

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

A micafungin farmakodinámiájának vizsgálata klinikailag jelentős *Candida* fajok ellen

Tóth Zoltán

Témavezető: Dr. Kovács Renátó



**DEBRECENI
EGYETEM**

DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2022

Tartalomjegyzék

Rövidítésjegyzék.....	4
I. Bevezetés.....	5
II. Irodalmi áttekintés.....	7
II.1. A <i>Candida</i> fajok általános jellemzése és virulenciafaktorai	7
II.2. A <i>Candida</i> infekciók klinikai spektruma.....	10
II.3. Az invazív <i>Candida</i> infekciók epidemiológiája	11
II.4. A <i>Candida auris</i>	13
II.5. A szisztémás <i>Candida</i> infekciók terápiájának jelenleg használt és klinikai kipróbálás alatt álló hatóanyagi	15
II.6. Az echinocandinok	17
II.7. A micafungin.....	21
III. Célkitűzés.....	22
IV. Anyagok és Módszerek	23
IV.1. A kísérletekben vizsgált izolátumok.....	23
IV.2. A kísérletekben használt antifungális szerek, valamint a humán szérum	23
IV.3. Az izolátumok micafungin, illetve egyéb echinocandin érzékenységének meghatározása ..	23
IV.4. A micafungin <i>in vitro</i> farmakodinámiájának vizsgálata pleurális és peritoneális <i>Candida</i> izolátumok ellen	24
IV.5. A micafungin <i>in vitro</i> farmakodinámiájának összehasonlító vizsgálata különböző kládokba tartozó <i>C. auris</i> izolátumok ellen	24
IV.6. Az aggregáció vizsgálata a <i>C. auris</i> izolátumok esetében echinocandin expozíció hatására	25
IV.7. Az adatok statisztikai kiértékelése	25
V. Eredmények.....	26
V.1. A micafungin <i>in vitro</i> aktivitásának vizsgálata pleurális és peritoneális <i>Candida</i> izolátumok ellen.....	26
V.1.1. A kísérletekben használt izolátumok micafungin érzékenységének meghatározása.....	26
V.1.2. Az 50%-os csíraszámcsökkenéshez szükséges idő a különböző micafungin koncentrációk esetében az egyes vizsgált tápközegekben a különböző <i>Candida</i> izolátumok ellen az idő-ölés kísérletek során	28
V.1.3. Az ölési ráta értékek alakulása az egyes vizsgált <i>Candida</i> fajok klinikai izolátumainak esetében	29
V.2. A micafungin, valamint a komparátor echinocandinok (caspofungin, anidulafungin, rezafungin) <i>in vitro</i> aktivitása <i>C. auris</i> izolátumok ellen.....	32
V.2.1. A kísérletekben használt <i>C. auris</i> izolátumok echinocandin érzékenységének meghatározása	32
V.2.2. Az 50%-os csíraszámcsökkenéshez szükséges idő a vizsgált <i>C. auris</i> izolátumok esetében.....	33
V.2.3 Az életben lévő <i>C. auris</i> sejtek száma a dél-amerikai kládba tartozó I-172-es izolátum esetén a különböző időpontokban a különböző echinocandin koncentrációkon	34
V.2.4. Az ölési ráta értékek alakulása a vizsgált <i>C. auris</i> kládok esetében	35
V.2.5. Az echinocandinok által indukált morfológiai változások különböző kládokba tartozó <i>C. auris</i> izolátumok esetében	38

VI. Megbeszélés.....	40
VII. Fontosabb eredmények.....	43
VII. Összefoglalás.....	44
VIII. Summary	45
IX. Társ szerzők közreműködése	46
X. Irodalomjegyzék	47
XI. Tárgyszavak - Keywords.....	72
XII. Köszönetnyilvánítás	73
XIII. Függelék	74

Rövidítésjegyzék

ALS	Agglutinin-like sequence
AMB	Amphotericin-B
ANF	Anidulafungin
ATCC	American Type Culture Collection
AUC	Area Under the Curve / A görbe alatti terület
AUC/MIC	Area Under the Curve / minimal inhibitory concentration
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CSF	Caspofungin
CFU	Colony Forming Unit
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
C _{max}	Csúcskoncentráció
C _{max} /MIC	Csúcskoncentráció / minimális gátló koncentráció
C _{trough}	A következő dózis beadását közvetlenül megelőző koncentráció
ECOFF	Epidemiological Cut-Off Value
FKS1, FKS2, FKS3	a β -1,3-D-glükán-szintáz enzimkomplex katalitikus alegységét (Fksp) kódoló gének
IAC	intra-abdominális candidiasis
IC	invazív candidiasis
ITO	intenzív terápiás osztály
MIC	minimal inhibitory concentration – minimális gátló koncentráció
MCF	micafungin
PAE	Ponst Antimicrobial Effect
PAFE	Post Antifungal Effect
PG	Paradoxical Growth
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Institute Medium
SAP	szekretált aszpartil proteinázok
SDA	<i>Sabouraud</i> dextrose agar – gombák tenyésztésére alkalmas táptalaj

I. Bevezetés

Az elmúlt harminc évben a különböző gombák által okozott invazív infekciók jelentősége megnőtt. Ez részint az egyre gyakoribbá váló invazív, illetve immunszuppresszióval járó beavatkozásoknak, továbbá az egyre nagyobb számú súlyos alaptergességgel küzdő és ezért gombás infekciókra fogékonyabb betegpopulációnak köszönhető (Sardi és mtsai. 2013). A világon becslések szerint több mint 1 milliárd gombás infekció történik évente, ám ezeknek az eseteknek csak töredéke súlyos krónikus vagy akut invazív fertőzés (4,5-5 millió) (Brown és mtsai. 2012, Bongomin és mtsai. 2017). Az évi több mint 1,6 milliós globális becsült halálozás mégis beszédes adat és jelzi ezeknek a jellemzően opportunisták kórokozó eukarióta mikroorganizmusoknak az emberi egészségre gyakorolt jelentőségét. Ha párhuzamba szeretnénk állítani ezt a halálozási adatot más fertőző betegségekkel, akkor azt találnánk, hogy ez megegyezik a tuberkulózis által okozott és mintegy háromszorosa a malária okozta becsült halálozásnak (Bongomin és mtsai. 2017). Fontos leszögezni azonban, hogy ez a magas halálozási adat több eltérő gombafaj, sőt nemzettség által okozott számos kórkép között oszlik meg. A legjelentősebbnek tartott humánpatogén kórokozók a különböző *Candida*, *Aspergillus* és *Cryptococcus* fajok (Pfaller & Diekema 2007).

Az invazív candidiasis-os (IC) esetek száma becslések szerint globálisan évi ~700.000 (Bongomin és mtsai. 2017), melyből 23.000-25.000 történik az Egyesült Államokban (Tsay és mtsai. 2020) Az ehhez kapcsolódó egészségügyi ráfordítás Benedict és mtsai. becslése szerint 1,4 milliárd USD, mely nagyságrendileg megegyezik az AMR (antimikrobiális rezisztencia) miatt az egészségügyi ellátásban megjelenő többletköltség összegével (Benedict és mtsai. 2019). Magyarországon becslések szerint évi 1100 körüli candidaemia-s, illetve néhány száz egyéb invazív, például posztoperatív peritonealis candidiasis eset fordulhat elő (Sinkó és mtsai. 2015).

Az invazív *Candida* infekciók terápiájára meglehetősen kevés hatóanyaggal rendelkezünk, melyek három csoportba oszthatók, ezek a poliének, az azolok, illetve az echinocandinok (Lewis 2011). Utóbbi csoport 2000-es évekbeli bevezetéséhez nagy reményeket fűztek, mint biztonságosabb és hatékonyabb, kiemelkedően jó *in vitro* aktivitású antifungális szerek, azonban a hozzájuk kapcsolódó ígéretek csak részben sikerült bevaltaniuk. Bár valóban egy rendkívül biztonságos hatóanyagcsoportról van szó és klinikailag némileg hatékonyabbak, mint a korábbi antifungális gyógyszerek, az invazív *Candida* okozta infekciókban, a candidaemia-hoz kapcsolódó mortalitás továbbra is elfogadhatatlanul magas, bizonyos fajok esetében eléri a 70%-ot a kritikus állapotú betegek körében (Lortholary és mtsai.

2014, Pappas és mtsai. 2018). Az utóbbi időben mind gyakrabban felmerülő magyarázat a továbbra is magas halálozás hátterében, a nem megfelelő, túl alacsony napi dózisú echinocandin adagolás, illetve az ebből következő farmakokinetikai/farmakodinámiai célkoncentráció el nem érése, mind a véráramban, mind pedig az egyéb fertőzött gócokban (Pea & Lewis 2018). Ennek oka többek között az lehet, hogy az adagolási séma összeállítása során az egészséges önkéntesek adataiból indultak ki, azonban ma már tudjuk, hogy a különböző kritikus állapotban lévő betegek körében a farmakokinetikai paraméterek az egyes echinocandinok esetében jelentősen eltérnek, általában az alacsonyabb expozíció irányába (Mainas és mtsai. 2020). További probléma, hogy az echinocandinok adagolása a bevezetésük óta nem változott. Abban az időszakban, amikor a jelenleg használatos dózisokat megállapították, az a farmakometriai megközelítés nem volt elterjedt, mely figyelembe veszi a különböző *Candida* fajok némileg eltérő echinocandin érzékenységét és a különböző betegpopulációkban és anatómiai tájakon tapasztalható farmakokinetikai variabilitást (Bader és mtsai. 2018).

A *Candida* okozta véráramfertőzésekhez képest az egyéb anatómiai területek infekciói kevésbé voltak a tudomány fókuszában és csak az elmúlt 7-8 évben kezdtek el megjeleni például a micafungin (MCF) peritoneális és pleurális folyadékra vonatkozó farmakokinetikai adatai (Grau és mtsai. 2015, García-de-Lorenzo és mtsai. 2016), melyek ismeretében vizsgálhatóak az említett területeken releváns gyógyszerkoncentrációk farmakodinámiás aktivitása. Érdekes módon a 2009-ben leírt *C. auris*-ra vonatkozóan is egyelőre szűkös farmakodinámiás ismeretekkel rendelkezünk, például a MCF-ről csak érzékenységi vizsgálatok adatai állnak rendelkezésre (pl. Chowdhary és mtsai. 2018), pedig a klinikailag elérhető koncentrációk ismeretében vizsgálható, hogy a jelenlegi dózisok alkalmazása elégséges-e a kórokozók eradikálásához az adott anatómiai területről (Dusano 2004).

Vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy a klinikumba másodikként bevezetett echinocandin, a MCF farmakodinámiás aktivitása megfelelő-e a rendelkezésre álló farmakokinetikai adatok alapján a pleura, valamint a peritoneum különböző *Candida* fajok okozta gyulladásos kórképeiben, illetve megvizsgáltuk azt, hogy a MCF a klinikailag releváns koncentrációkon milyen aktivitást fejt ki a jelenleg is terjedőben lévő *C. auris* különböző kládokba tartozó izolátumai ellen a vérplazmában elérhető koncentrációkon. Kísérleteink során figyelembe vettük az egyes anatómiai helyeken releváns fehérjekoncentrációkat, ezzel is közelítve az *in vivo* tapasztalható farmakodinámiai körülményeket. Reményeink szerint eredményeink hozzájárulhatnak a MCF nagyobb hatékonyságú klinikai alkalmazásához.

