

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Bakteriális szekunder metabolitok hatása klinikailag
releváns *Candida* fajok ellen**

Kovács Fruzsina

Témavezető: Dr. Kovács Renátó



DEBRECENI EGYETEM

Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2026

**Bakteriális szekunder metabolitok hatása klinikailag releváns *Candida*
fajok ellen**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészeti tudományok tudományágban

Írta: Kovács Fruzsina okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskolája
(Mikrobiológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Kovács Renátó, PhD

Az értekezés bírálói: Dr. Domán Marianna, PhD

Dr. Paholcsek Melinda, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Juhász Béla, az MTA doktora

tagok: Dr. Domán Marianna, PhD

Dr. Paholcsek Melinda, PhD

Dr. Fehér Enikő, PhD

Dr. Varga István, PhD

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati
Intézet „A” épület tanterme, 2026. 04. 01. 13 óra

Bevezetés

A baktériumok és gombák közötti interakcióknak több típusa ismert, például a szimbiózis, az antagonizmus és a kompetíció, amelyek mind természetes mind pedig mesterséges környezetben előfordulnak. Az élő szervezetekben megfigyelhető baktérium–gomba kölcsönhatások esetében elsősorban a szimbionta kapcsolatokat említik, mint a normál mikrobiota működését és stabilitását biztosító jelenségeket. A baktériumok és a gombák azonban nem minden esetben élnek harmonikus együttélésben. Amennyiben a környezeti feltételek megváltoznak — például fertőzés, antibiotikumkezelés vagy más stresszhatás következtében —, a biológiai védekezési mechanizmusok aktiválódása révén gyakran antagonista kölcsönhatások alakulnak ki. Ezen antagonista interakciók tanulmányozása nemcsak a mikrobiális közösségek működését meghatározó ökológiai törvényszerűségek mélyebb megértését segíti elő, hanem új ötletek és stratégiák kidolgozását is lehetővé teszi a fertőző betegségek megelőzésének és kezelésének területén.

A gomba–baktérium asszociált megbetegedések komoly terhet rónak az emberi egészségre és az egészségügyi ellátórendszerre, ezért nem meglepő, hogy egyre fokozódik az érdeklődés ezen kölcsönhatások részletes vizsgálata iránt. A *Candida* fajokkal összefüggő polimikrobiális fertőzések előfordulásáról egyre több klinikai tanulmány számol be. A publikált adatok alapján az invazív candidiasisban szenvedő betegek esetében az esetek több mint 20%-ában polimikrobiális fertőzés áll a háttérben. Jól ismert, hogy a *Candida* fajok gyakran más baktériumfajokkal együtt kolonizálják a szervezet különböző anatómiai helyeit.

A polimikrobiális interakciók az utóbbi években a mikrobiológiai kutatások egyik kiemelt területévé váltak. Mivel az antibiotikum- és antifungális szerek iránti rezisztencia világszerte növekvő problémát jelent, egyre sürgetőbbé vált a mikrobiális kölcsönhatások pontosabb feltárása — különös tekintettel a *Candida* fajok által okozott polimikrobiális fertőzések patogenezisének és terápiás lehetőségeinek megértésére.

Számos bizonyíték alátámasztja, a bél traktusban található kommenzalista *Candida albicans* központi szerepét a szisztémás candidiasis kialakulásában. A *C. albicans* fő virulenciafaktorai közé tartozik morfológiai plaszticitása, vagyis az a képessége, hogy élesztő formából fonalas alakba tud átalakulni. Az élesztősejtek a gazdasejtekhez való tapadást követően hifákat képeznek, amelyek lehetővé teszik a bél nyálkahártyájába történő behatolást, így a gomba képes a mélyebb szöveti rétegekbe jutva invazív fertőzést okozni. Számos tanulmány kimutatta, hogy a gasztrointesztinális traktus normál flórájában jelen lévő baktériumok által termelt metabolitok képesek gátolni a *C. albicans* virulenciáját, ezáltal hozzájárulnak a mikrobióta és a bélrendszer

homeosztázisának fenntartásához. Ezen gombaellenes hatásoknak köszönhetően az utóbbi években megnőtt az érdeklődés a potenciálisan probiotikus fajok iránt, mint például a *Bacillus subtilis*. Egyrészt a *B. subtilis* spórák képesek modulálni a gazdaszervezet immunválasztát; másrészt a baktérium vegetatív formája enzimeket, antioxidánsokat és vitaminokat bocsájt ki, amelyek támogatják az emésztést. A *B. subtilis* által termelt exopoliszacharidok immunmoduláló hatása mellett, megelőzhetik az enterális kórokozók által kiváltott gyulladásos betegségeket is. Ezenfelül a *B. subtilis* több törzse antimikrobiális vegyületeket képes kiválasztani, elősegítve az optimális mikrobiális egyensúly fenntartását. Általánosságban a *B. subtilis* hatékony forrása a természetes, gombaellenes (köztük *Candida* ellenes) hatású vegyületeknek.

Ezek közül a természetes vegyületek közül a surfactin egy *B. subtilis* eredetű ciklikus lipoproteid, amely elsősorban a Gram-pozitív baktériumok ellen mutat aktivitást. Újabb kutatások feltárták, hogy a surfactin hatással van az élesztőgombákra is, ugyanis hatékonyan csökkenti a *C. albicans* adhéziós képességeit és a gombasejtek hidrofobicitását. Mindazonáltal a surfactin hatását a *C. albicans*-ra még nem vizsgálták kellő mértékben, és a surfactin által kiváltott élettani hatások mögötti molekuláris mechanizmusok továbbra sem tisztázottak. Annak megértése, hogy a surfactin miként befolyásolja a *C. albicans* fiziológiai és genetikai tulajdonságait, kulcsfontosságú lenne a jövőbeli probiotikumok fejlesztése szempontjából.

A gomba–baktérium közötti antagonista interakciók szempontjából az egyik legjobban tanulmányozott modell a *Pseudomonas aeruginosa* és a *C. albicans* közötti interakció. Mivel mindkét mikroba a normál flóra tagja lehet, gyakran együttesen kolonizálják a gazdaszervezet különböző anatómiai helyeit. Mindkét faj képes biofilm képzésére, ezért gyakran társulnak beültetett orvosi eszközökhöz köthető invazív fertőzésekhez. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy a gombaellenes hatásért többek között a *P. aeruginosa* által termelt N-(3-oxododekanoil)-L-homoszerin-lakton (HSL) tehető felelőssé. A szakirodalmi adatok alapján a HSL a *P. aeruginosa* elsődleges quorum-sensing molekulája. Ez a jelátvivő molekula kulcsszerepet játszik a bakteriális virulenciafaktorok termelésének szabályozásában. A *Pseudomonas–Candida* interakció szempontjából korábban kimutatták, hogy gátolja a *C. albicans* hifaképződését, csökkenti a biofilmképződést, valamint apoptózist indukál a gombasejtekben. Ezek a *C. albicans* esetében leírt HSL által közvetített hatások nem feltétlenül extrapolálhatók közvetlenül a különböző non-*albicans* fajokra, ahogy ez korábban más molekulák vagy vegyületek esetén már bizonyítást nyert.

A non-*albicans* fajok vonatkozásában az egyik legveszélyesebb és legdinamikusabban terjedő kórokozó a *C. auris*, amelyet a 2009-es azonosítása óta a világ szinte minden régiójában leírtak

már. Gyors terjedése miatt napjainkra komoly globális közegészségügyi fenyegetéssé vált. A többi *Candida* fajtól eltérően a *C. auris* rendkívüli mértékben képes alkalmazkodni a szélsőséges környezeti feltételekhez, és hatékonyan kolonizálja mind az élő, mind az élettelen felszíneket. A *C. auris* nagyfokú rezisztenciát mutat a legtöbb gombaellenes szerrel szemben, ami hozzájárul az egészségügyi ellátással összefüggő, nehezen kontrollálható *C. auris* okozta nozokomiális járványok kialakulásához.

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a *C. auris* által kolonizált bőr felszíneken a kommenzális Gram-pozitív fajok dominanciája jelentősen csökken, miközben döntően Gram-negatív baktériumok, mint például a *P. aeruginosa*, válik meghatározóvá. A megfigyelések ellenére jelenleg nincs elegendő információ arra vonatkozóan, hogy a *P. aeruginosa*, hogyan befolyásolja-e a *C. auris* fiziológiai tulajdonságait, illetve, hogy a *P. aeruginosa* által termelt quorum-sensing molekula, a HSL, képes-e közvetlen kölcsönhatásba lépni a *C. auris* sejtekkel. Az eddig ismert adatok alapján jelen disszertációban átfogó fiziológiai és molekuláris elemzéseket végeztünk annak vizsgálatára, hogy a különböző baktériumfajok által termelt szekunder metabolitok és/vagy quorum-sensing molekulák milyen gombaellenes hatással rendelkeznek a két klinikailag meghatározó *Candida* fajjal szemben. Kutatásunk első szakaszában a *B. subtilis*-ből származó szekunder metabolit, a surfactin gombaellenes tulajdonságait vizsgáltuk *C. albicans* ellen. Míg a kutatásunk második részében a *P. aeruginosa*-ból származó quorum-sensing molekula, a HSL *C. auris*-ra gyakorolt hatását vizsgáltuk. Bízunk benne, hogy eredményeink hozzájárulnak új, innovatív terápiás megközelítések kidolgozásához a *Candida* fertőzésekkel szemben, valamint rávilágítanak a *Candida* nemzetségen belül előforduló fajok közötti fiziológiai és molekuláris különbségekre.

Célkitűzés

A szakirodalmi adatok alapján elmondható, hogy az egyes baktériumok által termelt quorum sensing molekulák, illetve szekunder metabolitok antifungális tulajdonsággal is rendelkezhetnek, ezáltal képesek gátolni a környezetükben lévő gombasejtek növekedését és ezzel együtt ezen sejtek életképességét.

Ezeket a szempontokat figyelembe véve kísérletes munkánk célja volt, hogy feltárjuk, a különböző baktériumok által termelt quorum sensing molekulák milyen mértékben képesek gátolni a *C. albicans* és *C. auris* által okozott fertőzések kialakulását, valamint meghatározzuk antifungális hatásuk lehetséges mechanizmusait.

Kutatásunk első részében a *C. albicans* esetében vizsgáltuk a potenciálisan probiotikumként használható *B. subtilis* által termelt szekunder metabolit, a surfactin hatását a gomba növekedésére, morfológiájára és virulenciájára.

A vizsgálatok második részében a *C. auris* esetében elemeztük a *P. aeruginosa* által termelt HSL molekula gátló hatását, majd összehasonlítottuk az így kapott eredményeket a *C. albicans* esetében tapasztaltakkal.

Anyagok és módszerek

A kísérletekben használt izolátumok és tenyésztési körülmények

A kísérletekhez a dél-ázsiai (indiai) kládba tartozó *C. auris* (NCPF 8973) izolátumot és a *C. albicans* (SC5314) referencia törzset használtuk. A törzsgyűjteményünkben található *C. auris* izolátumok az Egyesült Királyság Nemzeti Mikológiai Referencia Laboratóriumából származnak, valamint az izolátumok kládszintű besorolását Andrew M. Borman és munkatársai végezték a 28S rRNS és/vagy ITS1 régiókra irányuló szekvenálási adatok alapján (Borman és mtsai. 2017). Mindkét gombatörzset Sabouraud dextróz agaron tenyésztettük 37 °C-on (a táptalaj összetétele: pepton 1%, dextróz 4%, agar 1,5%, klóramfenikol 0,4%, pH 5,6 ± 0,2; Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA).

A *Candida* sejtek növekedésének vizsgálata különböző kezelések hatására

A kísérletek során 128 mg/l végkoncentrációjú surfactint (Merck, Budapest, Magyarország) alkalmaztunk, amely megfelel a különböző *B. subtilis* törzsek által termelt fiziológiás mennyiségnek (Al-Ajlani és mtsai. 2007). A HSL-t (Merck, Budapest, Magyarország) 50–200 µM koncentrációtartományban vizsgáltuk, azaz mind szubfiziológiás (50–100 µM) mind pedig fiziológiás (200 µM) koncentrációkon, az *in vitro*, és az *in vivo* kísérletek esetében (Charlton és mtsai. 2000). Az vizsgált koncentrációkat a gyártó által előírt oldószerekben készítettük el: a surfactint etanolban, a HSL-t dimetil-szulfoxidban (DMSO; VWR, Debrecen, Magyarország) oldottuk fel. A végső oldószerkoncentráció ≤1% (v/v) maradt a vizsgált metabolit koncentrációkban. Ezzel biztosítottuk, hogy a kísérletek során kimutatott gátló hatás kizárólag a surfactin és a HSL valódi aktivitásának legyen tulajdonítható.

