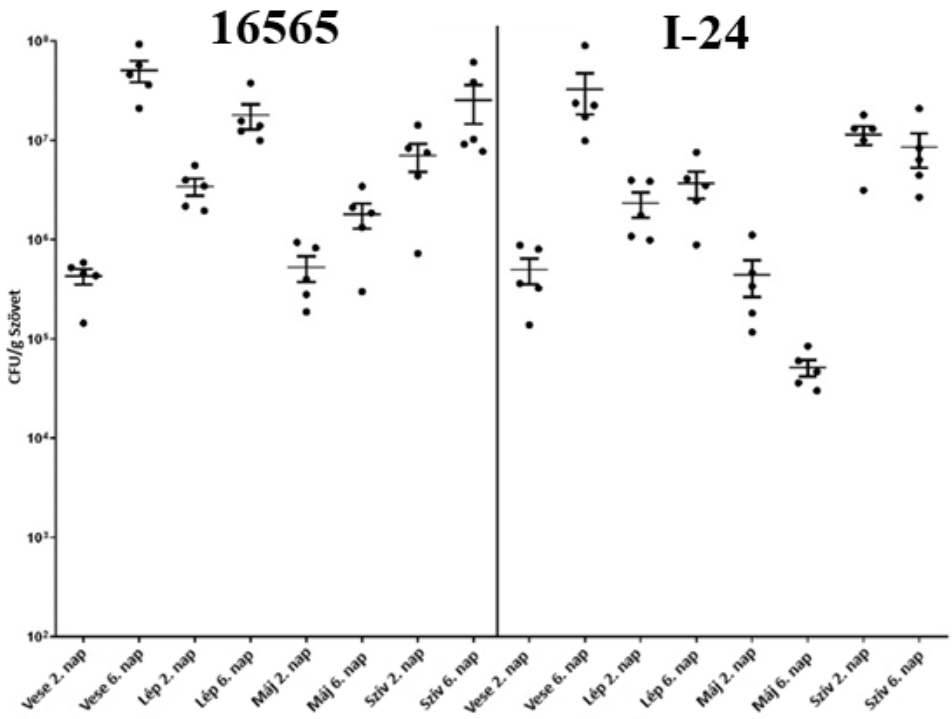
26. ábra. A belső szervekből (vesék, lép, máj és szív) kitenyészett gombasejtek száma neutropéniás, BALB/c egerekből. Az egereket két, a Dél-Ázsiai kládból származó *Candida auris* izolátummal intravénásan fertőztük, majd a második és a hatodik napon elvégeztük a szervi perzisztancia vizsgálatát. A 196-os számú izolátummal történt fertőzés a letalitási kísérletekben 90%-os, míg a 164-es számú izolátummal végzett fertőzés 60%-os halálozást eredményezett.



A kisebb mértékben érintett szervek közül a lépben a második napon a kitenyésztett gombasejtek száma a nyolc vizsgált izolátumnál hasonló volt ($p>0,05$), de a hatodik napon a 16565-ös számú környezeti izolátumnál szignifikánsan nagyobb volt a csíraszám mint a 15-ös (NCPF 8984, Kelet-Ázsiai klád) és a 164-es (Dél-Ázsiai klád) számú izolátumokkal fertőzött egerekben ($p<0,001$) (**26.** és **27. ábrák**).

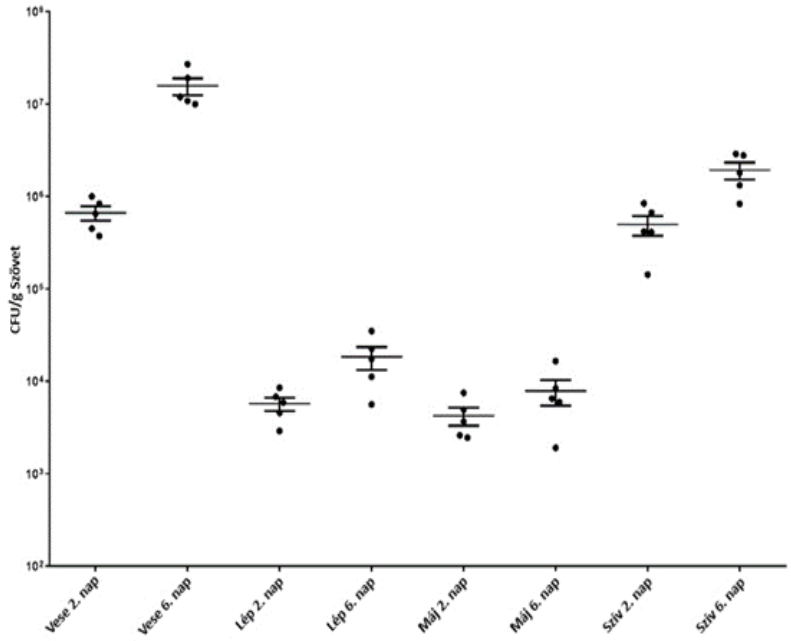
A májakból tenyészett ki a legalacsonyabb számú gombasejt a nyolc vizsgált izolátummal fertőzött egerekből; a legtöbb gombát a 196-os ($3,6x10^6$ CFU/gramm), a legkevesebbet pedig a 164-es számú izolátumnál ($6,5x10^3$ CFU/gramm) találtunk (**26. ábra**).

27. ábra. A belső szervekből (vesék, lép, máj és szív) kitenyészett gombasejtek száma neutropéniás, BALB/c egerekből. Az egereket két, a Dél-Amerikai kládból származó *Candida auris* izolátummal intravénásan fertőztük, majd a második és a hatodik napon elvégeztük a szervi perzisztancia vizsgálatát. A 16565-ös számú izolátummal történt fertőzés a letalitási kísérletekben 90%-os, míg az I-24-es számú izolátummal végzett fertőzés 100%-os halálozást eredményezett. Mindkét esetben a hatodik napon a vesékből és a szívekből legalább 10^7 CFU/gramm gomba tenyészett ki.



A *C. albicans* 3666-os számú törzsével 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). A májakban mindkét napon kevesebb mint 10^4 CFU/gramm volt a kitenyészett gombasejtek száma (**28. ábra**). A szívből és a vesékből kinyészett gombasejtek száma a hatodik napon hasonló volt, mint a 90-100%-os letalitást okozó *C. auris* izolátumoknál, de magasabb volt mint amit a kisebb letalitást (30-60%) okozó izolátumoknál figyeltünk meg. Érdekesség, hogy a *C. albicans*-al fertőzött egerek májából kitenyészett gombák száma alacsonyabb volt mint két nagy virulenciájú (16565-os, a Dél-Amerikai kládból és a 196-os a Dél-Ázsiai kládból) *C. auris* izolátummal fertőzött egerek esetén (**26-28 ábrák**).

28. ábra. A belső szervekből (vesék, lép, máj és szív) kitenyészett gombasejtek száma neutropéniás, BALB/c egerekből, a 3666-os számú *Candida albicans* izolátummal intravénásan fertőzött egereknél. Ugyanezen izolátum a letalitási kísérletekben 100%-os halálozást eredményezett.



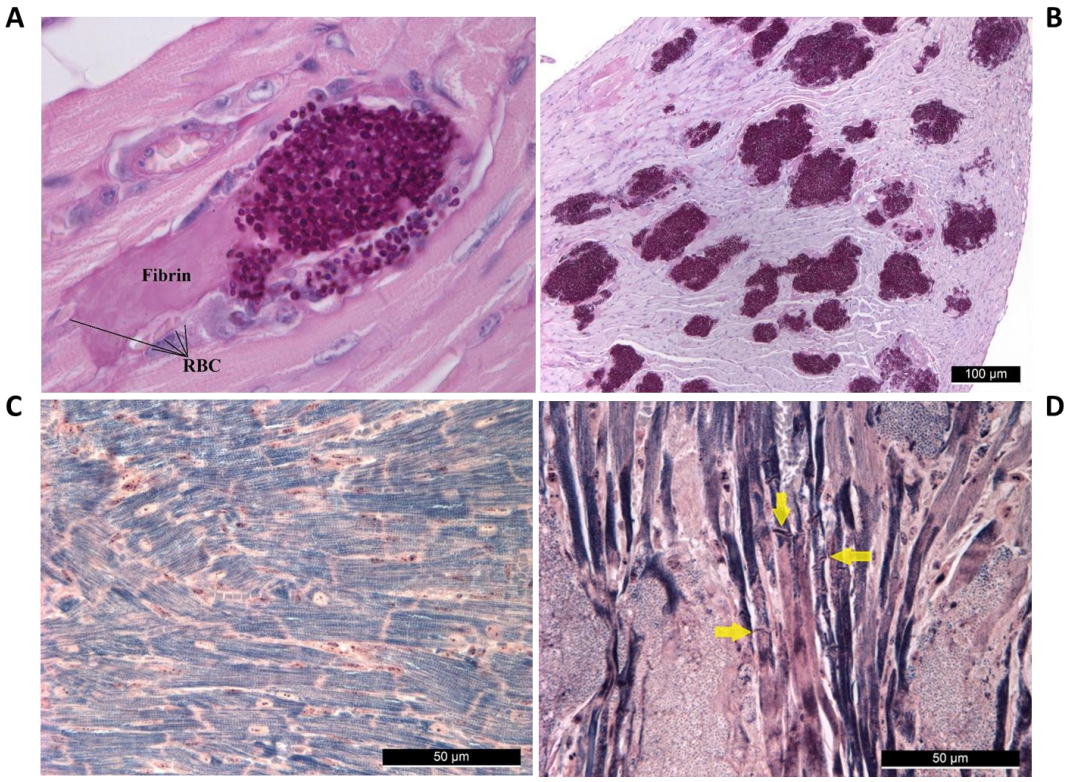
6.8.3. *Candida auris* kládok virulenciája a szív, a vesék, a máj, és a lép szövettani vizsgálata alapján

A hatodik napon minden *C. auris* kládból két egeret (**22. táblázat**) használtunk a szövettani vizsgálatokhoz a szöveti perzisztencia kísérletekhez oltott egerekből. Hét, a letalitási kísérletekben frissen elpusztult egeret is (*C. auris* típus törzs (NCPF 13029=CBS 10913), CBS12372, 2 (NCPF 8977), 27 (NCPF 89891), I-24, I-172 és a CDC B-13108 izolátumok) is felboncoltunk. A szív korai érintettségének vizsgálata miatt, minden kládból 1-1 egeret is vizsgáltunk (a 196-os, a CBS 12373-al, a 204-el és az I-24-el fertőzött egereket) az oltás utáni első napon.

Kládtól függetlenül az egyes szervekben csak PAS pozitív blasztokonidiumokat és bimbódzó 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, minden szervben *nagy gombasejt aggregátumokat* találtunk.

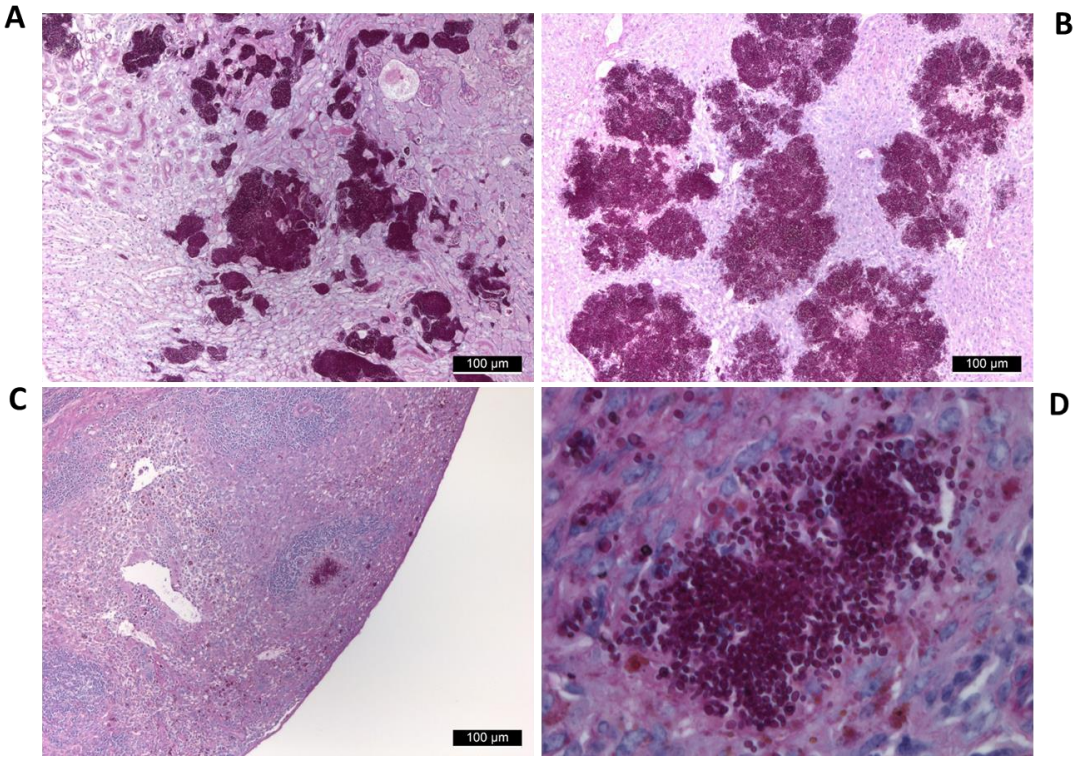
A szív korai érintettsége már egy nappal az intravénás fertőzés után felfedezhető volt, hiszen a miokardium arteriolái tömve voltak blasztokonidiumokkal és bimbódzó gombasejtekkel (**29/A**) Minden vizsgált szív esetén nagyszámú gombasejt aggregátum volt látható a szívizomrostok között, a szívizomsejtek koagulációs nekrózisával (**29/B**). A letalitási kísérletekben frissen elhullott egereknél illetve a hatodik napon boncolt egerek esetén is Mallory-féle PTAH festéssel felfedezhető volt, hogy a szívizomrostok elvesztették a harántcsíkolatukat, megerősítve ezzel a *miofibrilláris degenerációt* vagy másnéven a *kontrakciós-sáv nekrózist* (**29/C** és **D**).

29. ábra. *Candida auris* 196-os törzsével oltott, neutropéniás egér szívének (**A**) a szövettani képe PAS festéssel. Az egeret az intravénás oltás utáni napon boncoltuk. A miokardium arteriolái nagyszámú PAS pozitív gombasejteket tartalmaztak. Az I-24 es törzzsel fertőzött egér szívében a hatodik napon nagyszámú PAS pozitív gomba-aggregátumok láthatók, amelyek a szívizomrosrok disztorziójához vezettek (**B**). Mallory-féle foszfor-volfrám savas hematoxilin- (PTAH) festéssel a normal szív (**C**) szövettani képével összehasonlítva a moribund egér (oltás utáni ötödik nap) szívében konrakciós-sáv nekrózis látható (sárga nyilak) (**D**).



A vesékben a veseparenchima multifokális infiltrációja volt megfigyelhető, a vesetubulusok destrukciójával. A glomerulusok nem voltak érintettek (**30/A**). A májban szintén nagy multifokális gombaléziók voltak megfigyelhetők, a dilatált szinuszoidok tömve voltak gombasejtekkel. A máj parenchimájában a gombasejtek radiálisan terjedtek tovább, a lobulusok centrális nekrózisával (**30/B**). A lépben csupán kisebb gombasejt csoportokat lehetett megfigyelni (**30/C**), blasztokonidiumokkal és bimbódzó gombasejtekkel (**30/D**).

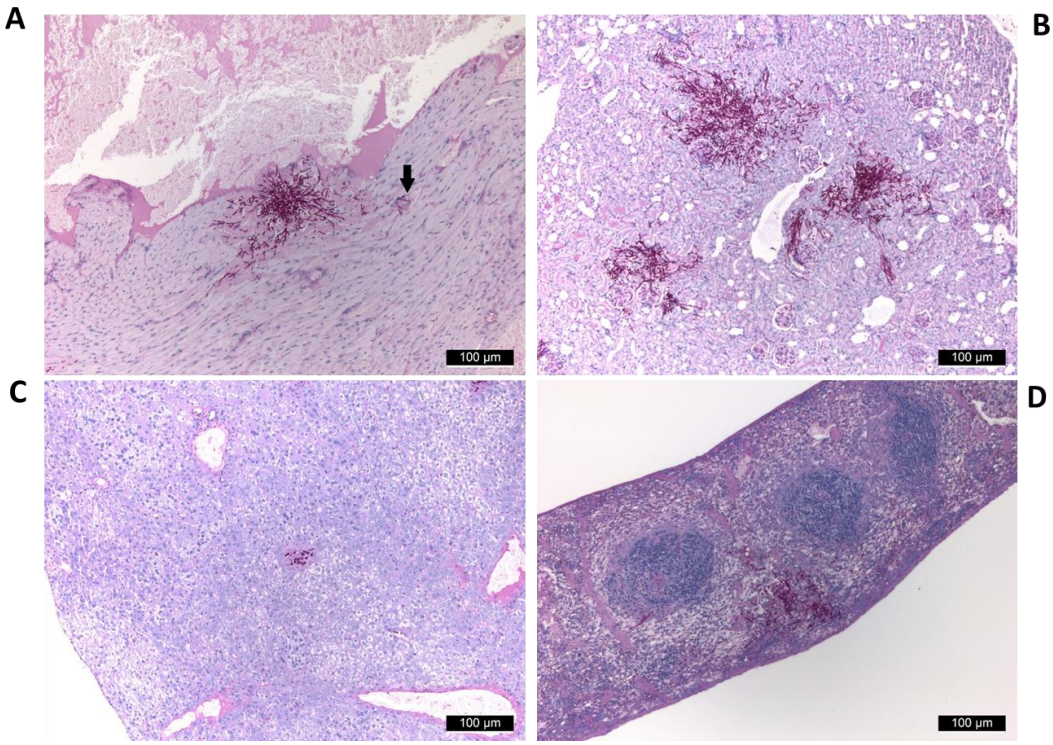
30. ábra. *Candida auris* I-24-es számú törzsével oltott, neutropéniás egér veséjének (**A**), májának (**B**), és lépének (**C**) szövettani képe PAS festéssel (100x nagyítás). Az egeret az intravénás oltás utáni hatodik napon boncoltuk. A vesében két nagy és több kisebb PAS pozitív léziók láthatók (**A**), míg a májban több nagy PAS pozitív gombaaggregtum figyelhető meg (**B**). A lépben gombasejtek láthatók a fehér és a vörös pulpa határán, a fehér pulpa focális destrukciójával. Kisebb gombaléziók láthatók a tok alatt illetve a sinusokban (**C**). A lépben nagyobb nagyítással (1000x) a PAS pozitív blasztokonidiumok és bimbódzó sejtek láthatók, de pszeudohifa nem figyelhető meg (**D**).



6.8.4. *Candida albicans* virulenciája a szív, a vesék, a máj, és a lép szövettani vizsgálata alapján

C. albicans esetén blasztokonidiumok, bimbódzó gombasejtek, pszeudihifák és hifák egyaránt megfigyelhetők voltak a szívben a vesékben és a lépben (**31/A, B, és D**). A májban valódi hifát nem találtunk (**31/C**). A szívben nagy nekrotikus területek voltak megfigyelhetők az endokardiumban és a miokardiumban egyaránt (**31/A**). Kontrakciós-sáv nekrózist nem találtunk.

31. ábra. *Candida albicans* 3666-os törzsével oltott, neutropéniás egér szívének (**A**), veséjének (B), májának (**C**) és lépének (**D**) szövettani képe PAS festéssel. Az egeret az intravénás oltás utáni hatodik boncoltuk. A szívben (**A**), a vesében (**B**) és a lépben (**D**) blasztokonidiumok, bimbódzó gombasejtek, pszeudohifák és hifák egyaránt megfigyelhetők voltak, de a májban (**C**) hifát nem lehetett megfigyelni. A szívnél az endo- és miokardium egyaránt érintett, de a legjobban a szubendokardiális miokardium érintettsége a szembetűnő. A miokardiumnál az erek inváziója fedezhető fel (fekete nyíl) (**A**). A vesében a parenchyma, a tubulusok és a glomerulusok egyaránt érintettek (**B**). A lépben pszeudohifák és hifák láthatóak a vörös pulpában. (100x nagyítás).



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

6.9.1. Amfotericin B *in vitro* hatékonysága a MIC értékek és az idő-ölés görbék alapján

A 19 klinikai és a három környezeti izolátum AMB MIC értékeit illetve az idő-ölés kísérletekben kapott eredményeket a **23.-ik táblázat**-ban tüntettem fel. Az AMB MIC értékek soha nem voltak nagyobbak, 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.

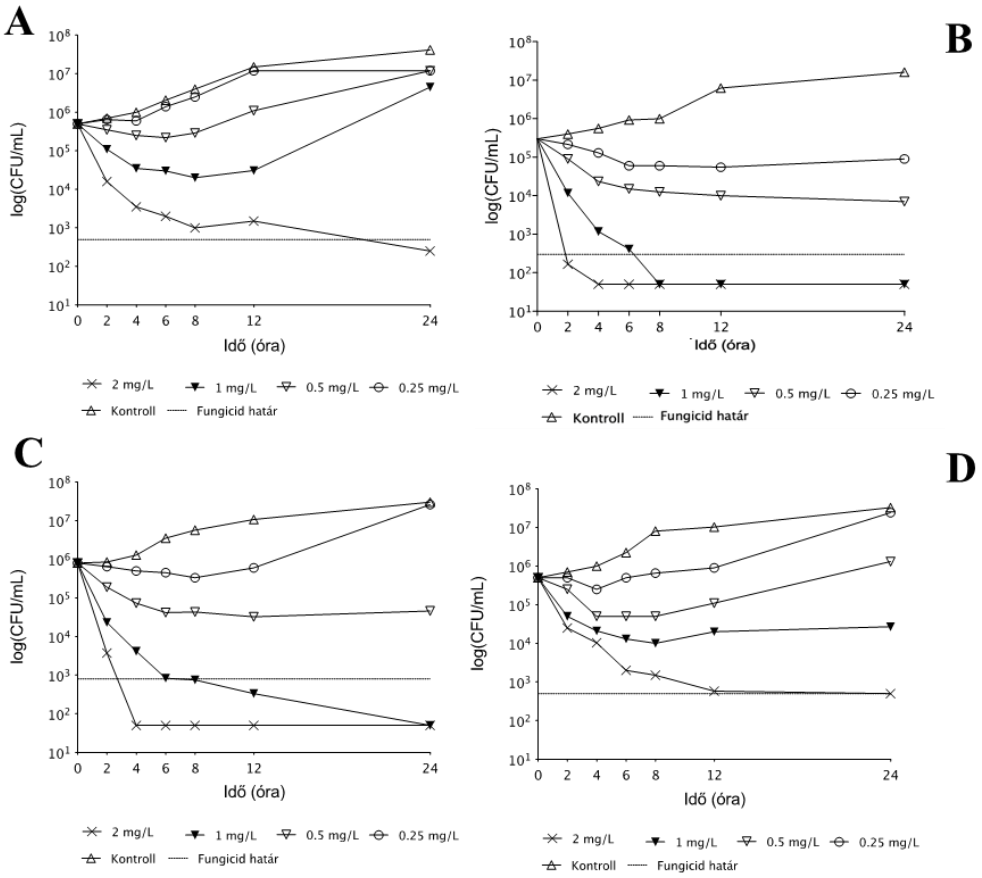
23. táblázat. Amfotericin B (AMB) *in vitro* aktívitása a standard mikrodilúcióval meghatározott MIC értékek és az idő-ölés görbék alapján a Dél-Ázsiai, a Kelet-Ázsiai, a Dél-Afrikai és a Dél-Amerikai kládokba tartozó *C. auris* izolátumok ellen. A félkövér számokkal jelzett izolátumokat használtuk később az *in vivo* kísérletekben (bal oldalt). Az idő-ölés vizsgálatok oszlopában a félkövér számokkal jelzett csíraszámcsökkenés a fungicid hatást (≥99,9%-os csíraszámcsökkenés a kezdő inokulumhoz képest) jelzi.

Klád	Izolátum száma	Testtájék	MIC (mg/L)	Az idő-ölés vizsgálatokban tapasztalható maximális csíraszám csökkenés (log) a jelzett AMB koncentrációkon (mg/L)			
				0,25	0,5	1	2
Dél-Ázsiai	10	Sebváladék	0,5	-0,43	-1,04	-1,9	**-3,9**
	12	Ismeretlen	0,5	-2,08	-2,3	**-3,78**	**-3,78**
	20 (NCPF 8985)	Seb	0,5	-0,74	-2,86	**-3,78**	**-3,78**
	27 (NCPF 89891)	Pleurális folyadék	0,5	-0,32*	-1,0	-1,6	**-3,6**
	174	Orrváladék	1	NK	-0,30*	-1,20*	**-3,30**
	196	Vér	1	NK	-0,18*	-0,32*	-1,22
Kelet-Ázsiai	15 (NCPF 8984)	Külső fül	0,25	-0,46*	-0,79	-1,47	**-3,90**
	12372 (CBS 12372)	Vér	0.12	**-3,26**	**-3,26**	**-3,78**	**-3,78**
	12373 (CBS 12373)	Vér	0,25	-0,38*	-1,22	-1,88	**-3,78**
	Típustörzs (NCPF 13029=CBS 10913)	Külső fül	0,25	-0,74*	-1,60	**-3,78**	**-3,78**
Dél-Afrikai	**2 (NCPF 8977)**	Liquor	0,5	-0,40*	-1,62	**-3,78**	**-3,78**
	182	Köpet	0,25	-0,38*	-1,39*	**-4,20**	**-4,20**
	185	Vér	0,5	-0,32*	-0,90	-2,23	**-3,90**
	204	Tracheostoma	0,5	-1,09	-2,38	**-3,78**	**-3,78**
	206	Vér	0,5	-0,30*	-1,03	-2,41	**-4,15**
	228	Szűrő kenet	0,5	NK	-0,46*	-1,48	-2,50
Dél-Amerikai	**13108 (CDC B-13108)**	Kórházi környezet	0,25	-0,48*	-1,78*	**-3,78**	**-3,78**
	13112 (CDC B-13112)	Kórházi környezet	0,5	-0,32*	-0,96*	-1,78	**-3,60**
	16565 (CDC B-16565)	Kórházi környezet	0,25	-0,88*	-1,18*	-1,82	**-3,08**
	I-24	Vér	1	NK	-0,79*	-1,05*	-1,85
	I-156	Vér	1	NK	-0,25*	-0,63*	-1,40*
	I-172	Vér	0,5	-0,30*	-1,00*	-1,70*	**-3,00**

NK: no killing (nem volt ölés)

Az AMB ≥0,5×MIC értékeken *koncentráció-függő* ölő aktivitást mutatott a *C. auris* izolátumokkal szemben. A CFU-csökkenés azonban gyakran átmeneti volt, és 12 óra elteltével még kétszeres MIC értéknél is újranövekedés volt megfigyelhető. A **32. ábra** az egyes kládok reprezentatív idő-ölési görbéit mutatja.

32. ábra. Amfotericin B reprezentatív idő-ölés görbéi a *C. auris* négy fő kládja esetén RPMI-1640 tápközegben. A Dél-Ázsiai kládból a 174-es (**A**), a Kelet-Ázsiai kládból a típustörzs (NCPF 13029=CBS 10913) (**B**), a Dél-Afrikai kládból a 182-es (**C**), míg a Dél-Amerikai kádból az I-172-es (**D**) izolátumok láthatók.



A Dél-Ázsiai klád hat klinikai izolátuma ellen 1 mg/L AMB két, míg a 2 mg/L AMB öt klinikai izolátum ellen fungicid hatásúnak bizonyult. A 196-os számú izolátumnál 2 mg/L AMB csak gyenge fungisztatikus hatást (-1,22-log CFU/mL csökkenés) eredményezett (**23. táblázat**).

A Kelet-Ázsiai klád mind a négy izolátumánál az AMB ≥0,5 mg/L-nél újranövekedés nélkül eredményezett csíraszámcsökkenést. A típustörzs ellen az 1 mg/L AMB (4× MIC)

1,77 óra után fungicid hatású volt (**32/B ábra**). A 12372-es izolátumnál a ≥0,25 mg/L AMB (≥2×MIC) ≥99,9%-os csíraszámcsökkenést eredményezett (a T99,9 tartományok 1,21–4,24 óra voltak).