II. Irodalmi áttekintés

II.1. A *Candida* fajok általános jellemzése és virulenciafaktorai

A *Candida* genus inkább funkcionális, mint rendszertani kategória, a csoportba sorolt fajok nem mono-, hanem polifiletikus kapcsolatban állnak (Diezmann és mtsai. 2004). Számos faj teleomorf alakjának eltérő a megnevezése és nemzettség szinten más rendszertani besorolású, azonban dolgozatomban az egyszerűség kedvéért a klinikumban elfogadott anamorf (*Candida*) alakok neveit fogom használni. Filogenetikai besorolásuk alapján a különböző *Candida* fajok az *Ascomycota* törzsön belül a *Saccharomycetales* rendbe tartoznak, mely után a klinikailag releváns fajok két elkülönülő leszármazási ágon találhatóak (Papon és mtsai. 2013). Ezek közül az egyik az ún. CTG klád, mely tagjai a CTG kodont leucin helyett szerinre transzlálják. Ide tartozik a patogén fajok nagyobb része, mint pl. a *C. albicans*, *C. tropicalis* és a *C. parapsilosis*. A másik leszármazási ág az ún. poszt-WGD (Whole Genome Duplication) kládok közül a *Nakaseomyces* klád, melybe a gyakori humánpatogén *Candida* fajok közül a *C. glabrata* tartozik, valamint közeli rokonai, a ritkán kórokozó *C. bracarensis* és *C. nivarensis*. A *C. krusei* a *Nakaseomyces* kládon belül a WGD-kládtól filogenetikailag elkülönül. Érdekes módon az összes ismert *Candida* faj közül csupán kb. harmincat azonosítottak, mint humánpatogént, ezek azonban gyakran filogenetikailag elkülönülő ágon találhatóak, közvetlen rokonaik jellemzően apatogén fajok. Ebből arra lehet következtetni, hogy a törzsfajlás során az humánpatogenitás több alkalommal is egymástól függetlenül kifejlődött a *Candida* fajok törzsfajlás során (Gabaldón és mtsai. 2016).

A *Candida* sejtek morfológiájukat tekintve hosszúkás vagy kerekded alakúak. Méretük fajonként eltérő, de általánosságban elmondható, hogy méretük 2-10 μm közé esik (Sudberry és mtsai. 2004). Sejtfallal rendelkeznek, mely egyrészt a sejtek rigiditásáért felel, másrészt fontos szerepe van a gazdaszervezettel való interakcióban. A *C. albicans* sejtfa, hasonlóan a többi *Candida* fajéhoz döntően 1-3 β -D-glükánból, 1-6 β -D glükánból, kitinből, valamint a sejtfa külső részén található mannoproteinekből áll. A *Candida* fajok sejtfa fontos támadáspontja mind az echinocandin típusú antifungális vegyületeknek, mind a triterpén ibrexafungerpnek és a fosmanogepixnek (Garcia-Rubio és mtsai. 2020, Shaw & Ibrahim 2020).

A sejtmembrán szteránvázas vegyülete ellentétben az állati sejtekkel az ergosterol, ez a sejtfa meglétéhez hasonlóan fontos különbség az antifungális terápia szempontjából. A polién típusú antifungális hatóanyagok szelektív toxicitásának az ergosterolhoz való nagyobb affinitásuk az oka, míg az imidazol és triazol származékok az ergosterol szintézis elkötelező lépésének gátlásával, a lanosterol-14 demetiláz enzimen fejtik ki hatásukat (Lewis 2007).

Mivel eukarióta mikroorganizmusok, rendelkeznek sejtmaggal, melyben a DNS kromoszómákba rendeződik, melyek száma fajoként eltérő (*C. albicans* 16, *C. glabrata* 13, *C. auris* 7). A genom mérete a diploid *C. albicans* esetében kb. 26 Mb, a haploid *C. glabrata* genomja viszont csupán kb. 12 Mb, akárcsak a *C. auris*-é. (Dujon és mtsai. 2004, Muñoz és mtsai. 2018).

A különböző *Candida* fajok számos virulenciafaktorral rendelkeznek, azonban a két leszármazási ág (CTG, illetve *Nakaseomyces* klád) között jelentős különbségek fedezhetők fel. Az egyik legfontosabb talán a dimorfizmus megléte vagy épp hiánya (Mayer és mtsai. 2013). A CTG kládba tartozó fajok jellemzően képesek hifát, vagy legalábbis pszeudohifát képezni, ellentétben a *C. glabrata*-val, melynél eddig csak extrém tápanyaghiányos körülmények között figyelték meg a pszeudohifa képzést (Mayer és mtsai. 2013, Csank & Haynes 2000). A dimorfizmus egy rendkívül fontos virulenciafaktor a *C. albicans* pathogenezise során, mely a szöveti invázióban játszik kulcsszerepet. Azok a mutáns *C. albicans* törzsek, melyek nem képesek a dimorfizmusra csökkent virulenciával rendelkeznek (Lo és mtsai. 1997, Mayer és mtsai. 2013). Ezzel szemben a *C. glabrata* szöveti inváziójához nincs szükség a hifa formára, valószínűleg kizárólag indukált endocitózissal jut át az intakt biológiai barrieréken (Galocha és mtsai. 2019). A dimorfizmussal kapcsolatos fontos jelenség, hogy az hifa vagy pszeudohifa forma jelentős védettséget jelent a makrofágok általi fagocitózissal szemben (Bain és mtsai. 2021). A *C. glabrata* ezzel ellentétben egyáltalán nem igyekszik elkerülni a makrofágok általi bekebelezést, ugyanis képes nem csak túlélni, hanem szaporodni is a fagoszómában, mely végül a gazdasejt pusztulásához vezet (Seider és mtsai. 2011). Ez egyfajta immunelkerülésként is értelmezhető, hiszen amíg a *C. glabrata* sejt intracellulárisan helyezkedik el, addig az immunrendszer egyéb effektorai előtt rejtve maradhat (Galocha és mtsai. 2019). Nem véletlen, hogy állatkísérletes modellekben a *C. glabrata* rendkívül hosszú ideig képes steril testtájakon jelen lenni az infekció jellegzetes tünetei nélkül (Jacobsen és mtsai. 2010).

Bizonyos fajok (pl. *C. albicans* és *C. dubliniensis*) képesek ún. chlamydospora képzésére, mely ezen fajok identifikálásában játszik fontos szerepet, azonban funkciója egyelőre nem tisztázott. Az azonban valószínűsíthető, hogy az evolúció során ez a jelenség nem maradt volna fent, ha nem lenne fontos szerepe az említett gombafajok valamely életfolyamatában (Staib & Mörchauser 1999, Böttcher és mtsai. 2016).

A másik jelentős különbség a leszármazási ágak között a szekretált aszpartil proteázok (SAP) megléte, vagy hiánya. Ezek az enzimek a gazdaszervezet számos fehérjéjét képesek bontani (pl. kollagén), elősegítve a szöveti inváziót, ugyanakkor az immunelkerülésben is

jelentős szerepük lehet, mivel képesek az antimikrobiális peptidek, valamint a komplement rendszer egyes tagjainak lízisére is. Míg a *C. albicans* esetében számos SAP-t (SAP 1-10) azonosítottak, melyek expressziója ráadásul a morfológiától (élesztő forma esetében a SAP 1-3, hifa alaknál a SAP 4-6 dominál) változik, addig a *C. glabrata* esetében egyet sem. Ez nem jelenti azonban a hidrolitikus enzimek hiányát utóbbi esetében, ugyanis a *C. glabrata* számos sejtfalhoz asszociált aszpartil-proteázzal (yapsin) rendelkezik. A CTG klád egyéb tagjai esetében (pl. *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*) is azonosították az SAP-k orthologjait, azonban ezek expressziója elmarad a *C. albicans* mögött (Singh és mtsai. 2019, Silva és mtsai. 2016).

Mindemellett a *C. albicans* képes egyéb extracelluláris struktúrák bontására alkalmas enzimek szekréciójára, mint lipázok, illetve foszfolipázok, valamint a candidalysin (Mayer és mtsai. 2013, Moyes és mtsai. 2016). Utóbbi az első klasszikus virulenciafaktornak tekinthető és az első klasszikus peptid toxin, melyet a különböző humánpatogén gombafajok esetén leírtak. A 31 peptidből álló citolitikus fehérje a hifa morfológia esetén expresszált Ecel protein Kex1 és Kex2 általi proteolitikus hasítása során keletkezik és a mukózális invázió során elengedhetetlen fontossággal bír (Naglik és mtsai. 2019).

A *Candida* fajok további fontos virulenciafaktora az, hogy képesek biofilmképzésre mind biotikus, mind abiotikus felszíneken, mely a különböző nyálkahártyafelszínek vagy éppen implantált eszközök, kanülök, katéterek kolonizációjában játszik fontos szerepet. A *Candida* sejtek kitapadásában és ezáltal a biofilmképzésben, valamint a biofilm fenntartásában nagy szerepet játszanak az ún. ALS (Agglutinin-like Sequence) fehérjék. A biofilmben található sejtek sokkal ellenállóbbak az antifungális kezelésekkel szemben, mint planktonikus társaik (Cavalheiro & Teixeira 2018). Az egyes fajok eltérő mértékben képeznek biofilmet, a legjobb biofilmképzőknek a *C. tropicalis*-t, a *C. albicans*-t, illetve a *C. parapsilosis*-t tartják (Melo és mtsai. 2011). A *C. glabrata* aránylag gyenge biofilmképző önállóan, azonban egyéb *Candida* fajokkal vagy baktériumokkal gyakran megtalálható, ún. kevert, több fajból álló biofilmekben (Galocha és mtsai. 2019). Érdekes módon a *C. auris* sem egy kifejezetten jó biofilmképző faj, ha a biofilmtömeget vesszük figyelembe, azonban biofilmjei az egyéb *Candida* fajokkal összehasonlítva is kifejezetten ellenállóak a külső behatásokkal szemben (Sherry és mtsai. 2017). A biofilmképzés fontosságát jelzi, hogy több tanulmány szerint is magasabb mortalitással járnak a jó biofilmképző izolátumokkal történő infekciók (Rajendran és mtsai. 2016, Vitális és mtsai. 2020).

II.2. A *Candida* infekciók klinikai spektruma

A *Candida* okozta infekciókat általában két nagy csoportba szokás sorolni, ezek egyike a noninvazív, a másik az invazív infekciók. A noninvazív infekciók közé tartozik az újszülöttek orális candidiasisa vagy másnéven soor-ja, a vulvovaginális candidiasis, mely a nők jelentős részében kialakul az élete során legalább egyszer, az alsó húgyutak *Candida* infekciói, valamint az oropharingeális és esophagális candidiasis. Utóbbi kettő általában valamilyen immunszupprimált állapothoz kapcsolódik, mint a HIV infekció, kemoterápia, illetve az adott terület onkoradiológiai kezelése (Chitapanarux és mtsai. 2021, Mohamed és mtsai. 2019). Ezek az infekciók, a nyelőcső *Candida* fertőzését kivéve bár rendkívül kellemetlenek, általában nem életet veszélyeztető állapotok, ellentétben az invazív *Candida* infekciókkal. Utóbbi alatt valamilyen steril anatómiai hely *Candida* infekcióját értjük (Pfaller & Diekema 2007).

Az IC palettája meglehetősen széles. A leggyakoribb manifesztáció a candidaemia, mely a véráram fertőzése és gyakran első lépése, az egyéb szervekben, szövetekben megjelenő gócos *Candida* infekcióknak, hiszen így a *Candida* sejtek hematogén disszemináció útján eljuthatnak a test bármely területére. Ily módon fokális gócok alakulhatnak ki a májban, a lépben, a vesékben, illetve a vér-agy gát penetrációja útján a központi idegrendszerben is. Utóbbi esetben *Candida* meningitis alakulhat ki, mely magas mortalitással jár és nehezen kezelhető. Nehezen eradikálható és hematogén szóródás következménye a *Candida* endocarditis is, mely gyakran sebészi beavatkozást is igényel (Kullberg & Arendrup 2015, Baddley és mtsai. 2008).