A *C. albicans* és *C. auris* előtenyésztett kultúrákat 5 ml YPD folyékony táptalajban (Yeast Peptone Dextrose; Merck, Budapest, Magyarország) tenyésztettük 37 °C-on egy éjszakán át. A tenyészeteket ezután 0,1 optikai sűrűsége (OD₆₄₀) hígítottuk, majd 20 ml-es végtérfogatban 100 ml-es Erlenmeyer-lombikokban, 37 °C-on, 2,3 Hz rázási sebességgel inkubáltuk. Négyórás inkubációt követően a tenyészetekhez surfactint pipettáztunk 128 mg/l végkoncentrációban. A HSL alapú kísérleteknél 100, illetve 200 µM végkoncentrációban vizsgáltuk a quorum sensing molekula által kifejtett hatást. A mikrobiális növekedést a tenyészetek optikai sűrűségének (OD₆₄₀), valamint száraz sejt tömeg (DCM) időbeli változásával követtük nyomon. Az intracelluláris fémtartalom meghatározásához, valamint a transzkriptomikai vizsgálatokhoz a tenyészeteket 4 órás surfactin- és HSL kezelést követően elemeztük.

A *Candida albicans* dimorfizmusának vizsgálata surfactin-kezelés hatására

A növekedési vizsgálatokkal párhuzamosan megvizsgáltuk a surfactin hatását a *C. albicans* morfológiájára. A gombasejteket RPMI-1640 folyékony tápközegben (Roswell Park Memorial Institute 1640 medium; Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) tenyésztettük 8 rekeszes Permanox tárgylemezek felületén, 37 °C-on (Lab-Tek® Chamber Slide™ System; VWR, Debrecen, Magyarország). A surfactinnal kezelt tenyészeteket 4, 5, 6 és 8 órás inkubációs végpontokra osztottuk. A kezelést a 0. időpontban, 128 mg/l végkoncentrációval végeztük. Az inkubáció befejeztével a kamrákat steril fiziológiás sóoldattal mostuk, a sejtekre 10 µl immerziós olajat cseppentettünk, és fáziskontraszt mikroszkóp segítségével (Zeiss Axioskop 2 MOT, Zeiss AxioCam HRC kamerával) vizsgáltuk a morfológiai változásokat. A képeket a Zeiss Axiovision 4.8.2 szoftverrel rögzítettük.

A *Candida* sejtek kezdeti adhéziójának és korai biofilmképző képességének vizsgálata HSL kezelést követően

A szeszilis *Candida* sejtek metabolikus aktivitásának meghatározásához a gomba izolátumokat RPMI-1640 folyékony tápközegben (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) tenyésztettük 96 lyukú steril mikrotiterlemezekben (TPP, Trasadingen, Svájc). A *C. albicans* és *C. auris* szuszpenziókat 1×10^6 CFU/ml koncentrációra állítottuk be, majd 100 µl-nyi mintát adagoltunk minden lyukba. A lemezeket 37 °C-on inkubáltuk, különböző időpontokig (2, 4, 6 és 8 óra). A kezelést a nulladik időpontban végeztük, illetve 100 és 200 µM HSL koncentrációk alkalmazásával. Az egyes inkubációs végpontokat követően a tenyészeteket steril fiziológiás sóoldattal mostuk, majd a tapadó sejtek metabolikus aktivitását [2,3-bisz(2-metoxi-4-nitro-5-szulfofenil)-2H-tetrazólium-5-karboxanilid] assay (XTT assay) segítségével határoztuk meg (Georgiou és mtsai. 1992; Hawser 1996). A méréseket 492 nm hullámhosszon, Multiskan Sky Microplate spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) végeztük. A metabolikus aktivitás százalékos változását a 492 nm-en mért abszorbanciaértékek alapján számítottuk ki: $100\% \times (A_{\text{kultúra}} - A_{\text{háttér}}) / (A_{\text{gyógyszermentes kultúra}} - A_{\text{háttér}})$, ahol „A” a mért abszorbancia értéket jelöli. A vizsgálatokat három, egymástól független ismétlésben végeztük el, és minden időpontra meghatároztuk az átlag \pm szórás értékét.

A metabolikus aktivitáson alapuló vizsgálatokat széles látómezőjű fluoreszcens mikroszkópos megfigyelésekkel egészítettük ki. A *C. albicans* és *C. auris* adhézióját 8 rekeszes Permanox tárgylemezek felületén, statikus körülmények között, 37 °C-on, 24 órás inkubációval vizsgáltuk (Lab-Tek® Chamber Slide™ System; VWR, Debrecen, Magyarország). A HSL-t a

tenyészetekhez a nulladik időpontban adtuk hozzá (100 és 200 μM végkoncentrációban), és a mintákat 2, 4, 6 és 8 órás inkubálás után értékeltük. Az inkubáció végén a kamrákat steril fiziológiás sóoldattal mostuk, majd a sejteket 20 μl , 3 mg/ml koncentrációjú Calcofluor White festékkel jelöltük meg (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). A festék specifikusan kötődik a gombasejtfalban található kitinhez. A festést követően a mintákat további 30 percig inkubáltuk 37 °C-on, majd 10 μl immerziós olajat helyeztünk a tárgylemezre. A morfológiai változásokat Zeiss Axioskop 2 MOT fluoreszcens mikroszkóppal, Zeiss AxioCam HRC kamerával dokumentáltuk, a képeket a Zeiss Axiovision 4.8.2 szoftverrel készítettük.

A *Candida* sejtek intracelluláris fémtartalmának meghatározása surfactin- illetve HSL kezelést követően

A gombasejtek tenyésztését, valamint a surfactin- és HSL kezeléseket a korábban ismertetett protokollok szerint végeztük. A kezelést követő 4 órában a tenyészetekből centrifugálással (5 perc, 4000 g, 4 °C) gyűjtöttük össze a *Candida* sejteket. Az így összegyűjtött sejteket liofilizáltuk, majd a liofilizált biomassza intracelluláris fémtartalmát – vas (Fe), cink (Zn), réz (Cu) és mangán (Mn) – induktívan csatolt plazma optikai emissziós spektrometriával (ICP-OES; 5110 Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) határoztuk meg (Jakab és mtsai. 2021; 2024). A mérésekhez a liofilizált mintákat analitikai mérlegen (Precisa ES 225SM-DR) pontosan kimértük, majd atmoszférikus nedves emésztést végeztünk 3 ml 65%-os (m/m) salétromsav (HNO_3 ; Merck, Budapest, Magyarország) és 1 ml 30%-os (m/m) hidrogén-peroxid (H_2O_2 ; Merck, Budapest, Magyarország) elegyének felhasználásával. Az emésztett mintákat veszteségmentesen műanyag centrifugacsövekbe vittük át, majd 0,1 M, ultratiszta vízzel készített HNO_3 oldattal 12 ml végső térfogatra hígítottuk (Synergy UV; Merck, Budapest, Magyarország). A feldolgozott mintákat az ICP-OES mérésig szobahőmérsékleten tároltuk. Az intracelluláris fémtartalmat DCM-egységekben (mg/kg száraz sejtömeg, Dry Cell Mass) adtuk meg, három párhuzamos mérés alapján, az eredményeket átlag \pm szórás formában közölve.

A HSL hatása a *Candida* fajok virulenciájára *in vivo* körülmények között

Az *in vivo* kísérletek során BALB/c immunszuppresszált nőstény egereket (21–23 g; Charles River Laboratories, Wilmington, MA, USA) használtunk a HSL expozíció *C. auris* virulenciájára gyakorolt hatásának vizsgálatához, a *C. albicans*-szal kapott eredményekkel összehasonlítva. Az állatokat a „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” előírásainak megfelelően tartottuk, és a kísérleteket a Debreceni Egyetem Munkahelyi

Állatjóléti Bizottság jóváhagyásával végeztük (engedélyszám: 12/2014 DEMÁB és 8/2024 DEMÁB).

A permanens immunoszuppressziót intraperitoneális ciklofoszfamid adagolással értük el: a fertőzést megelőző 4. napon 150 mg/kg, közvetlenül a fertőzést megelőző napon 100 mg/kg, majd a fertőzést követő 2. és 5. napon ismét 100–100 mg/kg dózisban adtuk be a ciklofoszfamid oldatot. A fertőzést intravénásan, a laterális farokvénán keresztül végeztük, *C. auris* esetében 8×10^6 CFU/egér, *C. albicans* esetében 2×10^4 CFU/egér dózis alkalmazásával. A HSL kezeléseket (50, 100 és 200 μ M HSL 0,5 ml fiziológiás sóoldatban) 24 órával az oltást követően kezdtük meg, és 5 egymást követő napon intraperitoneálisan adtuk be a kb. 0,35, 0,70 és 1,40 mg/ttkg-nak megfelelő dózisokat. A kontrollcsoport steril fiziológiás sóoldatot kapott. A fertőzést követő 6. napon az egereket cervikális diszlokációval termináltuk. A boncolás során a veséket eltávolítottuk, lemértük, majd aseptikus körülmények között homogenizáltuk. A homogenizátumokból tízszeres hígítási sorozatot készítettünk, és minden hígításból 100 μ l-t Sabouraud dextróz szilárd táptalajokra (VWR, Debrecen, Magyarország) szélesztettünk. A lemezeket 48 órán át inkubáltuk 37 °C-on (Jakab és mtsai. 2019; Nagy és mtsai. 2020). Az inkubáció után megszámloltuk a kinőt gombatelepeket, és ezek alapján határoztuk meg a vesékben található életképes gombasejtek mennyiségét. A módszer kimutatási határa 100 CFU/g szövet volt.

Mind a kezelt, mind a kezeletlen egerek veséit szövettani feldolgozásra küldtük a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Kenézy Gyula Campusának Patológiai Osztályára. A formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetmintákból 4 μ m vastag metszeteket készítettek, majd hematoxilín-eozin festést és periódussav–Schiff (PAS) festést alkalmaztak a gombasejtek kimutatására.

RNS-izolálás

A növekedési vizsgálatokban leírt módon a tenyészetekből 4 órás surfactin- illetve HSL kezelést követően, mintánkként 20 ml tenyészetből centrifugálással (5 perc, 4000 g, 4 °C) gyűjtöttük össze a *Candida* sejteket. A sejteket háromszor mostuk 4 °C-os steril fiziológiás sóoldattal, majd a további feldolgozásig –70 °C-on tároltuk. A teljes RNS-t liofilizált sejtekből izoláltuk (CHRIST Alpha 1–2 LDplus liofilizátor; Osterode, Németország) a Chomczynski által leírt módszer alapján (Chomczynski 1993), az Eukaryotic Total RNA Nano Kit gyártói protokollját követve. Az RNS-minták minőségét és mennyiségét a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Genomikai Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratóriumában ellenőrizték NanoDrop ND-1000 spektrofotométerrel (Thermo Scientific,

USA) és Agilent 2100 BioAnalyzer készüléssel (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

Újgenerációs RNS-szekvenálás (RNS-seq)

A cDNS-könyvtárak előkészítését, az RNS-minták szekvenálását és az adatelemzést a Debreceni Egyetem Orvostudományi Karának Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetében, a Genomikai Medicina és Bioinformatikai Központban végeztük.

A könyvtárakat 0,25 µg jó minőségű teljes RNS felhasználásával készítettük el az NEBNext RNA Sample Preparation Kit (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) segítségével. A szekvenálás Illumina NextSeq 500 készülékkel (Illumina, San Diego, CA, USA) történt, 75 bp hosszúságú read-ek segítségével. A *C. albicans* minták esetében 22,5–31,4 millió, a *C. auris* mintáknál 18,6–23,1 millió leolvasást rögzítettünk. A nyers szekvenciaadatok minőségét a FastQC szoftverrel ellenőriztük (Andrews 2010).

Az illesztéseket a HISAT2 v2.1 és SAMtools programok segítségével végeztük a *C. albicans* SC5314 (GCF_000182965.3) és *C. auris* B8441 (GCA_002759435.2) referencia-genomokhoz (NCBI). Az illesztési arány minden mintánál $\geq 93\%$ volt. Az adatok feldolgozását és normalizálását a StrandNGS 4.0 szoftverben végeztük. A normalizált transzkripciós értékek meghatározásához a DESeq2 algoritmust alkalmaztuk. A differenciálisan expresszázó géneket (DEG-eket) t-próbával, Benjamini–Hochberg-féle FDR korrekcióval azonosítottuk; szignifikánsnak azokat a géneket tekintettük, amelyek esetében $p < 0,05$ és a fold change (FC) $> 1,5$ vagy $< -1,5$ értéket mutatott. A transzkriptomok főkomponens-analízisét (Principal Component Analysis, PCA) szintén a StrandNGS 4.0 programmal készítettük el.