A Dél-Afrikai klád hat izolátumánál 1 mg/L AMB három esetben, míg 2 mg/L öt izolátumnál fungicid hatású volt (**23. táblázat** és **32/C ábra**). Két mg/L AMB (4×MIC) a 228-as számú izolátumnál csupán 2,50 log CFU csökkenést eredményezett (**23. táblázat)**.

A Dél-Amerikai klád minden izolátuma az egyszeres MIC értéknél, de gyakran a kétszeres MIC értékeknél is 24 óra elteltével újranövekedést mutatott. Egy mg/L-nél csak az 13108-as izolátumnál volt fungicid hatás (a T99,9, 3,35 óra volt), illetve mindhárom vérből izolált törzsnél újranövekedést tapasztaltunk (**23. táblázat** és **32/D ábra**). Az I-156 izolátumnál a *k* érték csak 2 mg/L-nél volt pozitív (*k*=0,859 1/h), és 12 óra elteltével újranövekedés volt megfigyelhető.

6.9.2. Amfotericin B *in vivo* hatékonysága a letalitás alapján

A Dél-ázsiai klád két izolátumával fertőzött egereknél az AMB nem fokozta a túlélést; a 13-dik napra a kezelt csoportokban is 100%-os halálozást láttunk (p=0,2004 a 196-os és p=0,1459 a 27-es számú izolátumnál) (**33/A ábra**).

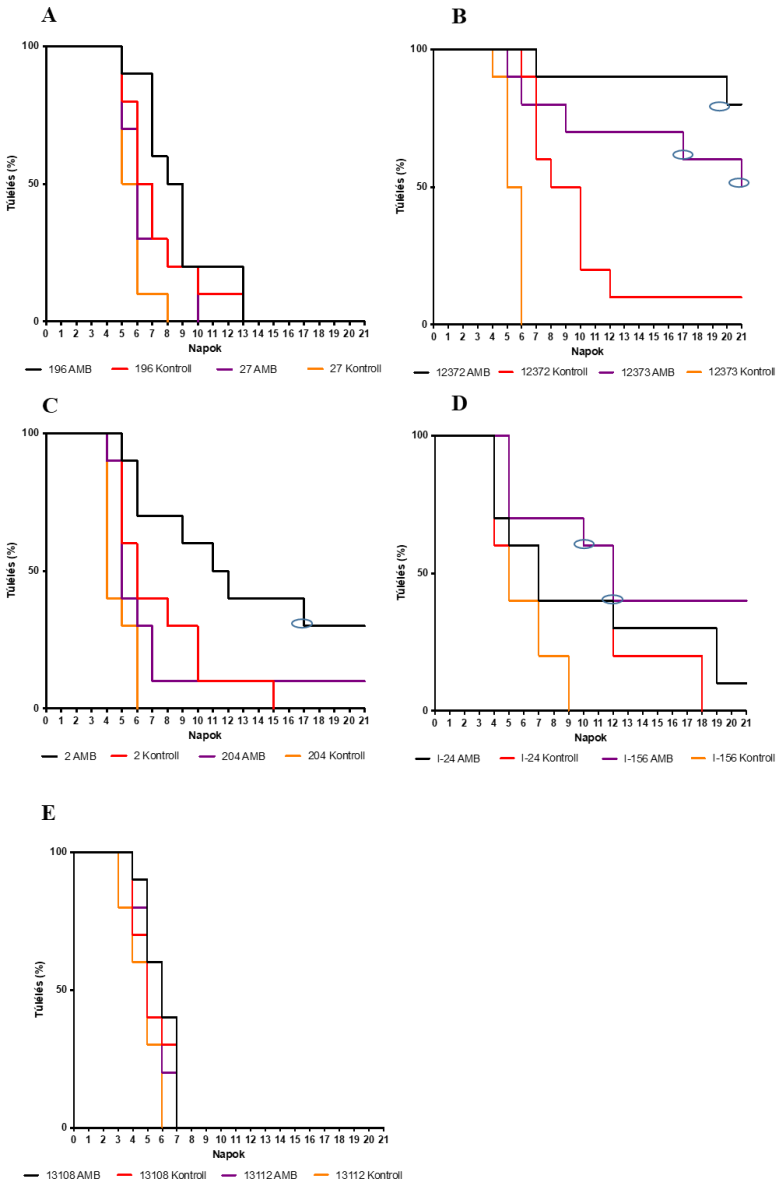
Ezzel ellentétben, mindkét kelet-ázsiai izolátumokkal fertőzött egércsoportban az AMB szignifikánsan fokozta a túlélést (p=0,0009 a 12373-es, és p=0,0005 a 12373-as izolátumoknál) (**33/B ábra**). Az AMB-vel kezelt csoportoknál (de azok kontrolljainál sohasem) több esetben ataxiát észleltünk. Az *ataxia* már 2-3 nappal az állatok halála előtt észlelhető volt. A 17.-dik naptól pusztuló egereknél mindkét AMB-vel kezelt csoportban illetve több, a 21-ik napig túlélő egérnél is megfigyelhető volt az ataxia (a 12372-es izolátummal fertőzött egereknél nyolcból három, illetve a 12373-as törzzsel inokulált egereknél ötből két túlélő egér mutatta az ataxiát) (**33/B ábra**).

A Dél-Afrikai kládnál az AMB kezelés csak a 2-es számú izolátummal fertőzött egereknél csökkentette a halálozást (p=0,0189). Ugyanezen izolátumnál a 17.-dik napon elpusztult AMB kezelt egér szintén ataxiás volt a halála előtti 2-3 napon (**33/C ábra**).

A négy Dél-Amerikai kládból származó izolátumokkal fertőzött egerek közül csak az I-156-al fertőzött egereknél volt hatásos az AMB (p=0,0017). Érdekes, hogy az I-156-os törzs ellen az *in vitro* kísérletben a 2 mg/L AMB csak nagyon gyenge fungisztatikus hatást fejtett ki (**23. táblázat**). Ugyanezen izolátumnál a az AMB kezelt csoportban a 10.-dik és a 12.-dik napon elpusztult egereknél ataxiát észleltünk a pusztulásuk előtti 2-3

napban (**33/D ábra**). A környezeti izolátummal fertőzött egereknél kezeléstől függetlenül a hetedik napra a halálozás 100% volt (**33/E ábra**).

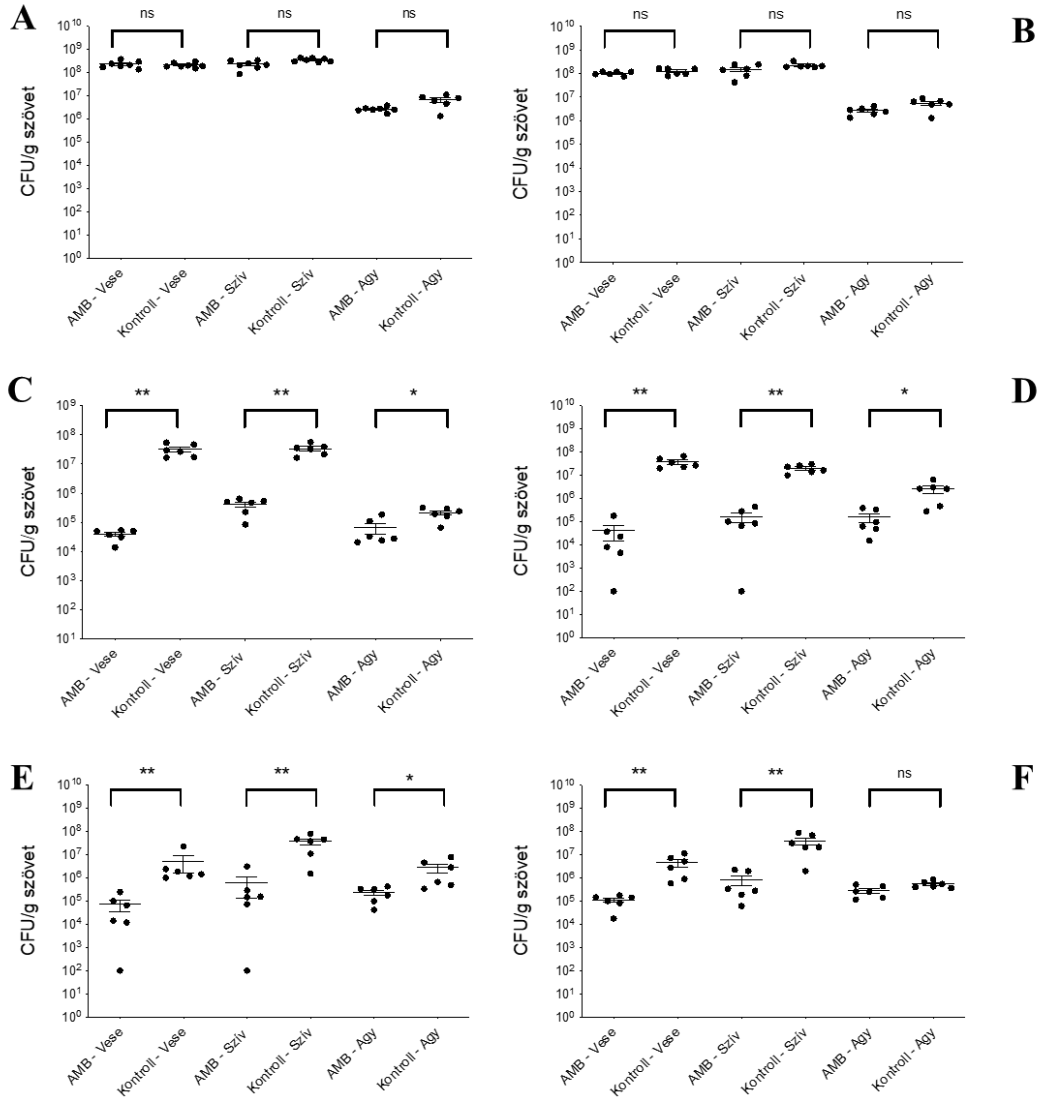
33. ábra. Napi 1 mg/kg amfotericin B-vel (AMB) kezelt neutropéniás, *Candida auris* izolátumokkal intravénásan oltott BALB/c egerek túlélése. A Dél-Ázsiai kládból 2 (**A**), a Kelet-ázsiai kládból 2 (**B**), a Dél-Afrikai kládból 2 (**C**) és a Dél-Amerikai kládból 4 (**D** és **E**) izolátumot vizsgáltunk a 21 napos időtartam alatt. A Dél-Amerikai klád esetén két izolátum kórházi környezetből származik (**E**). Kék ellipszissel jeleztem azokat az egereket, amelyek haláluk előtt 2-3 nappal ataxiásak voltak.



6.9.3. Amfotericin B *in vivo* hatékonysága a szervi perzisztencia alapján

Az AMB kezelés egyik dél-ázsiai izolátum ellen sem volt hatásos ($p>0,05$, mindhárom szerv esetén) (**34/A** és **B**). A vesékből és a szívekből ~10^8 CFU/gramm, míg az agyakból ~10^6 CFU/gramm gombasejtet tudtunk kitenyészteni.

34. ábra. Napi 1 mg/kg amfotericin B (AMB) hatása a belső szervekből (vesék, szív és agy) kitenyészett gombasejtek számára neutropéniás, BALB/c egerekben, a *C. auris* dél-ázsiai (**A:** 27-es, **B:** 196-os), kelet-ázsiai (**C:** 12372-es, **D:** 12373-as) és dél-afrikai (**E:** 2-es, **F:** 204-es számú) izolátumokkal intravénásan fertőzött egereknél. Az amfotericin B kezelés 24 órával az intravénás oltás után kezdődött és 5 napig tartott. $p<0,05$ (*), $p<0,01$ (**) és $p<0,001$ (***).



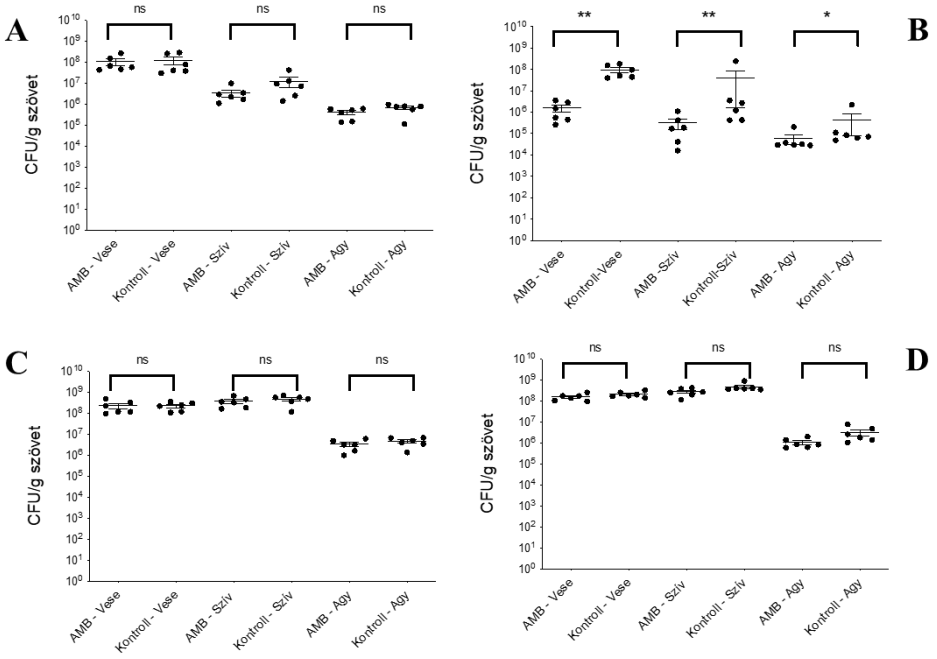
A Kelet-Ázsiai kláddal fertőzött egereknél, mindkét izolátum esetén az AMB szignifikánsan csökkentette a vesékből ($p<0,01$), a szívekből ($p<0,01$) és az agyakból ($p<0,05$) kitenyészett gombasejtek számát (**34/C** és **D**). A szívekből illetve az agyakból kitenyészett gomba átlagos mennyisége legalább 10^5 CFU/gramm volt mindkét

izolátummal fertőzött egércsoportban. A 12373-as izolátummal fertőzött egyik egérnél a vesék és a szív sterilek voltak (**34/D**).

Eredményeink nagyon hasonlóak voltak a Dél-Afrikai kládba tartozó izolátumokkal fertőzött egerekél (**34/E** és **F**), beleértve azt is, hogy egy egérnél, a 2-es számú izolátummal fertőzött csoportban a vesék és a szív sterilek voltak (**34/E**). A 204-es számú izolátumnál az agyban nem csökkent szignifikáns mértékben a gomba mennyisége (**34/F**).

A Dél-Amerikai kládnál, egyezve a letalitásnál tapasztaltakkal az AMB csak az I-156-os izolátummal fertőzött egereknél volt hatásos (**35/B**), közel két nagyságrendnyi átlagos csíraszám csökkenést okozva a vesékben és a szívekben ($p<0,01$ mindkét esetben). Az agyban az átlagos csíraszám csökkenés kisebb volt egy nagyságrendnél ($p<0,05$). A másik három izolátum esetén az AMB kezelt és a kontroll egereknél a kitenyészett gombák száma nagyon hasonló volt (**35/A, C** és **D**) ($p>0,05$, mindhárom izolátumnál).

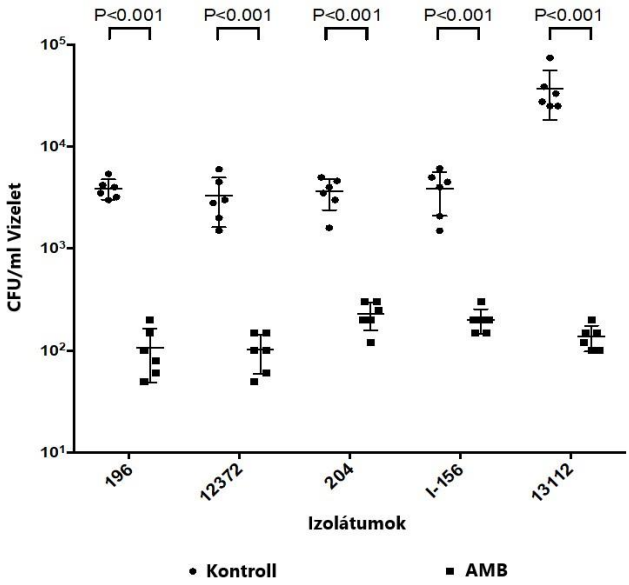
35. ábra. Napi 1 mg/kg amfotericin B (AMB) hatása a belső szervekből (vesék, szív és agy) kitenyészett gombasejtek számára neutropéniás, BALB/c egerekben, a *C. auris* Dél-Amerikai (**A:** I-24-es, **B:** I-156-os, **C:** CDC B-13108-as és **D:** CDC B-13112-es) izolátumokkal intravénásan fertőzött egereknél. A CDC B-13108 és CDC B-13112-es izolátumok kórházi környezetből származtak. Az amfotericin B kezelés 24 órával az intravénás oltás után kezdődött és 5 napig tartott. $p<0,05$ (*), $p<0,01$ (**) és $p<0,001$ (***).



6.9.3. Amfotericin B *in vivo* hatékonysága a vizeletből kitenyésztett gombák száma alapján

Öt izolátummal oltott [a 196-os izolátum a Dél-Ázsiai kládból, a 12372-es izolátum a Kelet-Ázsiai kládból, a 204-es izolátum a Dél-Afrikai kládból, az I-156-os izolátum (vérből származó izolátum) a Dél-Amerikai kládból és a 13112-es (kórházi környezetből származó izolátum) a Dél-Amerikai kládból] AMB-vel kezelt és kontroll neutropéniás egerek vizeletében lévő gombák számát határoztuk meg. Két nap AMB kezelés legalább egy nagyságrendnyi CFU csökkenést eredményezett ($p<0,001$ minden vizsgált esetben) (**36. ábra**).

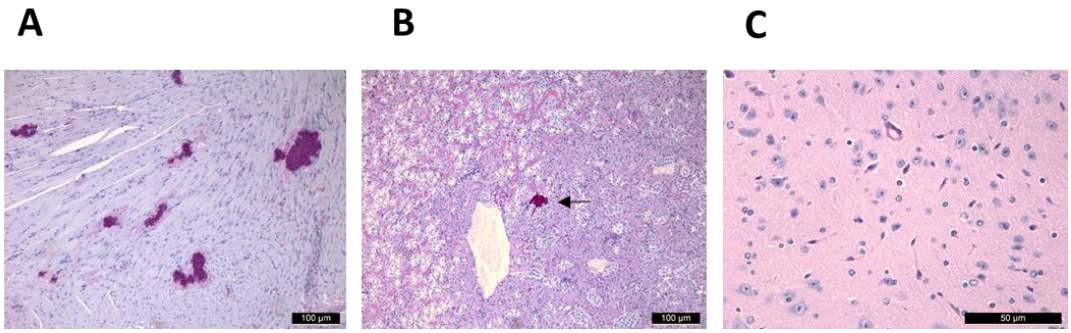
36. ábra. Két nap amfotericin B kezelés hatása négy klád öt izolátumával (a 196-os izolátum; Dél-Ázsiai klád, a 12372-es izolátum; Kelet-Ázsiai klád, a 204-es izolátum; Dél-Afrikai klád, az I-156-os, vérből származó izolátum; Dél-Amerikai klád és a 13112-es, kórházi környezetből származó izolátum; Dél-Amerikai klád) fertőzött neutropéniás egerek vizeletéből kitenyészett gombasejtek számára (CFU/mL). A vizeleteket a fertőzés utáni negyedik napon gyűjtöttük. $p<0,001$ (***).



6.9.4. Amfotericin B *in vivo* hatékonysága a szövettani vizsgálatok alapján

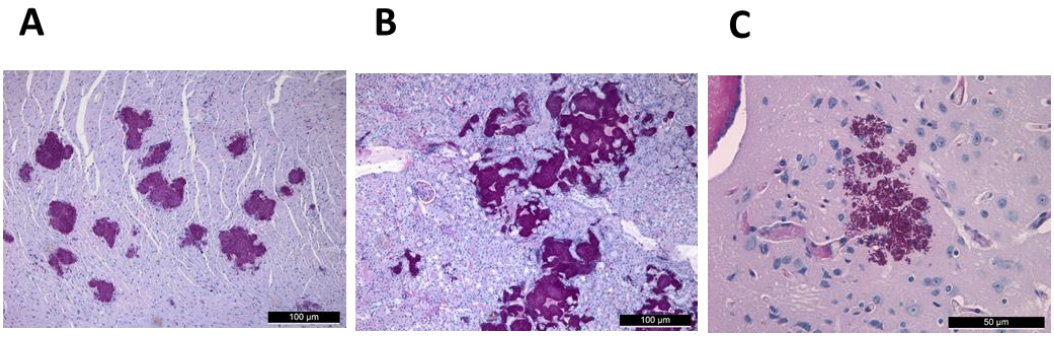
A második napon vizsgált AMB-kezelt és kontroll egereknél a szövettani képek azonosak voltak: a szívnek (**37/A ábra)** és a vesének **(37/B ábra)** relative kisméretű, multifokális PAS pozitív infiltrációja, a központi idegrendszer érintettsége nélkül (**37/C ábra**).

37. ábra. *Candida auris* I-156-os törzsével oltott, amfotericin B-vel kezelt neutropéniás egér szívének (**A**), veséjének (**B**) és nagyagyának (**C**) szövettani képe PAS festéssel. Az egeret az intravénás oltás utáni második napon boncoltuk.A szívben kicsi, PAS pozitív multifokális léziók, a vesében egy kisebb lézió (fekete nyíl) láthatók. A nagyagyban gomba nem látható. Nagyítás: **A** és **B**: 100x, **C**: 400x.



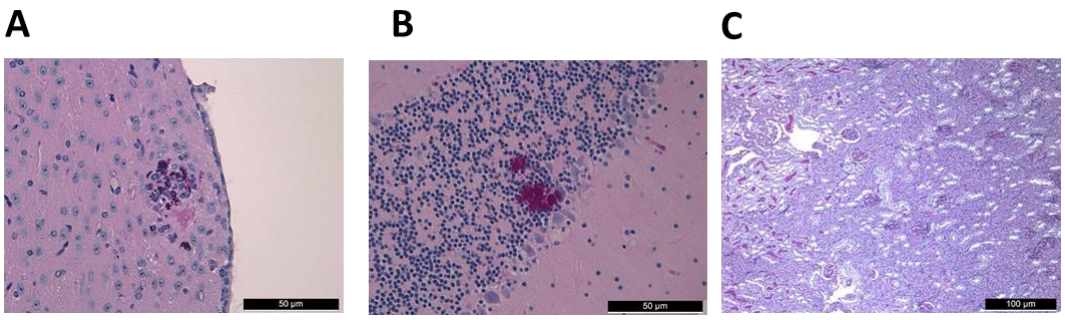
A letalitási kísérletekben a 4-6 nap között felboncolt egereknél kládtól függetlenül a szívek és a vesék nagy, multifokális infiltrációját, a nagyagy és a kisagy érintettségével lehetett látni (**38. ábra**). A szívek esetén mindig megfigyelhető volt a kontrakciós-sáv nekrózis.

38. ábra. *Candida auris* I-156-os törzsével oltott, amfotericin B-vel kezelt neutropéniás egér szívének (**A**), veséjének (**B**) és nagyagyának (**C**) szövettani képe PAS festéssel. Az egér az intravénás oltás utáni ötödik napon pusztult el. A szívben és a vesékben számos, gyakran összefolyó multifokális PAS pozitív léziók láthatók. A nagyagyban szintén multifokális gombaléziók láthatók. Nagyítás: **A** és **B**: 100x, **C**: 400x.



A kísérlet 17-dik és 21-dik illetve a 20-dik napján napján elpusztult egereknél (12373 és 12373-as izolátumok a Kelet-Ázsiai kládból) a nagyagy (**39/A**) és a kisagy (**39/B**) érintettsége nyilvánvaló volt, de a vesékben (**39/C**) és a szívben gombát nem találtunk.

39 ábra. *Candida auris* 12372-es törzsével oltott, amfotericin B-vel kezelt neutropéniás egér nagyagyának (**A**), kiasagyának (**B**) és veséjének (**C**) szövettani képe PAS festéssel. Az egér az intravénás oltás utáni 20-dik napon pusztult el. A nagyagyban, a kisagyban PAS pozitív gombasejtek láthatók. A vesében gombasejt nem látható. Nagyítás: **A** és **B**: 400x, **C**: 100x.



7. Megbeszélés

7.1. Posakonazol *in vitro* hatékonysága *Candida* fajok ellen

A kutatási eredmények alapján nem biztos, hogy a szérumban mért POSA koncentráció szoros összefüggésben van a terápiás kimenetellel. Farowski és munkatársai (2010) eredményei alapján a POSA a perifériás vér monocitáiban 22,5-ször, míg a neutrofil granulocitákban 7,66-szor nagyobb koncentrációban van jelen, mint a szérumban. A pulmonáris epitél sejtek sejt-organellumaiban, főleg az endoplazmatikus retikulumban és az alveoláris makrofágokban a lipofil POSA akkumulációját észlelték, ahonnan a POSA könnyen átkerül a gombára, gátolva annak lanoszterol-demetiláz enzimét (Campoli és mtsai., 2013). POSA kezelésben részesült, graf-versus host betegségben elhunytakban a POSA koncentrációja a szívben, a tüdőkben, a májban és a vesékben (de az agyban, nem) 5-10-szeresei voltak a szérumban mérhető POSA koncentrációknak (Blennow és mtsai., 2014). A POSA sejteken belüli felhalmozódásával magyarázható, hogy a 300 mg-os tabletta alkalmazása esetén már beszámoltak a vorikonazolhoz hasonló súlyos látási és központi idegrendszeri mellékhatásokról, amikor extrém magas (10,1 mg/L) szérum POSA koncentrációt mértek (Parkes és mtsai., 2015).

Munkánk első részében adatokat nyertünk a Debreceni Orvostudományi Egyetem különböző klinikáiról származó *Candida* fajok FLU érzékenységéről. A nemzetközi adatokkal összhangban – a FLU iránt primer rezisztenciával rendelkező fajokat (*C. krusei* és *C. inconspicua*) nem számítva – a FLU rezisztencia nem volt gyakori jelenség (Pemán és mtsai., 2012; Pfaller és mtsai., 2001/a; Wisplinghoff és mtsai., 2004). Ugyanezen izolátumoknál a POSA MIC értékek szintén alacsonyak voltak, beleértve a FLU iránt csökkent érzékenységgel rendelkező *C. krusei* és *C. inconspicua* izolátumokat is. A MIC értékek annak ellenére voltak alacsonyak (a *C. glabrata* kivételével), hogy a MIC értékek leolvasása 48 órás inkubáció után történt, míg a viszonyítási alapként szolgáló ECV értékeket évekkel később 24 órás inkubáció után határozták meg (Espinel-Ingroff és mtsai., 2014; Pfaller és mtsai., 2003/a és 2011/b). Amikor kísérleteinket végeztük, illetve eredményeinket publikáltuk a különböző antifungális szerek ECV értékei nem léteztek, utólagosan alkalmazva azonban hasznosnak tűnnek, mivel a CLSI számos antifungális szer esetén jelenleg nem javasol klinikai határértékeket az egyes *Candida* fajokra. Magas (>8 mg/L) POSA MIC értéket csupán egy *C. albicans* és két *C. glabrata* izolátumnál

tapasztaltunk megerősítve, hogy a FLU és a POSA között inkább részleges, mint teljes keresztrezisztencia áll fenn (Nagappan és Deresinski., 2007). FLU rezisztens törzsek által okozott fertőzések kezelésére azonban az echinocandinok javasolhatók (Pappas és mtsai., 2016; Pfaller és mtsai., 2010).