Szintén invazív infekciók, de jellemzően nem hematogén disszemináció következményei a savós hártyák üregeinek *Candida* infekciói, mint a *Candida* peritonitis és hasúri tályog, illetve *Candida* okozta empyema thoracis. Előbbi esetben általában a bélcsatorna megnyitása során a peritoneumba jutó *Candida* sejtek okozzák az infekciót, míg utóbbi esetben valamilyen mellkasi operáció, esetleg rupturált nyelőcső vagy tüdőtályog következtében kerülnek a cavum pleurae-ba (Montravers és mtsai 2011, Ko és mtsai. 2000). Érdekes módon a szakirodalom több olyan elsődleges vagy spontán *Candida* peritonitises esetet is leír, amikor nem került sor a bélcsatorna megnyitására (Lahmer és mtsai. 2016). Polimikrobiális peritonitis során a különböző kitenyésző *Candida* fajokat általában nem tekintik kórokozóknak, ellentétben a monomikrobiális esetekkel, melyek terápiája vagy valamilyen echinocandinnal, vagy flukonazzal történik a megfelelő sebészeti dekontamináció mellett (Pemán és mtsai. 2017, Pappas és mtsai. 2016).

Candida osteomyelitis többféle módon is kialakulhat, az esetek nagyobb részében az infekció kialakulásának háttérében hematogén disszemináció áll, ugyanakkor műtéti kontamináció is okozhatja (Gamaletsou és mtsai. 2012).

II.3. Az invazív *Candida* infekciók epidemiológiája

A különböző *Candida* okozta invazív kórképek esetében számos prediszponáló tényezőt azonosítottak, melyek egy része általánosnak tekinthető és a legtöbb invazív *Candida* okozta kórkép megjelenésére hajlamosít, így a candidemia és az IAC (intra-abdominális candidiasis) rizikófaktorai, között is jelentős hasonlóságot találunk (Yapar 2014, Pfaller & Diekema 2007, Vergidis 2016). Példaként említhető a széles spektrumú antibiotikum kezelés, a hosszú kórházi tartózkodás, teljes mesterséges táplálás, diabetes mellitus vagy éppen a különböző immunszupprimált állapotok, mint a HIV infekció vagy éppen a neutropénia. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy vannak specifikus, csak az adott típusú invazív infekcióra hajlamosító tényezők, candidemia esetén a centrális vénás katéterek jelenléte, IAC esetében pedig a többszöri hasi műtét, valamint az anasztomózis elégtelenség említendő (Yapar 2014, Vergidis és mtsai. 2016). A *Candida* empyema epidemiológiájáról kevés ismerettel rendelkezünk, Senger és mtsai. 2021-es tanulmányukban, mely az első többcentrumos a témával foglalkozó tanulmány, sajnos nem vizsgálták részletesen a rizikótényezőket, ugyanakkor eredményeik alapján az esetek többségének háttérében valamilyen mellkast érintő invazív beavatkozás, esetleg malignus folyamat állt. Talán az egyetlen jellemző epidemiológiai adat az az, hogy az esetek 84%-át intenzív terápiás osztályon (ITO) azonosították (Senger és mtsai. 2021).

Az különböző IC-os kórképek esetében a mortalitás széles skálán mozog, míg a kritikus állapotban lévő candidemias és szeptikus betegek halálozási aránya 70-80% is lehet, addig az IAC mortalitása candidemia nélkül 25-40%-os. Fontos kiemelni azonban, hogy az IAC esetében leírt mortalitás némileg félrevezető, ugyanis az IAC, mint olyan kevésbé jól definiált. IAC-os esetnek tekintik mind a hasúri tályogos, mind pedig a primer, szekunder és terciér peritonitis-es eseteket is, sőt Vergidis és mtsai. 2016-os tanulmányukban az IAC körébe sorolja azokat a cholangitises és nekrotizáló pancreatitis-es eseteket is, ahol a *Candida* kóroki szerepe legalábbis gyanítható. Eredményeik alapján a primer vagy szekunder peritonitis sokkal rosszabb prognózisú, mint a különböző hasúri tályogok (Vergidis és mtsai. 2016). A *Candida* empyema 30 napos mortalitása 20-30% között mozog adekvát terápia mellett (Williams és mtsai. 2017, Senger és mtsai. 2021).

A számos ismert *Candida* faj közül viszonylag kevés (kb. 20) képes invazív fertőzést okozni az emberi szervezetben, és ezeknek is a döntő többségéért öt faj a felelős, melyek a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* és *C. krusei* (Pfaller & Diekema 2007, Yapar 2014). Az esetek kb. 50%-át a *C. albicans* okozza, a másik 50% a különböző ún. non-*albicans* *Candida* fajok között oszlik meg, bár jelentős földrajzi különbségek tapasztalhatóak az egyes fajok pontos incidenciájában (Simon és mtsai. 2013). Érdekes módon a *Candida* fajok gyakorisága az egyes betegcsoportok között is némileg eltérő. A *C. glabrata* és a *C. tropicalis* gyakoribb szolid és hematológiai malignitással kezelt betegek körében, ezzel szemben a *C. parapsilosis* a koraszülöttek körében fordul elő gyakrabban, valamint a jó biofilmképző képessége miatt katéterasszociált infekciókban is jelentős a szerepe. A *C. krusei* magasabb prevalenciáját a hematopoetikus őssejt transzplantáltak körében figyelték meg (Polke és mtsai 2015). Az említett 5 fajon túlmenően az IC esetében még klinikailag relevanciával bír a *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis*, *C. lusitaniae* és a *C. kefyr*. Az említett fajok az összes eset kb. 1-5%-át okozzák (Chen és mtsai. 2009).

Az utóbbi években megjelent riasztó tendencia a flukonazolra csökkent érzékenységet mutató non-*albicans* fajok (*C. glabrata*, *C. krusei*) incidenciájának növekedése mellett, a *C. auris* térnyerése egyrészt globálisan, másrészt lokálisan bizonyos kórházakban a többi non-*albicans* fajok gyakoriságának rovására, egyes helyeken felzárkózva a második leggyakrabban izolált *Candida* kórokozóvá (Arendrup & Patterson 2017, Lamoth és mtsai. 2018, Lockhart és mtsai. 2019, Solomon és mtsai. 2021). Utóbbi faj, mindamellett, hogy gyakorta rezisztens flukonazolra, gyakran mutat csökkent érzékenységet egyéb antifungális szerekre is (Jeffrey-Smith és mtsai. 2018). Bár az általa okozott mortalitás nem különösebben tér el az egyéb *Candida* fajok esetében tapasztalttól, iatrogén terjedése és a nozokomiális környezet hosszú ideig tartó kolonizációja miatt sok fejtörést okoz, mind a kezelőorvosoknak, mind a kórházhigiénés és infekciókontroll szakembereknek (Lockhart és mtsai. 2017).

II.4. A *Candida auris*

A *C. auris*-t, mint fajt 2009-ben írták le először Japánban, egy *otitis media* eset kapcsán (Sato és mtsai. 2009). A fajt azóta több, mint 30 országban azonosították, melyből 27 esetében egynél több esetet jelentettek (Adame & Girma 2020). A *C. auris* hirtelen megjelenésének és terjedésének háttere egyelőre nem tisztázott. Casadevall és munkatársai 2020-as tanulmányukban felvetik annak a lehetőségét, hogy a *C. auris* a globális felmelegedés hatására magasabb hőmérsékletre adaptálódó és ezáltal a melegvérű organizmusokra potenciálisan patogén gombafajok egyik első képviselője (Casadevall és mtsai. 2020). A hipotézis nem újkeletű, több tanulmány is foglalkozik a különböző gombafajok felmelegedésre adott adaptációjával, illetve ennek a humán és állategészségügyre gyakorolt potenciális hatásával (Garcia-Solache & Casadevall 2010, Araujo és mtsai. 2017).

Jelenleg négy különböző *C. auris* klád terjedését figyelték meg (dél-ázsiai, kelet-ázsiai, dél-amerikai/izraeli és dél-afrikai), míg egy potenciális ötödik kládot írtak le Iránban. Az egyes kládokat legalább 200 000 SNP választja el egymástól. A *C. auris* filogenetikailag a *C. haemulonii* és a *C. pseudohaemulonii* közeli rokona (Jackson és mtsai 2019).

A *C. auris* virulenciafaktorairól sokkal kevesebbet tudunk, mint a korábban leírt *Candida* fajok esetében. A jelenlegi eredmények alapján úgy tűnik, hogy sem *in vivo* sem *in vitro* nem képez valódi hifát, bár pszeudohifa szerű képleteket már sikerült megfigyelni *in vivo* passzázst követően a kitenyészett telepek elenyésző százalékánál, valamint genotoxikus ágensek jelenlétében (Yue és mtsai. 2018, Bravo Ruiz és mtsai. 2020). Biofilmképzésre viszont az izolátumok jelentős része képes bár kisebb mértékben, mint a *C. albicans*, ezek azonban sokkal jobban ellenállnak az amúgy is kevés számú aktív antifungális szernek (Romera és mtsai. 2019). Lipáz, foszfolipáz és SAP termelő képességük szintén elmarad a *C. albicans* mögött (Spivak & Hanson 2018). Érdekes *in vitro* jelenség az aggregáció, mely azt jelenti, hogy bizonyos kládok (pl. dél-afrikai) izolátumai nagy méretű aggregátumokat képeznek, egyéb külső behatás, pl. antifungális szer vagy egyéb toxikus vegyület hatása nélkül is, míg mások csak valamilyen külső stressz, pl. echinocandin expozíció hatására teszik ezt (Székely és mtsai. 2019). Logikusnak tűnhet párhuzamot vonni a *S. cerevisiae* esetében fellépő flokkulációval, mely az említett faj kedvezőtlen külső körülményekre adott válaszreakciója, ám míg előbbi esetében az aggregáció oka feltehetőleg a sejtszétválás tökéletlensége, utóbbi esetben a sejtek aktívan expresszálnak olyan fehérjéket, melyek az aggregációban szerepet játszanak (Székely és mtsai. 2019, Soares 2010).

A különböző leszármazási ágak virulenciája az eddigi eredmények alapján eltérő. Borman és munkatársai 2016-os tanulmányukban *Galleria mellonella* modellben vizsgálták a különböző ún. aggregatív és nem aggregatív izolátumok virulenciáját. Eredményeik alapján a dél-ázsiai nem aggregatív izolátumok virulensebbek voltak, mint az aggregatív dél-afrikai izolátumok (Borman és mtsai. 2016). Forgács és mtsai. hasonló eredményre jutottak neutropéniás egérmodell használatával. A *C. auris* virulenciája *in vivo* egyéb *Candida* fajokkal összevetve egyelőre ellentmondásos; míg Fakhim és mtsai. a *C. albicans*-hoz hasonló mortalitásról számoltak be immunkompetens egérmodellt használva, addig a Forgács és mtsai. neutropéniás egérmodellen végzett vizsgálatai szerint a *C. auris* szignifikánsan kevésbé virulens, mint a *C. albicans* (Fakhim és mtsai. 2018, Forgács és mtsai. 2020).

A *C. auris* eltérően az egyéb humán megbetegedést okozó *Candida* fajoktól jellemzően iatrogén terjedésű és hosszú ideig képes a kórházi környezetben túlélni és szaporodni. Hosszú ideig kolonizálhatja a betegek, illetve az egészségügyi dolgozók bőrfelületét, akárcsak a kórházi eszközöket. Kvaterner ammónium származékoknak sokkal jobban ellenáll, mint más *Candida* fajok, valamint jól tűri a bázikus kémhatást (Ku és mtsai. 2018).

A predisponáló tényezők hasonlóak az egyéb *Candida* infekcióra hajlamosító tényezőktől, ugyanakkor érdekes módon a neutropénia az eddigi eredmények alapján kevésbé játszik fontos szerepet (Hu és mtsai. 2021).