Az RNS-szekvenálási adataink a Gene Expression Omnibus adatbázisban megtalálhatóak (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). A surfactin kezelés során kapott eredményeink a GEO sorozat GSE199383, míg a HSL kezeléshez kapcsolódó eredményeink a GSE271513 hozzáférési szám alatt elérhetőek el.

Génkészlet dúsulási elemzés (GSE)

A felül- és alulszabályozott génekhez kapcsolódó biológiai folyamatokat funkcionális génkészlet dúsulási elemzéssel (Gene Set Enrichment, GSE) vizsgáltuk a Candida Genome Database Gene Ontology Term Finder (<http://www.candidagenome.org>) és a FungiDB (<https://fungidb.org>) adatbázisok felhasználásával. A GO (Gene Ontology), a FunCat (Functional Catalogue) és a KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) kategóriákat

a FungiFun2 v2.2.8 szoftver segítségével elemeztük. Csak azokat az eredményeket vettük figyelembe, ahol a korrigált p érték kisebb volt, mint 0,05 volt.

Kvantitatív reverz transzkripció polimeráz láncreakció (RT-qPCR)

A surfactin- és HSL kezelés által kiváltott transzkripció változások megerősítésére RT-qPCR-analízist végeztünk. A vizsgálatokat a Luna Universal One-Step RT-qPCR Kit (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) segítségével, a gyártó előírásai szerint hajtottuk végre. Minden reakció 500 ng DNáz-kezelt (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) teljes RNS-t, valamint 0,4 μM génspecifikus oligonukleotid primerpárokat tartalmazott (az 1. és 2. melléklet). A reakcióelegy összetétele a következő volt: 10 μl reakciós mix, 1 μl enzimmix, 0,8 μl 10 μM „Forward” és 0,8 μl 10 μM „Reverse” primer, 5 μl templát RNS és 2,4 μl RNáz-mentes vízzel egészítettük ki a 20 μl végső térfogat eléréséhez. Minden mintát három, egymástól független ismétlésben vizsgáltunk. A primerek tervezését az Oligo Explorer (v1.1) és Oligo Analyzer (v1.0.2) szoftverekkel végeztük.

A transzkripció szinteket LightCycler 480 II valós idejű PCR készülékkel (Roche, Bázél, Svájc) határoztuk meg. A relatív transzkripció értékeit a $\Delta\Delta\text{Ct}$ módszerrel számítottuk: $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}_{\text{kezelt minta}} - \Delta\text{Ct}_{\text{kezeletlen minta}}$, ahol a $\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{vizsgált gén}} - \text{Ct}_{\text{referencia gén}}$, ahol a Ct érték a PCR ciklus azon pontját jelöli, amikor a fluoreszcencia átlépi a detekciós küszöböt. A $\Delta\Delta\text{Ct}$ növekedése a vizsgált gén relatív transzkripciójának emelkedését jelzi a kezeletlen kontrollhoz képest. Endogén kontrollként *C. albicans* esetében a C2_02740C (*HPT1*) és C1_13700W (*ACT1*), míg *C. auris* esetében a B9J08_000486 (*ACT1*) géneket használtuk.

Statisztikai elemzés

A növekedési kísérleteket és az intracelluláris fémtartalom-meghatározásokat három ismétlésben végeztük; az eredményeket átlag \pm szórás formában közöltük. A kezelt és kezeletlen minták közötti különbségek statisztikai összehasonlítását párosított Student-féle t -próbával végeztük (GraphPad Prism 10.0). A különbséget $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak. Az *in vivo* kísérletek esetében a veseszövet gombaterhelését Kruskal–Wallis-teszttel és Dunn-féle utóteszttel értékeltük, szintén $p < 0,05$ szignifikanciaszinttel.

A géndúsulási vizsgálatok statisztikai elemzéséhez Fisher-féle egzakt próbát alkalmaztunk az R programnyelv (v4.1.1) és a „stats” csomag (v3.5.3) segítségével. A kiértékelés során a $\pm 1,5$ -nél nagyobb „fold change” értéket mutató, $p < 0,05$ szignifikanciaszintű géneket tekintettük relevánsnak. A grafikus megjelenítéseket GraphPad Prism 10.0 szoftverrel készítettük.

Eredmények

A surfactin hatása a *Candida albicans* növekedésére és morfológiájára

Kísérletes munkánk első lépésében vizsgáltuk a 128 mg/l-es surfactin kezelés hatását a *C. albicans* növekedésére különböző expozíciós időkben. A gombatenyészeteket 4 órás előtenyésztést követően kezeltük meg surfactin-nal, majd ezt követően 1, 2 és 4 órás expozíciós időt követően határoztuk meg a tenyészetek növekedését az abszorbancia értékük és a DCM változásán keresztül. Az eredmények kiértékelése során azt tapasztaltuk, hogy a surfactin kezelés már 1 órás inkubációt követően képes volt gátolni a gombasejtek növekedését, melyet mind az abszorbancia (kontroll: $0,96 \pm 0,04$, kezelt: $0,75 \pm 0,02$ OD₆₄₀-nél) (10A ábra), mind a DCM eredmények (kontroll: $0,95 \pm 0,1$ g/l, kezelt: $0,6 \pm 0,15$ g/l, $p < 0,01$) (10B ábra) egyaránt alátámasztanak. Továbbá, ez a szignifikáns gátló hatás az általunk vizsgált későbbi időpontokban is még kimutatható volt (6 óra inkubáció; kontroll: $1,5 \pm 0,2$ g/l, kezelt: $0,7 \pm 0,1$ g/l DCM, és 8 óra inkubáció; kontroll: $3,2 \pm 0,3$ g/l és kezelt: $1,0 \pm 0,2$ g/l DCM) ($p < 0,01$ – $0,001$).

A morfológia vizsgálatok során a fonalas morfológiát mutató struktúrák, vagyis a hifák és pszeudohifák típusa és aránya szignifikánsan különbözött az élesztőformákhoz képest, mind a kezelt mind a kezeletlen tenyészetek esetében. A különböző morfológiát mutató gombasejteket statisztikai/kvantitatív szempontból vizsgálva, azt tapasztaltuk, hogy a 4 órás kezelést követően a hifák (8 órás inkubációt követően a kontroll: $14,33\% \pm 1,53\%$, a kezelt: $10,33\% \pm 2,08\%$; $p < 0,05$) és a pszeudohifák aránya szignifikánsan alacsonyabb volt a surfactin-nal kezelt tenyészetekben a kezeletlen kontroll tenyészetekhez viszonyítva (kontroll: $29,66\% \pm 3,06\%$, kezelt: $22,67\% \pm 3,05\%$; $p < 0,05$).

A *Candida albicans*-ban indukálódó transzkripciós változások surfactin kezelést követően

Az RNS szevenálással nyert adatok elemzése kimutatta, hogy a surfactin jelentős mértékben befolyásolja a *C. albicans* gének transzkripcióját, ami jelentős változásokat indukál a teljes transzkriptomban is. A surfactin-nal kezelt *C. albicans* sejtek teljes transzkripciós profiljának elemzése során 1389 gén transzkripciója változott meg szignifikánsan a kezeletlen tenyészetekhez viszonyítva. Ezen gének közül 773 szignifikánsan fel- és 617 szignifikánsan alul szabályzódott a surfactinnal kezelt mintákban a kezeletlen kontrollokhoz képest.

A gombasejtekben a surfactin kezelés hatására indukálódó különböző élettani folyamatok mögött húzódo molekuláris szintű mechanizmusok megismerése érdekében a géneket funkciójuk alapján csoportokba rendeztük. A surfactin kezelés hatására a legnagyobb változás a transzmembrán transzportban részt vevő gének transzkripciójában volt megfigyelhető. A fokozott transzkripciót mutató gének közül a multidrog transzporterek (pl.: *MDR1* és *FLU1*), valamint a szénhidrát transzportban szerepet játszó géneket (*HGT1*, *HGT10*, *HGT14*, *HGT18*, *HXT5*, *NAG3*, *SFC1*, *GAL102* stb.) azonosítottunk. Mindemellett az oxidatív stresszhez köthető folyamatokban szerepet játszó gének transzkripció mintázata is szignifikáns növekedést mutatott, mint például a glutation anyagcseréhez köthető gének esetében (*GTT11*, *GTT12*, *GTT13*, *GCSI*, *GST2*, *C5_01560C* és *TTR1*) vagy az intracelluláris fémionok közül a vas, a réz és a cink ionok sejten belüli homeosztázisában szerepet játszó gének esetében. A vas homeosztázisban résztvevő gének közül elsősorban a vas reduktázokat kódoló gének transzkripciója fokozódott (*CFL4*, *CFL11*, *CR_07300W*, *C7_00430W*, *FRE7* és *FRE9*), továbbá a réz oxidázok (*FET99* és *CCC2*), a sziderofór transzport (*SIT1*) és a *SEF1* transzkripció faktort kódoló gének transzkripciója is megnövekedett. A réz intracelluláris szabályozásában résztvevő gének esetében elsősorban a *MAC1* transzkripció faktor, különböző chaperonok és réztranszporterek (*CCS1*, *CTR1* és *CCC2*) transzkripciója felülszabályozódott, de a cink anyagcserével kapcsolatos gének (*CSRI* és *PRA1* – transzkripció faktor és sejt felszíni fehérje) esetében is hasonlóan magas transzkripció mintázat volt megfigyelhető a surfactin kezelést követően a kezeletlen tenyészetekhez viszonyítva.

Ugyanakkor az említett fémionok vonatkozásában csökkent transzkripciót mutattunk ki a ferri-permeázok (*FTR1* és *FTR2*), a hemoglobin hasznosításához kapcsolódó gének (*HMX1*, *PGA10* és *CSAI*), az *AFT2* transzkripció faktor kódoló gén, valamint a vakuoláris vas (*SMF3*), réz (*CRP1*) és cink (*ZRT1*) transzporterek esetében. A csökkent felszíni adhéziónal összefüggő, a biofilm képzéshez kapcsolódó gének transzkripció mintázata szignifikáns változást mutatott a surfactin kezelés hatására. Az alul szabályozott géncsoporton belül kilenc gént azonosítottunk, melyek a biofilm adhéziónjában (*EAP1* és *PGAI*), a biofilm érésében (*EFG1*, *ROB1*, *CPH2*, *IFD6*, *GCA1* és *ADH5*) és a biofilm diszperziójában (*NRG1*) vesznek részt. (8A–C ábra). Az rRNS exporttal kapcsolatos gének (*RPS3*, *RPS5*, *RPS10*, *RPS15*, *RPS18*, *RPS19A*, *RPS21*, *RPS26A*, *RPS28B* és *YST1*) jelentősen alulszabályozottak voltak, melyek hozzájárulhatnak a gombasejtek csökkent metabolizmusához. Az RNS-seq és RT-qPCR adatok az elemzett 15 gén esetében erős korrelációt mutattak (Pearson-féle korrelációs együttható: 0,95).

A surfactin hatása a *Candida albicans* sejtek intracelluláris fémtartalmára.

Mivel a surfactin kezelést követően a *C. albicans* tenyészeteken végzett transzkriptomikai elemzések során azt tapasztaltuk, hogy az intracelluláris fémionok homeosztázisában szerepet játszó gének transzkripció mintázatában is jelentős változások indukálódnak, ezért transzkriptomikai eredményeink megerősítése érdekében ICP-OS módszer segítségével meghatároztuk a gombasejtek intracelluláris fémion koncentrációját 4 órás surfactin kezelést követően. A mérési eredményeink jól reprezentálják, hogy surfactin kezelést követően a *C. albicans* sejtek vas-, mangán- és cinktartalma jelentősen csökkent a kontroll tenyészetekhez képest ($p < 0,05$ – $0,01$). A vas esetében a kontroll tenyészetekben mért $127,1 \pm 18,4 \mu\text{g/g}$ -hoz képest a SUR-kezelés hatására a koncentráció $70,9 \pm 8,4 \mu\text{g/g}$ -re csökkent ($p < 0,05$). Az intracelluláris cink koncentrációban is hasonló tendencia volt megfigyelhető, miszerint a kontroll tenyészetekben mért $214,4 \pm 4,5 \mu\text{g/g}$ értékek $169,6 \pm 8,9 \mu\text{g/g}$ -ra redukálódtak ($p < 0,01$). Bár ez a tendencia kicsivel alul marad a mangán esetében, ahol a kiindulási koncentrációról, $8,1 \pm 0,5 \mu\text{g/g}$ -ról $5,3 \pm 1,3 \mu\text{g/g}$ -re való csökkenés volt kimutatható, de ez a változás szintén szignifikánsnak bizonyult ($p < 0,05$). Ezzel szemben az élesztősejtek réztartalmában szignifikáns mértékű eltérést nem tapasztaltunk a kezeletlen, kontroll tenyészetekben mért koncentrációkhoz viszonyítva (kontroll: $3,1 \pm 0,95 \mu\text{g/g}$, kezelt: $2,0 \pm 0,25 \mu\text{g/g}$) ($p > 0,05$).