Elsőként határoztuk meg a POSA *in vitro* farmakodinámiáját a klinikailag fontos *Candida* fajok ellen. A POSA a vizsgált *Candida* fajok ellen *koncentráció- és időfüggő ölő 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 (McKeage, 2015). Az MFC meghatározás eredményei a *C. parapsilosis* kivételével, kitűnő korrelációt mutattak az idő-ölés görbék által kapott eredményekkel. *C. parapsilosis* esetén a diszkrepancia oka az lehetett, hogy miután az üregek tartalmát Sabouraud táptalajra kicseppentettük majd hagytuk megszáradni, a kaccsal való szélesztés során a gombákat nem sikerült teljes mértékben eltávolítani a gyógyszer, azaz a POSA forrásától. Így a gombák növekedése még 48 óra után is gátolt volt, ezért a táptalajon (tévesen) nem észleltünk gombanövekedést. A POSA *in vitro* farmakodinámiájára vonatkozó eredményeinket más szerzők *in vitro* és *in vivo* eredményei megerősítették (Cantón és mtsai., 2008; Mariné és mtsai., 2009 és 2010; Sanchis és mtsai., 2016; Spreghini és mtsai., 2008).

Az IDSA (Infectious Diseases Society of America) 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-fluorocitozin vagy az echinocandin terápia után a beteg állapota stabilizálódott. Immunszupprimált betegek profilaxisában viszont továbbra is fontos szerepe van a POSA-nak (Chen és mtsai., 2020; Cornely és mtsai., 2007; Maertens és mtsai., 2014; Pappas és mtsai., 2016; Ulmann és mtsai., 2007).

Beredaki és munkatársai (2021) meghatározták a farmakodinámiás targetet vad típusú *C. albicans* izolátum esetén (MIC≤0,06 mg/L), figyelembe véve a POSA nagymértékű kötődését a szérumfehérjékhez. Eredményeik alapján a POSA fungisztatikus hatása tesztközegtől független, mivel hasonló eredményt kaptak RPMI-1640 és szérum tesztközegekben is. Ennek valószínű magyarázata az, hogy bár a szérum proteinekhez

való kötődése a POSA-nak 98%-os, a sejtekben lévő POSA kb. 50-szerese a szérumban mérhetőnek. A fehérjéhez nem kötött AUC, illetve az EUCAST vagy a CLSI által meghatározott MIC (48 órás leolvasás után) értékek hányadosa alapján ($fAUC_{0–24}$/MIC) a farmakodinámiás target 169-nek adódott. Ez az érték az orális POSA szuszpenzió adagolásával nem érhető el, de elérhető a késői felszívódású tabletta (napi 2x900 mg) vagy intravénás (napi 2x600 mg) adagolással, ha az első napon nagyobb (telítő) dózist adunk (Beredaki és mtsai., 2021). A nagyobb dózis azért kell, hogy invazív kandidiázis esetén hamarabb elérjük az egyensúlyi POSA koncentrációt a kórokozó gyorsabb eliminálása érdekében. Természetesen a második napon a POSA gyógyszerszint mérését a szérumból el kell végezni. Alternatív lehetőség, hogy a kezelést echinocandin plusz POSA kombinációval kezdjük, majd egy hét után elhagyjuk az echinocandint (Pappas és mtsai., 2016). Ezen adatok alapján nem lehet kizárni, hogy a közeljövőben az echinocandin rezisztens *Candida* fajok terápiájában az alacsony POSA MIC értékkel rendelkező izolátumoknál a POSA-nak szerepe lehet invazív kandidiázis kezelésében. Saját eredményeink is támogatják ezt a megközelítést, mivel neutropéniás egérmodellünkben az echinocandin-érzékeny és rezisztens *C. auris* által okozott invazív fertőzés a letalitás és a szervi perzisztencia eredményei alapján jól kezelhető POSA-lal (nem közölt adatok).

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

Bár az IDSA 2009-es ajánlása invazív *C. parapsilosis* okozta fertőzések kezelésére egyértelműen a FLU használatát javasolta (Pappas és mtsai., 2009), az echinocandinokkal történő kezelések nem eredményeztek rosszabb gyógyulást más fajokkal összevetve (Betts és mtsai., 2009; Mora-Duarte és mtsai,. 2002; Reboli és mtsai., 2007; Pappas és mtsai., 2007).

Chen és munkatársai (2015) vizsgálatai alapján kandidémiás, felnőtt betegeknél a „*psilosis*” csoport által okozott mortalitás (30 nap múlva) *C. parapsilosis sensu stricto* esetén 24,5% (63/256), *C. orthopsilosis* esetén 29,4% (10/34) illetve *C. metapsilosis* esetén 21,2% (7/33) volt, szignifikáns eltérés nélkül. A betegek 81,7%-ka FLU, míg 3,4%-ka AMB kezelést kapott. Csak öt beteg kapott echinocandint, abból két beteg FLU-al kombinálva (Chen és mtsai., 2015). Ezzel ellentétben Pfaller és munkatársai (2012/b) közleményében 531 beteg *C. parapsilosis sensu lato* okozta fertőzéseinek a kezelésében a FLU (77,6%) mellett, az echinocandinok (51,2%) és a lipid-asszociált AMB (21,3%) is

megtalálhatók voltak. A szerzők nem részletezték, hogy az említett gyógyszerek közül melyiket használták monoterápiában, kombinációban vagy szekvenciális terápia részeként (Pfaller és mtsai., 2012/b). A mortalitás (30 nap után) 22,1% volt, egyezve Chen és munkatársai (2015) eredményeivel.

Az egereken végzett vizsgálatoknak a patogenezis és az antifungális szerek *in vivo* hatékonyságának a vizsgálata szempontjából kitüntetett szerepe van. Spellberg és munkatársai (2005) *C. albicans*-sal intravénásan fertőzött egerekben bizonyították, hogy közvetlenül a halál előtt a hipovolémia miatti hipoklorémiás metabolikus acidózis, a hipotónia miatti akut tubuláris nekrózis és a pielonefritisz miatt a vesefunkció drasztikus romlása következik be. A szérum kreatinin szintje a vesékben lévő gomba mennyiségével (CFU/gramm) szoros korrelációban volt, illetve ahogy az egerek testtömege csökkent és a fehérje lebontás fokozódott, a vér urea nitrogén koncentrációja is növekedett. Invazív *Candida* fertőzések esetén tehát az egyik fő célszerv a vesék (Spellberg és mtsai., 2005).

A „*psilosis*” csoporttal való munkánk egy 7 éves periódust ölel fel (2008-2014), amelynek során a szisztémásan alkalmazható antifungális szerek MIC értékeinek a meghatározásán túl, elvégeztük az idő-ölés görbék felvételét, illetve a FLU, az AMB és a CAS *in vivo* hatékonyságát is megvizsgáltuk (Szabó és mtsai., 2009; Varga és mtsai., 2008b). A periódus elején az NCCLS M27-A2 (2002) ajánlása alapján dolgoztunk, amikor a MIC értékeket az echinocandinok kivételével 48 óra inkubálás után kellett meghatározni. Később a CLSI (M27-A3, 2008) elégségesnek tartotta a 24 óra utáni MIC érték meghatározást, így FLU esetén 24 óra (**20. táblázat**) és 48 óra (Szabó és mtsai., 2009) múlva is rendelkezésre álltak ugyanazon izolátumok MIC értékei. *C. parapsilosis sensus stricto*-nál a 48 órás MIC értékek 1-2-szer, *C. orthopsilosis* esetén 4-16-szor míg *C. metapsilosis*-nál 2-4-szer voltak nagyobbak, mint a 24 órás FLU MIC értékek. Bár a 48 órás MIC értékek alapján – összehangban a nemzetközi irodalommal – valóban a *C. parapsilosis sensu stricto* tűnt a legérzékenyebbnek a csoport tagjai közül (Gomez-Lopez és mtsai., 2008; Lockhart és mtsai., 2008; van Asbeck és mtsai., 2008), a MIC értékek közti korábbi különbségek a 24 órás leolvasás után eltűntek (**20. táblázat**).

Irodalmi adatok alapján a „*psilosis*” csoportnál gyakori a PG (Chamilos és mtsai., 2007). Korábbi munkáink során RPMI-1640 vagy antibiotikum médium 3 táptalajban sem a MIC, sem pedig az MFC érték meghatározás során nem tapasztaltunk PG-t. A három fajt vizsgálva az idő-ölés görbék nagyon változatos ölési illetve gátlási eredményeket

mutattak (**14.** és **18. táblázatok**), beleértve a nagykoncentrációjú CAS csökkent ölőképességét az alacsonyabb koncentrációkkal összehasonlítva (Varga és mtsai., 2008b). Ám tesztközegtől függetlenül egyértelmű volt, hogy a CAS iránt a *C. parapsilosis sensu stricto* a legkevésbé érzékeny, míg a *C. metapsilosis* a legérzékenyebb. Eredményeink hasonlóak voltak 50% szérumban is (**20. táblázat**).

In vitro adataink birtokában először a FLU, az AMB és a CAS *in vivo* aktivitását határoztuk meg átmeneti neutropéniában szenvedő egerekben (**6.7.1.)**. Bár invazív *C. parapsilosis sensu lato* fertőzés esetén ritka a neutropénia, ezt a modellt kellett választanunk, mivel normál immunrendszerű egereket nem sikerült reprodukálható módon fertőzni a három fajjal (5 nap múlva a kontroll egerek veséiből $<10^4$ CFU/vesék értékeket kaptunk). Ráadásul az *in vitro* kísérleteinkben korábban használt hat *C. parapsilosis sensu stricto* klinikai izolátumok közül csak két izolátum mutatott jó szaporodó képességet *in vivo* (Varga és mtsai., 2008b). A „*psilosis*" csoport gyenge *in vivo* szaporodó képessége más szerzők munkáiból is ismert, hiszen Andes és munkatársai (2010) majdnem 80 *C. parapsilosis sensu lato* izolátumot teszteltek *in vivo*, hogy megfelelő szaporodó képességgel rendelkező törzsekhez jussanak az *in vivo* kísérleteikhez.

Eredményeink alapján 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 dózisnak felelnek meg (a napi 20 mg/kg egérdózis napi 100 mg-nak felel meg emberben) (Louie és mtsai., 1999). Csak a napi 5 mg/kg CAS volt hatékony mindkét *C. parapsilosis sensu stricto* ellen (ami napi 70 mg humán dózisnak felel meg), de a napi 2 mg/kg (kicsit 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 (Cornely és mtsai., 2011; Flattery és mtsai., 2011; Migoya és mtsai., 2011; Stone és mtsai., 2002; Würthwein és mtsai., 2013). A két újonnan elkülönített faj ellen a CAS *in vivo* tehát hatékonyabbnak bizonyult, mint *C. parapsilosis sensu stricto* ellen. *In vivo* az AMB annak ellenére mutatott kitűnő hatékonyságot, hogy az idő-ölés kísérletekben számos esetben csak a 4 mg/L AMB bizonyult fungicid hatásúnak (Szabó és mtsai., 2009). A hatékony FLU, CAS és AMB dózisok között azonban 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 (**24. ábra**). Eredményeink azt jelentik,

hogy a napi 5 mg/kg CAS hatékony a „*psilosis*” csoport mindegyik tagja ellen. Munkacsoportunktól függetlenül hasonló eredményt közöltek Spreghini és munkatársai (2012) is.

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 (Pappas és mtsai., 2016).

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. Adataink egyeznek azzal a klinikai tapasztalattal, hogy a CAS alkalmazása nem rontja a „*psilosis*” csoport által okozott invazív fertőzések kimenetelét (a mortalitás FLU kezelés esetén 22,2%, míg echinocandin kezelésnél 27% volt, p=0,587) (Fernández-Ruiz és mtsai., 2014). Megjegyzést érdemel, hogy a CAS kezelésben részesült betegek általában súlyosabb állapotban voltak, mint a FLU kezelést kapott betegek, azaz a kezelő orvosok kritikus állapotú betegeknél jóval gyakrabban határoznak a CAS (vagy a másik két első generációs echinocandin), mint a FLU kezelés mellett (Fernández-Ruiz és mtsai., 2014). Ráadásul az echinocandinok biofilmek ellen is hatásosak, ami szintén a használatuk mellett szól (Pappas és mtsai., 2016). Mindezek mellett szem előtt kell tartani, hogy az echinocandin prevenció/kezelés alatt áttöréses (breakthrough) kandidémia is kialakulhat (Bretagne és mtsai., 2021; Gamaletsou és mtsai., 2014; Pfeiffer és mtsai., 2010; Wang és mtsai., 2015).

7.3. 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” (**3.4.8. alfejezet**) az első generációs echinocandinok bevezetése az invazív kandidiázisban szenvedő betegek kezelésére vajon miért nem vezetett az echinocandin rezisztenciával nem rendelkező *Candida* fajok esetén még jobb terápiás sikerhez (Mazi és mtsai., 2022; Vergidis és mtsai., 2016)? Az echinocandinokkal kapott eredmények összegzését célszerűbb volt egy fejezetben elvégeznem.

A CLSI és az EUCAST több mint 10 éve a *Candida* fajok MIC értékeinek a meghatározását 24 órás inkubálás után ajánlja mind a kutatásban, mind pedig a rutin

diagnosztikai munkában is, így a mikológus vagy a klinikai mikrobiológus ritkábban találkozik a PG vagy a TE jelenségekkel. A RZF és a másik öt antifungális szer *in vitro* hatékonyságának a vizsgálata során (**6.2.**) a ritkábban izolálható gombáknál 24 óra után gyakran gyenge növekedést észleltünk, így a MIC értékeket másnap, 48 óra múlva is meg kellett határozni. Így fedeztük fel, hogy a PG és a TE a RZF-nál is megfigyelhető. 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* fajoknál a CAS-nál volt a leggyakrabban megfigyelhető (Chamilos és mtsai., 2007; Marcos-Zambrano és mtsai., 2017; Rueda és mtsai., 2017). Gyakori volt a PG a MCF-nál is a *C. tropicalis*, a *C. orthopsilosis* és a *C. inconspicua* izolátumoknál. 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 (**9. ábra**). A négy echinocandinnál 48 óra múlva a PG gyakorisága *C. dubliniensis* és *C. auris* esetén 18,2% illetve 0% volt, miközben az izolátumok 54,5-68,2%-ka illetve 50-100%-ka mutatta a TE-et. Érdekes, hogy Kordalewska és munkatársai (2018) 106 *C. auris* izolátumot vizsgálva 24 óra múlva a CAS-al csak PG-t, míg 48 óra múlva csak TE-t figyeltek meg, de az ANF-al és a MCF-al sem PG-t, sem pedig TE-et nem észleltek.

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). Ráadásul azok a *C. albicans* és *C. tropicalis* izolátumok, amelyeknél 24 és 48 óra múlva is PG-t lehetett megfigyelni, a MIC érték feletti teljesen tisztának látszó üregek száma a 24 óra utáni 6-7 tiszta üregről 48 óra után lecsökkent 2-3-ra. Ez azt jelenti, hogy hosszabb inkubációs idő után alacsonyabb koncentrációról indulva jól látható növekedés indul be a nagyobb koncentrációk felé, ami vagy továbbra is PG-ét, vagy TE-ét eredményez.

Az MFC meghatározás és az idő-ölés görbék segítségével elsőként bizonyítottuk, hogy PG esetén az alacsonyabb CAS koncentrációkon fungicid, míg a nagyobb koncentrációkon fungisztatikus hatás figyelhető meg (**11. és 12. ábra**). Hasonló eredményeket kaptunk a *C. glabrata* vizsgálatánál is (**17. ábra**), de *C. krusei* és *C. inconspicua* esetén nem tapasztaltuk a nagykoncentrációjú CAS csökkent ölőképességét az alacsonyabb koncentrációkkal összehasonlítva. A nagykoncentrációjú CAS csökkent ölő képességét *C. albicans*, *C. dubliniensis* és a „*psilosis*" csoportnál RPMI-1640 és antibiotikum médium 3 tápközegekben az idő-ölés görbék segítségével a dolgozatban nem szereplő kéziratokkal is alátámasztottuk (Varga és mtsai., 2008a, 2008b és 2009). Eredményeinket más szerzők is igazolták (Bizerra és mtsai., 2011; Cantón és mtsai., 2010). A nagykoncentrációjú ANF és MCF csökkent ölőképességét (mini-PG) a *C. auris* Dél-Amerikai kládjába tartozó környezeti izolátumok ellen, illetve MCF-nál két, a Dél-Ázsiai kládba tartozó klinikai izolátumnál az idő-ölés görbék illetve az ölési ráta értékek számításai által is megerősítettük (**15. és 16. ábrák**, **16. és 17. táblázatok**).

A gombák az echinocandin kezelés okozta stressz-hatást érzékelve túlélésük érdekében fokozzák a kitin szintézisét. Bebizonyosodott, hogy a PG hátterében a sejtfal anyagcsere folyamataiért felelős protein kináz C, a Ca^{2+}-kalcineurin, a HOG (*h*igh *o*smolarity glycerol response) jelátviteli útvonalak aktiválódása és a hősokk protein 90 szintjének az emelkedése áll, amelyek a kitin szintézis fokozódásához vezetnek (Bizerra és mtsai., 2011; Cowen, 2009; Stevens és mtsai., 2006; Walker és mtsai., 2013). A kitin szintézis fokozódása szükséges, de nem elégséges feltétele a gombasejtek túlélésének. Rueda és munkatársai (2014) kimutatták, hogy 16 mg/L CAS hatására a *C. albicans* sejteknek csak 77%-ka képes túlélni, és az összes túlélő sejtben fokozott kitin mennyiséget találtak. A kitin szintézis fokozódását *C. albicans* esetén Shields és munkatársai (2011/a) is kimutatták, amikor a MIC meghatározás során a kitin-szintázt gátló NIK (2-128 mg/L) megszüntette a 8 mg/L CAS hatására bekövetkező PG-t.

Az echinocandinok gyenge fungisztatikus hatással rendelkeznek a *C. auris* ellen (Dudiuk és mtsai., 2019; Kovács és mtsai., 2021). A jelenségnek többféle magyarázata lehet, beleértve a Dél-Ázsiai kládnál mérhető nagyobb bazális kitin mennyiséget más *Candida* fajokkal (*C. albicans*, *C. tropicalis* és *C. guilliermondii*) összehasonlítva, illetve a CHS2 génnek nagyobb mértékű bazális expresszióját (Navarro és mtsai., 2019; Shahi és mtsai., 2022). A 0,5-8 mg/L CAS hatására bekövetkező kitin-szint növekedés *C. auris*-nál szignifikánsan kisebb mint a *C. albicans* esetén, ami azt jelenti, hogy a *C. auris* túlélése

echinocandin stressz hatására kevésbé függ a kitin szint emelkedésétől (Lara-Aguilar és mtsai., 2021). Pezzotti és munkatársai (2021) Kelet-Ázsiai és Dél-Afrikai kládhoz tartozó izolátumoknál nagyobb α-1, 3-glukán, de kisebb kitin mennyiséget mértek a *C. albicans*-sal összehasonlítva. Mivel az echinocandinok a β-1, 3-glukán, nem pedig az α-1, 3-glukán szintézisét gátolják, ez jól magyarázhatja a *C. auris* csökkent echinocandin érzékenységét (relatíve kisebb mennyiségű a β-1, 3-glukán, mint target) a többi *Candida* fajjal összehasonlítva. Ráadásul a *C. auris* törzsek *in vitro* és *in vivo* is nagy aggregátumokat képesek produkálni (**30. ábra**) (Borman és mtsai., 2016; Kovács és mtsai., 2021). Ezek az irodalmi adatok magyarázhatják saját eredményeinket echinocandin kezelt *C. auris* esetén a 48 óra után szinte kizárólagosan megfigyelhető TE miatt (**9. ábra**).

Az idő-ölés görbék segítségével igazoltuk, hogy a nagykoncentrációjú (8-16 mg/L) CAS paradox módon csökkent ölő aktivitása *C. albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis* és *C. orthopsilosis* izolátumok ellen ≤8 mg/L NIK hatására megszűnik, számos esetben szinergista hatás révén (**14. táblázat**). A NIK akár a MIC érték alatti koncentrációkon (*C. albicans, C. glabrata, C. tropicalis* esetén) is fokozta a CAS ölő hatását. Teljesen hasonló eredményeket kaptunk, amikor vad típusú *C. auris* izolátumok ellen az ANF-t és a MCF-t kombináltuk 8 mg/L NIK-el (**16. és 17. táblázatok**), 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. Az ANF plusz NIK, illetve a MCF plusz NIK kombinációk az alacsony MIC értékkel rendelkező mutáns izolátumnál (HS2 R1354H) minden koncentrációnál tartós csíraszám csökkenést eredményeztek (pozitív *k* értékekkel), illetve a 0,25-1 mg/L MCF plusz 8 mg/L NIK kombináció szinergizmust eredményezett (**17. táblázat**). 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 aktivítás is nagyobb (Sharma és mtsai., 2022). Ezek az adatok azt is jelentik, hogy a szinergizmus nagymértékben függ a mutáció típusától.

Figyelemre méltó hogy, a NIK önmagában bár nagyon gyenge *in vitro* hatással rendelkezik a *Candida* fajok ellen, antagonizmust sohasem tapasztaltunk, amikor a CAS-al, az ANF-al vagy a MCF-al kombináltuk. 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 (Nix és mtsai.,

2009). Ehhez természetesen a NIK sokkal költséghatékonyabb előállítására van szükség, hogy a gyógyszerpiacon hozzáférhető legyen (Larwood, 2020).

Ötven százalék szérumban nyolc *Candida* faj 11 izolátumával elvégeztük a CAS MIC meghatározását és az idő-ölés görbék felvételét. Egyezve Shields és munkatársai (2011/a és 2011/b) eredményeivel PG-t nemcsak a MIC érték meghatározása, de az idő-ölés görbék felvétele során sem tapasztaltunk (**18. táblázat**). Az 50% szérumban mért *k* értékek a jelen dolgozatban szereplő *C. glabrata* (**17. ábra**), illetve a dolgozatban nem szereplő hat *C. albicans* izolátumoknál, amelyek RPMI-1640-ben mini-PG-t mutattak (Domán és mtsai., 2016) szintén megerősítették, hogy nagy CAS koncentrációknál a CAS paradox módon csökkent ölő aktivitása nem figyelhető meg. *In vitro* eredményeinket *in vivo* eredményeink is támogatják (Bayegan és mtsai., 2010; Domán és mtsai., 2016). A kapott adatok összhangban állnak más szerzők véleményével, miszerint a PG szerepe *in vivo* erősen kétséges (Shield és mtsai., 2011/a; Wiederhold, 2007/a). Az viszont továbbra is egy megválaszolandó kérdés, hogy *C. tropicalis* ellen az emelt napi dózisú CAS (Betts és mtsai., 2009) vagy MCF (Pappas és mtsai., 2007) terápiák a klinikai összehasonlító vizsgálatokban számszerűleg (de statisztikailag nem) miért kevésbé hatékonyak a normál napi dózisú CAS vagy MCF terápiával összehasonlítva. A PG szerepe ugyancsak nem zárható ki a biofilmmel fertőzött katéterek nagy koncentrációjú echinocandinnal való átmosása esetén („catheter lock therapy") (Perlin, 2014).

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 (**19. és 21. táblázatok**). Ötven százalék szérumban *C. glabrata, C. krusei* és *C. inconspicua* fajoknál 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 ölő hatás is fokozódjon. *C. krusei*-nél az ölés csupán 4 mg/L CAS-nál kezdődött (**19/B. ábra**), megerősítve, hogy a *C. krusei* érzékenysége a CAS iránt kisebb, mint a *C. albicans*-nak vagy a *C. glabrata*-nak. A három faj különböző izolátumai esetén a CAS *k* értékek rendkívül változatosak voltak, és *in viv*o kísérleteinkben azt vártuk, hogy azon izolátumok ellen amelyeknél nagyobb *k* értékeket mértünk, a CAS *in vivo* hatékonyabb lesz.

A *C. glabrata* klinikai izolátumok replikációja a kontroll egerekben lassú volt (**18. ábra**). A lassabb replikáció és sejtfal szintézis befolyással lehet az echinocandinok *in vivo* hatékonyságára is, mivel az echinocandinok csak az aktív, sejtfal szintézist folytató gombák ellen hatékonyak (Denning, 2003; Lepak és Andes, 2014). A neutropéniás egerek veséiből kitenyésztett gombasejtek számában a napi 1, 2, 3, 5 és 20 mg/kg CAS kezelések között szignifikáns eltérés nem volt ($\geq 10^5$ CFU/gramm átlagos csíraszám bármelyik kezelt csoportban). A CAS gyenge *in vivo* fungisztatikus hatása a gombáknak a lassabb replikációján és a tartós neutropénián kívül a gyulladt szövetekbe történő nehezebb bejutással is magyarázható. 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 izolátumok esetén tapasztalt nagyobb CAS *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 (**18. ábra**).

C. inconspicua ellen már a napi 1 mg/kg CAS (napi 35 mg CAS dózisnak felel meg a humán terápiában), míg *C. krusei* ellen a napi 3 mg/kg CAS (a standard napi dózisnak felel meg) dózisok hatékonyak voltak (**19. és 21. ábrák**). Hasonlóan a *C. glabrata* esetén kapott eredményekhez a *C. krusei* izolátumokkal fertőzött egerek veséiből is legalább 10^5 CFU/gramm gombasejt tenyészett ki, még a napi 15 mg/kg CAS esetén is. A CAS, a MCF és az AMB gyenge terápiás hatását rekurrens kandidémiában szenvedő betegekből származó *C. krusei* izolátumok ellen, *in vivo* is igazoltuk (Kardos és mtsai., 2018). Bár a *C. krusei* DPL245-ös számú izolátum ellen a napi 15 mg/kg CAS a statisztikai elemzés alapján *in vivo* hatékony volt (**20. ábra**), a gombasejtek száma kevesebb, mint fél nagyságrenddel volt alacsonyabb a kontrollhoz képest, így ez a hatékonyság erősen megkérdőjelezhető. 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 (Betts és mtsai., 2009). Eredményeink ellentétesek Howard és munkatársainak (2011) a véleményével, akik szerint az echinocandinok napi dózisának az emelése neutropéniás betegeknél jobb terápiás válasszal járhat.

A RZF-al végzett *in vitro* eredményeink (**12. táblázat**) 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 (Arendrup és mtsai.,

2018; Pfaller és mtsai., 2017/a és 2017/b). A várakozásnak megfelelően mind a négy echinocandin MIC értékei nagyobbak voltak *C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* és *C. carpophila* fajok esetén. A RZF *in vitro* aktivításáról a ritkábban előforduló sarjadzó gombák ellen a nemzetközi irodalomban egyáltalán nem, vagy csak kevés faj esetén voltak adatok, ezért munkánk ezen része mindenképpen hiánypótló.

A *C. kefyr* és a *S. boulardii* (a *S. cerevisiae* variánsa) jelentősége, hogy megtalálhatók *per os* probiotikum készítményekben, és a károsodott bélfalon keresztül bejuthatnak a hasüregbe vagy a véráramba is. A *C. kefyr* CAS MIC_{90} értéke 0,5 mg/L volt, ami 4-8-szor volt magasabb, mint a másik három echinocandin MIC értéke. Ellentétben más szerzők adataival az ANF és a MCF MIC értékeink alacsonyak voltak (Dufresne és mtsai., 2014; Lortholary és mtsai., 2014). Ugyanakkor, mind a négy echinocandin MIC_{90} értékei magasabbak voltak *S. cerevisiae* esetén (0,25-1 mg/L), miközben a FLU MIC_{90} (8 mg/L) is magas volt. Bár a *S. boulardii* probiotikumot kapott betegek kandidémiája általában jól reagál echinocandin terápiára, leírtak 33%-os mortalitást is (Poncelet és mtsai., 2021; Ventoulis és mtsai., 2020).

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 (Espinel-Ingroff és mtsai., 2013). Mivel az ANF, a CAS és a MCF ugyanazon terjesztőtől származtak a vizsgálatainkban (Molcan Corporation Richmond Hill, ON, Canada), ezért nem valószínű, hogy ez lenne az oka a magasabb CAS MIC értékeknek. Különösen *C. glabrata*, *C. krusei, C. tropicalis* és *C. kefyr* esetén mértünk nagyobb CAS MIC értékeket (**12. táblázat**). A nagyobb CAS MIC értékeinkre Fothergill és munkatársainak (2016) a vizsgálatai adhatnak magyarázatot, akik összehasonlították a polisztirénnel kezelt (szöveti tenyésztésre alkalmas) illetve nem kezelt táplemezekkel kapott CAS MIC értékeket *C. albicans*, *C. glabrata* és *C. krusei* esetén. Eredményeik alapján a szöveti tenyésztésre alkalmas táplemezek használatánál a MIC értékek sokkal magasabbak, és nem lehet megkülönböztetni egymástól az echinocandin érzékeny és rezisztens izolátumokat (a geometriai MIC értékek sokkal nagyobbak, ezért a mutációval nem rendelkező izolátumok a mérsékelten érzékeny kategóriába kerültek). Véleményük szerint ez lehet az egyik ok, ami miatt a CAS MIC értékek nagyobbak mint az ANF-al és a MCF-al kapott MIC értékek (Fothergill és mtsai., 2016). Az általunk kapott RZF MIC értékekeket befolyásolhatta, hogy szöveti tenyésztésre alkalmas táplemezt használtunk,

de az így kapott MIC értékeink nagyon hasonlóak voltak az ANF-al kapott MIC értékeinkhez **(12. táblázat**).