A *C. auris* infekciók mortalitása magas, az egyes tanulmányok szerint 30 és 70% között változik, azonban fontos kiemelni, hogy a *C. auris* infekció általában súlyos alapbetegséghez társul jellemzően hosszú ideig ITO-n fekvő betegekben. (Lockhart és mtsai. 2016, Cortegiani és mtsai. 2018, Hu és mtsai. 2021).

A *C. auris* invazív infekciók kezelését nehezíti a konvencionális módszerekkel szinte lehetetlen identifikálás, valamint a gyakori antifungális rezisztencia. Biokémiai automatákkal a faj a legváltozatosabb egyéb *Candida* fajokkal kerül tévesen identifikálásra, mint *C. famata*, *C. haemulonii*, *Rhodotorula glutinis*, stb., megbízhatóan csak molekuláris biológiai módszerekkel, vagy MALDI-TOF módszerrel lehetséges az azonosítás (Caceres és mtsai. 2019, Jeffrey-Smith és mtsai. 2018). Az izolátumok döntő többsége rezisztens legalább flukonazolra, 15-30 %-uk amphotericin B-re (AMB), illetve 1-5 %-uk echinocandinokra. Chowdhary és mtsai. az általuk vizsgált izolátumok 4%-nál figyeltek teljes körű triazol rezisztenciát (Chowdhary és mtsai. 2018). Figyelmeztető jel, hogy immár három alkalommal is jelentettek, olyan izolátumokat, melyek az összes jelenleg forgalomban lévő antifungális szerre rezisztenciát mutattak (Adame & Girma 2020).

II.5. A szisztémás *Candida* infekciók terápiájának jelenleg használt és klinikai kipróbálás alatt álló hatóanyagai

Szisztémás antifungális kezelésről az 1950-es évek végétől beszélhetünk, az amphotericin B (AMB) klinikai gyakorlatba való bevezetése óta. Az AMB hatásspektruma széles, a szerzett rezisztencia pedig ritka. Az AMB a poliének csoportjába tartozik, melyek hatásmechanizmusuk szerint ún. pórusképzők. Ez azt jelenti, hogy a gombasejtek membránjában egyértékű kationok számára átjárható csatornákat alakítanak ki. Mivel a gombasejtek általában nincsenek ozmotikus egyensúlyban a környezetükkel, ez az esszenciális kationok kiáramlásához vezet a sejtből, mely a sejt pusztulásához vezet (Lewis 2011). Újabban egy másik hatásmechanizmust is feltételeznek, amit kísérleti eredmények az AMB esetén támasztanak alá, mely szerint az AMB molekulák aggregációja, ún. molekuláris szivacsot hoz létre, mely képes az ergoszterol szekvesztrációjára a gombasejtek membránjából (Anderson és mtsai. 2014). Az AMB használata az utóbbi évtizedekben visszaszorult a kevésbé toxikus triazolok, illetve echinocandinok használata miatt a *Candida* és *Aspergillus* fajok okozta infekciók terápiájában, ugyanakkor egyes ritka gombafajok (pl. *Fusarium* fajok) ellen továbbra is elsővonalbeli szernek számít. Újabb, az AMB-deoxycholát-nál kevésbé vesetoxikus lipid-asszociált formulációk az utóbbi 15 évben jelentek meg, valamint jelenleg klinikai kipróbálás alatt áll egy *per os* alkalmazható nanoformulált verzió (Cavassin és mtsai. 2021).

Az AMB-t súlyos infekciók esetén kombinációban alkalmazhatják az 1971-ben bevezetett 5-flucitozinnal, mely egy antimetabolit. Mind a gombasejtek RNS, mind DNS szintézisével képes interferálni, bár más kémiai módosítások után (Lewis 2007).

A következő előrelépés az invazív *Candida* okozta infekciók terápiájában a szisztémásan alkalmazható imidazolok bevezetése volt (pl. ketokonazol), ám az igazán hatékony *Candida* ellenes azol típusú hatóanyag megjelenésére az 1990-es évekig várni kellett (Ashley és mtsai. 2006). A flukonazol szűk spektrumú triazol, ám ma is elengedhetetlen kelléke mind a topikális, mind a szisztémás *Candida* infekciók kezelésének és profilaxisának. Az újabb triazolok alkalmazási területe (vorikonazol, posakonazol, isavukonazol) elsősorban a fonalasgombák által okozott infekciók profilaxisa és terápiája. Bár általában jobb aktivitásúak *in vitro*, mint a flukonazol, a rosszabb mellékhatásprofiljuk miatt csak ritkán használatosak *Candida* fajok okozta fertőzések kezelésére. Az imidazolok és triazolok a gombák sejtmembránjában található ergoszterol szintézis elkötelező lépését gátolják a már említett lanoszterol-14 demetiláz enzim gátlásával. Az enzim aktivitásának hiánya toxikus metilált intermedierek felhalmozódásához vezet a gombasejtben (Odds és mtsai. 2003). A régebbi

azolok *Candida* fajok ellen fungisztatikusak *in vitro*, a második generációs triazolok (vorikonazol, posakonazol, isavuconazol) esetén azonban a hatás lehet fungicid (Majoros & Kardos 2008).

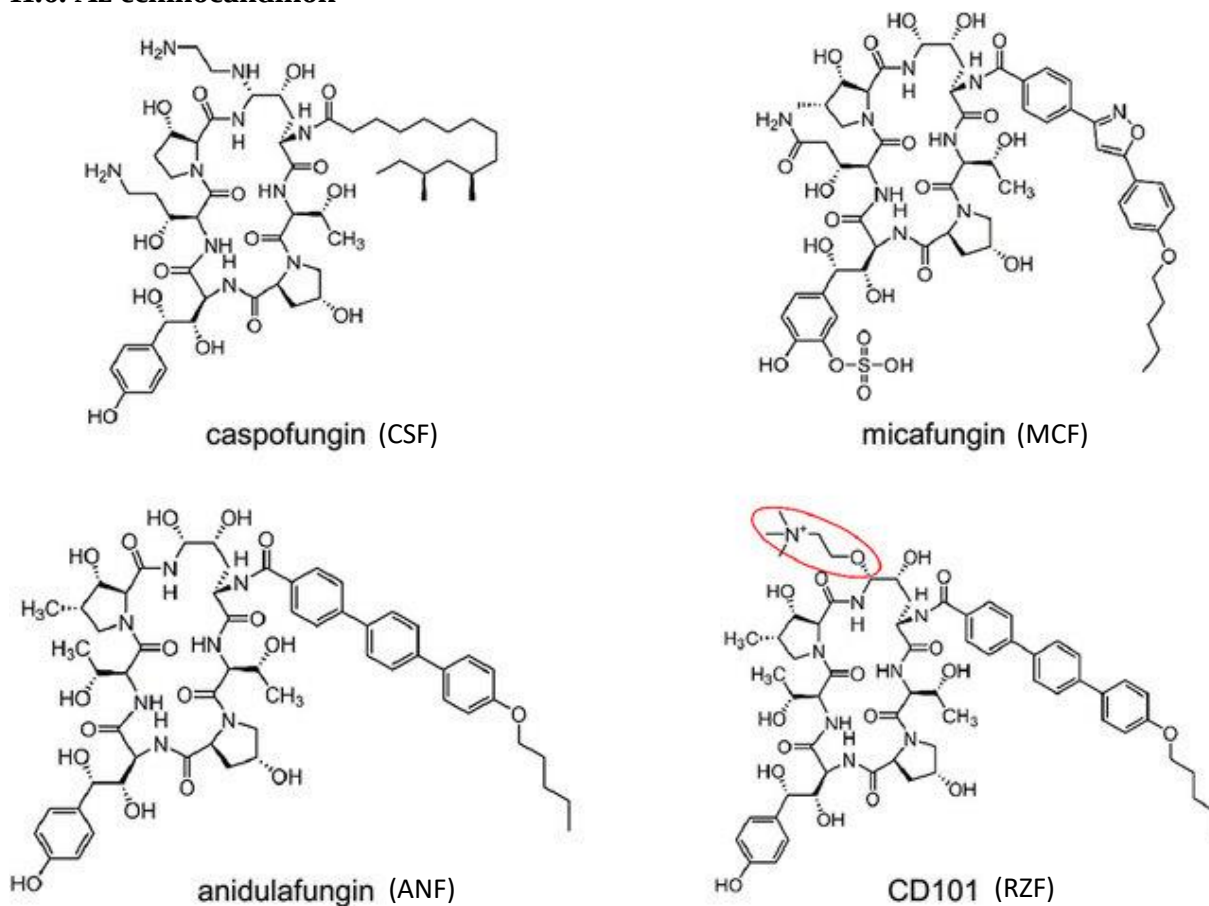
A jelenlegi klinikai gyakorlatba a legkésőbb bevezetett hatóanyagcsoportot az echinocandinok (caspofungin, micafungin, anidulafungin) alkotják, melyek hatásmechanizmusukat tekintve sejtfalszintézis gátlók. *Candida* fajok ellen általában kiváló aktivitásúak és *in vitro* fungicid hatásúak. Jelenleg elsőként választandóak invazív életet veszélyeztető *Candida* infekciók kezelésére. *Aspergillus* fajok ellen kevésbé hatékonyak ezért csak alternatívaként szerepelnek a jelenlegi ajánlásokban a második generációs triazolok és az AMB mellett (Chen és mtsai. 2011, Pappas és mtsai. 2016).

Az eddigi szűkös terápiás lehetőségekre válaszul az utóbbi 2-3 évben számos potenciális gyógyszerjelölt kezdte meg a klinikai kipróbálást. Ezek közül a rezafunginnal (RZF), egy második generációs echinocandinnal, valamint az ibrexafungerp-pel folynak harmadik fázisú klinikai vizsgálatok (Rauseo és mtsai. 2020). A RZF hatásmechanizmusa, spektruma és aktivitása gyakorlatilag megegyezik az eddigi echinocandinokéval, ugyanakkor farmakokinetikai paraméterei messze meghaladják azokét. Felezési ideje szérumban >80 óra, illetve magasabb csúcskoncentrációt ér el, ezért alkalmas heti egyszeri adagolásra. Ez egyrészt jelentősen megkönnyíti profilaktikus alkalmazását, másrészt csökkenti a szuboptimális dozírozás valószínűségét (Zhao & Perlin 2020).

Az ibrexafungerp hatásmechanizmusa megegyezik az echinocandinokéval, azonban kémia struktúrája eltér azokétól, ugyanis egy triterpén származék. Ebből kifolyólag nincs teljes keresztrezisztencia az echinocandinokkal az ibrexafungerp esetén. Orálisan is alkalmazható, jelenleg harmadik fázisú klinikai vizsgálatok akut és rekurráló vulvovaginalis candidiasis indikációval zajlanak, illetve nyílt single-arm (egy ágú) tesztelés terápiarefrakter szisztémás *C. auris* infekciók kezelésére (Davis és mtsai. 2020).

A fosmanogepix az előzőekben bemutatott hatóanyagoktól eltérő támadásponttal rendelkezik, ugyanis a Gwt1 inhibitora mely egy, az ún. mannoпротеinek transzportjában és kihorgonyzásában résztvevő enzim, hiányában csökken a sejtfal integritása, valamint megváltozik a sejtek kitapadási képessége. Jelenleg a klinikai kipróbálás második fázisában jár invazív *Candida* infekciók kezelésére (Shaw & Ibrahim 2020).