A HSL hatása a *Candida albicans* és a *Candida auris* növekedésére

A *C. auris* és *C. albicans* planktonikus sejtek növekedését 100 és 200 μM -os koncentrációjú HSL kezelést követően vizsgáltuk. A HSL-t az előtenyésztett *Candida* sejtekhez adva, már 2 órás expozíció után jelentős mértékű növekedésgátlást tapasztaltunk. Ezt a gátlóhatást egyrészt a tenyészetek optikai denzitásának (OD_{640}) csökkenése, másrészt a DCM értékek alapján is megerősítettük. A *C. auris* esetében az OD_{640} -nél mért abszorbanciaértékek a kezeletlen kontroll mintáknál $1,06 \pm 0,03$ volt, míg a 100 μM és 200 μM HSL-lel kezelt sejtek esetében $0,97 \pm 0,02$ és $0,82 \pm 0,01$ értékek voltak, ami statisztikai szempontból szignifikáns csökkenést jelentett ($p < 0,001$ – $0,01$). Mindemellett a DCM-értékek szintén jelentősen visszaestek a kezelés hatására. A kezeletlen kontroll sejtek esetében $0,26 \pm 0,02 \text{ g/l}$ értéket mértünk, míg a 100 μM és a 200 μM HSL kezeléseket követően $0,13 \pm 0,02 \text{ g/l}$, illetve $0,09 \pm 0,02 \text{ g/l}$ értékeket rögzítettünk ($p < 0,001$). Ezzel szemben a *C. albicans* esetében csak a 200 μM -os HSL kezelés váltott ki szignifikáns növekedésgátló hatást 2 órás expozíció követően. Az OD_{640} -en mért abszorbancia értékek a kezeletlen kontrollnál $1,33 \pm 0,04$, addig a 200 μM -al kezelt mintákban

mért abszorbancia $1,24 \pm 0,03$ voltak ($p < 0,01$). A DCM értékek hasonló tendenciákat mutattak (kontroll: $0,54 \pm 0,03$ és 200 μM -al kezelt: $0,46 \pm 0,02$; $p < 0,01$).

A HSL hatása a *Candida albicans* és a *Candida auris* biofilm képzésére

Az abiotikus felszínhez tapadt gombasejtek esetében a HSL kezelés *C. auris*-nál minden vizsgált koncentrációban gátolta a metabolikus aktivitást, míg *C. albicans*-nál a hatás mértéke egyértelmű koncentrációfüggést mutatott. A kitapadt *C. auris* sejtek metabolikus aktivitása 8 órás HSL expozíciót követően, a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva, 100 μM koncentrációnál $64,8\% \pm 2,5\%$, míg 200 μM esetén $61,4\% \pm 8,4\%$ volt. Ezzel szemben a *C. albicans* sejtek metabolikus aktivitása 100 μM HSL hatására $78,5\% \pm 4,3\%$ -ra, míg 200 μM kezelés mellett $55,4\% \pm 6,4\%$ -ra csökkent a kontroll értékhez képest. A *C. auris* és *C. albicans* sejtek metabolikus aktivitásának összehasonlítása során megállapítottuk, hogy a *C. albicans* esetében a legalacsonyabb metabolikus aktivitás a 6 órás expozíciós időpontban volt mérhető: 100 μM HSL mellett $65,4\% \pm 6,0\%$, míg 200 μM kezelés esetén $39,3\% \pm 2,8\%$ értéket detektáltunk. Nyolc órás kezelést követően a *C. albicans* sejtek metabolikus aktivitásában enyhe növekedést figyeltünk meg, ugyanakkor a *C. auris* tenyészetekben a HSL expozíció hatására továbbra is gátolt volt a metabolikus aktivitás.

A metabolikus aktivitási vizsgálat során kapott eredményeink összhangban álltak a fluoreszcens mikroszkópos felvételekkel. A HSL kezelés szignifikánsan gátolta mind a *C. auris*, mind a *C. albicans* sejtek proliferációját a kezeletlen kontroll tenyészetekhez képest. A *C. auris* tenyészetekről készült felvételek között a 8 órás expozíciót követően már megfigyelhetők voltak nagyobb sejtcsoportosulások, illetve aggregátumok (kb.: 30–50 sejt). Érdekes módon a HSL kezelés nem tudta teljes mértékben gátolni a *C. albicans* dimorfizmusát, vagyis a csíratömlők, hifák és pszeudohifák kialakulását. Ugyanakkor a fonalas struktúrák rendezett elrendeződése megszűnt: morfológiájuk szabálytalanná vált, és kiterjedt, kusza hifaaggregátumok megjelenése volt megfigyelhető a 8 órás HSL kezelést követően.

A HSL hatása a *Candida* fajok virulenciájára *in vivo* körülmények között

A HSL kezelésnek a *C. auris* és *C. albicans* virulenciájára gyakorolt hatásának vizsgálatához szisztémásan fertőzött egérmodellt alkalmaztunk. Az egerek veséiből kimutatott gombasejtek mennyisége alapján megállapítottuk, hogy *C. albicans* esetében egyik HSL-lel kezelt csoportban sem volt kimutatható szignifikáns különbség a kezeletlen kontrollhoz képest. Ezzel szemben *C. auris* fertőzés esetén figyelemre méltó csökkenést tapasztaltunk az 50 és 100 μM

koncentrációjú HSL kezelések hatására. A kezelések következtében az egerek homogenizált vesemintáiból kimutatható életképes gombasejtek száma szignifikánsan mérséklődött a kontrollcsoportéhoz viszonyítva.

A hisztopatológiai vizsgálatok eredményei összhangban voltak a kvantitatív tenyésztési adatokkal. A *C. auris*-szal fertőzött egerek kontrollcsoportjába tartozó egyedek veséjében kiterjedt szöveti elváltozások voltak megfigyelhetők, több esetben sarjadzó élesztősejtek jelenlétével. Már az 50 μ M HSL-lel végzett napi kezelés is jelentősen csökkentette az elváltozások számát és a szöveti károsodás mértékét. A *C. albicans*-szal fertőzött egerek veseszöveiteiben ezzel szemben minden kezelt csoportban több, kiterjedt gombás elváltozást azonosítottunk. Ezekben az elváltozásokban önálló és sarjadzó élesztősejtek, valamint pszeudohifák és hifák egyaránt jelen voltak.

A *Candida* fajok transzkripciós változásai HSL kezelést követően

A HSL kezelést követően a *C. albicans* és *C. auris* sejtekben indukálódó biológiai folyamatok háttérben álló molekuláris mechanizmusok feltérképezése érdekében teljes transzkriptóm-elemzést végeztünk. Az elemzések eredményei alapján a 200 μ M HSL kezelés mindkét faj esetében kiterjedtebb transzkriptom szintű változásokat idézett elő, mint a 100 μ M koncentrációjú kezelés, a kezeletlen kontrollmintákhoz viszonyítva. A *C. albicans* esetében a felül- és alulszabályozott gének száma a 100 μ M HSL kezelés hatására 189, illetve 132 volt, míg 200 μ M HSL alkalmazásakor 354 felül-, illetve 540 alulszabályozott gént azonosítottunk a kontrollhoz képest.

Mind a két gombafaj esetében a két kezelt csoport differenciálisan expresszálódó génjeinek (DEG-ek) összehasonlítása során mindössze minimális átfedést tapasztaltunk: A *C. albicans* vonatkozásában 44 gén mutatott fokozott transzkripciót, míg 76 gén csökkent transzkripciót mindkét kezelés esetében. Ezen túlmenően, a *C. auris*-nál a 200 μ M HSL kezelésre adott válaszként azonosított génkészlet körülbelül a differenciálódott génállomány felét tette ki, azaz 45 gén transzkripciója fokozódott, míg 25 géné csökkent a 100 μ M-os kezeléshez viszonyítva. Miután a géneket biológiai funkciójuk alapján csoportosítottuk, azt tapasztaltuk, hogy a *C. albicansban* 100 μ M HSL kezelés hatására elsősorban a mitotikus sejtciklussal (21 gén), a szterol-bioszintézissel (8 gén; pl. *ERG1*, *ERG3*) és a sejtciklus- illetve morfológiai átmenet szabályozásával (pl. *CCN1*, *GIN4*, valamint a protein-kinázt kódoló *HSL1*) kapcsolatos gének transzkripciója csökkent. Ezzel szemben a zsírsav bontásban (8 gén), az RNS-anyagsere-folyamatokban (99 gén) és a riboszóma-biogenezisben (73 gén) részt vevő gének

transzkripciója fokozódott. Ehhez képest a 200 μ M HSL kezelés a vegetatív növekedéssel összefüggő folyamatok transzkripcióját széles körben lecsökkentette, beleértve a mitotikus sejtciklust (54 gén), a DNS-replikációt (32 gén), az RNS-anyagcsere-folyamatokat (139 gén), a riboszóma-biogenezist (136 gén), a translációt (125 gén), a szterol-bioszintézist (32 gén; pl. *HMG1*, *IDII*, *CYB5*, *ERG1*, *ERG3*, *ERG6*, *ERG9*, *ERG11*, *ERG12*, *ERG13*) és a zsírsav-bioszintézist (pl. *FEN12*, *FEN1*, *FAD3*, *EHT1*, *ERG3*, *SUR2*, *ERG251*, *LAB5*).

Ugyanakkor a gyógyszertranszportban (33 gén; pl. *CDR1*, *CDR2*, az ABC-transzportereket kódoló *SNQ2*, valamint a *MRR1* – multidrug rezisztencia regulátor 1 – transzkripció faktor), az oxidatív stresszre adott válaszban (17 gén; pl. *CIP1*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD6*, *PST1*), a glutation-anyagcserében (16 gén; pl. *TTR1*, *GST2*, *GPXI*) és a zsírsav bontásban (13 gén) részt vevő gének transzkripciója fokozódott a 200 μ M HSL kezelés hatására.

A *C. auris* esetében a felül- és alulszabályozott gének száma lényegesen kisebb volt a *C. albicans* transzkripció profiljához képest a HSL kezelést követően. A *C. auris* sejtekben a 100 μ M HSL kezelés hatására mindössze 67 gén mutatott fokozott, míg 111 gén csökkent transzkripciót a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva (16A ábra). Ugyanakkor a 100 μ M és 200 μ M HSL kezeléseket között 45 felül, valamint 25 alulszabályozott gént azonosítottunk, amelyek transzkripciója mindkét kezelés esetében megváltozott (16C ábra). Érdekes módon a *C. albicans* és *C. auris* HSL kezelése során mindössze egyetlen felül szabályozódott gén átfedése volt kimutatható (16D ábra). Az RNS-seq és RT-qPCR adatok az elemzett 8 *C. albicans*, illetve 11 *C. auris* gén esetében erős korrelációt mutattak (Pearson-féle korrelációs együttható: 0,92–0,95).

Transzkriptomikai eredményeink alapján a 200 μ M HSL kezelés globális transzkripció változásokat idézett elő a *C. auris* sejtekben. A felül szabályozott gének olyan biológiai folyamatokhoz kapcsolódtak, mint például a transzmembrán transzport (34 gén; pl. antifungális gyógyszertranszporterek *CDR1*, *CDR4*, valamint a foszfátranszporter PHO84), a peroxiszóma működése (21 gén), a mitokondriális folyamatok (40 gén), a vas-ion homeosztázis (*FTH1*, *FRE9*, *HMX1*, több feltételezett hemkötő fehérje, *RLII*, egy ABC-transzporter, *ALK2*, valamint az n-alkán-indukálható citokróm P450 és a *CDG1* cisztein-dioxygenáz), valamint a zsírsavlebontás (22 gén).

Ezzel szemben a csökkent transzkripciót mutató gének között szintén jelentős számban szerepeltek a transzmembrán transzportért felelős gének (36 gén), köztük gyógyszertranszporterek (*MLT1*, B9J08_003832), réz- és cinktranszporterek (*CTR1*, *ZRT2*, B9J08_003341), valamint a vas-ion homeosztázisban részt vevő gének (*FRP1*, *FTR1*, *FTP1*, *PGA7*, B9J08_003002).