A vizsgált kórokozók a *C. auris* és néhány *C. fabianii* izolátum kivételével a DE, Klinikai Központ, Orvosi Mikrobiológiáján kerültek izolálásra, ezért nem lehet nagyobb, egész Magyarországra vonatkozó következtetéseket levonni az érzékenységi adatokból. Ennek ellenére figyelemre méltó, hogy 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 (Daneshnia és mtsai., 2023), FLU rezisztens izolátumot nem diagnosztizáltunk (**12. táblázat**). A magas fajspecifikus mortalitási adataink, más szerzők adataival összhangban nem magyarázhatóak a nagyfokú antifungális rezisztenciával (Lortholary és mtsai., 2014; Kovács és mtsai., 2024; Schroeder és mtsai., 2020; Won és mtsai., 2022). Az egész Magyarországra kiterjedő epidemiológiai és antifungális érzékenységi vizsgálatok feltétlenül szükségesek a közeljövőben.

A felnőtt betegek kandidémiájának és invazív kandidiázisának a kezelésére a közelmúltban (FDA, 2023. március 23, https://www.drugs.com/history/rezzayo.html) engedélyezett RZF (Rezzayo™) kivételes farmakokinetikájával remélhetőleg 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 többszörös az első generációs echinocandinokhoz képest, beleértve a nagy RZF koncentrációt máj illetve vesetályogokban (**6. táblázat**) (Rubino és mtsai., 2021; Novy és mtsai., 2023; Zhao és mtsai., 2017). A RZF *koncentráció-függő* ölési aktivitással rendelkezik és a beadástól számított 1 órán belül eléri a csúcskoncentrációt. Az első napi nagy RZF dózis (400 mg) fontos lehet a kórokozók gyorsabb eradikációjában a véráramból, ami jelentősen csökkentheti a véráramból a belső szervekbe történő szóródás mértékét is. A gyorsabb eradikáció segíthet megakadályozni a spontán mutációval keletkező mutáns kórokozók kiszelektálódását, így a rezisztencia kialakulását is (Thompson és mtsai., 2023).

7.4. *Candida auris* kládok virulenciája és amfotericin B iránti érzékenysége neutropéniás egérmodellben

Éveken keresztül kérdéses volt, hogy honnan és hogyan került a *C. auris* a humán betegségeket okozó kórokozók közé, mígnem Arora és munkatársai (2021) az Indiai-óceánban fekvő Andaman-szigeteken a természetben is izolálták napjaink kiemelkedő

fontosságú kórokozóját. Antifungális szerekre érzékeny és rezisztens izolátumokat egyaránt izoláltak az emberi tevékenységtől érintetlen sós vízi mocsaras területekről és a homokos tengerpartról. Teljes genom analízis alapján ezek a törzsek az I. (Dél-Ázsiai) kládba tartoztak hasonló hő-és sótoleranciával mint a klinikai izolátumok. Figyelembe véve, hogy antifungális szerek iránt érzékeny izolátumot is találtak, ez megerősíti azt a korábbi feltevéseket, hogy az emberi aktivitás környezetre gyakorolt hatása, illetve a globális felmelegedést is szerepet játszhattak a *C. auris* globális elterjedésében. Az emberi aktivítás hatását bizonyítja, hogy frissen szedett almáról nem, de szállításra tárolt és fungicid triazollal kezelt almák felületéről genetikailag diverz, akár többféle a Dél-Ázsiai kládba tartozó *C. auris* 13%-ban (8/62) kimutatható volt (Yadav és mtsai., 2022). Nem meglepő, hogy a mezőgazdaságban használt fungicid triazolok ezeknek az almáknak a felületéről szintén kimutathatók voltak, illetve ezen törzsek rezisztensek voltak a klinikumban használatos triazolokra. Mindenesetre a *C. auris* rendkívül flexibilis gombának számít, hiszen környezeti gombából egy évtized alatt rettegett nozokomiális patogénné vált (Arora és mtsai., 2021; Yadav és mtsai., 2022).

A kórházi környezetből származó izolátumok azonosnak bizonyultak a betegek bőrfelületét kolonizáló törzsekkel, amely izolátumok akár egy évig is kimutathatók voltak a környezetben (Bayona és mtsai., 2020; Escandon és mtsai., 2019; Ruiz-Gaitán és mtsai., 2018). A *C. auris*-t kimutatták lázmérőkről, vérnyomásmérő eszközökről, kapaszkodó kötélről vagy kórházi csengőről, amelyek járványok forrásai lehettek. Ezen adatok alapján nemcsak a betegek rutinszerű szűrése, hanem a kórházi környezet feltérképezése is fontos a *C. auris* terjedésének a megakadályozására (Escandon és mtsai., 2019; Sekyere, 2018; Ruiz-Gaitán és mtsai., 2018). A kolonizáció következtében, ha a rizikófaktorok fennállnak leggyakrabban a véráram fertőzése jön létre, bár a húgyutak fertőzése illetve sebfertőzés is bekövetkezhet (Lockhart és mtsai., 2017; Sekyere, 2018). Komplikációként rekurrens *C. auris* kandidémia, ventrikulitisz, meningitisz, endoftalmitisz, illetve endo- és perikarditisz fordulhatnak elő (Alatoom és mtsai., 2018; Khatamzas és mtsai., 2019; Mirhendi és mtsai., 2022; Ruiz-Gaitán és mtsai., 2018; Simon és mtsai., 2023; Singhal és mtsai., 2018).

A *C. auris* okozta véráramfertőzések halálozása összemérhető vagy nagyobb a *C. albicans* vagy a *C. glabrata* által okozott halálozásoknál (Lockhart és mtsai., 2017; Simon és mtsai., 2023; Sekyere, 2018). A klád-specifikus halálozás még a COVID-19 előtti időszakból származó adatok alapján 47-72% a Dél-Ázsiai, 60% a Dél-Amerikai és

33-58% a Dél-Afrikai kládok esetén (Armstrog és mtsai., 2019; Lockhart és mtsai., 2017; Sekyere, 2018). A *C. auris* okozta kandidémiák nagy részét az intenzív terápiás osztályokon diagnosztizálták és különösen riasztó, hogy az újszülötteket is érintheti, akár 50%-os halálozást okozva (Armstrong és mtsai., 2019; Lockhart és mtsai., 2017; Ruiz-Gaitán és mtsai., 2018; Sekyere, 2018). Indiai kórházakban a *C. auris* az intenzív terápiás osztályokon a leggyakoribb véráramfertőzést okozó gombává vált (Prayag és mtsai., 2022; Shastri és mtsai., 2020), nagyobb mint 90%-os FLU és AMB rezisztenciával. Új Delhi 65 ágyas COVID-19 intenzív terápiás osztályán 15 betegnél fejlődött ki kandidémia és 10 betegnél a kórokozó a *C. auris* volt. A *C. auris* okozta kandidémia esetén 60%-os volt a halálozás, a hat betegből öt MCF monoterápiában részesült. A túlélő négy beteg közül kettő MCF+AMB, illetve egy beteg AMB monoterápiát kapott (Chowdhary és mtsai., 2020). Még nagyobb mortalitásról (83%) számoltak be Monterrey COVID-19 intenzív terápiás osztályán *C. auris* okozta kandidémia miatt (Villanueva-Lozano és mtsai., 2021). A nozokomiális *C. auris* járvány 12 beteget érintett. Két elhunyt betegnél a vizelet tenyésztése is pozitív volt *C. auris*-ra. Hat másik betegnél csak a vizelet tenyésztése volt pozitív, akik közül három beteg halt meg. Egy betegnél, akinek a vizelete volt pozitív, az infúziós pumpáról és az ágyrácsról is kitenyészett a *C. auris*. A Dél-Amerikai kládhoz tartozó összes izolátum rezisztens volt FLU-ra és AMB-re, illetve egy-egy izolátum rezisztens volt ANF-ra és CAS-ra. A kezelések CAS vagy ANF voltak, amelyeket néhány esetben vorikonazollal vagy isavukonazollal kombináltak. A *C. auris* mortalitásban való szerepét egyértelműen nem lehetett kijelenteni, mivel kontroll csoport nem volt a vizsgálatban, de a véráram fertőzéshez illetve a kandidúriához társuló magas halálozás figyelemre méltó (Villanueva-Lozano és mtsai., 2021).

Egyezve Ben-Ami és munkatársai (2017) illetve Wang és munkatársai (2018) 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. Ráadásul a sokkal kisebb fertőző dózis ellenére a *C. albicans*-sal fertőzött egereken a súlyos szisztémás fertőzés jelei is sokkal kifejezettebbek voltak. A *C. auris* kládok virulenciája között szignifikáns különbséget észleltünk: Dél-Amerikai klád>Dél-Ázsiai klád>Dél-Afrikai klád=Kelet-Ázsiai klád (**25. ábra**). A mortalitás alapján az egyes kládokon belül is szignifikáns eltérések voltak, beleértve a Kelet-Ázsiai kládot is, ahol a vérből származó két izolátum (12372 és 12373) 50%-os illetve 70%-os mortalitást okoztak, míg a két külső fülből származó csupán 30%-ost (**25. ábra**).

Hasonlóan jelentős eltérés volt megfigyelhető a Dél-Afrikai kládnál, ahol a 206-os számú izolátumnál minden egér túlélt a 21 napos megfigyelés alatt, míg a 204-es számú izolátumnál a mortalitás 90%-os volt. 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 károsodásával bekerülhetnek a normálisan steril testtájakba is (Al Maani és mtsai., 2019; Escandon és mtsai., 2019; Ruiz-Gaitán és mtsai., 2018).

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 (mindkét izolátum), a Dél-Afrikai (2-es számú izolátum) és a Dél-Amerikai (I-156-os számú izolátum) kládokkal oltott egereknél 2-3 nappal a elpusztulásuk előtt ataxiát észleltünk (**33. ábra**). A szöveti perzisztencia vizsgálatok kimutatták, hogy statisztikai szignifikanciától függetlenül az AMB kezelt egerek agyából kitenyészett gombasejtek száma nem csökkent 10^5 CFU/gramm alá (**34.** és **35. ábrák**). A PAS pozitív gombasejteket a nagyagyból és a kisagyból egyaránt ki lehetett mutatni, könnyen magyarázva ezzel az ataxiás tüneteket. Bár az intravénás fertőzés utáni második napon boncolt AMB kezelt és kontroll egerek agyából nem (**37/C ábra**), de a negyedik-ötödik napokon elpusztult egerek agyából szövettani vizsgálattal mindig sikerült kimutatni a gombasejteket (**38./C ábra**). A központi idegrendszer inváziója valószínűleg már korábban bekövetkezett, bár az oltás utáni második napra vonatkozó szervi perzisztencia adataink nincsenek, mivel a kísérletsorozatban felhasznált egerek számát nem akartuk még tovább növelni. Érdekesség, hogy a letalitási kísérletekben a kísérleti periódus vége felé elpusztult AMB kezelt egerek nagy- és kisagyai PAS pozitív gombasejteket mutattak (**39. ábra A** és **B**), míg a szívekben és a vesékben nem találtunk gombát (**39./C ábra**).

Egérmodellünkben a *C. auris* véráramfertőzés utáni első napon a hifát és pszeudohifát nem képző gombasejtek szinte eltömeszelték a miokardium arterioláit (**29/A**). Az oltás utáni második napon a szervi perzisztencia vizsgálatok alapján, kládtól függetlenül a vesékből legalább 10^5 CFU/gramm, a szívekből 10^6 CFU/gramm, a lépekből 10^6 CFU/gramm, míg a májakból 10^5 CFU/gramm volt az átlagosan kitenyészthető gombasejtek száma (**26.** és **27. ábrák**). A szövettani vizsgálatok a szívnek (**37/A ábra)** és a vesének (**37/B ábra)** PAS pozitív gombás infiltrációját mutatták a központi

idegrendszer érintettsége nélkül (**37/C ábra**). Az oltás utáni negyedik napon az egerek vizeletéből $>10^3$ -$<10^5$ CFU/mL gombasejt tenyészett ki. 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 (a nagyagy és kisagy homogenizálása mindig együtt történt) voltak (**26., 27., 34.,** és **35. ábrák**).

Kórszövettani eredményeink bizonyították, hogy kládtól és izolátumtól függetlenül a vesékben, a szívben és a májban a negyedik-ötödik naptól boncolt egerekben mindig *nagy, multiplex gombasejt-aggregátumok* figyelhetők meg. Ez a morfológia független attól, hogy *in vitro* fiziológiás sóoldatban a gombasejtek mutattak-e spontán aggregációt vagy sem. *In vitro* hasonló aggregátumok képződését figyeltük meg 16 mg/L ANF, CAS, MCF és RZF hatására a négy fő klád izolátumai esetén RPMI-1640 tápközegben és 50% szérumban is (Kovács és mtsai., 2021). 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, multiplex aggregátumok az adott szerv működését irreverzibilisen károsíthatták, hiszen a kisebb virulenciájú izolátumokkal fertőzött egereknél ha 10-14 nap múlva is, de elkezdődött az egerek pusztulása (**25. A-C ábrák**).

A *C. auris* által létrehozott disszeminált fertőzés neutropéniás egérmodellünkben számos pontban különbözött a *C. albicans*-nál tapasztalthoz 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 20-as, 27-es és 196-os illetve a Dél-Afrikai klád 204-es izolátumainál volt hasonló a *C. albicans*-hoz (**25. A-D ábrák**). A többi izolátummal fertőzött egerek elhullása sokszor csak a 10-12 nap körül kezdődött, és ahogy az „**Eredmények**” fejezetben jeleztük (**6.8.1.**) ezek az egerek relatíve jó kondícióban voltak, elhullásuk előtt nem mutatták a súlyos fertőzés jeleit. A hatodik napon elvégzett szöveti perzisztencia vizsgálatok világosan mutatták, hogy az izolátum virulenciájától függően a vesékben és a szívekben ~10^5->10^8 CFU/gramm (**26., 27., 34., és 35. ábrák**), míg az agyakban >10^5->10^7 CFU/gramm volt a kitenyészett gomba mennyisége. A hatodik napon illetve a moribund egereken bármelyik napon elvégzett kórszövettani 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 (jelezve, hogy az invázió az endokardium irányából indult), *C. auris* esetén a miokardium érintettsége volt a szembetűnőbb (ami viszont a hematogén eredetet valószínűsíti). A nagy, multiplex gombasejt-aggregátumok miatt az izomrostok disztorziója is jól megfigyelhető (**29. ábra**), ami önmagában is funkcióvesztést eredményez. Új jelenséget írtunk le nemcsak az elhullott állatok, de a moribund egerek szívében is, a kontrakciós sáv nekrózist. A *kontrakciós sáv nekrózis* az első korai jele a szívinfarktusnak, az azzal járó katekolamin felszabadulásnak, de egyéb agóniás szituációkban is előfordul (pl. fulladás, újraélesztés). A szívizom kontrakciója, pontosabban hiperkontrakciója következik be, ami a miociták nekrózisához vezet. Kísérletesen a koronáriák átmeneti okklúziójával majd utána reperfúziójával lehet létrehozni (Hopster és mtsai., 1996).

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 (**38/C. ábra**). Az AMB terápiában nem részesült egereknél a szívekben és a vesékben lévő nagy számú gomba miatt kialakuló szív- és veseelégtelenség együttesen lehettek felelősek az állatok pusztulásáért, még mielőtt a központi idegrendszer érintettségét jelző klinikai tünetek (pl. ataxia) manifesztté váltak volna. Ezek az eredményeink, különösen a miokardium érintettsége, összefüggésben lehetnek a nem-*C. albicans* fajok okozta kandidémiák magas mortalitási adataival (Lortholary és mtsai., 2014; Schroeder és mtsai., 2020; Won és mtsai., 2022), bár ezen feltevés helyességéhez további *in vivo* kísérletek elvégzésére van szükség.

Szervi perzisztencia vizsgálatainkban mind a Kelet-Ázsiai, mind pedig a Dél-Afrikai kládokba tartozó izolátumokkal fertőzött egereknél volt egy-egy egér amelyeknek a szívei és a veséi az öt napos AMB kezelés után sterilek voltak, de az agyakból nagy csíraszámban (~10^5 CFU/gramm) tenyésztettük ki a gombát (**34/D és E**). Ezekkel az eredményekkel nagyon jól korreláltak az AMB kezelt, a 10-21. napok között elpusztult és elhalálozásuk előtt ataxiát mutató egerek (**33/B, C** és **D ábrák**) szövettani vizsgálatai, ahol a szívekben és a vesékben nem, de a nagyagyban és a kisagyban nagyszámú PAS pozitív gombasejtek voltak láthatók (**39/A, B** és **C. ábrák**). *In vivo* eredményeink jó korrelációban vannak az idő-ölés görbékkel kapott eredményeinkkel (**23. táblázat**), azaz

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.

Neutropéniás egérmodellünkben a letalitás és a szöveti perzisztencia alapján a hifát és pszeudohifát nem képző *C. auris* virulenciája kládtól függetlenül szignifikánsan kisebb volt 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 nekrózist, 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, így rutin vizelet tenyésztéssel az AMB terápia hatékonysága könnyen monitorozható. *C. auris* okozta meningoenkefalitisz kezelésében az AMB azonban hatástalan volt.

8. Eredmények összefoglalása

1. Az idő-ölés görbék segítségével elsőként bizonyítottuk, hogy a posakonazol a szérumban könnyen elérhető koncentrációkon koncentráció- és idő-függő ölő 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, kaszpofungin és amfotericin B dózisok *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis* ellen is hatékonyak.

3. RPMI-1640 tápközegben a standard mikrodilúciós módszerrel végzett anidulafungin, kaszpofungin, 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 kaszpofungin 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 kaszpofungin ölő aktivitása nagyobb koncentrációkon gyengébb, mint alacsonyabb koncentrációkon. A kitin szintézist gátló nikkomicin Z additív vagy szinergista interakciók révén megszüntette a nagykoncentrációjú kaszpofungin csökkent ölő aktivitását.

5. A nikkomicin Z additív vagy szinergista interakciók által fokozta az anidulafungin és a mikafungin ölő 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 kaszpofungin RPMI-1640-ben tapasztalt csökkent ölőképességét *C. albicans, C. tropicalis* és *C. glabrata* izolátumok ellen nem tapasztaltuk.

7. Ötven százalék szérumban a kaszpofungin koncentráció-független *in vitro* aktivitást mutatott a *C. glabrata,* a *C. krusei* és *C. inconspicua* fajok ellen. Neutropéniás egérmodellben a kaszpofungin napi dózisának az emelése 15 vagy 20 mg/kg-ra nem volt szignifikánsan hatásosabb, mint a napi 3 vagy 5 mg/kg kaszpofungin dózisok, de nem is indukáltak paradox növekedést.

8. Összehasonlítottuk a rezafungin *in vitro* aktivitását a CLSI standard mikrodilúciós módszer alapján az anidulafungin, a kaszpofungin, 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 MIC_{90} 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 kaszpofungin MIC_{90} értékei 0,25-2 mg/L voltak, míg az anidulafungin és mikafungin MIC_{90} 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. Kládoktól 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 meningoenkefalitisz kezelésében.

9. Új megállapítások

1. A posakonazol a szérumban könnyen elérhető koncentrációkon koncentráció- és idő-függő ölő 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* ölő aktivitása, a kitin szintézisét gátló nikkomicin Z hatására additív vagy szinergista interakciók által fokozódik.
4. A kaszpofungin 50% szérumban fiziológiás és szuprafiziológiás koncentrációkon számos *Candida* faj ellen koncentráció-független *in vitro* ölő aktivitást mutatott.
5. Neutropéniás egerekben az emelt napi dózisú kaszpofungin kezelések a standard napi dózisú kaszpofungin 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 egérmodellben 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 meningoenkefalitisz esetén.
10. Kevéssé virulens *Candida* fajok okozta véráramfertőzések következményeként a nehezen diagnosztizálható és kezelhető miokarditisz a feltételezettnél jóval gyakoribb lehet.

10. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm a Családomnak, hogy elfogadták távollétemet 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 érhette 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.

11. Irodalomjegyzék

Alatoom, A., Sartawi, M., Lawlor, K., AbdelWareth, L., Thomsen, J., Nusair, A. *et al.* (2018) Persistent candidemia despite appropriate fungal therapy: First case of *Candida auris* from the United Arab Emirates. *International Journal of Infectious Diseases*, 70, pp. 36–37. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.02.005

Alexander, B.D., Johnson, M.D., Pfeiffer, C.D., Jiménez-Ortigosa, C., Catania, J., Booker, R. *et al.* (2013) Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of *FKS* mutations and elevated minimum inhibitory concentrations. *Clinical Infectious Diseases*, 56(12), pp. 1724–1732. https://doi.org/10.1093/cid/cit136

Al Maani, A., Paul, H., Al-Rashdi, A., Al Wahaibi, A., Al-Jardani, A., Al Abri, A.M.A. *et al.* (2019) Ongoing challenges with healthcare-associated *Candida auris* outbreaks in Oman. *Journal of Fungi*, 5(4), 101. https://doi.org/10.3390/jof5040101

Andes, D., Marchillo, K., Conklin, R., Krishna, G., Ezzet, F., Cacciapuoti, A. *et al.* (2004) Pharmacodynamics of a new triazole, posaconazole, in a murine model of disseminated candidiasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), pp. 137–142. https://doi.org/10.1128/aac.48.1.137-142.2004

Andes, D., Diekema, D.J., Pfaller, M.A., Bohrmuller, J., Marchillo, K., Lepak, A. (2010) *In vivo* comparison of the pharmacodynamic targets for echinocandin drugs against *Candida* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(6), pp. 2497–2506. https://doi.org/10.1128/AAC.01584-09

Arendrup, M.C., Garcia-Effron, G., Lass-Flörl, C., Lopez, A.G., Rodriguez-Tudela, J.L., Cuenca-Estrella, M. *et al.* (2010) Echinocandin susceptibility testing of *Candida* species: comparison of EUCAST EDef 7.1, CLSI M27-A3, Etest, disk diffusion, and agar dilution methods with RPMI and isosensitest media. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(2), pp. 426–439. https://doi.org/10.1128/AAC.01256-09

Arendrup, M.C., Cuenca-Estrella, M., Lass-Flörl, C., Hope, W.W., the EUCAST-AFST (2012) EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST) *Clinical Microbiology and Infection*, 18(7), pp. E246–E247. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03880.x

Arendrup, M.C., Meletiadis, J., Zaragoza, O., Jørgensen, K.M., Marcos-Zambrano, L.J., Kanioura, L. *et al.* (2018) Multicentre determination of rezafungin (CD101) susceptibility of *Candida* species by the EUCAST method. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(12), pp. 1200–1204. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.021

Armstrong, P.A., Rivera, S.M., Escandon, P., Caceres, D.H., Chow, N., Stuckey, M.J. *et al.* (2019) Hospital-associated multicenter outbreak of emerging fungus *Candida auris*, Colombia, 2016. *Emerging Infectious Diseases*, 25(7), pp. 1339–1346. https://doi.org/10.3201/eid2507.180491

Arora, P., Singh, P., Wang, Y., Yadav, A., Pawar, K., Singh, A. *et al.* (2021) Environmental isolation of *Candida auris* from the coastal wetlands of Andaman Islands, India. *mBio*, 12(2), pp. e03181-20. https://doi.org/10.1128/mBio.03181-20

Balla, N., Kovács, F., Balázs, B., Borman, A.M., Bozó, A. Jakab, Á. *et al.* (2022) Synergistic interaction of caspofungin combined with posaconazole against FKS wild-

type and mutant *Candida auris* planktonic cells and biofilms. *Antibiotics,* 11(11), 1601. https://doi.org/10.3390/antibiotics11111601

Bayegan, S., Majoros, L., Kardos, G., Kemény-Beke, A., Miszti, C. and Kovács, R. *et al.* (2010) *In vivo* studies with a *Candida tropicalis* isolate exhibiting paradoxical growth *in vitro* in the presence of high concentration of caspofungin. *Journal of Microbiology*, 48(2), pp. 170–173. https://doi.org/10.1007/s12275-010-9221-y

Bayegan, S., Szilágyi, J., Kemény-Beke, A., Földi, R., Kardos, G., Gesztelyi, R., *et al.* (2011) Efficacy of a single 6 mg/kg versus two 3 mg/kg caspofungin doses for treatment of disseminated candidiasis caused by *Candida albicans* in a neutropenic mouse model. *Journal of Chemotherapy*, 23(2), pp. 107–109. https://doi.org/10.1179/joc.2011.23.2.107

Bayona, M.J.V., Palop, T.N., García, S.C., Serrano, G.M.D.R., Gimeno, G.C. (2023) *Candida auris* from colonisation to candidemia: A four-year study. *Mycoses*, 66(10), pp. 882–890. https://doi.org/10.1111/myc.13626

Bays, D.J., Jenkins, E.N., Lyman, M., Chiller, T., Strong, N., Ostrosky-Zeichner, L. *et al.* (2024) Epidemiology of invasive candidiasis. *Clinical Epidemiology*, 16, pp. 549–566. https://doi.org/10.2147/clep.s459600

Bellmann, R. and Smuszkiewicz, P. (2017) Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. *Infection*, 45(6), pp. 737–779. https://doi.org/10.1007/s15010-017-1042-z

Ben-Ami, R., Garcia-Effron, G., Lewis, R.E., Gamarra, S., Leventakos, K., Perlin, D.S., *et al*. (2011) Fitness and virulence costs of *Candida albicans* FKS1 hot spot mutations associated with echinocandin resistance. *Journal of Infectious Diseases*, 204(4), pp. 626–635. https://doi.org/10.1093/infdis/jir351

Ben-Ami, R., Berman, J., Novikov, A., Bash, E., Shachor-Meyouhas, Y., Zakin, S., *et al*. (2017) Multidrug-resistant *Candida haemulonii* and *C. auris*, Tel Aviv, Israel. *Emerging Infectious Diseases*, 23(1), pp. 195–203. https://doi.org/10.3201/eid2302.161486

Beredaki, M.I., Arendrup, M.C., Andes, D., Mouton, J.W., Meletiadis, J. (2021) The role of new posaconazole formulations in the treatment of *Candida albicans* infections: Data from an in vitro pharmacokinetic-pharmacodynamic model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(4), pp. e01292-20. https://doi.org/10.1128/AAC.01292-20

Betts, R.F., Nucci, M., Talwar, D., Gareca, M., Queiroz-Telles, F., Bedimo, R.J., *et al.* (2009) A multicenter, double-blind trial of a high-dose caspofungin treatment regimen versus a standard caspofungin treatment regimen for adult patients with invasive candidiasis. *Clinical Infectious Diseases*, 48(12), pp. 1676–1684. https://doi.org/10.1086/598933

Beyda, N.D., John, J., Kilic, A., Alam, M.J., Lasco, T.M. Garey, K.W. (2014) FKS mutant *Candida glabrata*: risk factors and outcomes in patients with candidemia. *Clinical Infectious Diseases*, 59(6), pp. 819–825. https://doi.org/10.1093/cid/ciu407

Bizerra, F.C., Melo, A.S., Katchburian, E., Freymüller, E., Straus, A.H., Takahashi, H.K., *et al*. (2011) Changes in cell wall synthesis and ultrastructure during paradoxical growth effect of caspofungin on four different *Candida* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(1), pp. 302–310. https://doi.org/10.1128/aac.00633-10

Blennow, O., Eliasson, E., Pettersson, T., Pohanka, A., Szakos, A., El-Serafi, I., *et al*. (2014) Posaconazole concentrations in human tissues after allogeneic stem cell

transplantation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(8), pp. 4941–4943. https://doi.org/10.1128/AAC.03252-14