II.6. Az echinocandinok



1. ábra Az echinocandinok kémiai szerkezete (Zhao és mtsai. 2016)

Az echinocandinok félszintetikus lipopeptid molekulák, melyek egy központ hexapeptidből és a hozzá kapcsolódó lipofil oldalláncból állnak. A három jelenleg forgalomban lévő echinocandin fizikokémiai tulajdonságait jellemzően az oldalláncuk eltérései okozzák, a CSF és a MCF esetében az oldallánc hidrofil, míg az ANF esetében hidrofób (Patil & Majudmar 2017). A RZF (korábban CD101) az ANF-al megegyező oldalláncot hordoz, strukturális különbség a központi hexapeptid C5-ös ornitin molekulájához kapcsolt kolin molekula, mely a szignifikánsan jobb farmakokinetikai tulajdonságaiért felelős az ANF-hoz képest (Sofjan és mtsai. 2018).

Az echinocandinok támadáspontja a gombasejtfal esszenciális komponensének a szintézisét végző 1,3- β -D glükán szintetáz, illetve kisebb mértékben az 1,6- β -D glükán szintetáz. Az enzim két alegységből áll, a katalitikus plazmamembránhoz kötött Fksp-ből, illetve a szabályozó Rhop-ből. Az Fksp enzim funkcióját tekintve egy UDP-glikozil-transzferáz, melyet a guanozin-trifoszfátáz aktivitással rendelkező Rhop aktivál. Az echinocandinok aktivitásának pontos mechanizmusa egyelőre nem ismert, azonban konszenzus van arról, hogy

a katalitikus Fksp alegységet gátolják nem kompetitív módon. Az Fksp enzimet fajtól függően két vagy három gén (FKS1, FKS2, FKS3) is kódolhatja *Candida* fajok esetében, melyek közül az FKS1 konstitutívan expresszált, míg a másik kettő expresszióját a calcineurin útvonal szabályozza (Suwunnakorn és mtsai. 2018, Healey és mtsai. 2020).

Hatásspektrumukat tekintve az echinocandinok rendkívül hatékonyak a legtöbb klinikailag releváns *Candida* faj, továbbá *Pneumocystis jirovecii* ellen, ugyanakkor *Aspergillus* fajok ellen jó *in vitro* aktivitásuk ellenére nem számítanak elsőként választandó szernek (Chen és mtsai. 2011, Patterson és mtsai. 2016). Sajnos klinikailag releváns koncentrációkon nem hatnak sem *Cryptococcus* fajokra, sem pedig *Zygomycetes* és *Fusarium* fajokra. *In vitro* adatok alapján aktivitást mutatnak az endémiás szisztémás mikózist okozó fajok (*Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides braziliensis*, *Histoplasma capsulatum*) fonalas alakjai ellen is, azonban az invazív élesztő alakokkal szemben hatékonyságuk jelentősen gyengébb (Eschenauer és mtsai. 2007).

Az echinocandinok alkalmazása parenterálisan történik lassú infúzió formájában, mivel orális biohasznosulásuk alacsony (Kaufmann & Carver 2008). Mellékhatásprofiljuk kedvező, a tünetek általában enyhék (pl. bőrpír az infúzió helyén) és hosszú ideig történő alkalmazásuk sem jár együtt jelentősebb toxicitással, bár a májenzimek tranziens emelkedése előfordulhat. Alkalmazásuk abból a szempontból is előnyös, hogy széles terápiás ablakkal rendelkeznek, a túldozírozásuk szinte lehetetlen, ellentétben az AMB-vel. A CSF normál adagolása invazív *Candida* infekciók kezelése során egyszeri 70 mg-os telítő dózist követően napi 50 mg, a MCF esetében napi 100 mg (nem kell telítő dózis), míg az ANF esetében 200 mg-os telítő dózist követő napi 100 mg. A normál adagolással elérhető a folyamatos 1 mg/L-es célkoncentráció a vérben (Pappas és mtsai. 2016, Song & Stevens 2015). Az említett adagolási séma alól kivételt képez a *Candida* okozta infektív endocarditis, mely esetében emelt dózisok alkalmazása javasolt (Pappas és mtsai. 2016). A RZF adagolása hosszú felezési idejének és alacsony clearance-ének köszönhetően némileg eltér a többi echinocandinétól, a klinikai vizsgálatok jelenleg heti egyszeri 400 mg-ot követő heti 200 mg-os dózisokkal folynak invazív *Candida* infekciók kezelésére (Zhao & Perlin 2020).

Farmakodinámiai aktivitásuk jellemzően a C_{max}/MIC , illetve az AUC/MIC értékekkel korrelál *Candida* fajok ellen, ugyanakkor az *Aspergillus* fajok esetében egyértelmű korreláció csupán a C_{max}/MIC értékkel van (Song & Stevens 2016). Ebből kifolyólag a jelenleginél magasabb dózisú alkalmazásuk teoretikusan jobb klinikai kimenetelhez kellene, hogy vezessen. Több klinikai vizsgálat is igyekezett ezt bebizonyítani, azonban a magasabb dózisok

alkalmazása nem járt együtt szignifikánsan magasabb terápiás sikerrel, bár rámutatott az echinocandinok magasabb dózisainak jó tolerálhatóságára (Steinbach és mtsai. 2015).

Az echinocandinok nagymértékben képesek reverzibilisen kötődni a véráramban a különböző szérumfehérjékhez, elsősorban az albuminhoz. A legnagyobb mértékben a MCF (99,8%), melyet az ANF követ (99,5%), végül a CSF, mely esetében a fehérjekötött frakció 96,5% (Chen és mtsai. 2011). A RZF esetében nem állnak rendelkezésre pontos adatok, valószínűleg több, mint 97% (Jang és mtsai. 2018). A nagymértékű fehérjekötődés következtében a szabad gyógyszer koncentrációja lecsökken, ezért szérum jelenlétében az egyes *Candida* izolátumok MIC értéke sokkal magasabb, mint szérummentes tápfolyadékban. Az összefüggés azonban nem teljesen lineáris, hiszen, ha csak a fehérjekötődés mértékéből következne a MIC emelkedés mértéke, MCF esetén például 500-szor magasabb MIC értékekkel kellene számolni 50% szérumot tartalmazó tápközegben a szérummenteshez képest, azonban a MIC emelkedés ennél jellemzően alacsonyabb. (Odabasi és mtsai. 2007, Paderu és mtsai. 2007).

Szöveti penetrációjuk kiváló, terápiás koncentrációt érnek el normál adagolás mellett a vérben és egyéb belső szervekben (máj, lép, vese), ugyanakkor a savós hártával határolt testüregekben, például a peritoneumban és a cavum pleurae-ban már alacsonyabb a kimutatható koncentráció (Felton 2014, Grau és mtsai. 2015). Kifejezetten rosszul penetrálnak a központi idegrendszerbe, illetve a húgyutakba, ezért ezen anatómiai területek *Candida* okozta infekciói kezelése során nem ajánlott az alkalmazásuk (Pappas és mtsai. 2016).

Az echinocandinok esetében, hasonlóan bizonyos más antimikrobiális szerekhez (pl. penicillin) megfigyelhető paradox növekedés (PG). A PG egy eddig jellemzően *in vitro* körülmények között megfigyelt jelenség, mely azt jelenti, hogy bizonyos izolátumok a minimális gátló koncentráció fölött túlélnek, sőt újra képessé válnak szaporodni (Steinbach és mtsai. 2015). Az egyes klinikailag releváns fajok nem egyforma gyakorisággal mutatnak PG-t, míg a *C. tropicalis* és *C. dubliniensis* fajok között akár 30-40% is lehet ez az arány, addig *C. krusei* és *C. glabrata* esetén ez gyakorlatilag 0 és 5 % közé esik. Akárcsak az egyes fajok, a különböző echinocandinok is eltérnek PG indukálási képességükben. A jelenséget leggyakrabban CSF esetén figyelték meg, míg a MCF és ANF esetében jóval ritkábban fordul elő (Fleischhacker és mtsai. 2007, Tóth és mtsai. 2020). A jelenség hátterében az echinocandin expozícióra válaszul megemelkedő kitin szintézis áll, mely így képes az amúgy meggyengült sejtfalat stabilizálni (Rueda és mtsai. 2014). A PG *in vivo* jelentősége egyelőre nem teljesen egyértelmű, Bayegan és mtsai. 2010-es tanulmányukban *C. tropicalis* intra-abdominális infekciós modellen végzett kísérleteik alapján felvetették a PG jelentőségét a magasabb dózisú

CSF kezelés gyengébb hatékonyságának hátterében (Bayegan és mtsai 2010). Pappas és mtsai. 2007-ben közölt klinikai vizsgálati eredményeiben pedig a nagyobb (150 mg/nap) MCF némileg kevésbé volt hatékony nem candidamia-s invazív infekciókban, mint az alacsonyabb (napi 100 mg) dózisok (Pappas és mtsai. 2007)

Az echinocandinok *in vitro* hosszú poszt antifungális hatással (PAFE) rendelkeznek *Candida* fajok ellen, ezzel szemben *Aspergillusok* esetében ez nem figyelhető meg (Pound és mtsai. 2011). A posztantifungális vagy tágabb értelemben posztantibiotikus hatás (PAE) azt jelenti, hogy az adott antimikrobiális szer növekedést gátló hatása azután is érvényesül, hogy az eliminálódik a rendszerből (Proma és mtsai. 2020). Az echinocandinok esetében a PAFE időtartama egyrészt függ az expozíció időtartamától, másrészt pedig attól, hogy milyen koncentrációban volt jelen az adott echinocandin (Aguilar-Zapata és mtsai. 2015, Chen és mtsai. 2011). Azok az antimikrobiális szerek, melyek hosszú PAE-t váltanak ki, elméletileg ritkábban adagolhatóak, mint azok melyeknél a jelenség nem figyelhető meg (Spangler és mtsai. 1998). Sajnos a PAE jelenség nem aknázható ki a terápia során a már többször említett magas fehérjekötődés miatt. Szérumban jelenlétében a PAE időtartama ugyanis annyira lecsökken, hogy az a jelenlegi adagolás mellett nincs klinikai relevanciája (Kardos és mtsai. 2017).

Az echinocandin rezisztencia annak ellenére, hogy az echinocandinokat majdnem húsz éve használják továbbra is ritka jelenség (Arendrup & Perlin 2015). Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a baktériumokkal ellentétben a gombák esetében egyelőre nem írtak le horizontálisan átvihető rezisztenciamechanizmust (Hokken és mtsai. 2019). Az echinocandin rezisztencia molekuláris háttere a valamelyik FKS gén ún. hot-spot régiójában bekövetkező pontmutáció (Perlin 2015/a). Bizonyos fajok, pl. a *C. parapsilosis sensu lato*, illetve a *C. guilliermondii* vad típusú izolátumainak magasabb echinocandin MIC értékeinek hátterében az ezen fajoknál meglévő természetes FKS polimorfizmus áll (Perlin 2015/b). A szerzett echinocandin rezisztens izolátumok virulenciája általában alacsonyabb, mint vad típusú társaiké, ugyanakkor egyéb kompenzatorikus mutációk az echinocandin rezisztens izolátumok virulenciáját nagyban növelhetik, akár a vad típusú izolátumokéhoz hasonló szintre (Jensen és mtsai. 2015). A rezisztencia *C. glabrata* esetében a leggyakoribb, elérheti a 10%-ot is, a többi klinikailag releváns *Candida* faj körében általában lényegesen alacsonyabb (Arendrup & Perlin 2015).

II.7. A micafungin

A MCF az antifungális terápiába másodikként bevezetett echinocandin, 2005-ben került forgalomba. A *Coleophoma empetri* fermentációs termékének fél szintetikus módosulata, molekulatömege 1296.26 Da. Jelenleg elfogadott indikációi a következők: IC, profilaktikus alkalmazás szisztémás gombák okozta infekciók megelőzésére és az echinocandinok közül egyedülként esophagális candidiasis kezelésére is használható (Chen és mtsai. 2011, Mroczyńska & Brillowska-Dąbrowska 2020).