Továbbá csökkent transzkripciót mutattak a glutation-anyagcseréhez kapcsolódó gének (*GCSI*, *GLR1*, *APE2*, *RNR3*), a DNS-replikációban részt vevő gének (9 gén), az antifungális rezisztenciát szabályozó *MRR1*, valamint a hosszú szénláncú zsírsavak bioszintéziséért felelős *FAS1* és *FAS2* (zsírsav-szintázokat kódoló) gének.

Mind a 100 μM , mind a 200 μM HSL kezelés esetében megfigyeltük a B9J08_001458 (*SCF1*) gén transzkripciójának csökkenését, amely egy *C. auris*-specifikus felszíni kolonizációs faktort kódol. Ezzel párhuzamosan fokozódott azoknak a géneknek az transzkripciója, amelyek a 3-hidroxi-propionáton keresztül módosított β -oxidációs útvonalhoz kapcsolódnak (5 gén: *POX1-3*, *FOX2*, *CAT2*, *CRC1*, *HPD1*).

A 100 μM HSL-lel kezelt *C. auris* transzkriptomikai adatai alapján a felülszabályzott gének között gazdagon képviselték magukat a cinkion-kötéshez kapcsolódó gének (10 gén), köztük transzkripciós faktorok (*SFU1*, *CRZ2*), feltételezett $\text{Zn(II)}_2\text{Cys}_6$ típusú transzkripciós faktorok (*ZCF4*, *SUT1*), valamint a cinkujjas szabályozó fehérjét kódoló *IRF1*. Ezzel szemben a 100 μM HSL kezelés hatására alulszabályzott gének között a pre-replikatív komplex komponensei (*MCM6*, *CDC6*), valamint a translációhoz (25 gén), a riboszóma-biogenezishez (20 gén), a szterol bioszintézishez (*ERG2*, *ERG5*, *ERG13*) és a gyógyszertranszportozóhoz (*MDR1*, *ROA1*) kapcsolódó gének domináltak.

A *Candida* fajok intracelluláris fémion koncentrációjának változása HSL kezelést követően

A HSL expozíció jelentős mértékű transzkripciós változásokat idézett elő a *C. auris* fémion-homeosztázissal kapcsolatos génjeiben. Ennek megerősítése érdekében ICP-OES technikát alkalmazva megvizsgáltuk, hogy a HSL kezelés miként befolyásolja a gombasejtek intracelluláris fém tartalmát. Eredményeink alapján megállapítható, hogy mind a 100 μM , mind a 200 μM HSL kezelés a *C. auris* esetében már 4 órás expozíciót követően fiziológiai változásokat indukált. A kezelésekre hatására az élesztősejtek vas- és cinktartalma szignifikánsan csökkent a kezeletlen kontrollcsoportéhoz képest.

A vas esetében a kontroll tenyészetekben mért $231,6 \pm 6,7 \mu\text{g/g}$ értékhez viszonyítva a 100 μM HSL kezelés hatására a vas mennyisége $155,0 \pm 30,6 \mu\text{g/g}$ -ra, míg a 200 μM kezelésnél $117,5 \pm 12,5 \mu\text{g/g}$ -ra csökkent ($p < 0,05$ – $0,001$). Hasonló tendencia volt megfigyelhető a cinktartalom esetében is: a kezeletlen sejtekben mért $612,1 \pm 19,3 \mu\text{g/g}$ értékhez képest a 100 és 200 μM HSL-lel kezelt sejtekben a cinktartalom $436,6 \pm 54,4 \mu\text{g/g}$ -ra, illetve $326,4 \pm 27,8 \mu\text{g/g}$ -ra csökkent ($p < 0,05$ – $0,001$). Ezzel szemben a HSL kezelés nem befolyásolta szignifikánsan sem a réz-, sem a mangántartalmat a kontrollhoz képest. A réztartalom a kontrollmintákban $9,7 \pm$

0,5 µg/g volt, míg a kezelt sejtekben $11,7 \pm 1,8$ µg/g (100 µM) és $11,6 \pm 2,3$ µg/g (200 µM) értéket mértünk. A mangántartalom esetében a kontrollérték $29,4 \pm 0,9$ µg/g volt, a HSL kezelések után pedig $33,7 \pm 3,5$ µg/g (100 µM) és $29,6 \pm 1,9$ µg/g (200 µM) értékeket detektáltunk ($p > 0,05$). A *C. albicans* esetében sem a 100 µM, sem a 200 µM HSL kezelést követően — sem 2, sem 4 órás expozíciós idő után — nem mutattunk ki szignifikáns változást a fémion homeosztázissal összefüggő gének transzkripciójában. Ennek megfelelően a *C. albicans* mintákban nem végeztük el az intracelluláris fémionok mennyiségi meghatározását.

Megbeszélés

A kísérleteink középpontjában a gombák és baktériumok közötti interakciók vizsgálata állt, különös tekintettel azokra a folyamatokra, amelyek során a baktériumok képesek gátolni a *Candida* fajok virulenciáját és más fiziológiai tulajdonságaikat. A baktériumok és a gombák dinamikus interakcióját sejt-sejt kölcsönhatások, a termelődő szekunder metabolitok, valamint az úgynevezett quorum sensing molekulák egyaránt befolyásolhatják. Ezen molekulák kibocsátása és érzékelése lehetővé teszi számukra, hogy akár populáció szinten változtassák viselkedésüket, amennyiben a biológiai vagy az élettelen környezet jelentősen megváltozna körülöttük.

A *Candida*-baktérium interakciók többnyire antagonisztikus jellegűek, amelyeket kifejezett gombaellenes, virulencia gátló vagy éppen ölü hatás jellemez (Allison és mtsai. 2016). A humán kommenzalista gombafajok közül az egyik legismertebb faj a *C. albicans* (Lopes és Lionakis 2021; Acosta és mtsai. 2024). Szervezetünk több különböző területét, nyálkahártyafelszínét kolonizálhatja, de túlszaporodása súlyos egészségügyi problémát okozhat, ami hatványozottan tetten érhető például a gasztrointesztinális traktus diszbiózisa során (Miranda és mtsai. 2009; Alonso-Monge és mtsai. 2021). Számos tanulmány mutatta ki, hogy a bélrendszer kolonizációja és a gombasejtek elszaporodása lehet a forrása túlnyomórészt az invazív *Candida* fertőzéseknek (Zaborin és mtsai. 2014; Allison és mtsai. 2016; MacAlpine és mtsai. 2023; Acosta és mtsai. 2024; Bays és mtsai. 2024). Ugyanakkor a kutatók azt is megfigyelték, hogy a probiotikus baktérium fajok vagy az általuk termelt szekunder metabolitok, például különböző bioszurfaktánsok, illetve ezek adjuvánsként való alkalmazása képes megakadályozni a *C. albicans* túlszaporodását, amely anyagok révén csökkenthető a gombaellenes készítmények túlhasználata, ezáltal csökkenthető a rezisztencia kialakulásában szerepet játszó szelektív nyomás (Ouwehand és mtsai. 2016).

A legújabb *in vitro* eredmények alapján az egyik leghatékonyabb bioszurfaktáns a surfactin, amelyet először a *B. subtilis* ATCC 21332 törzsből írtak le, és amely a korábbi kísérletek alapján jelentős antimikrobiális, tumorellenes és antikoaguláns hatással rendelkezik (Morikawa és mtsai. 2000). A surfactin *Candida* ellenes aktivitását vizsgáló tanulmányok száma korlátozott; ennek ellenére Biniarz és munkatársai korábban arról számoltak be, hogy a *C. albicans* sejtfelszíni hidrofobicitása és adhéziója a surfactin hatására akár 20–60%-kal, illetve 80–90%-kal is csökkenhet (Biniarz és mtsai. 2015). Hasonló eredményekről számoltak be Nelson és munkatársai is, akik a surfactin hatását az adhézió és a biofilm-képzés gátlása

szempontjából vizsgálták (Nelson és mtsai. 2020). Ugyanakkor a surfactin által kiváltott, előzetesen megfigyelt gombaellenes aktivitás részletes fiziológiai és transzkripciósi háttere a kutatók előtt mindeddig ismeretlen volt.

A leírt eredményeink alapján a *B. subtilis* által termelt surfactinnak jelentős szerepe van a *C. albicans* anyagcseréjének, morfogenezisének befolyásolásában, továbbá jelentős hatással lehet azokra a génekre, amelyek a gombaellenes szerekkel szembeni rezisztenciát határozzák meg. Az eredmények fejezetben leírt szignifikáns növekedésgátlás több, az anyagcseréhez kapcsolódó gén általános alulszabályozásának tudható be.

Érdekes módon a surfactin kezelés jelentősen fokozta a riboszóma-biogenezissel kapcsolatos gének transzkripcióját. Jól ismert tény, hogy a riboszóma-biogenezis szorosan összefügg a sejtnövekedéssel és a sejt osztódással (Shore és mtsai. 2021). A transzkripciót követően mind a kis, mind a nagy pre-riboszómális alegységeket a citoplazmába kell exportálni a riboszómák éréséhez. A gén ontológiai vizsgálataink kimutatták, hogy a surfactin kezelés szignifikánsan fokozza az RNS-anyagcseréhez kapcsolódó gének (összesen 220 gén) transzkripcióját, köztük a pre-riboszómákkal kapcsolatosakat is; ugyanakkor alulszabályozza az rRNS-transzport (10 gén), a citoplazmatikus riboszómális fehérjék (69 gén) és a transláció (128 gén) génjeit. Ezen transzkriptomikai eredmények arra utalnak, hogy a *C. albicans* sejtek növekedése mérséklődik a surfactin kezelés hatására a fehérjeszintézis gátlásával is összefügghet, az anyagcseréhez kapcsolódó gének expressziójának módosulása mellett (Shore és mtsai. 2021).

Számos ergoszterol-szintézissel (*ERG1*, *ERG3*, *ERG9*, *ERG10*, *ERG11*) és zsírsav-anyagcserével (*ACCI*, *FAS1*, *FAS2*) kapcsolatos gén szintén alulszabályozódott, ami a citoplazmamembrán szerkezetének és fluiditásának megváltozását valószínűsíti. A surfactin és fluconazole között megfigyelt szinergista kölcsönhatás alátámasztja ezeket a feltételezett membránváltozásokat (Bibi és mtsai. 2021). A biofilmképzés gátlását illetően elmondható, hogy az *EFG1* és *ECE1* gének transzkripciója is szignifikánsan alulszabályozódott, ami magyarázatot adhat a hifaképződés és a biofilmképzés gátlására (Mukherjee és mtsai. 2006; Cavalheiro és Teixeira 2018). Továbbá a biofilmképzés gátlása felveti annak a lehetőségét is, hogy ez a molekula megzavarja a gombák quorum sensing mechanizmusait, vagyis a gombasejtek közötti kommunikációt (López és mtsai. 2009). Korábban több tanulmány is részletesen vizsgálta a surfactin esetleges quorum sensing molekula jellemzőit, valamint a benne rejlő sejtek közötti kommunikációs potenciált. Egy tanulmány például rámutatott arra, hogy a surfactin a *B. subtilis* parakrin jelátviteli kaszkádjában jelzőmolekulaként működhet, ahol szimultán transzkripciósi változásokat is képes volt előidézni, amely egy alapvető ismérve

a quorum sensing molekuláknak (López és mtsai. 2009). Emellett a surfactin szerepet játszhat a *B. subtilis* és az *A. niger* közötti sejt-sejt interakcióban is, amelyek során mind a baktériumban, mind a gombában jelentős anyagcsere-változások figyelhetők meg a surfactin expozíció hatására (Benoit és mtsai. 2015). Saját eredményeink arra utalnak, hogy a surfactin jelentős mértékben befolyásolhatja a farnesol által mediált quorum sensing útvonalakat a *C. albicans*-ban, mivel a farnesol szintézise zavart szenvedett a *DPP2* gént (lipid-pirofoszfátáz enzimet kódoló gén) érintő surfactin-indukálta alulszabályozódás következtében (Nickerson és Atkin 2017). Mindezek mellett a tyrosol termelés szintén zavart szenvedhetett, amit az *ADH1* és az *ADH5* gének csökkent transzkripciója támaszt alá. Mindezek a géntranszkripciók változások tovább magyarázhatják a biofilmképzés szignifikáns gátlását (Ghosh és mtsai. 2008). A szeszillis sejtek közötti kölcsönhatások tekintetében Liu és munkatársai kimutatták, hogy a surfactin szignifikánsan gátolja a quorum sensinghez kapcsolódó jelátviteli útvonalakat, beleértve a *S. aureus* biofilmképzését is bizonyítva annak szerepét a fajok közötti quorum sensing folyamatok befolyásolására (Liu és mtsai. 2019).