Borman, A.M., Szekely, A., Johnson, E.M. (2016) Comparative pathogenicity of United Kingdom isolates of the emerging pathogen *Candida auris* and other key pathogenic *Candida* species. *mSphere*, 1(4),pp. e00189-16. https://doi.org/10.1128/mSphere.00189-16

Bretagne, S., Desnos-Ollivier, M., Sitbon, K., Lortholary, O., Che, D., Dromer, F.; Participants of the YEASTS. (2021) No impact of fluconazole to echinocandins replacement as first-line therapy on the epidemiology of yeast fungemia (hospital-driven active surveillance, 2004-2017. Paris, France) *Frontiers in Medicine*, 8, 641965. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.641965

Campoli, P., Perlin, D.S., Kristof, A.S., White, T.C., Filler, S.G., Sheppard, D.C. (2013) Pharmacokinetics of posaconazole within epithelial cells and fungi: Insights into potential mechanisms of action during treatment and prophylaxis. *Journal of Infectious Diseases*, 208(11), pp. 1717–1728. https://doi.org/10.1093/infdis/jit358

CANCIDAS, INN-caspofungin (as acetate)–Europa EU.

https://ec.europa.eu/health/documents/.../2015/.../anx_132168_en.pdf

Cantón, E., Pemán, J., Viudes, A., Quindos, G., Gobernado, M., Espinel-Ingroff, A. (2003) Minimum fungicidal concentrations of amphotericin B for bloodstream *Candida* species. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 45(3), pp. 203–206. https://doi.org/10.1016/s0732-8893(02)00525-4

Cantón, E., Pemán, J., Gobernado, M., Viudes, A., Espinel-Ingroff, A. (2004) Patterns of amphotericin B killing kinetics against seven *Candida* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(7), pp. 2477–2482. https://doi.org/10.1128/AAC.48.7.2477-2482.2004

Cantón, E., Pemán, J., Valentín, A., Bosch, M., Espinel-Ingroff, A., Gobernado, M. (2008) Comparison of posaconazole and voriconazole in vitro killing against *Candida krusei*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 62(2), pp. 177–181. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.07.001

Cantón, E., Pemán, J., Valentín, A., Espinel-Ingroff, A., Gobernado, M. (2009) *In vitro* activities of echinocandins against *Candida krusei* determined by three methods: MIC and minimal fungicidal concentration measurements and time-kill studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(8), pp. 3108–3111. https://doi.org/10.1128/aac.00160-09

Cantón, E., Espinel-Ingroff, A., Pemán, J., del Castillo, L. (2010) *In vitro* fungicidal activities of echinocandins against *Candida metapsilosis*, *C. orthopsilosis*, and *C. parapsilosis* evaluated by time-kill studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(6), pp. 2194–2197. https://doi.org/10.1128/aac.01538-09

Carolus, H., Pierson, S., Lagrou, K., Van Dijck, P. (2020) Amphotericin B and other polyenes-discovery, clinical use, mode of action and drug resistance. *Journal of Fungi*, 6(4), 321. https://doi.org/10.3390/jof6040321

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (n.d.) *Antifungal resistance in Candida auris*. Available at: https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html (Accessed: 30 May 2025)

Chamilos, G., Lewis, R.E., Albert, N. Kontoyiannis, D.P. (2007) Paradoxical effect of echinocandins across *Candida* species *in vitro*: evidence for echinocandin-specific and

Candida species-related differences, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(6), pp. 2257–2259. https://doi.org/10.1128/AAC.00095-07

Chen, S.C., Slavin, M.A. and Sorrell, T.C. (2011) Echinocandin antifungal drugs in fungal infections: a comparison, *Drugs*, 71(1), pp. 11–41. https://doi.org/10.2165/11585270-000000000-00000

Chen, C.Y., Sheng, W.H., Huang, S.Y., Chou, W.C., Yao, M., Tang, J.L. *et al.* (2015) Clinical characteristics and treatment outcomes of patients with candidaemia due to *Candida parapsilosis* sensu lato species at a medical centre in Taiwan, 2000–12. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(5), pp. 1531–1538. https://doi.org/10.1093/jac/dku540

Chen, L., Krekels, E.H.J., Verweij, P.E., Buil, J.B., Brüggemann, R.J.M., Mouton, J.W. *et al.* (2020) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of posaconazole. *Drugs*, 80(7), pp. 671–695. https://doi.org/10.1007/s40265-020-01306-y

Chowdhary, A., Tarai, B., Singh, A., Sharma, A. (2020) Multidrug-resistant *Candida auris* infections in critically ill coronavirus disease patients, India, April–July 2020. *Emerging Infectious Diseases*, 26(11), pp. 2694–2696. https://doi.org/10.3201/eid2611.203504

Clancy, C.J., Huang, H., Cheng, S., Derendorf, H., Nguyen, M.H. (2006) Characterizing the effects of caspofungin on *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, and *Candida glabrata* isolates by simultaneous time-kill and postantifungal-effect experiments. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(8), pp. 2569–2572. https://doi.org/10.1128/aac.00291-06

Clemons, K.V., Espiritu, M., Parmar, R., Stevens, D.A. (2006) Assessment of paradoxical effect of caspofungin in therapy of candidiasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(4), pp. 1293–1297. https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1293-1297.2006

Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*, 3rd ed., Approved standard M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2012) *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; 4th informational supplement*, CLSI document M27-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2017a) *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Fourth Edition M27-Ed4*. Wayne, PA, USA: CLSI.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2017b) *Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts—First Edition: M60*. Wayne, PA, USA: CLSI.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2018) *Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing—Second Edition: M59*. Wayne, PA, USA: CLSI.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2022a) *Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing—Fourth Edition: M57S*. Wayne, PA, USA: CLSI.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2022b) *Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts—Third Edition: M27M44S*. Wayne, PA, USA: CLSI.

Colombo, A.L., Guimarães, T., Sukienik, T., Pasqualotto, A.C., Andreotti, R., Queiroz-Telles, F. *et al*. (2014) Prognostic factors and historical trends in the epidemiology of candidemia in critically ill patients: an analysis of five multicenter studies sequentially conducted over a 9-year period. *Intensive Care Medicine*, 40, pp. 1489–1498. https://doi.org/10.1007/s00134-014-3400-y

Cornely, O.A., Maertens, J., Winston, D.J., Perfect, J., Ullmann, A.J., Walsh, T.J. *et al*. (2007) Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *The New England Journal of Medicine*, 356, pp. 348–359. https://doi.org/10.1056/NEJMoa061094

Cornely, O.A., Vehreschild, J.J., Vehreschild, M.J., Würthwein, G., Arenz, D., Schwartz, S. *et al*. (2011) Phase II dose escalation study of caspofungin for invasive Aspergillosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 5798–5803. https://doi.org/10.1128/aac.05134-11

Cornely, F.B., Cornely, O.A., Salmanton-García, J., *et al*. (2020) Attributable mortality of candidemia after introduction of echinocandins. *Mycoses*, 63, pp. 1373–1381. https://doi.org/10.1111/myc.13177

Cota, J.M., Grabinski, J.L., Talbert, R.L., Burgess, D.S., Rogers, P.D., Edlind, T.D. *et al*. (2008) Increases in SLT2 expression and chitin content are associated with incomplete killing of *Candida glabrata* by caspofungin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, pp. 1144–1146. https://doi.org/10.1128/aac.01542-07

Cowen, L.E. (2009) Hsp90 orchestrates stress response signaling governing fungal drug resistance. *PLoS Pathogens*, 5, e1000471. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000471

Daneshnia, F., de Almeida Júnior, J.N., Ilkit, M., Lombardi, L., Perry, A.M., Gao, M., *et al*. (2023) Worldwide emergence of fluconazole-resistant *Candida parapsilosis*: current framework and future research roadmap. *Lancet Microbe*, 4(6), pp. e470–e480. https://doi.org/10.1016/s2666-5247(23)00067-8

Delma, F.Z., Al-Hatmi, A.M.S., Brüggemann, R.J.M., Melchers, W.J.G., de Hoog, S., Verweij, P.E., *et al*. (2021) Molecular mechanisms of 5-fluorocytosine resistance in yeasts and filamentous fungi. *Journal of Fungi (Basel)*, 7(11), 909. https://doi.org/10.3390/jof7110909

Denning, D.W. (2003) Echinocandin antifungal drugs. *Lancet*, 362, pp. 1142–1151. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14472-8

Desnos-Ollivier, M., Bretagne, S., Raoux, D., Hoinard, D., Dromer, F., Dannaoui, E., *et al*. (2008) Mutations in the fks1 gene in *Candida albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei* correlate with elevated caspofungin MICs uncovered in AM3 medium using the method of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(9), pp. 3092–3098. https://doi.org/10.1128/AAC.00088-08.

Di Bonaventura, G., Spedicato, I., Picciani, C., DAntonio, D., Piccolomini, R. (2004) *In vitro* pharmacodynamic characteristics of amphotericin B, caspofungin, fluconazole, and voriconazole against bloodstream isolates of infrequent *Candida* species from patients with hematologic malignancies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(11), pp. 4453–4456. https://doi.org/10.1128/AAC.48.11.4453-4456.2004.

Dóczi, I., Dósa, E., Hajdú, E., Nagy, E. (2002) Aetiology and antifungal susceptibility of yeast bloodstream infections in a Hungarian university hospital between 1996 and 2000.

Journal of Medical Microbiology, 51(8), pp. 677–681. https://doi.org/10.1099/0022-1317-51-8-677

Doman, M., Kovacs, R., Kardos, G., Gesztelyi, R., Juhász, B., Bozó, A., *et al.* (2016) Killing rates of caspofungin in 50 percent serum correlate with caspofungin efficacy against *Candida albicans* in a neutropenic murine model. *Current Drug Delivery*, 13(2), pp. 255–264. https://doi.org/10.2174/1567201812666150623091336

Dudiuk, C., Berrio, I., Leonardelli, F., Morales-Lopez, S., Theill, L., Macedo, D., *et al*. (2019) Antifungal activity and killing kinetics of anidulafungin, caspofungin and amphotericin B against *Candida auris*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(9), pp. 2295–2302. https://doi.org/10.1093/jac/dkz178

Dufresne, S.F., Marr, K.A., Sydnor, E., Staab, J.F., Karp, J.E., Lu, K., *et al*. (2014) Epidemiology of *Candida kefyr* in patients with hematologic malignancies. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(6), pp. 1830–1837. https://doi.org/10.1128/jcm.00131-14

Emri, T., Majoros, L., Tóth, V., Pócsi, I. (2013) Echinocandins: production and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, pp. 3267–3284. https://doi.org/10.1007/s00253-013-4761-9

Ernst, E.J., Klepser, M.E., Pfaller, M.A. (2000) Postantifungal effects of echinocandin, azole, and polyene antifungal agents against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, pp. 1108–1111. https://doi.org/10.1128/aac.44.4.1108-1111.2000

Ernst, E.J., Roling, E.E., Petzold, C.R., Keele, D.J., Klepser, M.E. (2002) *In vitro* activity of micafungin (FK-463) against *Candida* spp.: microdilution, time-kill, and postantifungal-effect studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, pp. 3846–3853. https://doi.org/10.1128/aac.46.12.3846-3853.2002

Escandón, P., Chow, N.A., Caceres, D.H., Gade, L., Berkow, E.L., Armstrong, P., *et al*. (2019) Molecular epidemiology of *Candida auris* in Colombia reveals a highly related, countrywide colonization with regional patterns in amphotericin B resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 68(1), pp. 15–21. https://doi.org/10.1093/cid/ciy411

Espinel-Ingroff, A. (1998) Comparison of *in vitro* activities of the new triazole SCH56592 and the echinocandins MK-0991 (L-743872) and LY-303366 against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*, 36, pp. 2950–2956. https://doi.org/10.1128/jcm.36.10.2950-2956.1998

Espinel-Ingroff, A., Arendrup, M.C., Pfaller, M.A., Bonfietti, L.X., Bustamante, B., Cantón, E., *et al*. (2013) Interlaboratory variability of caspofungin MICs for *Candida* spp. using CLSI and EUCAST methods: should the clinical laboratory be testing this agent? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57, pp. 5836–5842. https://doi.org/10.1128/aac.01519-13

Espinel-Ingroff, A., Pfaller, M.A., Bustamante, B., Cantón, E., Fothergill, A., Fuller, J., *et al*. (2014) Multilaboratory study of epidemiological cutoff values for detection of resistance in eight *Candida* species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58, pp. 2006–2012. https://doi.org/10.1128/aac.02615-13

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents, version 11.0, 2024. http://www.eucast.org/astoffungi/clinicalbreakpointsforantifungals/.

Fakhim, H., Vaezi, A., Dannaoui, E., Chowdhary, A., Nasiry, D., Faeli, L., *et al*. (2018) Comparative virulence of *Candida auris* with *Candida haemulonii*, *Candida glabrata* and *Candida albicans* in a murine model. *Mycoses*, 61, pp. 377–382. https://doi.org/10.1111/myc.12754

Farmakiotis, D., Tarrand, J.J. and Kontoyiannis, D.P. (2014) Drug-resistant *Candida glabrata* infection in cancer patients. *Emerging Infectious Diseases*, 20, pp. 1833–1840. https://doi.org/10.3201/eid2011.140685

Farowski, F., Cornely, O.A., Vehreschild, J.J., Hartmann, P., Bauer, T., Steinbach, A. *et al*. (2010) Intracellular concentrations of posaconazole in different compartments of peripheral blood. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, pp. 2928–2931. https://doi.org/10.1128/aac.01407-09

Fekkar, A., Meyer, I., Brossas, J.Y., Dannaoui, E., Palous, M., Uzunov, M. *et al*. (2013) Rapid emergence of echinocandin resistance during *Candida kefyr* fungemia treatment with caspofungin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57, pp. 2380–2382. https://doi.org/10.1128/AAC.02037-12

Felton, T., Troke, P.F. and Hope, W.W. (2014) Tissue penetration of antifungal agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 27, 68–88. https://doi.org/10.1128/cmr.00046-13

Ferreira, D., Grenouillet, F., Blasco, G., Samain, E., Hénon, T., Dussaucy, A., *et al*. (2015) Outcomes associated with routine systemic antifungal therapy in critically ill patients with Candida colonization. *Intensive Care Medicine*, 41, pp. 1077–1088. https://doi.org/10.1007/s00134-015-3791-4

Fernández-Silva, F., Lackner, M., Capilla, J., Mayayo, E., Sutton, D. Castanheira, M., *et al.* (2014*) In vitro* antifungal susceptibility of *Candida glabrata* to caspofungin and the presence of FKS mutations correlate with treatment response in an immunocompromised murine model of invasive infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58, pp. 3646–3649. https://doi.org/10.1128/aac.02666-13

Fernández-Ruiz, M., Aguado, J.M., Almirante, B., Lora-Pablos, D., Padilla, B., Puig-Asensio, M., *et al.* (2014) Initial use of echinocandins does not negatively influence outcome in *Candida parapsilosis* bloodstream infection: a propensity score analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 58, pp. 1413–1421. https://doi.org/10.1093/cid/ciu158

Flattery, A.M., Hickey, E., Gill, C.J., Powles, M.A., Misura, A.S., Galgoci, A.M., *et al*. (2011) Efficacy of caspofungin in a juvenile mouse model of central nervous system candidiasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 3491–3497. https://doi.org/10.1128/aac.01328-10

Fleischhacker, M., Radecke, C., Schulz, B., Ruhnke, M. (2008) Paradoxical growth effects of the echinocandins caspofungin and micafungin, but not of anidulafungin, on clinical isolates of *Candida albicans* and *C. dubliniensis*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27, pp. 127–131. https://doi.org/10.1007/s10096-007-0411-4

Fothergill, A.W., McCarthy, D.I., Albataineh, M.T., Sanders, C., McElmeel, M., Wiederhold, N.P. (2016) Effects of treated versus untreated polystyrene on caspofungin *in vitro* activity against *Candida* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 54, pp. 734–738. https://doi.org/10.1128/jcm.02659-15

Gago, S., García-Rodas, R., Cuesta, I., Mellado, E., Alastruey-Izquierdo, A. (2014) *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* virulence in the

non-conventional host *Galleria mellonella*. *Virulence*, 5, pp. 278–285. https://doi.org/10.4161/viru.26973

Gamaletsou, M.N., Daikos, G.L., Walsh, T.J., Perlin, D.S., Ortigosa, C.J., Psaroulaki, A. *et al*. (2014) Breakthrough candidaemia caused by phenotypically susceptible *Candida* spp. in patients with haematological malignancies does not correlate with established interpretive breakpoints. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44, pp. 248–255. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.05.015

Garcia-Effron, G., Katiyar, S.K., Park, S., Edlind, T.D., Perlin, D.S. (2008) A naturally occurring proline-to-alanine amino acid change in Fks1p in *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* accounts for reduced echinocandin susceptibility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, pp. 2305–2312. https://doi.org/10.1128/aac.00262-08

Garcia-Effron, G., Park, S. and Perlin, D.S. (2011) Improved detection of *Candida* sp. *fks* hot spot mutants by using the method of the CLSI M27-A3 document with the addition of bovine serum albumin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 2245–2255. https://doi.org/10.1128/aac.01350-10

García-de-Lorenzo, A., Luque, S., Grau, S., Agrifoglio, A., Cachafeiro, L., Herrero, E. *et al.* (2016) Comparative population plasma and tissue pharmacokinetics of micafungin in critically ill patients with severe burn injuries and patients with complicated intra-abdominal infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, pp. 5914–5921. https://doi.org/10.1128/aac.00727-16

Gácser, A., Schäfer, W., Nosanchuk, J.S., Salomon, S., Nosanchuk, J.D. (2007) Virulence of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* in reconstituted human tissue models. *Fungal Genetics and Biology*, 44, pp. 1336–1341. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2007.02.002

Gómez-López, A., Alastruey-Izquierdo, A., Rodríguez, D., Almirante, B., Pahissa, A., Rodríguez-Tudela, J.L. *et al*. (2008) Prevalence and susceptibility profile of *Candida metapsilosis* and *Candida orthopsilosis*: results from population-based surveillance of candidemia in Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, pp. 1506–1509. https://doi.org/10.1128/aac.01595-07

Gonzalez, D., Schmidt, S. and Derendorf, H. (2013) Importance of relating efficacy measures to unbound drug concentrations for anti-infective agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 26, pp. 274–288. https://doi.org/10.1128/CMR.00092-12

Grau, S., Luque, S., Campillo, N., Rodríguez, U., García-Bernedo, C.A., Salas, E. *et al.* (2015) Plasma and peritoneal fluid population pharmacokinetics of micafungin in post-surgical patients with severe peritonitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70, pp. 2854–2861. https://doi.org/10.1093/jac/dkv173

Gudlaugsson, O., Gillespie, S., Lee, K., Vande Berg, J., Hu, J., Messer, S., *et al*. (2003) Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clinical Infectious Diseases*, 37, pp. 1172–1177. https://doi.org/10.1086/378745

Gumbo, T. (2007) Impact of pharmacodynamics and pharmacokinetics on echinocandin dosing strategies. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 20, pp. 587–591. https://doi.org/10.1097/qco.0b013e3282f1bea3

Hamill, R.J. (2013) Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. *Drugs*, 73(9), pp. 919–934. https://doi.org/10.1007/s40265-013-0069-4

Herrada, J., Gamal, A., Long, L., Sanchez, S. P., McCormick, T. S., Ghannoum, M. A. (2021) *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of Ambisome compared to conventional amphotericin B and fluconazole against *Candida auris*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65, pp. e00306-21. https://doi.org/10.1128/aac.00306-21

Heimann, S.M., Cornely, O.A., Wisplinghoff, H., Kochanek, M., Stippel, D., Padosch, S.A., *et al.* (2015) Candidemia in the intensive care unit: analysis of direct treatment costs and clinical outcome in patients treated with echinocandins or fluconazole. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 34, pp. 331–338. https://doi.org/10.1007/s10096-014-2230-8

Hope, W.W. and Drusano, G.L. (2009) Antifungal pharmacokinetics and pharmacodynamics: bridging from the bench to bedside. *Clinical Microbiology and Infection*, 15, pp. 602–612. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02913.x

Hopster, D. J., Milroy, C. M., Burns, J., Roberts, N. B. (1996) Necropsy study of the association between sudden cardiac death, cardiac isoenzymes and contraction band necrosis. *Journal of Clinical Pathology*, 49, pp. 403–406. https://doi.org/10.1136/jcp.49.5.403

Howard, S.J., Livermore, J., Sharp, A., Goodwin, J., Gregson, L., Alastruey-Izquierdo, A. *et al*. (2011) Pharmacodynamics of echinocandins against *Candida glabrata*: requirement for dosage escalation to achieve maximal antifungal activity in neutropenic hosts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 4880–4887. https://doi.org/10.1128/AAC.00621-11

Ishikawa, J., Maeda, T., Matsumura, I., Yasumi, M., Ujiie, H., Masaie, H. *et al.* (2009) Antifungal activity of micafungin in serum. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, pp. 4559–4562. https://doi.org/10.1128/aac.01404-08

James, K.D., Laudeman, C.P., Malkar, N.B., Krishnan, R., Polowy, K. (2017) Structure–activity relationships of a series of echinocandins and the discovery of CD101, a highly stable and soluble echinocandin with distinctive pharmacokinetic properties. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e01541-16. https://doi.org/10.1128/aac.01541-16

Kang, J., Sickbert-Bennett, E.E., Brown, V.M., Weber, D.J., Rutala, W.A. (2014) Changes in the incidence of health care-associated pathogens at a university hospital from 2005 to 2011. *American Journal of Infection Control*, 42, pp. 770–775. https://doi.org/10.1016/j.ajic.2014.03.019

Kardos, T., Kovacs, R., Kardos, G., Varga, I., Bozo, A., Toth, Z., *et al.* (2018) Poor in vivo efficacy of caspofungin, micafungin and amphotericin B against wild-type *Candida krusei* clinical isolates does not correlate with *in vitro* susceptibility results. *Journal of Chemotherapy*, 30(4), pp. 233–239. https://doi.org/10.1080/1120009x.2018.1487150

Khan, T., Faysal, N.I., Hossain, M.M., Mah-E-Muneer, S., Haider, A., Moon, S.B., Sen, D. *et al.* (2024) Emergence of the novel sixth *Candida auris* Clade VI in Bangladesh. *Microbiology Spectrum*, 12(7), e0354023. https://doi.org/10.1128/spectrum.03540-23

Khatamzas, E., Madder, H. and Jeffery, K. (2019) Neurosurgical device-associated infections due to *Candida auris* – Three cases from a single tertiary center, *Journal of Infection*, 78, pp. 409–421. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2019.02.004

Kett, D.H., Azoulay, E., Echeverria, P.M., Vincent, J.L., the Extended Prevalence of Infection in ICU Study (EPIC II) Group of Investigators (2011) *Candida* bloodstream

infections in intensive care units: analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study. *Critical Care Medicine*, 39, pp. 665–670. https://doi.org/10.1097/ccm.0b013e318206c1ca

Kiraz, N., Dag, I., Yamac, M., Kiremitci, A., Kasifoglu, N., Oz, Y. (2010) Synergistic activities of three triazoles with caspofungin against *Candida glabrata* isolates determined by time-kill, Etest, and disk diffusion methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, pp. 2244–2247. https://doi.org/10.1128/aac.01527-09

Klepser, M.E., Ernst, E.J., Lewis, R.E., Ernst, M.E., Pfaller, M.A. (1998) Influence of test conditions on antifungal time kill-curve results: proposal for standardized methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42, pp. 1207–1212. https://doi.org/10.1128/aac.42.5.1207

Kollef, M., Micek, S., Hampton, N., Doherty, J.A., Kumar, A. (2012) Septic shock attributed to *Candida* infection: importance of empiric therapy and source control. *Clinical Infectious Diseases*, 54, pp. 1739–1746. https://doi.org/10.1093/cid/cis305

Kontoyiannis, D.P., Luna, M.A., Samuels, B.I., Bodey, G.P. (2000) Hepatosplenic candidiasis: a manifestation of chronic disseminated candidiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 14, pp. 721–739. https://doi.org/10.1016/s0891-5520(05)70128-8

Kordalewska, M., Lee, A., Park, S., Berrio, I., Chowdhary, A., Zhao, Y. *et al.* (2018) Understanding echinocandin resistance in the emerging pathogen *Candida auris*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62, e00238-18. https://doi.org/10.1128/AAC.00238-18

Kovács, F., Balla, N., Bozó, A., Harmath, A., Jakab, Á., Tóth, Z. *et al.* (2024) Epidemiology, clinical characteristics, outcome and biofilm forming properties in candidaemia: a single-centre retrospective 4-year analysis from Hungary. *Mycoses*, 67(4), e13727. https://doi.org/10.1111/myc.13727

Kovács, R., Tóth, Z., Locke, J.B., Forgács, L., Kardos, G. and Nagy, F. *et al.* (2021) Comparison of in vitro killing activity of rezafungin, anidulafungin, caspofungin, and micafungin against four *Candida auris* clades in RPMI-1640 in the absence and presence of human serum. *Microorganisms*, 9(4), p. 863. https://doi.org/10.3390/microorganisms9040863

Lara-Aguilar, V., Rueda, C., García-Barbazán, I., Varona, S., Monzón, S., Jiménez, P., *et al.* (2021) Adaptation of the emerging pathogenic yeast *Candida auris* to high caspofungin concentrations correlates with cell wall changes. *Virulence*, 12(1), pp. 1400–1417. https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1927609

Larwood, D.J. (2020) Nikkomycin Z – ready to meet the promise?. *Journal of Fungi*, 6(4), p. 261. https://doi.org/10.3390/jof6040261

Lass-Flörl, C. (2011) Triazole antifungal agents in invasive fungal infections: a comparative review. *Drugs*, 71, pp. 2405–2419. https://doi.org/10.2165/11596540-000000000-00000

Lepak, A.J. and Andes, D.R. (2014) Antifungal pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5, a019653. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019653

Lepak, A.J., Zhao, M., Berkow, E.L., Lockhart, S.R., Andes, D.R. (2017) Pharmacodynamic optimization for treatment of invasive *Candida auris* infection.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 61, e00791-17. https://doi.org/10.1128/aac.00791-17

Lewis, R.E. and Wiederhold, N.P. (2003) The solubility ceiling: a rationale for continuous infusion amphotericin B therapy?. *Clinical Infectious Diseases*, 37, pp. 871–872. https://doi.org/10.1086/377279

Liu, X., Liu, D., Pan, Y., Li, Y. (2020) Pharmacokinetic/pharmacodynamics variability of echinocandins in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis, *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 45, pp. 1207–1217. https://doi.org/10.1111/jcpt.13211

Lockhart, S.R., Abramson, M.A., Beekmann, S.E., Gallagher, G., Riedel, S., Diekema, D.J. *et al.* (2007) Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the United States between 1993 and 2004. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, pp. 3352–3359. https://doi.org/10.1128/jcm.01284-07

Lockhart, S.R., Messer, S.A., Pfaller, M.A., Diekema, D.J. (2008) Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*, in comparison to the closely-related species *Candida parapsilosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, pp. 2659–2664. https://doi.org/10.1128/jcm.00803-08

Lockhart, S.R., Etienne, K.A., Vallabhaneni, S., Farooqi, J., Chowdhary, A., Govender, N.P. *et al.* (2017) Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. *Clinical Infectious Diseases*, 64(2), pp. 134–140. https://doi.org/10.1093/cid/ciw691

Lortholary, O., Desnos-Ollivier, M., Sitbon, K., Fontanet, A., Bretagne, S., Dromer, F. *et al.* (2011) Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 532–538. https://doi.org/10.1128/aac.01128-10

Lortholary, O., Renaudat, C., Sitbon, K., Madec, Y., Denoeud-Ndam, L., Wolff, M. *et al.* (2014) Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002-2010). *Intensive Care Medicine*, 40, pp. 1303–1312. https://doi.org/10.1007/s00134-014-3408-3

Louie, A., Banerjee, P., Drusano, G.L., Shayegani, M., Miller, M.H. (1999) Interaction between fluconazole and amphotericin B in mice with systemic infection due to fluconazole-susceptible or -resistant strains of *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43, pp. 2841–2847. https://doi.org/10.1128/AAC.43.12.2841