Intravénás beadást követően dózisfüggő lineáris farmakokinetikát követ, felezési ideje átlagosan 13,9 óra a szérumban. Utóbbinak megfelelően clearance-e meglehetősen alacsony 0.197 mL/perc/kg napi 12.5 és 150 mg beadott dózisok között. IV alkalmazást követően gyorsan penetrál a szövetekbe, koncentrációja biexponenciálisan csökken a vérben. Szöveti akkumuláció nem történik, a steady-state állapot 4-5 nap folyamatos adagolást követően áll be (Torre & Reboli 2014, Wasmann és mtsai. 2018).

A MCF eliminációjában nem játszik fontos szerepet a CYP450 rendszer és nem jelentős szubsztrátja a p-glikoproteineknek sem, metabolizmusában az arilszulfatáz és katekol-o-metiltranszferáz enzimek játszanak fontos szerepet. A degradációs termékek ezután lassan az epével ürülnek (Chen és mtsai. 2011).

A C_{max} értéke egyszeri 100 mg beadását követően egészséges önkéntesekben átlagosan 9,1 mg/L a plazmában, míg a beadást követően 24 órával a $C_{through}$ átlagosan 2 mg/L (Wasmann és mtsai. 2018). ITO-n fekvő betegek esetében ez az érték azonban, mintegy 30%-kal is alacsonyabb lehet (Mainas és mtsai. 2020). A savós hártával határolt anatómiai helyeken a MCF expozíció jelentősen elmaradhat a plazmában mérthez képest (Yamada és mtsai. 2011, Grau és mtsai. 2015).

Az eddigi egyetlen átfogó klinikai tanulmány, mely a MCF farmakokinetikai paraméterei, farmakodinámiai aktivitása, valamint az említett paraméterek függvényében a klinikai kimenetelt vizsgálta Andes és mtsai. 2011-ben publikált tanulmánya. Eredményeik alapján a nem *C. parapsilosis* csoportba tartozó fajok esetén a sikeres terápiás kimenetel az AUC/MIC érték magasabb mint 3000 és de kisebb mint, 12000 esetében volt a legvalószínűbb, míg *C. parapsilosis* komplex esetében a >285 AUC/MIC érték elérése esetén volt jobb a klinikai kimenetel. Érdekes módon a nem *C. parapsilosis sensu lato* okozta infekciókban a >12000 AUC/MIC érték némileg rosszabb kimenetelt valószínűsít, mint a <12000 AUC/MIC. (Andes és mtsai. 2011).

III. Célkitűzés

Kísérleteink során a micafungin *in vitro* aktivitásának több aspektusát is vizsgáltuk klinikailag releváns *Candida* fajok ellen, mellyel reményeink szerint hozzájárulhatunk a micafungin, illetve az egyéb echinocandinok hatékonyabb klinikai alkalmazásához.

Vizsgálataink az alábbi szűkebb témákra terjedtek ki:

-A micafungin *in vitro* aktivitásának vizsgálata pleurális és peritoneális fertőzésekből származó *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* és *Candida kefyr* izolátumok ellen a pleurális és peritoneális folyadékban elérhető MCF koncentrációkon (0,25-2 mg/L) normál RPMI-1640, illetve 10% és 30% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegben idő-ölés módszerrel

-A micafungin, valamint a két klinikai forgalomban lévő (caspofungin, anidulafungin) és a klinikai kipróbálás alatt álló rezafungin *in vitro* aktivitásának vizsgálata *Candida auris* izolátumok ellen idő-ölés módszerrel klinikailag releváns koncentrációkon (0,25-32 mg/L)

IV. Anyagok és Módszerek

IV.1. A kísérletekben vizsgált izolátumok

A pleurális és peritoneális farmakodinámiás vizsgálatok során az említett anatómiai helyekről származó (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* és *C. kefyr*) klinikai izolátumokat (n=3 / faj), illetve referencia törzseket (*C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258) vizsgáltunk. A referencia törzsek, illetve a *C. auris* izolátumok kivételével minden izolátum a DE ÁOK Orvosi Mikrobiológia Intézetében került azonosításra 2010 és 2017 között MALDI-ToF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight) tömegspektrometriás módszerrel (Bruker Daltonics, Bréma, Németország), illetve API-32 IDC (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Franciaország) biokémiai automatával. A -70 °C-on tárolt izolátumokat a kísérletek megkezdése előtt MALDI-ToF segítségével újra identifikáltuk a legújabb rendelkezésre álló adatbázissal. A *C. auris* törzsek a NCPF (National Collection of Pathogenic Fungi, Bristol, Egyesült Királyság) törzsgyűjteményéből érkeztek és Dr. Andrew Borman bocsátotta a rendelkezésünkre.

IV.2. A kísérletekben használt antifungális szerek, valamint a humán szérum

A MCF pleurális és peritoneális *Candida* izolátumok elleni aktivitásának vizsgálata során a MCF-t a AbMole-tól szereztük be (AbMole Europe, Brüsszel, Belgium), míg a *C. auris* elleni vizsgálatok során az ANF, a CSF, valamint az MCF a MolCan-tól (MolCan, Toronto, Kanada) került beszerzésre, a RZF-t a Cidara (Cidara Therapeutics, San Diego, Egyesült Államok) bocsátotta rendelkezésünkre. A humán szérumot (AB vércsoportú poolozott férfi), valamint az RPMI-1640 (2% glükóz, L-glutamin mentes) tápfolyadékot a Sigma-Aldrich (Sigma, Budapest, Magyarország) szállította.

IV.3. Az izolátumok micafungin, illetve egyéb echinocandin érzékenységének meghatározása

A MCF pleurális és peritoneális farmakodinámiájának vizsgálata során az izolátumok MCF érzékenységét makrodilúcióval határoztuk meg az egyes tápközegekben (RPMI-1640, illetve 10 és 30% humán szérummal kiegészített RPMI-1640) CLSI-M27-A3 protokoll alapján (CLSI 2008) 0,015-8 mg/L-es tartományon, akárcsak a MCF és komparátorai *C. auris* izolátumok elleni vizsgálata során, utóbbi esetben a két vizsgált tápközeg normál RPMI-1640 és 50% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 volt. A MIC értékek leolvasását 24 óra

elteltével végeztük vizuálisan, az izolátumok echinocandinok iránti érzékenységét a nemzetközileg elfogadott részleges (50%-os) gátlás alapján definiáltuk (CLSI 2008).

IV.4. A micafungin *in vitro* farmakodinámiájának vizsgálata pleurális és peritoneális *Candida* izolátumok ellen

A kísérletek megkezdése előtt 24 órával a már előbb ismertetett módon szélesztettük a vizsgálni kívánt izolátumokat. A kísérlet megkezdésekor az egyes izolátumokból 0,5 McFarland denzitású szuszpenziót készítettünk fiziológiás sóoldatban, majd ezen szuszpenzió 0,5 ml-ét hozzáadtuk a MCF különböző koncentrációit tartalmazó tápfolyadékokhoz (normál RPMI-1640 és 10%, illetve 30% humán szérummal kiegészített RPMI-1640). A végtérfogat 5 ml volt, a vizsgált MCF koncentrációk pedig a következők: 0,25 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l és 2 mg/l. A különböző szérumkoncentrációkkal kívántuk szimulálni a pleurális és peritoneális folyadékban található normál, illetve gyulladás esetén kialakuló fehérjekörnyezetet. *C. parapsilosis* esetén a fajra jellemző magasabb echinocandin MIC értékek miatt a 0,25 mg/L-es koncentrációt egyik tápközegben sem vizsgáltuk. Az összeállított csöveket 24 órán át 37 °C-on inkubáltuk és adott időpontokban (0, 4, 8, 12 és 24 óra) homogenizálás után 100 µl mintát vettünk belőlük. A mintákból tízes alapú tova futó hígítási sort készítettünk és a megfelelő hígításokból 4x30 µl-t SDA-ra (Sabouraud Dextrose Agar) oltottunk. Az egyes táptalajokat 48 órán át 37 °C-on inkubáltuk, majd megszámloltuk a kinőtt gombatelepeket.

IV.5. A micafungin *in vitro* farmakodinámiájának összehasonlító vizsgálata különböző kládokba tartozó *C. auris* izolátumok ellen

A MCF és komparátorai (RZF, ANF, CSF) *C. auris* izolátumok elleni *in vitro* farmakodinámiájának vizsgálata során azonos metodikát használtunk, mint a MCF pleurális és peritoneális izolátumok elleni aktivitásának vizsgálatához, azonban az echinocandin koncentrációk, valamint a tápközegek némileg eltértek. A két felhasznált tápközeg a normál RPMI-1640, valamint 50 % humán szérummal kiegészített RPMI-1640 volt, utóbbi a véráramban található fehérjekoncentrációt szimulálta. Az echinocandin (MCF, CSF, ANF, RZF) koncentrációk a következők voltak normál RPMI-1640-ben: 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 mg/L, szérummal kiegészített RPMI-1640-ben pedig 1, 2, 4, 8, 16, 32 mg/L.

IV.6. Az aggregáció vizsgálata a *C. auris* izolátumok esetében echinocandin expozíció hatására

Annak vizsgálata, hogy az echinocandinok milyen morfológiai változásokat indukálnak a két vizsgált tápközegekben fázis-kontraszt mikroszkópiás módszerrel történt 1 és 16 mg/L-es echinocandin koncentráción minden klád esetében 2 izolátummal (12, 27, 15, 12372, 204, 2, 13108 and I-172), mindkét tápközegekben 24 óra inkubációt követően MCF, RZF, ANF és CSF jelenlétében. A teljes vizsgált térfogat 10 µL volt. A felvételek elkészítése Zeiss Axioskop 2 mot mikroszkópon történt AxioCam HRc kamera segítségével. A képek elemzése Zeiss Axiovision 4.8.2 szoftverrel történt.

IV.7. Az adatok statisztikai kiértékelése

A kísérletek során az adott időpontokban kinőtt telepek számából ún. ölési rátát számítottunk a következő egyenlet alapján: $N_t = N_0 \cdot e^{-kt}$, ahol N_t a t időpontban életben lévő sejtek számát jelöli, N_0 a kezdeti élősejtszámot, t az eltelt időt, e az Euler féle számot és k az ölési rátát (killing rate). Az egyenletből kiolvasható, hogy k értéke abban az esetben pozitív, ha a kiindulási csíraszámhoz képest adott időpillanatban kevesebb élő sejt van a rendszerben, míg negatív, ha szaporodás történik. Az 50, 90, 99 és 99,9%-os élősejtszámcsökkenést a kiindulási csíraszámhoz képest az alábbi módon számítottuk ki: $T_{50}=0,30103$, $T_{90}=1/k$, $T_{99}=2/k$, $T_{99,9}=3/k$. Az illesztés jóságát r^2 próbával ellenőriztük. Az ölési kinetika összehasonlítása az egyes izolátumok és echinocandin koncentrációk esetében mindkét vizsgálat során Tukey-féle post-hoc teszttel kiegészített egyszempontos varianciaanalízissel történt a számított ölési ráta (k) értékek összehasonlításával. Az azonos echinocandin koncentrációk hatásának összehasonlítását a különböző tápközegekben Welch-féle T-teszttel végeztük. Az eredményeket akkor tekintettük szignifikánsan különbözőnek, ha $p < 0,05$ volt (Kovács és mtsai. 2014). A statisztikai elemzést GraphPad Prism 6.05 szoftver (GraphPad Software, La Jolla California USA) segítségével végeztük el.