A jelen tanulmányban kapott transzkriptomikai adatok kiemelik, hogy a surfactin kezelés jelentősen befolyásolta a vasanyagcserével, a réz- és cinktranszporttal kapcsolatos gének transzkripcióját, valamint a *C. albicans* sejtek intracelluláris vas-, cink- és mangántartalmát. Figyelemre méltó, hogy hasonló hatások voltak megfigyelhetők kutatócsoportunk egy korábbi tanulmányában, ahol a *C. auris* esetében vizsgáltuk a farnesol expozíció molekuláris és élettani következményeit (Jakab és mtsai. 2021). A csökkent vas tartalom valószínűleg a surfactin elleni általános védekezés része, amely célja a vas (II)-ionok által okozott károsodások minimalizálása (Dixon és Stockwell 2014). Korábbi kutatások szerint a megnövekedett szabad intracelluláris vas tartalom fokozza a reaktív oxigéngyökök képződését (Bellotti és mtsai. 2022). A surfactin által kiváltott csökkent intracelluláris cink koncentráció szintje összefüggésbe hozható volt a *ZRT2* gén alul szabályozásával, amely a *C. albicans* fő cinktranszport-fehérjéjét kódolja. A cink alapvető fontosságú elem az oxidatív stressz elleni védekezésben, mivel a szuperoxid-dizmutáz szerkezeti komponenseként működik; továbbá a *ZRT2* gén deléciója vagy alulszabályozottsága jelentősen képes csökkenteni a *C. albicans* virulenciáját, mivel mérsékli annak kolonizációs képességét, ami szignifikánsan csökkenti az egérvesékből kitenyészett élő gombasejtszámot (Khemiri és mtsai. 2020). A réz homeosztázis szintén fontos, meghatározó tényezője a *C. albicans* virulenciájának. Vizsgálataink során a *CTR1* és a *FRE7* gén transzkripciója egyaránt fokozódott. Khemiri és munkatársai kimutatták, hogy rézdeficiens körülmények között a *C. albicans* aktiválja a rézfelvételhez szükséges fehérjéket, beleértve a

Ctrl transzportert és a Fre7 ferrireduktázt (Khemiri és mtsai. 2020). Ugyanakkor a *CRPI* gén expressziója csökkent, amely egy P-típusú ATPáz kódol, és rézkiválasztó pumpaként működik a magas réztartalmú környezetben való túlélés érdekében (Khemiri és mtsai. 2020). A kapott eredményeink alapján feltételezzük, hogy a surfactin képes megkötni a réz ionokat, ezáltal rézhiányos állapotot tud létrehozni a gomba mikrokozmoszában. Egy korábbi tanulmány kimutatta, hogy a réz ionok előszeretettel kötődnek a lipoprotein-biosurfaktánsok, így a *B. subtilis* eredetű surfactin molekulák amid-nitrogénjeihez (Janek és mtsai. 2019). Bár a megváltozott fémion milió predestinálja indirekten a surfactin által kiváltott oxidatív stressz megjelenését, érdemes kiemelni, hogy a surfactin nem okozott megnövekedett reaktív oxigén gyök termelést, ugyanakkor a glutation szintje szignifikánsan megemelkedett a surfactin expozíció hatására. A *C. albicans*-ban végzett vizsgálatok arra utalnak, hogy a glutation részt vesz az élesztő–hifa morfológiai átmenet szabályozásában (Pócsi és mtsai. 2004). Ezek alapján a megemelkedett glutation szint a hifaképződés gátlásával társítható. Emellett a glutation túltermelése reduktív stresszválaszt válthat ki, ami részben tovább magyarázhatja a megfigyelt gátló hatást (Pócsi és mtsai. 2004). Feltételezhető, hogy a surfactin glutationnal konjugálódik a gombasejtek detoxifikációs folyamatai során, így elősegítve a surfactin inaktiválását és eliminációját, és ezzel csökkentve a potenciális sejtkárosodás mértékét. Fontos megemlíteni, hogy a Mdr1 P-glikoproteint kódoló gén transzkripciója szignifikánsan megnövekedett, ami tovább erősíti a glutation szerepének valószínűségét a surfactin detoxifikációjában (van Haaften és mtsai. 2003).

Az előbbieken leírt Gram-pozitív baktérium-*Candida* interakció mellett a Gram-negatív baktériumok vonatkozásában is számos figyelemre méltó eredmény olvasható az irodalomban. A *P. aeruginosa* és a *C. albicans* közötti kölcsönhatás természete és vizsgálata gyakran szolgál modellt a gomba–Gram-negatív baktériumok közötti interakciók vizsgálatához, amelyeket *in vitro* körülmények között többnyire kompetitív és antagonisztikus jellegűnek írnak le.

Számos vizsgálat igazolta, hogy a *P. aeruginosa* a különböző szekretált molekuláival, kémiai anyagok segítségével képes gátolni a *C. albicans* élesztő-hifa morfológia váltását. Több kutatás is arra utal, hogy a *Pseudomonas* quorum sensing molekulák (pl.: homoszerin-laktonok) felelősek a két mikroorganizmus közötti jelátviteli kommunikációért, és a tapasztalt interakciós válaszok jelentős részéért (De Sordi és Mühlischlegel 2009; Gibson és mtsai. 2009; Morales és mtsai. 2013; Fourie és mtsai. 2016; Grainha és mtsai. 2020; Abd El-Baky és mtsai. 2020; Miranda és mtsai. 2022; Kahl és mtsai. 2023). Mindazonáltal, ahogy korábban már többször említettük a *C. albicans* alapú kutatásokból származó megfigyelések nem extrapolálhatók

közvetlenül a *Pseudomonas-non-albicans* kevert mikroba populációk esetén tapasztalt interakciós viselkedésekre (Jakab és mtsai. 2019; Nagy és mtsai. 2020; Jakab és mtsai. 2021). Erre a különbségre jó példa a *C. auris* esete, amely gomba hatékony bőr- és nyálkahártya-kolonizációs képességének köszönhetően számos kommenzális Gram-negatív mikroorganizmussal, köztük a *P. aeruginosa*-val is együtt él a biotikus felszíneken látszólag mindenféle antagonisztikus következmény nélkül. Ugyanakkor e klinikailag jelentős baktérium–gomba interakcióról jelenleg még nagyon kevés információ áll rendelkezésre (Proctor és mtsai. 2021; Sexton és mtsai. 2021). Vizsgálataink keretében azt tanulmányoztuk, hogy a *C. auris* miként reagál a *P. aeruginosa* elsődleges quorum sensing molekulájára, a HSL-ra. Korábbi gázkromatográfiás–tömegspektrometriás elemzések kimutatták, hogy az érett *P. aeruginosa* biofilmekben a HSL koncentráció meghaladhatja a 600 μM -ot (Charlton és mtsai. 2000). Emellett bizonyított, hogy a 200 μM HSL képes volt gátolni a hifaképződést *C. albicans*-ban, míg 500 μM feletti koncentrációk teljesen megakadályozzák a gombasejtek növekedését (Charlton és mtsai. 2000). Ennek megfelelően a kísérleteinkben a *C. auris* esetén alkalmazott 50–200 μM közötti HSL koncentrációk klinikai szempontból is relevánsnak tekinthetők.

Eredményeink meggyőzően bizonyítják, hogy a HSL-re adott válaszok jelentős része *C. auris* specifikus volt, és csupán néhány közös válaszreakció figyelhető meg a *C. albicans*-szal összehasonlítva. Korábban kimutatták, hogy a *C. albicans*-ban a bakteriális quorum sensing molekulákra adott válasz főként a 12 szénatomos gerinccel rendelkező vegyületekre korlátozódik, amelyek szerkezeti hasonlóságot mutatnak a gomba saját quorum sensing molekuláival, például a farnesol nevű szeszkviterpén-alkohollal (Shchepin és mtsai. 2003). Ezért nem meglepő, hogy a *C. auris*-ban megfigyelt HSL hatások élettani szinten a farnesol specifikus hatásaihoz hasonlítottak (Jakab és mtsai. 2021).

A HSL alapú prokarióta–eukarióta kölcsönhatásokat az elmúlt két évtizedben széles körben tanulmányozták. Hogan és munkatársai kimutatták, hogy a HSL nemcsak gátolja a *C. albicans* filamentációját, hanem vissza is fordíthatja a morfogenezis ezen folyamatát (Hogan és mtsai. 2004). A gombasejtektől függetlenül kimutatták a HSL-ről, hogy Ca^{2+} -háztartási zavarokat, mitokondriális diszfunkciót és apoptózist vált ki bizonyos humán sejt típusokban, továbbá megbontja a bélhámsejtek integritását az extracelluláris mátrix és a szoros sejtkapcsolatok (tight junctions) szerkezetének megbomlása révén. Ezek a hatások azonban koncentrációfüggők és sejtvonalspecifikusak (Neely és mtsai. 2018). Mindezek azt bizonyítják, hogy ennek a *P. aeruginosa* által szekretált quorum sensing molekulának jelentős hatása van az eukarióta sejteket illetően.

A transzkriptomikai elemzéseink feltárták, hogy a HSL mind a *C. albicans*, mind pedig a *C. auris* esetében, koncentrációtól függetlenül, jelentős hatást gyakorolt több, multidrog-transzporttal kapcsolatos gén expressziójára. Bandara és munkatársai kimutatták, hogy a HSL serkenti a *C. albicans* multidrog-efflux aktivitását azáltal, hogy modulálja olyan gének transzkripcióját, mint a *CDR1*, *CDR2* és *MDR1*, ezáltal befolyásolja a gomba fluconazzal szembeni érzékenységét is (Bandara és mtsai. 2020). Vizsgálataink során a *C. albicans* esetén megfigyeltük, hogy a 200 μM HSL mind a *CDR1*, mind a *CDR2* gének felülszabályozódását eredményezi, és ezek transzkripciós szintje szignifikánsan magasabb volt, mint a 100 μM HSL-lel kezelt mintákban. *C. auris* esetében a *CDR1* és *CDR4* gének expressziója szintén megnőtt a 200 μM HSL hatására, jelentős különbséget mutatva a két koncentrációs kezelés között. Korábbi tanulmányok szintén igazolták, hogy a C12-szénatomos vegyületek, mint például a farnesol vagy a HSL, az ABC transzporter szupercsaládhhoz tartozó effluxpumpák felülszabályozódását válthatják ki mind a *C. albicans*-ban mind pedig a *C. auris*-ban, anélkül, hogy az multidrog-transzporter gének expressziója megnövekedne (Sharma és Prasad 2011; Jakab és mtsai. 2021). A *C. albicans*-ban a *CDR1* gén egy ABC-efflux pumpát kódol, amely kulcsszerepet játszik az azokkal szembeni rezisztenciában. Ennek egy homológ génje *C. auris*-ban is azonosításra került. Rybak és munkatársai kimutatták, hogy e gén delécióna 64–128-szoros érzékenységnövekedést eredményezhet a rezisztens törzsekben (Rybak és mtsai. 2019). Érdekes módon a 100 μM HSL hatására *C. auris*-ban jelentős mértékben lecsökkent a *ROA1* és *MDR1* ABC-transzporter gének, valamint a *MRR1* gén transzkripciója, amely az azol típusú gombaellenes szerekkel szembeni rezisztencia egyik központi szabályozója (Biermann és Hogan 2022). Eredményeink és a fiziológiai adatok egyaránt alátámasztják azt a hipotézist, hogy a HSL potenciális szubsztrátja lehet ezeknek a túltermelt transzportfehérjéknek, így a gombasejtek a HSL toxikus hatásai ellen védelmet nyerhetnek (Jakab és mtsai. 2021).

A membrán ergoszteroltartalmát illetően a HSL markánsabb gátló hatást gyakorolt az ergoszterol bioszintézisére *C. albicans*-ban, a *C. auris* sejtekkel összehasonlítva. A *C. albicans* sejtek vizsgálata során, a HSL kezelés több *ERG* gén esetében is transzkripciós csökkenését idézett elő, különösen 200 μM HSL esetében, ahol az *ERG3*, *ERG6* és *ERG11* gének szignifikánsan alulszabályozottak voltak, ami befolyásolhatja a fluconazole iránti érzékenységet (Bandara és mtsai. 2020). Fontos megjegyezni, hogy Bandara és munkatársai kísérleti körülményei eltértek a jelen vizsgálatban alkalmazottaktól, ami részben magyarázhatja az eredmények közti különbségeket (Bandara és mtsai. 2020).