Louie, A., Deziel, M., Liu, W., Drusano, M.F., Gumbo, T., Drusano, G.L. (2005) Pharmacodynamics of caspofungin in a murine model of systemic candidiasis: importance of persistence of caspofungin in tissues to understanding drug activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49, pp. 5058–5068. https://doi.org/10.1128/aac.49.12.5058-5068.2005

Maertens, J., Cornely, O.A., Ullmann, A.J., Heinz, W.J., Krishna, G., Patino, H. *et al.* (2014) Phase 1B study of the pharmacokinetics and safety of posaconazole intravenous solution in patients at risk for invasive fungal disease, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58, pp. 3610–3617. https://doi.org/10.1128/aac.02686-13

Majoros, L., Kardos, G., Pócsi, I., Szabó, B. (2002) Distribution and susceptibility of *Candida* species isolated in the Medical University of Debrecen. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 49, pp. 351–361. https://doi.org/10.1556/amicr.49.2002.2-3.25

Majoros, L., Kardos, G., Szabó, B., Sipiczki, M. (2005) Caspofungin susceptibility testing of *Candida inconspicua*: correlation of different methods with the minimal fungicid concentration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49, pp. 3486–3488. https://doi.org/10.1128/AAC.49.8.3486-3488.2005

Majoros, L., Szegedi, I., Kardos, G., Erdesz, C., Konya, J., Kiss, C. (2006) Slow response of invasive *Candida krusei* infection to amphotericin B in a clinical time-kill study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25, pp. 803–806. https://doi.org/10.1007/s10096-006-0200-5

Majoros, L. and Kardos, G. (2008) Fungicidal activity of azole antifungal agents. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 7, pp. 118–125. http://doi.org/10.2174/187152108783954623

Marcos-Zambrano, L.J., Escribano, P., Sánchez-Carrillo, C., Gómez, A., Pemán, J., Gobernado, M., *et al.* (2017) Frequency of the paradoxical effect measured using the EUCAST procedure with micafungin, anidulafungin, and caspofungin against *Candida* species isolates causing candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e01584-16. http://doi.org/10.1128/AAC.01584-16

Mariné, M., Pastor, F.J., Serena, C.., Guarro, J. (2009) Efficacy of triazoles in a murine disseminated infection by *Candida krusei*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, pp. 3585–3588. https://doi.org/10.1128/aac.00293-09

Mariné, M., Pastor, F.J. and Guarro, J. (2010) Efficacy of posaconazole in a murine disseminated infection by *Candida tropicalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, pp. 530–532. https://doi.org/10.1128/aac.01136-09

Martin, G.S., Mannino, D.M., Eaton, S., Moss, M. (2003) The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New England Journal of Medicine*, 348, pp. 1546–1554. https://doi.org/10.1056/nejmoa022139

Maseda, E., Martín-Loeches, I., Zaragoza, R., Garnacho-Montero, J., Aguilar, G., Díaz, E. *et al.* (2023) Critical appraisal beyond clinical guidelines for intraabdominal candidiasis. *Critical Care*, 27, Article 382. https://doi.org/10.1186/s13054-023-04673-6

Mayer, F.L., Wilson, D. and Hube, B. (2013) *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4, pp. 119–128. https://doi.org/10.4161/viru.22913

Mazi, P.B., Olsen, M.A., Stwalley, D., Rauseo, A.M., Ayres, C. and Powderly, W.G. *et al.* (2022) Attributable mortality of *Candida* bloodstream infections in the modern era: A propensity score analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 75(6), pp. 1031–1036. https://doi.org/10.1093/cid/ciac004

McKeage, K. (2015) Posaconazole: a review of the gastro-resistant tablet and intravenous solution in invasive fungal infections. *Drugs*, 75, pp. 397–406. https://doi.org/10.1007/s40265-015-0348-3

Migoya, E.M., Mistry, G.C., Stone, J.A., Comisar, W., Sun, P., Norcross, A. *et al.* (2011) Safety and pharmacokinetics of higher doses of caspofungin in healthy adult participants. *Journal of Clinical Pharmacology*, 51, pp. 202–211. https://doi.org/10.1177/0091270010374853

Mirhendi, H., Charsizadeh, A., Aboutalebian, S., Mohammadpour, M., Nikmanesh, B., de Groot, T. *et al.* (2022) South Asian (Clade I) *Candida auris* meningitis in a paediatric patient in Iran with a review of the literature. *Mycoses*, 65, pp. 134–139. https://doi.org/10.1111/myc.13396

Mora-Duarte, J., Betts, R., Rotstein, C., Colombo, A.L., Thompson-Moya, L., Smietana, J. *et al.* (2002) Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine*, 347, pp. 2020–2029. https://doi.org/10.1056/nejmoa021585

Moran, G.P., Coleman, D.C. and Sullivan, D.J. (2012) *Candida albicans* versus *Candida dubliniensis*: Why is *C. albicans* more pathogenic? *International Journal of Microbiology*, 2012, Article ID 205921. https://doi.org/10.1155/2012/205921

Moriyama, B., Ditullio, M., Wilson, E., Henning, S.A., Penzak, S.R., Danner, R.L. *et al.* (2011) Pharmacokinetics of anidulafungin in pleural fluid during the treatment of a patient with *Candida* empyema. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 2478–2480. https://doi.org/10.1128/AAC.01560-10

Murciano, C., Moyes, D.L., Runglall, M., Tobouti, P., Islam, A., Hoyer, L.L., *et al.* (2012) Evaluation of the role of *Candida albicans* agglutinin-like sequence (Als) proteins in human oral epithelial cell interactions. *PLoS One*, 7, e33362. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033362

Nagappan, V. and Deresinski, S. (2007) Reviews of anti-infective agents: posaconazole: a broad-spectrum triazole antifungal agent. *Clinical Infectious Diseases*, 45, pp. 1610–1617. https://doi.org/10.1086/523576

Nasar, A., Ryan, L., Frei, C.R., Cota, J.M., Wiederhold, N.P. (2013) Influence of serum and albumin on echinocandin *in vitro* potency and pharmacodynamics. *Current Fungal Infection Reports*, 7, pp. 89–95. https://doi.org/10.1007/s12281-013-0136-z

National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002) *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard M27-A2*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Navarro-Arias, M.J., Hernández-Chávez, M.J., García-Carnero, L.C., Amezcua-Hernández, D.G., Lozoya-Pérez, N.E., Estrada-Mata, E. *et al.* (2019) Differential recognition of *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, and *Candida auris* by human innate immune cells. *Infection and Drug Resistance*, 12, pp. 783–794. https://doi.org/10.2147/idr.s197531

Németh, T., Tóth, A., Szenzenstein, J., Horváth, P., Nosanchuk, J.D., Grózer, Z. *et al.* (2013) Characterization of virulence properties in the *Candida parapsilosis* sensu lato species. *PLoS One*, 8, e68704. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068704

Nguyen, K.T., Ta, P., Hoang, B.T., Cheng, S., Hao, B., Nguyen, M.H., *et al.* (2009) Anidulafungin is fungicidal and exerts a variety of postantifungal effects against *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, and *C. krusei* isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, pp. 3347–3352. https://doi.org/10.1128/aac.01480-08

Nguyen, K.T., Ta, P., Hoang, B.T., Cheng, S., Hao, B., Nguyen, M.H., *et al.* (2010) Characterising the post-antifungal effects of micafungin against *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida krusei* isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35, pp. 80–84. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.09.003

Nigo, M., Vial, M.R., Munita, J.M., Jiang, Y., Tarrand, J., Jimenez, C.A., *et al.* (2016) Fungal empyema thoracis in cancer patients. *Journal of Infection*, 72, pp. 615–621. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.02.014

Nix, D.E., Swezey, R.R., Hector, R., Galgiani, J.N. (2009) Pharmacokinetics of nikkomycin Z after single rising oral doses. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, pp. 2517–2521. https://doi.org/10.1128/aac.01609-08

Nobile, C.J., Schneider, H.A., Nett, J.E., Sheppard, D.C., Filler, S.G., Andes, D.R. *et al.* (2008) Complementary adhesin function in *Candida albicans* biofilm formation. *Current Biology*, 18, pp. 1017–1024. https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.034

Novy, E., Roger, C., Roberts, J.A., Cotta, M.O., (2023) Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations for antifungal therapy optimisation in the treatment of intra-abdominal candidiasis, *Critical Care*, 27(1), p. 449. https://doi.org/10.1186/s13054-023-04742-w

Odabasi, Z., Paetznick, V., Rex, J.H., Ostrosky-Zeichner, L. (2007) Effects of serum on *in vitro* susceptibility testing of echinocandins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, pp. 4214–4216. https://doi.org/10.1128/AAC.01589-06

Oh, S.H., Smith, B., Miller, A.N., Staker, B., Fields, C., Hernandez, A., *et al.* (2019) Agglutinin-Like Sequence (ALS) Genes in the *Candida parapsilosis* Species Complex: Blurring the Boundaries Between Gene Families That Encode Cell-Wall Proteins. *Frontiers in Microbiology*, 10: 781. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00781.

Orsi, C.F., Colombari, B. and Blasi, E. (2010) *Candida metapsilosis* as the least virulent member of the *C. parapsilosis* complex. *Medical Mycology*, 48, pp. 1024–1033. https://doi.org/10.3109/13693786.2010.489233

Ostrosky-Zeichner, L., Rex, J.H., Pappas, P.G., Hamill, R.J., Larsen, R.A., Horowitz, H.W., *et al.* (2003) Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47, pp. 3149–3154. https://doi.org/10.1128/aac.47.10.3149-3154.2003

Paderu, P., Garcia-Effron, G., Balashov, S., Delmas, G., Park, S., Perlin, D.S. (2007) Serum differentially alters the antifungal properties of echinocandin drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, pp. 2253–2256. https://doi.org/10.1128/AAC.01536-06

Pappas, P.G., Rotstein, C.M., Betts, R.F., Nucci, M., Talwar, D., De Waele, J.J., *et al.* (2007) Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. *Clinical Infectious Diseases*, 45, pp. 883–893. https://doi.org/10.1086/520980

Pappas, P.G., Kauffman, C.A., Andes, D., Benjamin, D.K. Jr, Calandra, T.F., Edwards, J.E. Jr, *et al.* (2009) Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 48, pp. 503–535. https://doi.org/10.1086/596757

Pappas, P.G., Kauffman, C.A., Andes, D.R., Clancy, C.J., Marr, K.A., Ostrosky-Zeichner, L., *et al.* (2016) Executive summary: Clinical Practice Guideline for the management of candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 62, pp. 409–417. https://doi.org/10.1093/cid/civ933

Parkes, L.O., Cheng, M.P. and Sheppard, D.C. (2015) Visual hallucinations associated with high serum posaconazole concentrations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, pp. 1170–1171. https://doi.org/10.1128/aac.02739-15

Parra-Ortega, B., Cruz-Torres, H., Villa-Tanaca, L., Hernández-Rodríguez, C. (2009) Phylogeny and evolution of the aspartyl protease family from clinically relevant *Candida* species. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, pp. 505–512. https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000300018

Pemán, J., Cantón, E., Quindós, G., Eraso, E., Alcoba, J., Guinea, J., *et al.* (2012) Epidemiology, species distribution and *in vitro* antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67, pp. 1181–1187. https://doi.org/10.1093/jac/dks019

Perlin, D.S. (2014) Echinocandin resistance, susceptibility testing and prophylaxis: implications for patient management. *Drugs*, 74, pp. 1573–1585. https://doi.org/10.1007/s40265-014-0286-5

Pezzotti, G., Kobara, M., Asai, T., Nakaya, T., Miyamoto, N. and Adachi, T., *et al.* (2021) Raman imaging of pathogenic *Candida auris*: visualization of structural characteristics and machine-learning identification, *Frontiers in Microbiology*, 12:769597. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.769597.

Pfaller, M.A., Messer, S.A., Hollis, R.J. and Jones, R.N. (2001a) In vitro activities of posaconazole (SCH 56592) compared with those of itraconazole and FLZ against 3,685 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, pp. 2862–2864. https://doi.org/10.1128/AAC.45.10.2862-2864.2001

Pfaller, M.A., Messer, S.A., Mills, K., Bolmström, A. and Jones, R.N. (2001b) Evaluation of Etest method for determining posaconazole MICs for 314 clinical isolates of *Candida* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, pp. 3952–3954. https://doi.org/10.1128/JCM.39.11.3952-3954.2001

Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Messer, S.A., Boyken, L., Hollis, R.J., Jones, R.N., *et al.* (2003a) *In vitro* activities of voriconazole, posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against Candida species infrequently isolated from blood. *Journal of Clinical Microbiology*, 41, pp. 78–83. https://doi.org/10.1128/jcm.41.1.78-83.2003

Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Boyken, L., Messer, S.A., Tendolkar, S., Hollis, R.J. (2003b) Evaluation of the Etest and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole and voriconazole, *Journal of Clinical Microbiology*, 41, pp. 1875–1880. https://doi.org/10.1128/JCM.41.5.1875-1880.2003

Pfaller, M.A., Boyken, L., Messer, S.A., Tendolkar, S., Hollis, R.J., Diekema, D.J. (2004) Evaluation of the Etest method using Mueller-Hinton agar with glucose and methylene blue for determining amphotericin B MICs for 4,936 clinical isolates of *Candida* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, pp. 4977–4979. https://doi.org/10.1128/jcm.42.11.4977-4979.2004

Pfaller, M.A. and Diekema, D.J. (2007) Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20, pp. 133–163. https://doi.org/10.1128/cmr.00029-06

Pfaller, M.A., Andes, D., Diekema, D.J., Espinel-Ingroff, A., Sheehan, D., the CLSI Subcommittee for Antifungal Susceptibility Testing. (2010) Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole

and *Candida*: time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. *Drug Resistance Updates*, 13, pp. 180–195. https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.09.002

Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Andes, D., Arendrup, M.C., Brown, S.D., Lockhart, S.R. *et al.* (2011a) Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: Integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria, *Drug Resistance Updates*, 14, pp. 164–176. https://doi.org/10.1016/j.drup.2011.01.004

Pfaller, M.A., Castanheira, M., Diekema, D.J., Messer, S.A., Jones, R.N. (2011b) Triazole and echinocandin MIC distributions with epidemiological cutoff values for differentiation of wild-type strains from non-wild-type strains of six uncommon species of *Candida*. *Journal of Clinical Microbiology*, 49, pp. 3800–3804. https://doi.org/10.1128/jcm.05047-11

Pfaller, M.A., Andes, D., Arendrup, M.C., Diekema, D.J., Espinel-Ingroff, A., Alexander, B.D., *et al.* (2011c) Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* species revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 70, pp. 330–343. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.03.002

Pfaller, M.A., Espinel-Ingroff, A., Canton, E., Castanheira, M., Cuenca-Estrella, M., Diekema, D.J., *et al.* (2012a) Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin B, flucytosine, and itraconazole and *Candida* spp. as determined by CLSI broth microdilution. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, pp. 2040–2046. https://doi.org/10.1128/jcm.00248-12

Pfaller, M.A., Neofytos, D., Diekema, D., Azie, N., Meier-Kriesche, H.U., Quan, S.P., *et al.* (2012b) Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004–2008. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 74, pp. 323–331. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.10.003

Pfaller, M.A., Castanheira, M., Messer, S.A., Rhomberg, P.R., Jones, R.N. (2014) Comparison of EUCAST and CLSI broth microdilution methods for the susceptibility testing of 10 systemically active antifungal agents when tested against *Candida* spp.. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 79, pp. 198–204. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.03.004

Pfaller, M.A., Messer, S.A., Rhomberg, P.R., Castanheira, M. (2017a) Activity of long-acting echinocandin (CD101) and seven comparator antifungal agents tested against a global collection of contemporary invasive fungal isolates in the SENTRY 2014 Antifungal Surveillance Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61, e02045-16. https://doi.org/10.1128/AAC.02045-16

Pfaller, M.A., Messer, S.A., Rhomberg, P.R., Castanheira, M. (2017b) CD101, a long-acting echinocandin, and comparator antifungal agents tested against a global collection of invasive fungal isolates in the SENTRY 2015 Antifungal Surveillance Program. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 50, pp. 352–358. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.03.028

Pfeiffer, C.D., Garcia-Effron, G., Zaas, A.K., Perfect, J.R., Perlin, D.S., Alexander, B.D. (2010) Breakthrough invasive candidiasis on micafungin. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, pp. 2373–2380. https://doi.org/10.1128/JCM.02390-09

Poncelet, A., Ruelle, L., Konopnicki, D., Miendje Deyi, V.Y., Dauby, N. (2021) *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: Risk factors, outcome and links with *S. boulardii*-containing probiotic administration. *Infectious Diseases Now*, 51(3), pp. 293–295. https://doi.org/10.1016/j.idnow.2020.12.003

Prayag, P.S., Patwardhan, S., Panchakshari, S., Rajhans, P.A., Prayag, A. (2022) The dominance of *Candida auris*: A single-center experience of 79 episodes of candidemia from Western India. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 26(5), pp. 560–563. https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-24152

Reboli, A.C., Rotstein, C., Pappas, P.G., Chapman, S.W., Kett, D.H., Kumar, D., *et al.* (2007) Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine*, 356, pp. 2472–2482. https://doi.org/10.1056/nejmoa066906

Rezzayo FDA Approval History. (n.d.) *Drugs.com*. Available at: https://www.drugs.com/history/rezzayo.html (Accessed: 1 June 2025)

Rodríguez-Tudela, J.L., Almirante, B., Rodríguez-Pardo, D., Laguna, F., Donnelly, J.P., Mouton, J.W. *et al.* (2007) Correlation of the MIC and dose/MIC ratio of fluconazole to the therapeutic response of patients with mucosal candidiasis and candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, pp. 3599–3604. https://doi.org/10.1128/aac.00296-07

Rubino, C.M. and Flanagan, S. (2021) Population pharmacokinetics of rezafungin in patients with fungal infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(11), e0084221. https://doi.org/10.1128/aac.00842-21

Rueda, C., Cuenca-Estrella, M. and Zaragoza, O. (2014) Paradoxical growth of *Candida albicans* in the presence of caspofungin is associated with multiple cell wall rearrangements and decreased virulence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58, pp. 1071–1083. https://doi.org/10.1128/AAC.00946-13

Rueda, C., Puig-Asensio, M., Guinea, J., Almirante, B., Cuenca-Estrella, M., Zaragoza, O. *et al.* (2017) Evaluation of the possible influence of trailing and paradoxical effects on the clinical outcome of patients with candidemia. *Clinical Microbiology and Infection*, 23(1), pp. 49.e1–49.e8. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.09.016

Ruiz-Gaitán, A., Moret, A. M., Tasias-Pitarch, M., Aleixandre-López, A. I., Martínez-Morel, H., Calabuig, E. *et al.* (2018) An outbreak due to *Candida auris* with prolonged colonisation and candidaemia in a tertiary care European hospital. *Mycoses*, 61, pp. 498–505. https://doi.org/10.1111/myc.12781

Sabatelli, F., Patel, R., Mann, P. A., Mendrick, C. A., Norris, C. C., Hare, R. *et al.* (2006) *In vitro* activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole and amphotericin B against a large collection of clinically important moulds and yeasts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50, pp. 2009–2015. https://doi.org/10.1128/aac.00163-06

Sanchis, M., Guarro, J., Sutton, D. A., Fothergill, A. W., Wiederhold, N., Capilla, J. (2016) Voriconazole and posaconazole therapy for experimental *Candida lusitaniae* infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 84, pp. 48–51. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.09.010

Sandhu, P., Xu, X., Bondiskey, P. J., Balani, S. K., Morris, M. L., Tang, Y. S. *et al.* (2004) Disposition of caspofungin, a novel antifungal agent, in mice, rats, rabbits, and

monkeys. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, pp. 1272–1280. https://doi.org/10.1128/AAC.48.4.1272-1280.2004

Sandovsky-Losica, H., Shwartzman, R., Lahat, Y., Segal, E. (2008) Antifungal activity against *Candida albicans* of nikkomycin Z in combination with caspofungin, voriconazole or amphotericin B. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62, pp. 635–637. https://doi.org/10.1093/jac/dkn216

Satoh, K., Makimura, K., Hasumi, Y., Nishiyama, Y., Uchida, K., Yamaguchi, H. (2009) *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiology and Immunology*, 53(1), pp. 41–44. https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2008.00083.x

Schelenz, S., Barnes, R.A., Barton, R.C., Cleverley, J.R., Lucas, S.B., Kibbler, C.C. *et al.* (2015) British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases. *Lancet Infectious Diseases*, 15, pp. 461–474. https://doi.org/10.1016/s1473-3099(15)70006-x

Shahi, G., Kumar, M., Skwarecki, A.S., Edmondson, M., Banerjee, A., Usher, J. *et al.* (2022) Fluconazole resistant *Candida auris* clinical isolates have increased levels of cell wall chitin and increased susceptibility to a glucosamine-6-phosphate synthase inhibitor. *Cell Surface*, 8, 100076. https://doi.org/10.1016/j.tcsw.2022.100076

Sharma, D., Paul, R.A., Rudramurthy, S.M., Kashyap, N., Bhattacharya, S., Soman, R. *et al.* (2022) Impact of FKS1 genotype on echinocandin *in vitro* susceptibility in *Candida auris* and *in vivo* response in a murine model of infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(1), e0165221. https://doi.org/10.1128/aac.01652-21

Shastri, P.S., Shankarnarayan, S.A., Oberoi, J., Rudramurthy, S.M., Wattal, C., Chakrabarti, A. (2020) *Candida auris* candidaemia in an intensive care unit - prospective observational study to evaluate epidemiology, risk factors, and outcome. *Journal of Critical Care*, 57, pp. 42–48. https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.01.004

Schroeder, M., Weber, T., Denker, T., Winterland, S., Wichmann, D., Rohde, H. *et al.* (2020) Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in critically ill patients in Germany: a single-center retrospective 10-year analysis. *Annals of Intensive Care*, 10(1), p. 142. https://doi.org/10.1186/s13613-020-00755-8

Sekyere, O. J. (2018) *Candida auris*: A systematic review and meta-analysis of current updates on an emerging multidrug-resistant pathogen. Microbiologyopen, 7(4), e00578. https://doi.org/10.1002/mbo3.578

Shields, R.K., Nguyen, M.H., Du, C., Press, E., Cheng, S., Clancy, C.J. *et al.* (2011a) Paradoxical effect of caspofungin against *Candida* bloodstream isolates is mediated by multiple pathways but eliminated in human serum. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 2641–2647. https://doi.org/10.1128/aac.00999-10

Shields, R.K., Nguyen, M.H., Press, E., Clancy, C.J. (2011b) Five-minute exposure to caspofungin results in prolonged post-antifungal effects and eliminates the paradoxical growth of *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 3598–3602. https://doi.org/10.1128/aac.00095-11

Shields, R.K., Nguyen, M.H., Press, E.G., Updike, C.L., Clancy, C.J. (2013) Caspofungin MICs correlate with treatment outcomes among patients with *Candida glabrata* invasive candidiasis and prior echinocandin exposure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57, pp. 3528–3535. https://doi.org/10.1128/AAC.00136-13

Silva, N.C., Nery, J.M. and Dias, A.L. (2014) Aspartic proteinases of *Candida* spp.: role in pathogenicity and antifungal resistance. *Mycoses*, 57, pp. 1–11. https://doi.org/10.1111/myc.12095

Simon, S.P., Li, R., Silver, M., Andrade, J., Tharian, B., Fu, L. *et al.* (2023) Comparative outcomes of *Candida auris* bloodstream infections: a multicenter retrospective case-control study. *Clinical Infectious Diseases*, 76(3), pp. e1436–e1443. https://doi.org/10.1093/cid/ciac735

Singh, S., Uppuluri, P., Mamouei, Z., Alqarihi, A., Elhassan, H., French, S. *et al.* (2019) The NDV-3A vaccine protects mice from multidrug resistant *Candida auris* infection. *PLoS Pathogens*, 15(8), e1007460. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007460

Singhal, T., Kumar, A., Borade, P., Shah, S., Soman, R. (2018) Successful treatment of *C. auris* shunt infection with intraventricular caspofungin. *Medical Mycology Case Reports*, 22, pp. 35–37. https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2018.08.005

Sinkó, J., Sulyok, M., and Denning, D.W. (2015) Burden of serious fungal diseases in Hungary. *Mycoses*, 58 Suppl 5, pp. 29–33. https://doi.org/10.1111/myc.12385

Sipsas, N.V., Lewis, R.E., Tarrand, J., Hachem, R., Rolston, K.V., Raad, I.I. *et al.* (2009) Candidemia in patients with hematologic malignancies in the era of new antifungal agents (2001–2007): stable incidence but changing epidemiology of a still frequently lethal infection. *Cancer*, 115, pp. 4745–4752. https://doi.org/10.1002/cncr.24507

Slater, J.L., Howard, S.J., Sharp, A., Goodwin, J., Gregson, L.M., Alastruey-Izquierdo, A. *et al.* (2011) Disseminated candidiasis caused by *Candida albicans* with amino acid substitutions in Fks1 at position Ser645 cannot be successfully treated with micafungin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 3075–3083. https://doi.org/10.1128/aac.01686-10

Sofjan, A.K., Mitchell, A., Shah, D.N., Nguyen, T., Sim, M., Trojcak, A. *et al.* (2018) Rezafungin (CD101), a next-generation echinocandin: A systematic literature review and assessment of possible place in therapy. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, pp. 58–64. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.02.013

Spellberg, B., Ibrahim, A.S., Edwards, J.E. Jr, Filler, S.G. (2005) Mice with disseminated candidiasis die of progressive sepsis. *Journal of Infectious Diseases*, 192(2), pp. 336–343. https://doi.org/10.1086/430952

Spreghini, E., Maida, C.M., Tomassetti, S., Orlando, F., Giannini, D., Milici, M.E. *et al.* (2008) Posaconazole against *Candida glabrata* isolates with various susceptibilities to fluconazole, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, pp. 1929–1933. https://doi.org/10.1128/AAC.00130-08

Spreghini, E., Orlando, F., Tavanti, A., Senesi, S., Giannini, D., Manso, E. *et al.* (2012) *In vitro* and *in vivo* effects of echinocandins against *Candida parapsilosis sensu stricto, Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(9), pp. 2195–2202. https://doi.org/10.1093/jac/dks180

Staab, J.F., Neofytos, D., Rhee, P., Jiménez-Ortigosa, C., Zhang, S.X., Perlin, D.S. *et al.* (2014) Target enzyme mutations confer differential echinocandin susceptibilities in *Candida kefyr*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58, pp. 5421–5427. https://doi.org/10.1128/AAC.00096-14

Stevens, D.A., Espiritu, M. and Parmar, R. (2004) Paradoxical effect of caspofungin: reduced activity against *Candida albicans* at high drug concentrations. *Antimicrobial*

Agents and Chemotherapy, 48, pp. 3407–3411. https://doi.org/10.1128/AAC.48.9.3407-3411.2004

Stevens, D.A., Ichinomiya, M., Koshi, Y., Horiuchi, H. (2006) Escape of *Candida* from caspofungin inhibition at concentrations above the MIC (paradoxical effect) accomplished by increased cell wall chitin; evidence for beta-1,6-glucan synthesis inhibition by caspofungin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50, pp. 3160–3161. http://doi.org/10.1128/AAC.00563-06

Stone, J.A., Holland, S.D., Wickersham, P.J., Sterrett, A., Schwartz, M., Bonfiglio, C. *et al.* (2002) Single- and multiple-dose pharmacokinetics of caspofungin in healthy men. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, pp. 739–745. https://doi.org/10.1128/aac.46.3.739-745.2002

Suphavilai, C., Ko, K.K.K., Lim, K.M., Tan, M.G., Boonsimma, P., Chu, J.J.K. *et al.* (2024) Detection and characterisation of a sixth *Candida auris* clade in Singapore: a genomic and phenotypic study. *Lancet Microbe*, 5(9), 100878. https://doi.org/10.1016/s2666-5247(24)00101-0

Szabó, Zs., Tóth, B., Kovács, M., Kardos, G., Maráz, A., Rozgonyi, F. *et al.* (2008) Evaluation of the new Micronaut-Candida system compared to the API ID32C method for yeast identification. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, pp. 1824–1825. https://doi.org/10.1128/JCM.02350-07