V. Eredmények

V.1. A micafungin *in vitro* aktivitásának vizsgálata pleurális és peritoneális *Candida* izolátumok ellen

V.1.1. A kísérletekben használt izolátumok micafungin érzékenységének meghatározása

Izolátumszám/izolálás éve	Testtájék	MIC (mg/L)		
		RPMI-1640	10% szérum	30% szérum
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	bronchus	≤0,015	0,12-1	1
<i>C. albicans</i> 20261/2012	pleurális folyadék	0,03	0,12	0,5-1
<i>C. albicans</i> 1596/2014	peritoneális folyadék	≤0,015	0,12	0,12-0,25
<i>C. albicans</i> 33657/2015	peritoneális folyadék	≤0,015	0,06-0,12	0,12-0,25
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	vér	≤0,015	0,12	0,12-0,25
<i>C. glabrata</i> 28009/2015	pleurális folyadék	≤0,015	0,5	0,5-1
<i>C. glabrata</i> 2078/2015	peritoneális folyadék	≤0,015	0,5	1
<i>C. glabrata</i> 38112/2014	peritoneális folyadék	≤0,015	0,25-0,5	0,5-1
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	bronchus	≤0,015	0,06-0,12	0,25-0,5
<i>C. tropicalis</i> 19739/2017	pleurális folyadék	≤0,015	0,12-0,25	0,5-1
<i>C. tropicalis</i> 34017/2016	peritoneális folyadék	≤0,015	0,12	0,25-0,5
<i>C. tropicalis</i> 3947/2015	peritoneális folyadék	0,03	0,5-1	2
<i>C. krusei</i> ATCC 6258 (QC)	bronchus	0,12	0,5	2
<i>C. krusei</i> 3693/2016	peritoneális folyadék	0,12	1	2
<i>C. krusei</i> 31865/2016	pleurális folyadék	0,12	1	2
<i>C. krusei</i> 42389/2016	peritoneális folyadék	0,06	0,5-1	2
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	széklet	1-2	8	16
<i>C. parapsilosis</i> 20305/2016	pleurális folyadék	0,5-1	4	8
<i>C. parapsilosis</i> 19680/2014	peritoneális folyadék	1-2	4	16
<i>C. parapsilosis</i> 23035/2017	pleurális folyadék	0,5-2	4	8-16
<i>C. kefyr</i> 31709/2012	peritoneális folyadék	0,12	0,25-0,5	1
<i>C. kefyr</i> 38001/2013	peritoneális folyadék	0,12	0,25-0,5	1
<i>C. kefyr</i> 24700/2017	peritoneális folyadék	0,06-0,12	0,5	2

1. táblázat A MCF MIC értékeinek alakulása pleurális és peritoneális *Candida* klinikai izolátumok, valamint referenciatörzsek ellen normál-RPMI-1640, 10% humán szérummal kiegészített és 30% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegekben

A MCF érzékenységhatározás során a MCF MIC értékek normál RPMI-1640 tápközegekben a QC (quality control) törzsek esetén minden esetben a nemzetközileg elfogadott tartományba estek (CLSI 2008). A klinikai törzsek a jelenleg elfogadott határértékek alapján érzékenynek bizonyultak MCF-ra (Pappas és mtsai. 2016). A *C. kefyr* izolátumok esetén nincs

jelenleg elfogadott fajspecifikus határérték, azonban az izolátumok MIC értéke alacsonyabb volt, mint a faj esetében közölt ECOFF (Epidemiological Cut-Off Value) értékek ($\leq 0,12$ mg/L) (Pfaller és mtsai. 2011).

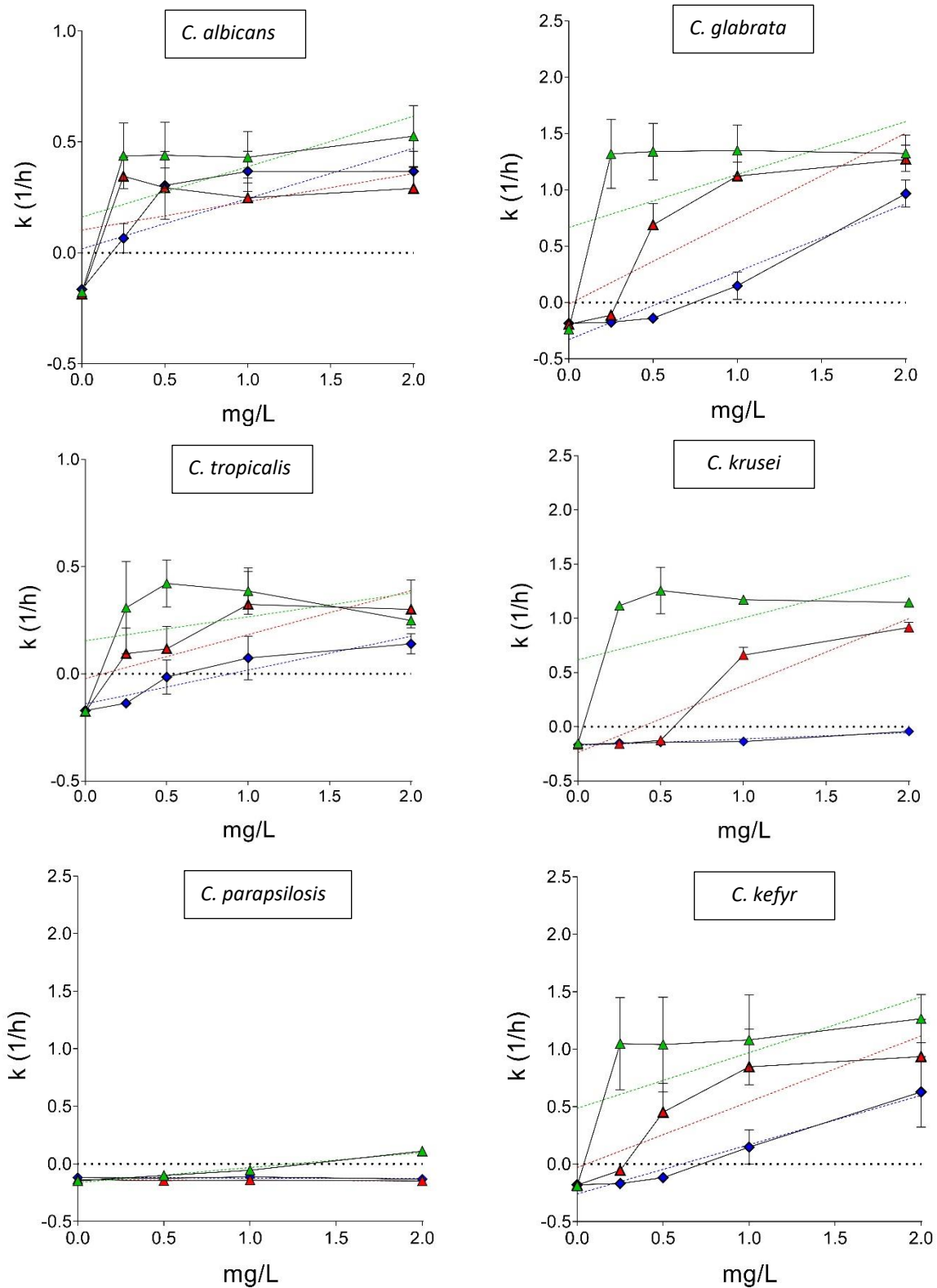
Szérum jelenlétében a vizsgált *Candida* fajok MIC értéke jelentősen megemelkedett. A 10% szérumot tartalmazó tápközegben a normál RPMI-1640-ben tapasztaltnál képest 2-64-szeres emelkedést tapasztaltunk. Érdekes módon 30% humán szérum jelenlétében a MCF MIC értékek is csak 8-64-szeresei voltak a szérummentes tápközegben tapasztaltaknak. A két szérumot tartalmazó tápközeg között pedig csupán 2-4-szeres emelkedést detektáltunk. A *C. albicans* és *C. glabrata* izolátumok MIC értéke mindkét szérumot tartalmazó tápközegben kisebb volt, mint 2 mg/L.

V.1.2. Az 50%-os csíraszámcsökkenéshez szükséges idő a különböző micafungin koncentrációk esetében az egyes vizsgált tápközegekben a különböző *Candida* izolátumok ellen az idő-ölés kísérletek során

Izolátumszám	Tápközeg	Idő (óra)			
		0.25 mg/L	0.5 mg/L	1 mg/L	2 mg/L
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	RPMI-1640	0,99	0,91	0,97	1,26
	10% szérum	Növekedés	Növekedés	2,02	1,17
	30% szérum	Növekedés	Növekedés	Növekedés	1,86
<i>C. albicans</i> izolátumok	RPMI-1640	0,69±1,17	1,68±0,86	1,67±1,50	0,57±1,26
	10% szérum	0,87±2,03	1,02±0,52	1,21±1,95	0,29±1,85
	30% szérum	2,59±>48	0,66±>48	1,82±1,91	0,82±1,92
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	RPMI-1640	0,19	0,23	0,19	0,18
	10% szérum	0,20	0,16	0,20	0,17
	30% szérum	0,18	0,20	0,15	0,16
<i>C. glabrata</i> izolátumok	RPMI-1640	0,23±0,57	0,23±0,69	0,22±0,77	0,91±1,07
	10% szérum	Növekedés	0,44±0,91	0,27±1,43	0,24±1,29
	30% szérum	Növekedés	Növekedés	1,24±>48	0,31±1,44
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	RPMI-1640	0,48	0,59	0,54	0,61
	10% szérum	0,54	0,47	0,54	0,69
	30% szérum	Növekedés	0,54	0,47	0,54
<i>C. tropicalis</i> izolátumok	RPMI-1640	0,98±0,81	0,71±1,59	0,78±1,65	1,21±5,03
	10% szérum	>48	5,65±>48	4,15±>48	2,97±>48
	30% szérum	Növekedés	Növekedés	>48	26,9±>48
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	RPMI-1640	NV	Növekedés	Növekedés	Növekedés
	10% szérum	NV	Növekedés	Növekedés	Növekedés
	30% szérum	NV	Növekedés	Növekedés	Növekedés
<i>C. parapsilosis</i> izolátumok	RPMI-1640	NV	Növekedés	Növekedés	1,47±>48
	10% szérum	NV	Növekedés	Növekedés	Növekedés
	30% szérum	NV	Növekedés	Növekedés	Növekedés
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	RPMI-1640	0,32	0,36	0,33	0,36
	10% szérum	Növekedés	Növekedés	0,42	0,38
	30% szérum	Növekedés	Növekedés	Növekedés	0,42
<i>C. krusei</i> izolátumok	RPMI-1640	0,27±0,69	0,24±0,81	0,26±1,03	0,27±0,52
	10% szérum	Növekedés	Növekedés	0,46±0,38	0,33±0,81
	30% szérum	Növekedés	Növekedés	Növekedés	Növekedés
<i>C. kefyr</i> izolátumok	RPMI-1640	0,26±0,43	0,29±0,42	0,40±0,44	0,24±0,83
	10% szérum	Növekedés	0,67±0,69	0,36±0,53	0,32±0,54
	30% szérum	Növekedés	Növekedés	1,06±>48	0,48±0,56

1. táblázat. Az 50%-os csíraszámcsökkenéshez szükséges idő (h) átlaga±SD a különböző micafungin koncentrációkon (mg/L) RPMI-1640, 10% humán szérummal és 30% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegekben *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* és *C. kefyr* klinikai és referenciatörzsek ellen. NV: nem vizsgált.

V.1.3. Az ölési ráta értékek alakulása az egyes vizsgált *Candida* fajok klinikai izolátumainak esetében



2. ábra A különböző MCF koncentrációk által kiváltott ölési ráta értékek átlaga $\pm$ SD, a különböző klinikai *Candida* izolátumok ellen. A zöld háromszög a normál RPMI-1640-ben tapasztalt, a piros a 10% humán szérumban tapasztalt, míg a kék rombusz a 30% humán szérumban tapasztalt ölési ráta értékeket mutatja. A szaggatott vonalak az ölési ráta értékekre illesztett regressziós egyenesek.