C. auris esetében mindössze az *ERG2*, *ERG5* és *ERG13* gének alulszabályzódása volt megfigyelhető 100 μ M HSL hatására, ami növelheti az azokkal szembeni érzékenységet (Zamith-Miranda és mtsai. 2019). E három *ERG* gén transzkripciójának csökkenése korábban kulcsszerepet játszott az amphotericin B érzékenység fokozódásában *C. auris* esetén, amint azt Frías-De-León és munkatársai korábban már leírták (Frías-De-León és mtsai. 2020).

Az adhézión alapuló kísérleteink rámutattak arra, hogy a HSL kezelés szignifikánsan befolyásolta a letapadó sejtek morfológiáját és metabolikus aktivitását. A felszíni kolonizációs faktort kódoló gén (*SCFI*) transzkripciója lecsökkent a HSL kezelést követően. Az *SCFI* gén kulcsfontosságú az abiotikus felszínhez, a bőrhöz és a biofilmhez való tapadásban *C. auris* esetében; transzkripciójának csökkenése magyarázatul szolgálhat a HSL-lel kezelt sejtekben megfigyelt csökkent adhézióra és biofilm-képződésre (Santana és mtsai. 2023). Mindezek mellett a *C. auris* esetében nagy sejtaggregátumok alakultak ki, amelyek hasonlítottak az amphotericin B vagy az echinocandinok által kiváltott morfológiai elváltozásokhoz (Papp és mtsai. 2021). Az antifungális szerek által indukált aggregáció korábbi kutatások szerint sejtszétválaszi defektus eredménye lehet (Pelletier és mtsai. 2024). Pelletier és munkatársai (2024) kimutatták, hogy az antifungális kezelések meggátolják a sejtek szétválását, ami kisebb-nagyobb sejtcsoportok kialakulásához vezet. Ez a fenotípus független a tenyésztési környezetre adott aggregációs válaszképességtől, amelyet korábban úgynevezett aggregációs fenotípusként azonosítottak (Pelletier és mtsai. 2024).

Egy további lehetséges magyarázat a fentebb leírt aggregatív eredményre, hogy az aggregáció bivalens kationok (pl. Ca^{2+} , Mg^{2+}) kimerülése által indukált folyamat is lehet. Holmes és munkatársai beszámoltak arról, hogy bivalens kationok (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+}) hozzáadása a reakció környezethez azonnali aggregációt idézett elő *Candida* sejtenyészetekben (Holmes és mtsai. 1992). Ezen megfigyelések arra utalnak, hogy a bivalens kationok keresztkötései az ellentétes töltésű anionos felszíni helyek között, valamint a fehérje–fehérje kölcsönhatások szinergikusan elősegíthetik a *Candida* sejtek aggregációját (Holmes és mtsai. 1992). Vizsgálatainkban vas- és cink ionok koncentrációjának szignifikáns csökkenését detektáltuk a sejten belül, miközben iontranszporter pumpákat kódoló gének túlzott transzkripciója is megfigyelhető volt, ami valószínűsíthetően a bivalens kationok felszaporodását eredményezte a tenyésztőközegben.

Bár a *C. albicans* hifaképződése nem mutatott jelentős gátlást a megfigyelési időszak során, a sejtek morfológiája és elrendeződése ebben az esetben is szignifikánsan eltért a kezeletlen kontroll sejtekhez képest. Hogan és munkatársai hasonló eredményeket figyeltek meg, ahol a

HSL által kiváltott hatás 6 óra inkubáció után volt a leglátványosabb (Hogan és mtsai. 2004). Korábbi vizsgálatok szerint a 100–200 μM HSL koncentrációk teljes mértékben meggátolták a *HWPI* gén expresszióját, ezáltal akadályozva a hifaképződést *C. albicans*-ban (Hogan és Sundstrom 2009). Más tanulmányokban a *Pseudomonas* tenyészetek felülúszójában található HSL mind a hifaátalakulást, mind a biofilmképződést gátolta (Hogan és Sundstrom 2009). Egy átfogó vizsgálat, amelyben vad típusú és 63 mutáns törzset hasonlítottak össze vad típusú és HSL hiányos *P. aeruginosa* felülúszó expozíciójával, HSL függő negatív hatást mutatott a *C. albicans* morfológiájára (Konstantinidou és Morrissey 2015).

A morfológiai változásokon túl vizsgáltuk a letapadt sejtek metabolikus aktivitását is. Az anyagcsere-folyamatokhoz kapcsolódó gének transzkripciós profiljaiban markáns különbségek voltak kimutathatók a *C. albicans* és a *C. auris* között a HSL expozíciót követően. Különösen igaz volt ez a zsírsav-oxidációs útvonalak esetében. A *C. auris*-ban megfigyelt transzkripciós profil hasonló volt a farnesollal kezelt sejtekben tapasztalt változásokhoz, ahogy korábban kutatócsoportunk már leírta (Jakab és mtsai. 2021). A zsírsav-oxidációval kapcsolatos gének több mint 60%-a szignifikánsan felülszabályzódott HSL kezelés hatására; ezenkívül több gén (pl.: *FAA21*, *POT1*, *POX1–3*) esetében is jelentős különbség mutatkozott a 100 és 200 μM kezelések között. Ezzel szemben a *C. albicans*-ban csupán a gének 20%-a mutatott felül szabályozódást és ezek döntő többsége már a 100 μM HSL kezelés hatására. Feltételezésünk szerint a fokozott zsírsavfelhasználás és a membránlipidek részleges vagy teljes lebontása nagyobb metabolikus fluxust biztosíthat, amely szükséges a membrán fluiditásának fenntartásához (Jakab és mtsai. 2021) – különösen az ergosterol-gének alulszabályzódása esetén. Transzkriptomikai adataink szerint a HSL kezelés szignifikánsan befolyásolja a β -oxidációs útvonalat a *C. auris* sejtekben a 3-hidroxi-propionát közreműködésével (Otzen és mtsai. 2014). Ez a módosított β -oxidációs folyamat új antifungális célpontként szolgálhat, mivel a propionil-CoA detoxifikációja elengedhetetlen a sejtek normális működéséhez. A propionil-CoA a propionát, illetve egyes aminosavak lebontása során keletkező metabolikus intermedier (Otzen és mtsai. 2014).

A HSL virulenciára gyakorolt hatásainak további vizsgálatához immunszuppresszált egérmodellt alkalmaztunk. Érdekes módon a HSL kezelés nem befolyásolta a *C. albicans* virulenciáját *in vivo*, amint azt a vesékből kapott gombaterhelési adatok és a szövettani vizsgálatok is megerősítették. Ezzel szemben *C. auris* esetében meglepő érzékenységi mintázat volt megfigyelhető *in vivo*. Az alacsonyabb HSL koncentrációk (50–100 μM) szignifikánsan csökkentették a vesékben kimutatható életképes gombasejtek számát, továbbá a gombás léziók

mérete is kisebb és kevésbé kiterjedt volt, mint a kezeletlen kontroll egerek esetében vagy a magasabb (200 μM) HSL koncentrációval kezelt csoportban. Munkacsoportunk hasonló eredményeket kapott a farnesol kezelést követően *C. auris* és *C. albicans* esetében, ahol a 75 μM farnesol jelentősen csökkentette a vesében mért gombaterhelés mértékét, míg *C. albicans* vizsgálata során a farnesol terápia nem eredményezett szignifikáns különbséget a kontrollhoz képest (Nagy és mtsai. 2020).

A vizsgált fajok és HSL koncentrációk között a zsírsav-oxidációs útvonal volt az egyetlen, amelynél mind az egyes *Candida* fajok, mind a kezelési koncentrációk között szignifikáns különbséget figyeltünk meg a gének transzkripciójában. Amíg *C. auris*-ban a zsírsav bontásához kapcsolódó gének közül 27 gén mutatott szignifikáns transzkripció változást, addig a *C. albicans* esetében 21 gént azonosítottunk, ugyanakkor a 100 és 200 μM -os eredmények tekintetében elmondható, hogy mind a két gombafaj esetében a magasabb HSL kezelés több mint kétszeresére növelte a zsírsav-katabolizmusában résztvevő gének kifejeződését. Közismert tény, hogy a zsírsav-oxidáció szorosan összefügg a *Candida* fajok virulenciájával, mivel alapvető szerepet játszik az anyagcsere-adaptációban, az energiaellátásban, az immunrendszer elkerülésében és a morfogenezisben (Piekarska és mtsai. 2006).

Korábbi tanulmányok által publikált eredmények alapján, a *C. albicans* zsírsav-glükóz átalakítási képessége hozzájárulhat a virulencia emelkedéséhez (Piekarska és mtsai. 2006). Más kutatások viszont arra utalnak, hogy a β -oxidáción keresztüli zsírsav-metabolizmus *C. albicans*-ban nem feltétlenül szükséges a virulencia fenntartásához (Ballou és Wilson 2016; Gerwien és mtsai. 2018). A gombasejtek anyagcseréjében tapasztalt különbségek mellett a HSL kezelés szignifikánsan csökkentette a vas- és cinktartalmat *C. auris*-ban, ami hozzájárulhatott a korábban tárgyalt, β -oxidáció-alapú virulencia csökkentő hatáshoz az 50 és 100 μM kezelések esetében (Ballou és Wilson 2016). A vas és a cink kulcsszerepet töltenek be számos humán patogén gomba, köztük a *Candida* fajok virulenciájában. Ennek a két fémionnak egyensúlyi felborulása csökkenti a gombasejtek virulenciáját *in vivo* (Jakab és mtsai. 2021). Érdekes módon hasonló anyagcsere-változásokat és ionháztartási zavarokat figyeltek meg farnesol kezelés során is *C. auris*-ban, amely szintén a csökkent virulenciával társult *in vivo* (Jakab és mtsai. 2021). Ezek az eredmények tovább erősítik azt a hipotézist, miszerint a 12 szénatomos gerincet tartalmazó quorum sensing molekulák – mint a HSL és a farnesol – univerzális hatást gyakorolhatnak bizonyos gombaélettani folyamatokra, beleértve a zsírsav-oxidációt, a virulenciát, valamint az intracelluláris fémion homeosztázis, különösen *C. auris* esetében.

Összegzésként elmondható, hogy eredményeink új megvilágításba helyezik a quorum sensing molekulák, illetve szekunder metabolitok, például a HSL és a surfactin, szerepét a *Candida* fajok patogenitásában és adaptív válaszaiban. A vizsgált mechanizmusok arra utalnak, hogy ezek a vegyületek nem csupán kommunikációs eszközként, hanem a mikrobiális ökoszisztéma finomhangoló szabályozóelemeiként is működnek. Kiemelkedő jelentőségű, hogy a *C. auris* esetében megfigyelt ionháztartási zavarok és zsírsav-oxidációs útvonalváltozások olyan sejttéltani és metabolikus adaptációkra mutatnak rá, amelyek eddig ismeretlenek voltak a *C. auris* esetében. Az, hogy ezek a molekulák képesek befolyásolni a gombák virulenciáját, membránszerkezetét és stresszválaszait, alapvetően új irányokat nyithat a probiotikus és antifungális kutatásokban. További vizsgálatok szükségesek annak feltárására, hogy ezek a molekuláris kölcsönhatások miként befolyásolják a gazdaszervezet immunválaszát, valamint hogyan lehetne ezeket az interakciókat terápiásan hasznosítani. Különösen fontos annak megértése, hogy a quorum sensing moduláció révén miként lehet célzottan csökkenteni a kórokozók virulenciáját anélkül, hogy szelektív nyomást gyakorolnánk például olyan járulékos fenotípusos változásokra, mint az antibiotikum-rezisztencia kialakulása. Eredményeink tehát nemcsak a *Candida* fajok adaptív biológiájának mélyebb megértéséhez járulnak hozzá, hanem új perspektívát kínálnak a mikroba–mikroba, mikroba–quorum sensing molekula kommunikáció terápiás potenciáljának kiaknázásában is.