Szabo, Z., Szilagyi, J., Tavanti, A., Kardos, G., Rozgonyi, F., Bayegan, S. *et al.* (2009) *In vitro* efficacy of 5 antifungal agents against *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* as determined by time-kill methodology. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 64(3), pp. 283–288. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.011

Szekely, A., Borman, A.M. and Johnson, E.M. (2019) *Candida auris* isolates of the Southern Asian and South African lineages exhibit different phenotypic and antifungal susceptibility profiles *in vitro*. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(5), p. e02055-18. https://doi.org/10.1128/jcm.02055-18

Szymański, M., Chmielewska, S., Czyżewska, U., Malinowska, M., Tylicki, A. (2022) Echinocandins - structure, mechanism of action and use in antifungal therapy. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), pp. 876-894. https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2050224

Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I. *et al*. (2021) *Candida albicans*—The virulence factors and clinical manifestations of infection, *Journal of Fungi (Basel)*, 7(2), 79. https://doi.org/10.3390/jof7020079

Tavanti, A., Davidson, A.D., Gow, N.A.R., Maiden, M.C., Odds, F.C. (2005) *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov., to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, pp. 284–292. https://doi.org/10.1128/jcm.43.1.284-292.2005

Thompson, G.R., Cadena, J. and Patterson, T.F. (2009) Overview of antifungal agents. *Clinical Chest Medicine*, 30, pp. 203–215. https://doi.org/10.1016/j.ccm.2009.02.001

Thompson, G.R. 3rd, Soriano, A., Cornely, O.A., Kullberg, B.J., Kollef, M., Vazquez, J. *et al.* (2023) Rezafungin versus caspofungin for treatment of candidaemia and invasive candidiasis (ReSTORE): a multicentre, double-blind, double-dummy, randomised phase 3 trial. *Lancet*, 401(10370), pp. 49–59. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)02324-8

Torres, S.R., Pichowicz, A., Torres-Velez, F., Song, R., Singh, N., Lasek-Nesselquist, E. *et al.* (2020) Impact of *Candida auris* infection in a neutropenic murine model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(3), e01625-19. https://doi.org/10.1128/AAC.01625-19

Tóth, Z., Kardos, T., Kovács, R., Kardos, G., Nagy, F., Prépost, E. *et al.* (2018) Comparison of killing activity of micafungin against six *Candida* species isolated from peritoneal and pleural cavities in RPMI-1640, 10 and 30% serum. *Mycopathologia*, 183(6), pp. 905–912. https://doi.org/10.1007/s11046-018-0302-5

Treviño-Rangel, R.J., Rodríguez-Sánchez, I.P., Elizondo-Zertuche, M., Martínez-Fierro, M.L., Garza-Veloz, I., Romero-Díaz, V.J. *et al.* (2014) Evaluation of *in vivo* pathogenicity of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* with different enzymatic profiles in a murine model of disseminated candidiasis. *Medical Mycology*, 52, pp. 240–245. https://doi.org/10.1093/mmy/myt019

Trofa, D., Gácser, A. and Nosanchuk, J.D. (2008) *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21, pp. 606–625. https://doi.org/10.1128/cmr.00013-08

Ullmann, A.J., Lipton, J.H., Vesole, D.H., Chandrasekar, P., Langston, A., Tarantolo, S.R,. *et al.* (2007) Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *The New England Journal of Medicine*, 356(4), pp. 335–347. https://doi.org/10.1056/NEJMoa061098

Varga, I., Sóczó, G., Kardos, G., Majoros, L. (2008a) Time-kill studies investigating the killing activity of caspofungin against *Candida dubliniensis*: comparing RPMI-1640 and antibiotic medium 3, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(1), pp. 149–152. https://doi.org/10.1093/jac/dkn144

Varga, I., Sóczó, G., Kardos, G., Borbély, Á., Szabó, Z., Kemény-Beke, Á. *et al.* (2008b) Comparison of killing activity of caspofungin against *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(6), pp. 1466–1468. https://doi.org/10.1093/jac/dkn403

Varga, I., Sóczó, G., Kardos, G., Kemény-Beke, A., Kelentei, B., Márton, I. *et al.* (2009) Difference in killing activity of caspofungin and paradoxical growth between *Candida albicans* and *Candida krusei* clinical isolates in different media. *Journal of Chemotherapy*, 21, pp. 36–41.

van Asbeck, E., Clemons, K.V., Martinez, M., Tong, A.J. and Stevens, D.A. *et al.* (2008) Significant differences in drug susceptibility among species in the *Candida parapsilosis* group. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 62, pp. 106–109. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.019

Ventoulis, I., Sarmourli, T., Amoiridou, P., Mantzana, P., Exindari, M., Gioula, G. *et al.* (2020) Bloodstream infection by *Saccharomyces cerevisiae* in two COVID-19 patients after receiving supplementation of *Saccharomyces* in the ICU. *Journal of Fungi (Basel)*, 6(3), p. 98. https://doi.org/10.3390/jof6030098

Vergidis, P., Clancy, C.J., Shields, R.K., Park, S.Y., Wildfeuer, B.N., Simmons, R.L. *et al.* (2016) Intra-abdominal candidiasis: The importance of early source control and antifungal treatment. *PLoS One*, 11, e0153247. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153247

Verstrepen, K.J. and Klis, F.M. (2006) Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Molecular Microbiology*, 60, pp. 5–15. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05072.x

Villanueva-Lozano, H., Treviño-Rangel, R.J., González, G.M., Ramírez-Elizondo, M.T., Lara-Medrano, R., Aleman-Bocanegra, M.C., *et al.* (2021) Outbreak of *Candida auris* infection in a COVID-19 hospital in Mexico. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(5), pp. 813–816. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.12.030

Vincent, J.L., Rello, J., Marshall, J., Silva, E., Anzueto, A., Martin, C.D., *et al.* (2009) International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*, 302, pp. 2323–2329. https://doi.org/10.1001/jama.2009.1754

Wächtler, B., Citiulo, F., Jablonowski, N., Förster, S., Dalle, F., Schaller, M. *et al.* (2012) *Candida albicans*-epithelial interactions: dissecting the roles of active penetration, induced endocytosis and host factors on the infection process. *PLoS One*, 7, e36952. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036952

Walsh, T.J. and Gamaletsou, M.N. (2013) Treatment of fungal disease in the setting of neutropenia. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2013, pp. 423–427. https://doi.org/10.1182/asheducation-2013.1.423

Walker, L.A., Gow, N.A. and Munro, C.A. (2013) Elevated chitin content reduces the susceptibility of *Candida* species to caspofungin, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57, pp. 146–154. https://doi.org/10.1128/AAC.01486-12

Wang, E., Farmakiotis, D., Yang, D., McCue, D.A., Kantarjian, H.M., Kontoyiannis,, D.P. *et al.* (2015) The ever-evolving landscape of candidemia in patients with acute leukaemia: non-susceptibility to caspofungin and multidrug resistance are associated with increased mortality. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70, pp. 2362–2368. https://doi.org/10.1093/jac/dkv087

Wang, X., Bing, J., Zheng, Q., Li, Y., Sun, S., Du, X. *et al.* (2018) The first isolate of *Candida auris* in China: clinical and biological aspects. *Emerging Microbes and Infections*, 7, p. 93. https://doi.org/10.1038/s41426-018-0095-0

Wey, S.B., Mori, M., Pfaller, M.A., Woolson, R.F., Wenzel, R.P. (1988) Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess length of stay. *Archives of Internal Medicine*, 148(12), pp. 2642–2645. https://doi.org/10.1001/archinte.148.12.2642

Wiederhold, N.P. (2007a) Attenuation of echinocandin activity at elevated concentrations: a review of the paradoxical effect. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 20, pp. 574–578. https://doi.org/10.1097/qco.0b013e3282f1be7f

Wiederhold, N.P., Najvar, L.K., Bocanegra, R., Molina, D., Olivo, M., Graybill, J.R. (2007b) *In vivo* efficacy of anidulafungin and caspofungin against *Candida glabrata* and association with *in vitro* potency in the presence of sera *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51, pp. 1616–1620. https://doi.org/10.1128/aac.00105-07

Wiederhold, N.P., Najvar, L.K., Bocanegra, R.A., Kirkpatrick, W.R., Patterson, T.F. (2011) Caspofungin dose escalation for invasive candidiasis due to resistant *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, pp. 3254–3260. https://doi.org/10.1128/AAC.01750-10

Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S.M., Seifert, H., Wenzel, R.P., Edmond, M.B. (2004) Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from

a prospective nationwide surveillance study. *Clinical Infectious Diseases*, 39, pp. 309–317. https://doi.org/10.1086/421946

Won, E.J., Choi, M.J., Jeong, S.H., Kim, D., Shin, K.S., Shin, J.H. *et al.* (2022) Nationwide surveillance of antifungal resistance of *Candida* bloodstream isolates in South Korean hospitals: two year report from Kor-GLASS. *Journal of Fungi*, 8(10), 996. https://doi.org/10.3390/jof8100996

World Health Organization (2022) *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. WHO.

Würthwein, G., Cornely, O.A., Trame, M.N., Vehreschild, J.J., Vehreschild, M.J., Farowski, F. *et al.* (2013) Population pharmacokinetics of escalating doses of caspofungin in a phase II study of patients with invasive aspergillosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57, pp. 1664–1671. https://doi.org/10.1128/aac.01912-12

Zhao, Y., Perez, W.B., Jiménez-Ortigosa, C., Hough, G., Locke, J.B., Ong, V. *et al.* (2016) CD101: a novel long-acting echinocandin. *Cell Microbiol*, 18, pp. 1308–1316. https://doi.org/10.1111/cmi.12640

Zhao, Y., Prideaux, B., Nagasaki, Y., Lee, M.H., Chen, P.Y., Blanc, L. *et al.* (2017) Unraveling drug penetration of echinocandin antifungals at the site of infection in an intra-abdominal abscess model. *Antimicrob Agents Chemother*, 61, e01009-17. https://doi.org/10.1128/aac.01009-17

Xin, H., Mohiuddin, F., Tran, J., Adams, A., Eberle, K. (2019) Experimental mouse models of disseminated *Candida auris* infection. *mSphere*, 4(4), e00339-19. https://doi.org/10.1128/msphere.00339-19

Yadav, A., Jain, K., Wang, Y., Pawar, K., Kaur, H., Sharma, K.K. *et al.* (2022) *Candida auris* on apples: diversity and clinical significance. *mBio*, 13(2), e00518-22. https://doi.org/10.1128/mbio.00518-22

Yamada, N., Kumada, K., Kishino, S., Mochizuki, N., Ohno, K. and Ogura, S. *et al.* (2011) Distribution of micafungin in the tissue fluids of patients with invasive fungal infections, *Journal of Infection and Chemotherapy*, 17, pp. 731–734. https://doi.org/10.1007/s10156-011-0240-3

12. Publikációk

12.1. Az értekezést megalapozó *in extenso* közlemények (tematikus sorrendben)

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 ; Balázsi, 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, Amphotericin 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 Függő 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 Függő 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 Amphotericin B against Four *Candida auris* Clades

    PATHOGENS 10 : (8) Paper: 990 , 11 p. (2021)

    IF: 4.531

    Független idéző: 7 Függő idéző: 2 Összesen: 9

14. Forgács, Lajos ; Borman, Andrew M. ; Kovács, Renátó ; Balázsi, Dávid ; Tóth, Zoltán ; Balázs, Bence ; Chun-Ju, Chiu ; Kardos, Gábor ; Kovacs, Ilona ; Majoros, László

    In Vivo Efficacy of Amphotericin B against Four *Candida auris* Clades

    JOURNAL OF FUNGI 8 : (5) Paper: 499 , 16 p. (2022)

    IF: 4.7

    Független idéző: 4 Függő idéző: 1 Összesen: 5

12.2. Az MTMT által csatolt publikációs lista idézők számával

Tudományos folyóiratcikk

Szakcikk

1. Majoros, L ; Kardos, G ; Pócsi, I ; Szabó, B
   Distribution and susceptibility of *Candida* species isolated in the Medical University of Debrecen
   ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 49 pp. 351-361. , 11 p. (2002)
   Független idéző: 8 Függő idéző: 5 Összesen: 13
2. Majoros, L ✉ ; Kardos, G ; Belák, Á ; Maráz, A ; Asztalos, L ; Csánky, E ; Barta, Z ; Szabó, B
   Restriction enzyme analysis of ribosomal DNA shows that *Candida inconspicua* clinical isolates can be misidentified as *Candida norvegensis* with traditional diagnostic procedures
   JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY 41 : (11) pp. 5250-5253. , 4 p. (2003)
   IF: 3.489
   Független idéző: 22 Függő idéző: 10 Összesen: 32
3. Sugita, T ✉ ; Takeo, K ; Ohkusu, M ; Virtudazo, E ; Takashima, M ; Asako, E ; Oshima, F ; Harada, C ; Nishikawa, A ; Majoros, L et al.
   Fluconazole-resistant pathogens *Candida inconspicua* and *C. norvegensis* DNA sequence diversity of the rRNA intergenic spacer region, antifungal drug susceptibility and extracellular enzyme production
   MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY 48 : (10) pp. 761-766. , 6 p. (2004)
   IF: 1.44
   Független idéző: 25 Összesen: 25
4. Majoros, L ✉ ; Kardos, G ; Szabo, B ; Sipiczki, M
   Caspofungin susceptibility testing of *Candida inconspicua*: correlation of different methods with the minimal fungicidal concentration
   ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY 49 : (8) pp. 3486-3488. , 3 p. (2005)
   IF: 4.379
   Független idéző: 24 Függő idéző: 2 Összesen: 26
5. Alberth, M ; Majoros, L ; Kovalecz, G ; Borbás, E ; Szegedi, I ; Márton, I J ; Kiss, C ✉
   Significance of oral *Candida* infections in children with cancer
   PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 12 : (4) pp. 237-241. , 5 p. (2006)
   IF: 1.241
   Független idéző: 41 Függő idéző: 2 Összesen: 43
6. Fekete, Andrea ; Pócsi, Imre ; Emri, Tamás ; Gyetvai, Ágnes ; Gazdag, Zoltán ; Pesti, Miklós ; Karányi, Zsolt ; Majoros, László ; Gergely, Lajos ; Pócsi, István ✉
   Physiological and morphological characterization of tert-butylhydroperoxide tolerant *Candida* albicans mutants
   JOURNAL OF BASIC MICROBIOLOGY 48 : (6) pp. 480-487. , 8 p. (2008)
   IF: 1.051
   Független idéző: 3 Függő idéző: 9 Összesen: 12

7. L, Majoros ✉ ; G, Kardos
   Fungicidal activity of azole antifungal agents
   ANTI-INFECTIVE AGENTS IN MEDICINAL CHEMISTRY 7 : (2) pp. 118-125. , 8 p. (2008)
   Független idéző: 4 Összesen: 4
8. Varga, I ; Sóczó, G ; Kardos, G ; Majoros, L ✉
   Time-kill studies investigating the killing activity of caspofungin against *Candida* dubliniensis: comparing RPMI-1640 and antibiotic medium 3
   JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 62 : (1) pp. 149-152. , 4 p. (2008)
   IF: 4.328
   Független idéző: 6 Függő idéző: 5 Összesen: 11
9. Szabo, Z ; Szilagyi, J ; Tavanti, A ; Kardos, G ; Rozgonyi, F ; Bayegan, S ; Majoros, L ✉
   In vitro efficacy of 5 antifungal agents against *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* as determined by time-kill methodology
   DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE 64 : (3) pp. 283-288. , 6 p. (2009)
   IF: 2.451
   Független idéző: 12 Függő idéző: 2 Összesen: 14
10. Varga, I ; Sóczó, G ; Kardos, G ; Kemény-Beke, A ; Kelentey, B ; Márton, I ; Majoros, L ✉
    Difference in killing activity of caspofungin and paradoxical growt h between *Candida albicans* and *C. krusei* clinical isolates in different media
    JOURNAL OF CHEMOTHERAPY 21 : (1) pp. 36-41. , 6 p. (2009)
    IF: 1.166
    Függő idéző: 2 Összesen: 2
11. Bayegan, S ; Majoros, L ✉ ; Kardos, G ; Kemény-Beke, A ; Miszti, C ; Kovacs, R ; Gesztelyi, R
    In vivo studies with a *Candida tropicalis* isolate exhibiting paradoxical growth *in vitro* in the presence of high concentration of caspofungin
    JOURNAL OF MICROBIOLOGY 48 : (2) pp. 170-173. , 4 p. (2010)
    IF: 1.266
    Független idéző: 20 Függő idéző: 4 Összesen: 24
12. Grenczer, M ; Zsuga, J ; Majoros, L ; Pinter, A ; Kemeny-Beke, A ; Juhasz, B ; Tosaki, A ; Gesztelyi, R ✉
    Effect of asymmetry of concentration-response curves on the results obtained by the receptorial responsiveness method (RRM): an in silico study
    CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY 88 : (11) pp. 1074-1083. , 10 p. (2010)
    IF: 1.849
    Független idéző: 1 Függő idéző: 7 Összesen: 8
13. Kovács, L ; Farkas, I ; Majoros, L ; Miskei, M ; Pócsi, I ; Dombrádi, V ✉
    The polymorphism of protein phosphatase Z1 gene in *Candida albicans*
    JOURNAL OF BASIC MICROBIOLOGY 50 : (Suppl 1) pp. 74-82. , 9 p. (2010)
    IF: 1.395
    Független idéző: 6 Függő idéző: 7 Összesen: 13
14. Szabo, Z ; Borbely, A ; Kardos, G ; Somogyvari, F ; Kemény-Beke, A ; Asztalos, L ; Rozgonyi, F ; Majoros, L ✉

In vitro efficacy of amphotericin B, 5-fluorocytosine, fluconazole, voriconazole and posaconazole against *Candida dubliniensis* isolates using time-kill methodology
MYCOSES 53 : (3) pp. 196-199. , 4 p. (2010)
IF: 1.667
Független idéző: 7 Függő idéző: 2 Összesen: 9

15. Tavanti, A ✉ ; Hensgens, LA ; Mogavero, S ; Majoros, L ; Senesi, S ; Campa, M
Genotypic and phenotypic properties of *Candida parapsilosis sensu strictu* strains isolated from different geographic regions and body sites
BMC MICROBIOLOGY 10 Paper: 203 , 11 p. (2010)
IF: 2.96
Független idéző: 36 Függő idéző: 6 Összesen: 42
16. Bayegan, S ; Szilagyi, J ; Kemeny-Beke, A ; Foldi, R ; Kardos, G ; Gesztelyi, R ; Juhasz, B ; Adnan, A ; Majoros, L ✉
Efficacy of a Single 6 mg/kg versus Two 3 mg/kg Caspofungin Doses for Treatment of Disseminated Candidiasis Caused by *Candida albicans* in a Neutropenic Mouse Model
JOURNAL OF CHEMOTHERAPY 23 : (2) pp. 107-109. , 3 p. (2011)
IF: 1.084
Függő idéző: 4 Összesen: 4
17. Ádám, C ; Erdei, É ; Casado, C ; Kovács, L ; González, A ; Majoros, L ; Petrényi, K ; Bagossi, P ; Farkas, I ; Molnár, M et al.
Protein phosphatase CaPpz1 is involved in cation homeostasis, cell wall integrity and virulence of *Candida albicans*
MICROBIOLOGY-SGM 158 : (5) pp. 1258-1267. , 10 p. (2012)
IF: 2.852
Független idéző: 15 Függő idéző: 22 Összesen: 37
18. Földi, Richárd ; Szilágyi, Judit ; Kardos, Gábor ; Berényi, Réka ; Kovács, Renátó ; Majoros, László ✉
Effect of 50% human serum on the killing activity of micafungin against eight *Candida* species using time-kill methodology
DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE 73 : (4) pp. 338-342. , 5 p. (2012)
IF: 2.26
Független idéző: 6 Függő idéző: 7 Összesen: 13
19. Vida, A ; Bardoel, B ; Milder, F ; Majoros, L ; Sümegi, A ; Bácsi, A ; Vereb, G ; van Kessel, KP ; van Strijp, JA ; Antal-Szalmás,P ✉
Fusion of the Fc part of human IgG1 to CD14 enhances its binding to gram-negative bacteria and mediates phagocytosis by Fc receptors of neutrophils
IMMUNOLOGY LETTERS 146 : (1-2) pp. 31-39. , 9 p. (2012)
IF: 2.337
Független idéző: 2 Összesen: 2
20. Kovacs, R ; Gesztelyi, R ; Perlin, DS ; Kardos, G ; Doman, M ; Berenyi, R ; Majoros, L ✉
Killing Rates for Caspofungin Against *Candida albicans* After Brief and Continuous Caspofungin Exposure in the Presence and Absence of Serum.
MYCOPATHOLOGIA 178 : (3-4) pp. 197-206. , 10 p. (2014)
IF: 1.528
Független idéző: 5 Függő idéző: 4 Összesen: 9

21. Kovács, Renátó ; Czudar, Anita ; Horvath, László ; Szakács, Levente ; Majoros, László ; Kónya, József ✉
Serum interleukin-6 levels in murine models of *Candida albicans* infection
ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 61 : (1) pp. 61-69. , 9 p. (2014)
IF: 0.778
Független idéző: 17 Függő idéző: 2 Összesen: 19
22. Mózes, J ; Szűcs, I ; Molnár, D ; Jakab, P ; Fatemeh, E ; Szilasi, M ; Majoros, L ; Orosi, P ; Kardos, G ✉
A potential role of aminoglycoside resistance in endemic occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* strains in lower airways of mechanically ventilated patients.
DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE 78 : (1) pp. 79-84. , 6 p. (2014)
IF: 2.457
Független idéző: 5 Függő idéző: 3 Összesen: 8
23. Réka, Berényi ; Renátó, Kovács ; Marianna, Domán ; Rudolf, Gesztelyi ; Gábor, Kardos ; Juhász, Béla ; David, Perlin ;László, Majoros ✉
Efficacy of single large doses of caspofungin in a neutropenic murine model against the "*psilosis*" group
NEW MICROBIOLOGICA 37 : (3) pp. 355-362. , 8 p. (2014)
IF: 1.784
Független idéző: 1 Függő idéző: 3 Összesen: 4
24. Szabó, Béla ✉ ; Majoros, László ; Papp-Falusi, Erzsébet ; Szabó, Zsuzsanna ; Szabó, Judit ; Márton, Ildikó ; Kelentey, Barna
Studies on the possible aetiological role of different *Candida* species in pathogenesis of dentine caries by monitoring the calcium release from tooth particles
ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 61 : (1) pp. 11-17. , 7 p. (2014)
IF: 0.778
Független idéző: 8 Összesen: 8
25. Jakab, Á ; Emri, T ; Sipos, L ; Kiss, Á ; Kovács, R ; Dombrádi, V ; Kemény-Beke, Á ; Balla, J ; Majoros, L ; Pócsi, I ✉
Betamethasone augments the antifungal effect of menadione-towards a novel anti-*Candida albicans* combination therapy
JOURNAL OF BASIC MICROBIOLOGY 55 : (8) pp. 973-981. , 9 p. (2015)
IF: 1.585
Független idéző: 5 Függő idéző: 8 Összesen: 13
26. Bozo, A ; Doman, M ; Majoros, L ; Kardos, G ; Varga, I ; Kovacs, R ✉
The *in vitro* and *in vivo* efficacy of fluconazole in combination with farnesol against *Candida albicans* isolates using a murine vulvovaginitis model
JOURNAL OF MICROBIOLOGY 54 : (11) pp. 753-760. , 8 p. (2016)
IF: 1.924
Független idéző: 27 Függő idéző: 6 Összesen: 33
27. Doman, M ; Kovacs, R ; Kardos, G ; Gesztelyi, R ; Juhasz, B ; Bozo, A ; Kardos, T ; Saleh, Q ; Majoros, L✉
Killing Rates of Caspofungin in 50 Percent Serum Correlate with Caspofungin Efficacy Against *Candida albicans* in a Neutropenic Murine Model

CURRENT DRUG DELIVERY 13 : (2) pp. 255-264. , 10 p. (2016)
IF: 2.516
Függő idéző: 5 Összesen: 5

28. Ebrahimi, F ; Mózes, J ; Monostori, J ; Gorácz, O ; Fésűs, A ; Majoros, L ; Szarka, K ; Kardos, G ✉
Comparison of rates of fecal colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria among patients in different wards, outpatients and medical students
MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY 60 : (5) pp. 285-294. , 10 p. (2016)
IF: 1.706
Független idéző: 15 Függő idéző: 6 Összesen: 21
29. Jakab, Ágnes ; Antal, Károly ; Emri, Tamás ; Boczonádi, Imre ; Imre, Alexandra ; Gebri, Enikő ; Majoros, László ; Pfliegler, Valter Péter ; Szarka, Máté ; Balla, György et al.
Effects of hemin, CO2, and pH on the branching of *Candida albicans* filamentous forms
ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 63 : (4) pp. 387-403. , 17 p. (2016)
IF: 0.921
Független idéző: 3 Összesen: 3
30. Kovacs, R ✉ ; Bozo, A ; Gesztelyi, R ; Doman, M ; Kardos, G ; Nagy, F ; Toth, Z ; Majoros, L
Effect of caspofungin and micafungin in combination with farnesol against *Candida parapsilosis* biofilms
INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS 47 : (4) pp. 304-310. , 7 p. (2016)
IF: 4.307
Független idéző: 35 Függő idéző: 15 Összesen: 50
31. Boros, Enikő ; Pfliegler, Valter Péter ✉ ; Kovács, Renátó László ; Jakab, Ágnes ; Majoros, László ; Barta, Zoltán ; Pócsi, István
Candida albicans isolates from a single hospital show low phenotypical specialization
JOURNAL OF BASIC MICROBIOLOGY 57 : (11) pp. 910-921. , 12 p. (2017)
IF: 1.58
Független idéző: 2 Összesen: 2
32. Kovács, R ; Saleh, Q ; Bozó, A ; Tóth, Z ; Gesztelyi, R ; Kardos, T ; Kardos, G Takacs, I ; Majoros, L ✉
Killing Activity of Micafungin Against *Candida albicans*, *C. dubliniensis* and *Candida africana* in the Presence of Human Serum
MYCOPATHOLOGIA 182 : (11-12) pp. 979-987. , 9 p. (2017)
IF: 1.476
Független idéző: 1 Függő idéző: 4 Összesen: 5
33. Kovacs, R ✉ ; Toth, Z ; Nagy, F ; Daroczi, L ; Bozo, A ; Majoros, L
Activity of exogenous tyrosol in combination with caspofungin and micafungin against *Candida parapsilosis* sessile cells.
JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY 122 : (6) pp. 1529-1536. , 8 p. (2017)
IF: 2.16
Független idéző: 9 Függő idéző: 5 Összesen: 14