Összefoglalás

Az utóbbi években felértékelődött a baktérium–gomba kölcsönhatások kutatása, mivel ezek alapvető szerepet játszanak a mikrobiális ökoszisztémákban és a fertőzések kimenetelében. Kísérleteinkben a *Pseudomonas aeruginosa* által termelt N-(3-oxododekanoil)-L-homoszerin-lakton és a *B. subtilis* eredetű surfactin hatásait vizsgáltuk, abból a szempontból, hogy ezen molekulák miként befolyásolhatják a *Candida* fajok (*Candida albicans*, *C. auris*) viselkedését, virulenciáját és anyagcseréjét. A N-(3-oxododekanoil)-L-homoszerin-lakton vizsgálata során kimutattuk, hogy ez a quorum-sensing molekula jelentősen módosítja a *C. auris* és a *C. albicans* sejtek növekedését, adhézióját és géneik transzkripcióját. A kezelés hatására csökkent az adhéziós képesség és a biofilmképzés mértéke, amit többek között az *SCF1* gén alulszabályozódása kísért. *C. auris* esetében nagy sejtaggregátumok képződtek, míg a *C. albicans*-ban torz hifastruktúrák jelentek meg. Transzkriptomikai elemzések feltárták, hogy a N-(3-oxododekanoil)-L-homoszerin-lakton különösen a zsírsav-oxidációval, a membránstruktúrával és az iontranszporttal kapcsolatos géneket befolyásolja, valamint eltolja az anyagcserét a β -oxidációs útvonal irányába. Az ergoszterol-szintézist kódoló gének expressziója lecsökkent, ami a membrán fluiditásának és a gyógyszerérzékenységnek a módosulásához vezethetett.

Ezzel párhuzamosan a N-(3-oxododekanoil)-L-homoszerin-lakton hatására a sejtek vas- és cinktartalma szignifikánsan csökkent, míg több multidrog-efflux pumpa génje (például *CDR1*, *CDR4*) up-regulálódott. Állatkísérletekben az alacsony (50–100 μ M) N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lakton koncentrációk csökkentették a *C. auris* egérvesékben mért gombaterhelését, míg *C. albicans*-ban nem mutatkozott hasonló hatás. A *B. subtilis* által termelt surfactin szintén erőteljes gombaellenes hatást mutatott. Ez a ciklikus lipopeptid már rövid expozíciót követően gátolta a *C. albicans* növekedését, adhézióját, hifaképződését és a biofilmképzést. A sejtek intracelluláris vas-, mangán- és cinkszintje lecsökkent, míg a glutation-szint megemelkedet. A transzkripció profil alapján többek között lecsökkent az ergoszterol- és zsírsav-bioszintézishez (*ERG1*, *ERG3*, *FAS1*), valamint a biofilmképzéshez (*EFG1*, *ECE1*) kapcsolódó gének aktivitása. A surfactin és a fluconazole együttesen szinergista hatást fejtett ki. Mindkét tanulmány egyaránt hangsúlyozza, hogy a bakteriális kommunikációs molekulák nem pusztán jelátvivők, hanem komplex sejtszintű szabályozóként befolyásolják a gombák anyagcseréjét és patogenitását. E kutatások rávilágítanak arra, hogy ezen folyamatok célzott befolyásolása új lehetőséget kínálhat a *Candida* infekciók visszaszorításában.

Köszönetnyilvánítás

A tanulás és a kutatás néha hatalmas áldozatokkal járnak nem csak annak, aki az elszenvedője, hanem mindazoknak, akik közvetett vagy közvetlen módon, de részesei ennek a hosszadalmas és fáradságos folyamatnak. A háttérben meghúzódva támogatóan állnak az ember mellett és végig kísérik ezen a hosszú úton. Úgy gondolom, hogy ez a folyamat az élet számos területére is igaz, így nem meglepő, ha azt mondom, hogy ez nem volt másképp ezen értekezésem elkészülésének ideje alatt sem. Ez alapján a doktori munkám sem egy ember teljesítményét mutatja be, hanem mindazokért, akik segítségükkel végig kísérték azt.

Mindenekelőtt témavezetőmnek, Dr. Kovács Renátónak tartozom köszönettel, aki nem csak szakmailag, de emberileg is mellettem állt az elmúlt négy év alatt. Megismertette velem jelen kutatási témámat és tanácsaival, biztatásával nagyban hozzájárult szakmai előrehaladásomhoz, fejlődésemhez.

Köszönetemet szeretném kifejezni Prof. Dr. Kónya Józsefnek, aki lehetővé tette számomra, hogy a diagnosztikai munkám mellett végezhettem a doktori kutatómunkámat az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben. Továbbá köszönettel tartozom Prof. Dr. Majoros Lászlónak, a mikológia laboratórium vezetőjének, hogy befogadást nyertem a „gombalabor” kutatási tevékenységébe és szakmai javaslataival segítette munkámat.

Hálával tartozom a mikológia laboratórium valamennyi munkatársának a megannyi szakmai segítségért és támogatásért, amit az évek során kaptam tőlük. Külön köszönettel tartozom Dr. Jakab Ágnesnek, aki szakmai iránymutatásaival és támogatásával nagyban hozzájárul kutatási munkám sikereihez. Köszönöm Dr. Nagy Fruzsínának és Dr. Tóth Zoltánnak, hogy megismertették velem a mikológia laborban zajló *in vitro* kutatásokat és szakmai tanácsokkal láttak el az évek alatt. Szeretnék köszönetet mondani Forgács Lajosnak és Balácsi Dávidnak az *in vivo* kísérletekben való közreműködésükért és támogatásukért. Személy szerint köszönettel tartozom még Balla Noéminek és Harmath Andreának a közös munkáért és a kutatási tevékenységemhez nyújtott segítségükért.

Külön köszönet illeti Dr. Ragyák Ágotát és Dr. Sajtos Zsófiát a Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Kémiai Intézet, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék két munkatársát, továbbá a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratórium munkatársait a kutatási munkámhoz nyújtott segítségükért.

Köszönetemet szeretném még kifejezni Andrew M. Borman-nak, aki nagylelkűen a rendelkezésünkre bocsátotta a törzsgyűjteményünkben megtalálható *Candida auris* izolátumokat, továbbá Kovács T. Ákosnak a *Bacillus subtilis*-os kísérleteinkhez nyújtott szakmai segítségéért.

Köszönettel tartozom még az Orvosi Mikrobiológiai Intézet minden régi és jelenlegi munkatársának és egyben kollégáimnak, akik segítették a PhD munkámat és támogattak a négy év alatt.

Végezetül, de nem utolsó sorban hálával tartozom a családomnak és a barátaimnak, akik rendíthetetlenül mellettem álltak, támogattak, biztattak és türelemmel, megértéssel fordultak hozzám a legnehezebb időkben is. Mert a támogatásuk és szeretetük nélkül ez a disszertáció sem készülhetett volna el.

Köszönöm a támogatását a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak (NKFIH FK138462, TKP2021-EGA), valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap által finanszírozott Új Nemzeti Kiválóság Programnak (UNKP-21-5-DE-473). Köszönöm, hogy a kutatómunkánk finanszírozásához hozzájárult a Komplex Egészségipari Multidiszciplináris Kompetencia Központnak (GINOP-2.3.4-15-2020-00008).

Új megállapítások

- *A B. subtilis* által termelt surfactin szignifikánsan gátolta a *C. albicans* virulenciáját, az adhézió, a morfogenezis és a biofilmképzés szintjén.
- A transzkriptom profil alapján a surfactin hatására lecsökken az ergoszterol- és zsírsav-bioszintézishez, valamint a biofilmképzéshez kapcsolódó gének transzkripciója.
- *A P. aeruginosa* által termelt HSL molekula jelentősen befolyásolja a *C. auris* és a *C. albicans* növekedését, adhézióját és génjeik transzkripcióját, mely révén gátolj a szignifikánsa a gombasejtek virulenciáját.
- A transzkriptomikai elemzéseink feltárták, hogy a HSL kezelés elsősorban a membránstruktúra integritásában, az iontranszporttal és a zsírsav oxidációval kapcsolatos gének transzkripcióját modulálja, valamint az anyagcsere folyamatokat a β -oxidáció irányába tolja.
- Az *in vivo* körülmények között az alacsony HSL koncentrációk képesek voltak gátolni a *C. auris* invázióját és szövetkárosító tulajdonságát.



Nyilvántartási szám: DEENK/573/2025.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kovács Fruzsina
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10082691

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kovács, F.**, Jakab, Á., Balla, N., Tóth, Z., Balácsi, D., Forgács, L., Harmath, A., Bozó, A., Ragyák, Á., Majoros, L., Kovács, R. L.: A comprehensive analysis of the effect of quorum-sensing molecule 3-oxo-C12-homoserine lactone on *Candida auris* and *Candida albicans*.
Biofilm. 9, 1-12, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biofilm.2025.100259>
IF: 4.9 (2024)
2. Jakab, Á., **Kovács, F.**, Balla, N., Tóth, Z., Ragyák, Á., Sajtos, Z., Csillag, K., Nagy-Köteles, C., Nemes, D., Bácskay, I., Pócsi, I., Majoros, L., Kovács, Á. T., Kovács, R. L.: Physiological and transcriptional profiling of surfactin exerted antifungal effect against *Candida albicans*.
Biomed. Pharmacother. 152, 1-10, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113220>
IF: 7.5

További közlemények

3. Balla, N., **Kovács, F.**, Tóth, Z., Harmath, A., Bozó, A., Majoros, L., Kovács, R. L., Jakab, Á.: Isolate Specific Transcriptome Changes Exerted by Isavuconazole Treatment in *Candida auris*.
Mycopathologia. 190 (1), 1-11, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-024-00919-1>
IF: 2.9 (2024)
4. Jakab, Á., **Kovács, F.**, Balla, N., Nagy-Köteles, C., Ragyák, Á., Nagy, F., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: Comparative transcriptional analysis of *Candida auris* biofilms following farnesol and tyrosol treatment.
Microbiol. Spectr. 12 (4), 1-12, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.02278-23>
IF: 3.8





5. **Kovács, F.**, Balla, N., Bozó, A., Harmath, A., Jakab, Á., Tóth, Z., Nagy, F., Majoros, L., Kovács, R. L.: Epidemiology, clinical characteristics, outcome and biofilm forming properties in candidaemia: a single-centre retrospective 4-year analysis from Hungary. *Mycoses*. 67 (4), 1-12, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/myc.13727>
IF: 3.1
6. Balázs, D., Tóth, Z., Locke, J. B., Borman, A. M., Forgács, L., Balla, N., **Kovács, F.**, Kovács, R. L., Amano, C., Baran, T. I., Majoros, L.: In Vivo Efficacy of Rezafungin, Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin against Four *Candida auris* Clades in a Neutropenic Mouse Bloodstream Infection Model. *J. Fungi*. 10 (9), 1-14, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jof10090617>
IF: 4
7. Demeter, F., Török, P., Kiss, A., Kovásznai-Oláh, R., Máthéné Szigeti, Z., Baksa, V., **Kovács, F.**, Balla, N., Fenyvesi, F., Váradi, J., Borbás, A., Herczeg, M.: First Synthesis of DBU-Conjugated Cationic Carbohydrate Derivatives and Investigation of Their Antibacterial and Antifungal Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 24 (4), 1-20, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24043550>
IF: 4.9
8. Balla, N., Jakab, Á., **Kovács, F.**, Ragyák, Á., Tóth, Z., Balázs, D., Forgács, L., Bozó, A., Al Refai, F., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: Total transcriptome analysis of *Candida auris* planktonic cells exposed to tyrosol. *AMB Express*. 13 (1), 1-10, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-023-01586-z>
IF: 3.5
9. Kovács, R. L., Erdélyi, L. J., Fenyvesi, F., Balla, N., **Kovács, F.**, Vámosi, G., Klusóczki, Á., Gyöngyösi, A., Bácskay, I., Vecseryés, M., Váradi, J.: Concentration-Dependent Antibacterial Activity of Chitosan on *Lactobacillus plantarum*. *Pharmaceutics*. 15 (1), 1-11, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics15010018>
IF: 5.4
10. Balla, N., **Kovács, F.**, Balázs, B., Borman, A. M., Bozó, A., Jakab, Á., Tóth, Z., Kobaissi, O., Majoros, L., Kovács, R. L.: Synergistic Interaction of Caspofungin Combined with Posaconazole against FKS Wild-Type and Mutant *Candida auris* Planktonic Cells and Biofilms. *Antibiotics-Basel*. 11 (11), 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics11111601>
IF: 4.8





11. Jakab, Á., Balla, N., Ragyák, Á., Nagy, F., **Kovács, F.**, Sajtos, Z., Tóth, Z., Borman, A. M., Pócsi, I., Baranyai, E., Majoros, L., Kovács, R. L.: Transcriptional profiling of the *Candida auris* response to exogenous farnesol exposure.
mSphere. 6 (5), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00710-21>
IF: 5.029

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 49,829

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
12,4**

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2025.11.06.