34. Pfliegler, Valter Péter ✉ ; Boros, Enikő ; Pázmándi, Kitti Linda ; Jakab, Ágnes ; Zsuga, Imre ; Kovács, Renátó László ; Urbán, Edit ; Antunovics, Zsuzsa ; Bácsi, Attila ; Sipiczki, Mátyás et al.
Commercial strain-derived clinical *Saccharomyces cerevisiae* can evolve new phenotypes without higher pathogenicity
MOLECULAR NUTRITION & FOOD RESEARCH 61 : (11) Paper: 1601099 , 8 p. (2017)
IF: 5.151
Független idéző: 5 Függő idéző: 4 Összesen: 9
35. Saleh, Q ; Kovács, R ; Kardos, G ; Gesztelyi, R ; Kardos, T ; Bozó, A ; Majoros, L ✉
Decreased Killing Activity of Micafungin Against *Candida guilliermondii*, *Candida lusitaniae*, and *Candida kefyr* in the Presence of Human Serum
MICROBIAL DRUG RESISTANCE 23 : (6) pp. 764-770. , 7 p. (2017)
IF: 2.344
Független idéző: 5 Függő idéző: 3 Összesen: 8
36. Fruzsina, Nagy ; Aliz, Bozó ; Zoltán, Tóth ; Lajos, Daróczi ; László, Majoros ; Renátó, Kovács ✉
In vitro antifungal susceptibility patterns of planktonic and sessile *Candida kefyr* clinical isolates
MEDICAL MYCOLOGY 56 : (4) pp. 493-500. , 8 p. (2018)
IF: 2.851
Független idéző: 11 Függő idéző: 3 Összesen: 14
37. Kardos, Tamas ; Kovacs, R ; Kardos, G ; Varga, I ; Bozo, Aliz ; Toth, Z ; Nagy, F ; Majoros, L ✉
Poor *in vivo* efficacy of caspofungin, micafungin and amphotericin B against wild-type *Candida krusei* clinical isolates does not correlate with *in vitro* susceptibility results
JOURNAL OF CHEMOTHERAPY 30 : (4) pp. 233-239. , 7 p. (2018)
IF: 1.599
Független idéző: 6 Összesen: 6
38. Tóth, Zoltán ; Kardos, Tamás ; Kovács, Renátó László ; Kardos, Gábor ; Nagy, Fruzsina ; Prépost, Eszter ; Barta, Zsolt ; Takacs, István ; Majoros, László ✉
Comparison of Killing Activity of Micafungin Against Six *Candida* Species Isolated from Peritoneal and Pleural Cavities in RPMI-1640, 10 and 30% Serum
MYCOPATHOLOGIA 183 : (6) pp. 905-912. , 8 p. (2018)
IF: 2.278
Független idéző: 5 Összesen: 5
39. Fruzsina, Nagy ; Zoltán, Tóth ; Aliz, Bozó ; András, Czeglédi ; István, Rebenku ; László, Majoros ; Renátó, Kovács ✉
Fluconazole is not inferior than caspofungin, micafungin or amphotericin B in the presence of 50% human serum against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* biofilms
MEDICAL MYCOLOGY 57 : (5) pp. 573-581. , 9 p. (2019)
IF: 2.822
Független idéző: 4 Függő idéző: 4 Összesen: 8
40. Jakab, Ágnes ; Tóth, Zoltán ; Nagy, Fruzsina ; Nemes, Dániel ; Bácskay, Ildikó ; Kardos, Gábor ; Emri, Tamás ; Pócsi, István ;Majoros, László ; Kovács, Renátó ✉

Physiological and Transcriptional Responses of *Candida parapsilosis* to Exogenous Tyrosol
APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY 85 : (20) Paper: e01388 , 12 p. (2019)
IF: 4.016
Független idéző: 15 Függő idéző: 9 Összesen: 24

41. Kovács, R ; Holzknecht, J ; Hargitai, Z ; Papp, C ; Farkas, A ; Borics, A ; Tóth, L ; Váradi, G ; Tóth, GK ; Kovács, Ilona et al.
In vivo applicability of Neosartorya fischeri antifungal protein 2 (NFAP2) in treatment of vulvovaginal candidiasis
ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY 63 : (2) Paper: e01777-18 , 12 p. (2019)
IF: 4.904
Független idéző: 14 Függő idéző: 18 Összesen: 32
42. Kovács, Renátó ✉ ; Nagy, Fruzsina ; Tóth, Zoltán ; Bozó, Aliz ; Balázs, Bence ; Majoros, László
Synergistic effect of nikkomycin Z with caspofungin and micafungin against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* biofilms
LETTERS IN APPLIED MICROBIOLOGY 69 : (4) pp. 271-278. , 8 p. (2019)
IF: 2.173
Független idéző: 35 Függő idéző: 2 Összesen: 37
43. Prépost, Eszter ; Tóth, Zoltán ; Perlin, David ; Gesztelyi, Rudolf ; Kardos, Gábor ; Kovács, Renátó ; Nagy, Fruzsina ; Forgács, Lajos ; Majoros, László ✉
Efficacy of humanized single large doses of caspofungin on the lethality and fungal tissue burden in a deeply neutropenic murine model against *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*
INFECTION AND DRUG RESISTANCE 12 pp. 1805-1814. , 10 p. (2019)
IF: 2.984
Független idéző: 1 Függő idéző: 4 Összesen: 5
44. Tóth, Hajnalka ; Fésűs, Adina ; Kungler-Gorácz, Orsolya ; Balázs, Bence ; Majoros, László ; Szarka, Krisztina ; Kardos, Gábor ✉
Utilization of Vector Autoregressive and Linear Transfer Models to Follow Up the Antibiotic Resistance Spiral in Gram-negative Bacteria From Cephalosporin Consumption to Colistin Resistance
CLINICAL INFECTIOUS DISEASES 69 : (8) pp. 1410-1421. , 12 p. (2019)
IF: 8.313
Független idéző: 12 Függő idéző: 3 Összesen: 15
45. Váradi, Judit ; Hermenean, Anca ; Gesztelyi, Rudolf ; Jeney, Viktória ; Balogh, Enikő ; Majoros, László ; Malanga, Milo ;Fenyvesi, Éva ; Szente, Lajos ; Bácskay, Ildikó et al.
Pharmacokinetic Properties of Fluorescently Labelled Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin
BIOMOLECULES 9 : (10) Paper: 509 , 13 p. (2019)
IF: 4.082
Független idéző: 14 Függő idéző: 4 Összesen: 18
46. Nagy, Fruzsina ; Vitális, Eszter ; Jakab, Ágnes ; Borman, Andrew M. ; Forgács, Lajos ; Tóth, Zoltán ; Majoros, László ;Kovács, Renátó ✉
In vitro and *in vivo* Effect of Exogenous Farnesol Exposure Against *Candida auris*

FRONTIERS IN MICROBIOLOGY 11 Paper: 957 , 12 p. (2020)
IF: 5.64
Független idéző: 36 Függő idéző: 12 Összesen: 48

47. Nagy, Miklós ✉ ; Szemán-Nagy, Gábor* ; Kiss, Alexandra ; Nagy, Zsolt László ; Tálas, László ; Rácz, Dávid ; Majoros, László ;Tóth, Zoltán ; Szigeti, Zsuzsa Máthéné ; Pócsi, István ✉ et al.
Antifungal Activity of an Original Amino-Isocyanonaphthalene (ICAN) Compound Family: Promising Broad Spectrum Antifungals
MOLECULES 25 : (4) Paper: 903 , 12 p. (2020)
IF: 4.412
Független idéző: 3 Függő idéző: 5 Összesen: 8
48. Vitális, Eszter ; Nagy, Fruzsina ; Tóth, Zoltán ; Forgács, Lajos ; Bozó, Aliz ; Kardos, Gábor ; Majoros, László ; Kovács, Renátó✉
Candida biofilm production is associated with higher mortality in patients with candidaemia
MYCOSES 63 : (4) pp. 352-360. , 9 p. (2020)
IF: 4.377
Független idéző: 54 Függő idéző: 4 Összesen: 58
49. Balázs, Bence ; Tóth, Zoltán ; Nagy, Fruzsina ; Kovács, Renátó ; Tóth, Hajnalka ; Nagy, József Bálint ; Tóth, Ákos ; Szarka, Krisztina ; Majoros, László ; Kardos, Gábor ✉
The Role of Uniform Meropenem Usage in *Acinetobacter baumannii* Clone Replacement
ANTIBIOTICS 10 : (2) Paper: 127 , 12 p. (2021)
IF: 5.222
Független idéző: 1 Függő idéző: 2 Összesen: 3
50. Domán, M ✉ ; Makrai, L ; Lengyel, Gy ; Kovács, R ; Majoros, L ; Bányai, K
Molecular Diversity and Genetic Relatedness of *Candida albicans* Isolates from Birds in Hungary.
MYCOPATHOLOGIA 186 : (2) pp. 237-244. , 8 p. (2021)
IF: 3.785
Független idéző: 6 Függő idéző: 2 Összesen: 8
51. Imre, A. ; Kovács, R. ; Pázmándi, K. ; Nemes, D. ; Jakab, Á. ; Fekete, T. ; Rácz, H. V. ; Dóczi, I. ; Bácskay, I. ; Gácser, A. et al.
Virulence factors and in-host selection on phenotypes in infectious probiotic yeast isolates (*Saccharomyces 'boulardii'*)
JOURNAL OF FUNGI 7 : (9) Paper: 746 , 29 p. (2021)
IF: 5.724
Független idéző: 6 Függő idéző: 1 Összesen: 7
52. Jakab, Ágnes ; Balla, Noémi ; Ragyák, Ágota ; Nagy, Fruzsina ; Kovács, Fruzsina ; Sajtos, Zsófi ; Tóth, Zoltán ; Borman, Andrew M ; Pócsi, István ; Baranyai, Edina et al.
Transcriptional Profiling of the *Candida auris* Response to Exogenous Farnesol Exposure
MSPHERE 6 : (5) Paper: e00710-21 , 12 p. (2021)
IF: 5.029
Független idéző: 15 Függő idéző: 6 Összesen: 21
53. Kovács, Renátó ; Tóth, Zoltán ; Locke, Jeffrey B. ; Forgács, Lajos ; Kardos, Gábor ; Nagy, Fruzsina ; Borman, Andrew M. ;Majoros, László ✉

Comparison of *In Vitro* Killing Activity of Rezafungin, Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin against Four *Candida auris* Clades in RPMI-1640 in the Absence and Presence of Human Serum
MICROORGANISMS 9 : (4) Paper: 863 , 13 p. (2021)
IF: 4.926
Független idéző: 24 Függő idéző: 6 Összesen: 30

54. Kovács, Renátó ✉ ; Nagy, Fruzsina ; Tóth, Zoltán ; Forgács, Lajos ; Tóth, Liliána ; Váradi, Györgyi ; Tóth, Gábor K. ; Vadászi, Karina ; Borman, Andrew M. ; Majoros, László et al.
The Neosartorya fischeri Antifungal Protein 2 (NFAP2) A New Potential Weapon against Multidrug-Resistant *Candida auris* Biofilms
INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 22 : (2) Paper: 771 , 14 p. (2021)
IF: 6.208
Független idéző: 18 Függő idéző: 10 Összesen: 28
55. Nagy, Fruzsina ; Tóth, Zoltán ; Nyikos, Fanni ; Forgács, Lajos ; Jakab, Ágnes ; Borman, Andrew M ; Majoros, László ;Kovács, Renátó ✉
In vitro and *in vivo* interaction of caspofungin with isavuconazole against *Candida auris* planktonic cells and biofilms.
MEDICAL MYCOLOGY 59 : (10) pp. 1015-1023. , 9 p. (2021)
IF: 3.747
Független idéző: 14 Függő idéző: 4 Összesen: 18
56. Tóth, Hajnalka ; Buchholcz, Gyula ; Fésüs, Adina ; Balázs, Bence ; Nagy, József Bálint ; Majoros, László ; Szarka, Krisztina ; Kardos, Gábor ✉
Evolution of the Gram-Negative Antibiotic Resistance Spiral over Time: A Time-Series Analysis
ANTIBIOTICS 10 : (6) Paper: 734 , 10 p. (2021)
IF: 5.222
Független idéző: 2 Összesen: 2
57. Balázs, Bence ; Tóth, Zoltán ; Nagy, József Bálint ; Majoros, László ; Tóth, Ákos ; Kardos, Gábor ✉
Faecal Carriage of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Comparison to Clinical Isolates from the Same Period (2017–2019)
PATHOGENS 11 : (9) Paper: 1003 , 9 p. (2022)
IF: 3.7
Független idéző: 5 Összesen: 5
58. Balla, Noémi ; Kovács, Fruzsina ; Balázs, Bence ; Borman, Andrew M. ; Bozó, Aliz ; Jakab, Ágnes ; Tóth, Zoltán ; Kobaissi, Ola ; Majoros, László ; Kovács, Renátó ✉
Synergistic Interaction of Caspofungin Combined with Posaconazole against FKS Wild-Type and Mutant *Candida auris* Planktonic Cells and Biofilms
ANTIBIOTICS 11 : (11) Paper: 1601 , 12 p. (2022)
IF: 4.8
Független idéző: 3 Függő idéző: 4 Összesen: 7
59. Imre, Alexandra ; Kovács, Renátó ; Tóth, Zoltán ; Majoros, László ; Benkő, Zsigmond ; Pfliegler, Walter P. ; Pócsi, István ✉
Heme Oxygenase-1 (HMX1) Loss of Function Increases the In-Host Fitness of the *Saccharomyces 'boulardii'* Probiotic Yeast in a Mouse Fungemia Model
JOURNAL OF FUNGI 8 : (5) Paper: 522 , 21 p. (2022)

IF: 4.7

60. Jakab, Ágnes ; Kovács, Fruzsina ; Balla, Noémi ; Tóth, Zoltán ; Ragyák, Ágota ; Sajtos, Zsófi ; Csillag, Kinga ; Nagy-Köteles, Csaba ; Nemes, Dániel ; Bácskay, Ildikó et al.
Physiological and transcriptional profiling of surfactin exerted antifungal effect against *Candida albicans*
BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY 152 Paper: 113220 , 10 p. (2022)
IF: 7.5
Független idéző: 16 Függő idéző: 1 Összesen: 17
61. Nagy, Bálint József ; Balázs, Bence ; Benmazouz, Isma ; Gyüre, Péter ; Kövér, László ; Kaszab, Eszter ; Bali, Krisztina ; Lovas-Kiss, Ádám ; Damjanova, Ivelina ; Majoros, László et al.
Comparison of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli Isolates From Rooks (*Corvus frugilegus*) and Contemporary Human-Derived Strains: A One Health Perspective
FRONTIERS IN MICROBIOLOGY 12 Paper: 785411 , 9 p. (2022)
IF: 5.2
Független idéző: 8 Függő idéző: 4 Összesen: 12
62. Balla, Noémi ; Jakab, Ágnes ; Kovács, Fruzsina ; Ragyák, Ágota ; Tóth, Zoltán ; Balázsi, Dávid ; Forgács, Lajos ; Bozó, Aliz ; Al Refai, Farah ; Borman, Andrew M et al.
Total transcriptome analysis of *Candida auris* planktonic cells exposed to tyrosol
AMB EXPRESS 13 : (1) Paper: 81 , 10 p. (2023)
IF: 3.5
63. Kovács, Renátó ; Majoros, László ; Stemler, Jannik ✉ ; Cornely, Oliver Andreas ; Salmanton-García, Jon Unveiling the Hungarian landscape of laboratory and clinical management capacities for invasive fungal infections: navigating the frontlines against fungal menaces
THERAPEUTIC ADVANCES IN INFECTIOUS DISEASE 10 Paper: 20499361231219315 , 11 p. (2023)
IF: 3.8
Függő idéző: 8 Összesen: 8
64. Tóth, Zoltán ✉ ; Bozó, Aliz ; Kovács, Renátó ; Balogh, Bettina ; Balázs, Bence ; Forgács, Lajos ; Kelentey, Barna ; Majoros, László
The In Vitro Activity of Fluconazole, Amphotericin B and Echinocandins Against Cyberlindnera fabianii Planktonic Cells and Biofilms
MYCOPATHOLOGIA 188 : (1-2) pp. 111-118. , 8 p. (2023)
IF: 3.6
Független idéző: 1 Összesen: 1
65. Balázsi, Dávid ; Tóth, Zoltán ; Locke, Jeffrey B. ; Borman, Andrew M. ; Forgács, Lajos ; Balla, Noémi ; Kovács, Fruzsina ; Kovács, Renátó ; Amano, Chiaki ; Baran, Tugba Ilay ; Majoros, László✉
In Vivo Efficacy of Rezafungin, Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin against Four *Candida auris* Clades in a Neutropenic Mouse Bloodstream Infection Model
JOURNAL OF FUNGI 10 : (9) Paper: 617 , 14 p. (2024)
IF: 4.2 *
Független idéző: 2 Függő idéző: 1 Összesen: 3

66. Jakab, Ágnes ; Kovács, Fruzsina ; Balla, Noémi ; Nagy-Köteles, Csaba ; Ragyák, Ágota ; Nagy, Fruzsina ; Borman, Andrew ; Majoros, László ; Kovács, Renátó ✉
Comparative transcriptional analysis of *Candida auris* biofilms following farnesol and tyrosol treatment
MICROBIOLOGY SPECTRUM 12 : (4) Paper: e02278-23 , 14 p. (2024)
IF: 3.7 *
Független idéző: 1 Függő idéző: 2 Összesen: 3
67. Kovács, Fruzsina ; Balla, Noémi ; Bozó, Aliz ; Harmath, Andrea ; Jakab, Ágnes ; Tóth, Zoltán ; Nagy, Fruzsina ; Majoros, László ; Kovács, Renátó ✉
Epidemiology, clinical characteristics, outcome and biofilm forming properties in candidaemia: A single-centre retrospective 4-year analysis from Hungary
MYCOSES 67 : (4) Paper: e13727 , 12 p. (2024)
IF: 4.1 *
Független idéző: 2 Összesen: 2
68. Balla, Noémi ; Kovács, Fruzsina ; Tóth, Zoltán ; Harmath, Andrea ; Bozó, Aliz ; Majoros, László ; Kovács, Renátó ✉ ; Jakab, Ágnes ✉
Isolate Specific Transcriptome Changes Exerted by Isavuconazole Treatment in *Candida auris*
MYCOPATHOLOGIA 190 : (1) Paper: 5 , 11 p. (2025)
IF: 3.6 **
69. Kovács, Fruzsina ; Jakab, Ágnes ; Balla, Noémi ; Tóth, Zoltán ; Balázsi, Dávid ; Forgács, Lajos ; Harmath, Andrea ; Bozó, Aliz ; Ragyák, Ágota ; Majoros, László et al.
A comprehensive analysis of the effect of quorum-sensing molecule 3-oxo-C12-homoserine lactone on *Candida auris* and *Candida albicans*
BIOFILM 9 Paper: 100259 , 12 p. (2025)
IF: 5.9 **
Független idéző: 1 Összesen: 1

Összefoglaló cikk

70. Szabo, B ; Miszti, C ; Majoros, L ; Nabradi, Z ; Gomba, S
Isolation of rare opportunistic pathogens in Hungary: case report and short review of the literature. Rhodococcus equi
ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 47 : (1) pp. 9-14. , 6 p. (2000)
Független idéző: 5 Összesen: 5
71. Pócsi, I ; Sámi, L ; Leiter, É ; Majoros, L ; Szabó, B ; Emri, T ; Pusztahelyi, T
Searching for new-type antifungal drugs. An outline for possible new strategies
ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 48 : (3-4) pp. 533-543. , 11 p. (2001)
Független idéző: 3 Függő idéző: 7 Összesen: 10
72. Emri, T ✉ ; Majoros, L ; Tóth, V ; Pócsi, I
Echinocandins: production and applications.
APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY 97 : (8) pp. 3267-3284. , 18 p. (2013)
IF: 3.811
Független idéző: 85 Függő idéző: 6 Összesen: 91
73. Kovács, Renátó ✉ ; Majoros, László

Fungal Quorum-Sensing Molecules: A Review of Their Antifungal Effect against *Candida* Biofilms
JOURNAL OF FUNGI 6 : (3) Paper: 99 , 13 p. (2020)
IF: 5.816
Független idéző: 54 Függő idéző: 6 Összesen: 60

74. Kovács, Renátó ✉ ; Majoros, László
Antifungal lock therapy: an eternal promise or an effective alternative therapeutic approach?
LETTERS IN APPLIED MICROBIOLOGY 74 : (6) pp. 851-862. , 12 p. (2022)
IF: 2.4
Független idéző: 9 Összesen: 9

Rövid közlemény

75. Majoros, L ✉ ; Szegedi, I ; Kardos, G ; Erdesz, C ; Konya, J ; Kiss, C
Slow response of invasive Candida krusei infection to amphotericin B in a clinical time-kill study
EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY & INFECTIOUS DISEASES 25 : (12) pp. 803-806. , 4 p. (2006)
IF: 2.33
Független idéző: 6 Függő idéző: 4 Összesen: 10
76. Szabo, Z ; Toth, B ; Kovacs, M ; Kardos, G ; Maraz, A ; Rozgonyi, F ; Majoros, L ✉
Evaluation of the new Micronaut-Candida system compared to the API ID32C method for yeast identification
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY 46 : (5) pp. 1824-1825. , 2 p. (2008)
IF: 3.945
Független idéző: 18 Függő idéző: 4 Összesen: 22
77. Fejes, Z ; Mandi, A ; Komaromi, I ✉ ; Majoros, L ; Batta, G ; Herczegh, P ✉
A synthetic and in silico study on the highly regioselective Diels-Alder reaction of the polyenic antifungal antibiotics natamycin and flavofungin
TETRAHEDRON LETTERS 51 : (38) pp. 4968-4971. , 4 p. (2010)
IF: 2.618
Független idéző: 5 Összesen: 5
78. Ebrahimi, F ; Mózes, J ; Mészáros, J ; Juhász, Á ; Majoros, L ; Szarka, K ; Kardos, G ✉
Asymptomatic faecal carriage of ESBL producing enterobacteriaceae in Hungarian healthy individuals and in long-term care applicants. A shift towards CTX-M producers in the community
INFECTIOUS DISEASES 48 : (7) pp. 557-559. , 3 p. (2016)
IF: 1.119
Független idéző: 11 Függő idéző: 2 Összesen: 13
79. Kardos, T ; Saleh, Q ; Kovacs, R ; Gesztelyi, R ; Kardos, G ; Bozo, A ; Toth, Z ; Majoros, L ✉
Postantifungal effect of micafungin against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida africana* in the presence and absence of serum.
NEW MICROBIOLOGICA 40 : (4) pp. 286-288. , 3 p. (2017)
IF: 1.412

Független idéző: 1 Összesen: 1

80. Nagy, Fruzsina ; Tóth, Zoltán ; Daróczi, Lajos ; Székely, Adrien ; Borman, Andrew M ; Majoros, László ; Kovács, Renátó ✉
Farnesol increases the activity of echinocandins against *Candida auris* biofilms
MEDICAL MYCOLOGY 58 : (3) pp. 404-407. , 4 p. (2020)
IF: 4.076
Független idéző: 24 Függő idéző: 12 Összesen: 36
81. Domán, Marianna ✉ ; Kaszab, Eszter ; Laczkó, Levente ; Bali, Krisztina ; Makrai, László ; Kovács, Renátó ; Majoros, László ; Bányai, Krisztián ✉
Genomic epidemiology of antifungal resistance in human and avian isolates of Candida albicans: a pilot study from the One Health perspective
FRONTIERS IN VETERINARY SCIENCE 11 Paper: 1345877 , 7 p. (2024)
IF: 2.6 *
Független idéző: 1 Összesen: 1
82. Kovács, Renátó ✉ ; Árokszállási, Tamás ; Bozó, Aliz ; Jakab, Ágnes ; Bábel, Krisztina Szonja ; Héja, Máté ; Kovács, Kitti Bernadett ; Balázs, Bence ; Vitális, Eszter ; Majoros, László et al.
Bacteraemia Associated with *Bilophila wadsworthia*: A Rare Case Presentation from Hungary
PATHOGENS 13 : (9) Paper: 749 , 7 p. (2024)
IF: 3.3 *
Független idéző: 1 Összesen: 1
83. Tóth, Zoltán ✉ ; Balázs, Bence ; Pfliegler, Walter P. ; Csoma, Eszter ; Majoros, László ; Szűcs, Dorka ; Kovács, Renátó
Application of Biofire Filmarray Joint Infection Panel for Rapid Identification of Aetiology in a Necrotizing Fasciitis Case
DIAGNOSTICS 15 : (1) Paper: 58 , 8 p. (2024)
IF: 3 *
84. Tóth, Zoltán ✉ ; Ványai, Beatrix* ; Kovács, Renátó ; Jakab, Ágnes ; Szegedi, Andrea ; Balázs, Bence ; Majoros, László
First Report of *Trichophyton indotineae* Infection in Hungary
JOURNAL OF FUNGI 11 : (4) Paper: 248 , 10 p. (2025)
IF: 4.2 **
Független idéző: 1 Összesen: 1

Könyvrészlet

Felsőoktatási tankönyv része
Majoros, László
Immunkompromittált betegek infekció
6. eset
In: Nagy, E; Sonnevend, Á; Reuter, G (szerk.) Klinikai mikrobiológiai esetismertetések
Budapest, Magyarország : Medicina Könyvkiadó (2016) 430 p. pp. 385-388. , 4 p.

Egyéb tudományos

Hozzászólás, helyreigazítás

1. Barta, Z ✉ ; Csípő, I ; Mekkel, G ; Zeher, M ; Majoros, L
   Seroprevalence of *Mycobacterium paratuberculosis* in Patients with Crohn's Disease
   JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY 42 : (11) pp. 5432-5433. , 2 p. (2004)
   Független idéző: 9 Összesen: 9
2. Majoros, L ✉ ; Kardos, G ; Feiszt, P ; Szabó, B
   Efficacy of amphotericin B and flucytosine against fluconazole-resistant *Candida inconspicua* clinical isolates
   JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 56 : (1) pp. 253-254. , 2 p. (2005)
   Független idéző: 4 Függő idéző: 3 Összesen: 7
3. Majoros, László ✉ ; G, Kardos ; Szabó, B ; M, Kovács ; A, Maráz
   Fluconazole susceptibility testing of *Candida inconspicua* clinical isolates: comparison of four methods
   JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 55 : (2) pp. 275-276. , 2 p. (2005)
   Független idéző: 7 Függő idéző: 3 Összesen: 10
4. Varga, I ; Sóczó, G ; Kardos, G ; Borbély, Á ; Szabó, Z ; Kemény-Beke, Á ; Majoros, L ✉
   Comparison of killing activity of caspofungin against *Candida parapsilosis, Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*
   JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 62 : (6) pp. 1466-1468. , 3 p. (2008)
   Független idéző: 8 Függő idéző: 7 Összesen: 15
   Utánközlés
5. Kovacs, R ; Toth, L ; Holzkneczt, J ; Papp, C ; Borics, A ; Hargitai, Z ; Farkas, A ; Kovacs, I ; Majoros, L ; Marx, F et al.
   In vivo application of *Neosartorya fischeri* antifungal protein 2 (NFAP2)
   ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 66 : (S1) pp. 57-58. , 2 p. (2019)

Oltalmi formák

Magyar szabadalom

Dombrádi, V ; Aradi, J ; Fésüs, L ; Majoros, L ; Farkas, I ; Gergely, L ; Tátrai, Á
Candida elleni hatóanyag
P0600626 , Benyújtás éve (szabadalom): 2006 , Benyújtás országa: Magyarország

Nemzetközi szabadalom

Kéki, Sándor ; Kiss, Alexandra ; Majoros, László ; Nagy, Miklós ; Nagy, Zsolt László ; Pócsi, István ; Rácz, Dávid ; Szemán-Nagy, Gábor ; Máthéné Szigeti, Zsuzsa ; Tálas, László et al.
Ican derivatives for antifungal use
WO2021130509 , Benyújtás éve (szabadalom): 2020 , Benyújtás országa: Magyarország
Oltalmi formák (Nemzetközi szabadalom) Tudományos

12.3. 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 folyóiratcikk[2]	98		1184	1583
teljes cikk, nemzetközi folyóiratban		82	1072	1435
teljes cikk, hazai idegen nyelvű folyóiratban		6	44	58
teljes cikk, hazai magyar nyelvű folyóiratban		0	0	0
teljes cikk, rövid közlemény		10	68	90

SJR értékelés	Száma		Hivatkozások[1]	
	Összesen	Meghatározó szerzős	Összesen	Meghatározó szerzős
Q1 kategóriájú folyóiratcikk	59	25	1114	522
- ebből D1 kategóriájú folyóiratcikk	23	12	691	415
Q2 kategóriájú folyóiratcikk	29	16	352	184
Q3 kategóriájú folyóiratcikk	9	2	113	22
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	1		0	0
Könyvfejezet idegen nyelvű		0	0	0
Könyvfejezet magyar nyelvű		0	0	0
Felsőoktatási tankönyvfejezet		1	0	0
IV. Konferenciaközlemények	0		0	0
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	99		1184	1583
V. Egyéb tudományos	5		28	41
Egyéb tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is		1	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok		4	28	41
VI. Absztrakt	56		4	8
VII. Oltalmi formák	2		0	0
a, oltalmi forma		0	0	0
b, szabadalom		2	0	0
Összesen	162		1216	1632
Összesített impakt faktor	310,652			
Hirsch index[1]	22			

Speciális tudománymetriai adatok	Adat
Első szerzős folyóiratcikkek száma (az összes %-ban)[3]	5 (5,1%)
Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma (az összes %-ban)	39 (39,8%)
Levelező szerzős folyóiratcikkek száma	36
Első és utolsó szerzőségű folyóiratcikkek impakt faktorai	130,003
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	61
Impakt faktor összege	237,025
Folyóiratcikkek, 15-nél több szerzővel	1

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