A kísérletek során a MCF aktivitása legfeljebb fungisztatikus volt (nem volt 99.9%-os CFU (Colony Forming Unit) csökkenés) a vizsgált *C. albicans*, *C. tropicalis* és *C. parapsilosis* izolátumok ellen minden vizsgált tápközegben és koncentráción, ezért csak a T_{50} értékek kerülnek bemutatásra (2. táblázat). A szérummentes RPMI-1640 tápközegben a *C. albicans* izolátumok esetében az 50%-os csíraszámcsökkenés rövid idő bekövetkezett. Tíz százalék humán szérum jelenlétében a MCF aktivitása jelentősen csökkent a *C. albicans* izolátumok ellen a 20261-es izolátum kivételével. A 30% szérumot tartalmazó tápközegben az ATCC 10231-es törzs ellen csak a 2 mg/L-es MCF koncentráció volt hatékony, ellentétben a klinikai izolátumokkal, melyek esetében 30% szérum jelenlétében a 0,5-2 mg/L-es koncentrációtartományon tapasztaltunk legalább 50%-os CFU csökkenést. A klinikai *C. albicans* izolátumok ellen az említett koncentrációtartományon az aktivitás koncentrációfüggetlen módon alakult.

A *C. glabrata* (ATCC 90030) referenciatörzs ellen a MCF minden vizsgált tápközegben és koncentráción hasonlóan jó aktivitást mutatott. Az aktivitás mind a tápközeg, mind pedig a koncentrációtól független módon alakult. Ezzel szemben a klinikai izolátumok ellen az MCF aktivitását jelentősen befolyásolta a szérum jelenléte. A 0,25 mg/L-es MCF koncentráció hatástalannak bizonyult 10% szérum jelenlétében, 30% jelenlétében pedig még a 0,5 mg/L-es koncentráció sem csökkentette az életben lévő *C. glabrata* sejtek számát a klinikai izolátumok esetében. Az 1 mg/L-es MCF koncentráció, bár okozott csíraszámcsökkenést 30% szérum jelenlétében, aktivitása jelentősen elmaradt az RPMI-1640-ben tapasztalttól.

A MCF mind a referenciatörzs, mind a klinikai *C. tropicalis* izolátumok ellen fungisztatikus hatást mutatott a vizsgált tápközegekben és koncentrációkon. Az ATCC 750 referenciatörzs ellen minden MCF koncentráción tapasztaltunk legalább 50%-os csíraszámcsökkenést, kivéve a 0,25 mg/L-en 30% szérum jelenlétében, az aktivitásban ezen kivételtől eltekintve nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget az egyes koncentrációk és tápközegek között. A *C. tropicalis* klinikai izolátumok ezzel szemben jelentősen ellenállóbbnak bizonyultak a MCF expozíció iránt. A 34017-es és 3947-es izolátumok esetében 10% szérum jelentősen csökkent a MCF aktivitása a normál RPMI-1640 tápközeghez képest, 30% szérum esetén pedig csak a 19739-es izolátum esetében tapasztaltunk enyhe csíraszámcsökkenést az 1 és 2 mg/L-es MCF koncentrációkon (k 0,00003-0,01).

C. parapsilosis esetében CFU csökkenést kizárólag a szérummentes tápközegben tapasztaltunk a 17820-as, illetve a 26977-es izolátumok esetében 2 mg/L-es MCF koncentráción. Minden egyéb koncentráción és tápközegben az ölési ráta értékek a negatív tartományban maradtak.

A szérumbmentes RPMI-1640 tápközegben a MCF minden koncentrációja gyors fungicid hatást mutatott a *C. krusei* (ATCC 6258) referenciatörzs és a klinikai izolátumok ellen. Ezzel szemben az aktivitás már 10% szérumb jelenlétében is jelentősen csökkent és csak az 1 és 2 mg/L-es koncentrációkon tapasztaltunk fungisztatikus hatást. A 30% szérumbmal kiegészített tápközegben az ölési ráta értékek minden vizsgált koncentráción negatívak maradtak.

A *C. kefyr* izolátumok ellen a MCF szérumbmentes tápközegben szintén gyors fungicid aktivitást mutatott. 10% szérumb jelenlétében azonban a 31709-es *C. kefyr* izolátum ellen a MCF már csak ≥ 1 mg/L-es koncentráción volt fungicid hatású, a 38001-es izolátum ellen pedig csak 2 mg/L jelenlétében. A 30% szérumbmal kiegészített tápközegben a *C. kefyr* izolátumok ellen csak az 1 és a 2 mg/L-es koncentrációk okoztak csíraszámcsökkenést, és csak a 2 mg/L-es koncentráción volt fungicid hatás tapasztalható a 31709-es és a 38001-es izolátumok ellen. A 24700-as izolátum esetében a MCF aktivitása jelentősen elmaradt a másik két klinikai izolátumhoz képest, mivel csak a 2 mg/L-es koncentráción tapasztaltunk gyenge fungisztatikus aktivitást.

A szérumb jelenléte nem befolyásolta szignifikánsan az egyes izolátumok és referenciatörzsek növekedését, ez alól a *C. glabrata* klinikai izolátumok jelentettek kivételt, melyek szignifikánsan lassabban szaporodtak 10% és 30% szérumb jelenlétében ($p < 0.05$)

V.2. A micafungin, valamint a komparátor echinocandinok (caspofungin, anidulafungin, rezafungin) *in vitro* aktivitása *C. auris* izolátumok ellen

V.2.1. A kísérletekben használt *C. auris* izolátumok echinocandin érzékenységének meghatározása

Izolátum	Klád	Tesztájék	MIC értékek (RPMI/RPMI + 50% szérum) (mg/L)			
			RZF	ANF	CSF	MCF
12	Dél-ázsiai	Ismeretlen	0,03-0,06/0,5	0,12/2	1/0,5-1	0,12-0,25/2
20 (NCPF 8985)	Dél-ázsiai	Seb	0,25/0,5	0,25/1	0,5/1	0,25/2
27 (NCPF 89891)	Dél-ázsiai	Pleura	0,12/1	0,12/2	0,5/2	0,25/2
Ref. törzs (NCPF 13029=CBS 10913)	Kelet-ázsiai	Külső fül	0,06/0,5	0,03/0,5-1	0,25/0,5	0,12/2-4
15 (NCPF 8984)	Kelet-ázsiai	Külső fül	0,03/0,25-0,5	0,03-0,06/2	0,5-1/1	0,12/2
12372 (CBS 12372)	Kelet-ázsiai	Vér	0,06/0,5	0,03/0,5-1	0,12/0,5	0,03/2
204	Dél-afrikai	Tracheostoma	0,06/0,25-0,5	0,03/2	0,25/0,5-1	0,12-0,25/2
2 (NCPF 8977)	Dél-afrikai	Cerebrospin. foly.	0,12/1	0,03/2	0,5/1	0,25/2-4
185	Dél-afrikai	Vér	0,12/1	0,25/2	0,25/1	0,25/4
I-24	Dél-amerikai (Izrael)	Vér	0,25/0,5	0,06/4	0,25/1	0,12/4
I-172	Dél-amerikai (Izrael)	Vér	0,25/0,5	0,06/2	0,25/1	0,12/2
13108 (CDC B-13108)	Dél-amerikai (Kolumbia)	Kórház (környezeti)	0,12/0,5	0,06/2	0,25/1	0,12/4
16565 (CDC B-16565)	Dél-amerikai (Kolumbia)	Kórház (környezeti)	0,12/0,25	0,015/0,5	0,25/0,5	0,06/2

3. Táblázat A RZF, ANF, MCF és a CSF MIC értékei a klinikai *C. auris* izolátumok, valamint a referenciatörzs (NCPF 13029 = CBS 10913) ellen. A MIC értékek meghatározása triplikátumban történt a CLSI által elfogadott makrodilúciós módszerrel.

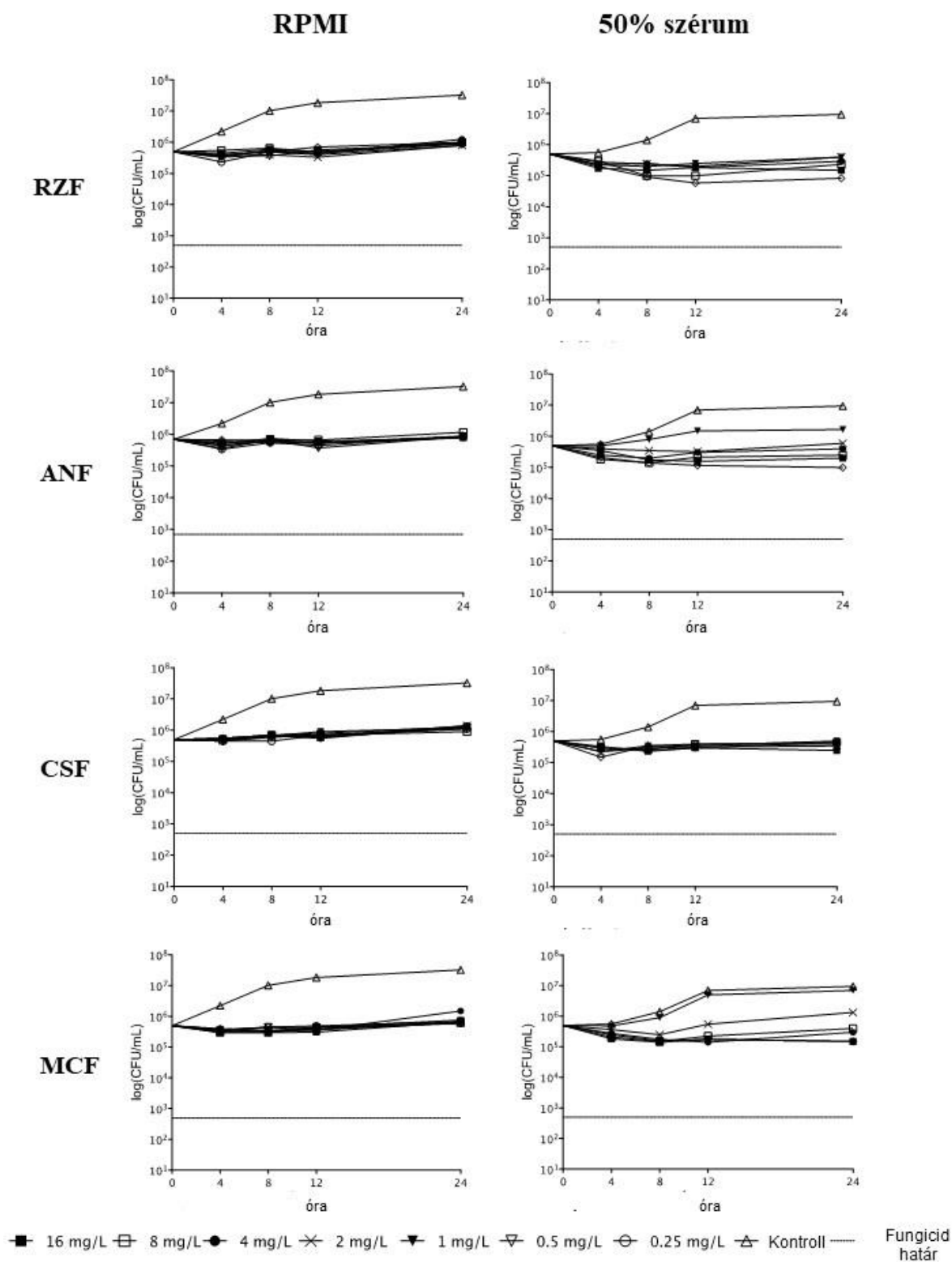
A *C. auris* izolátumok esetén jelenleg nem rendelkezünk fajspecifikus határértékekkel, ezért a CDC (Centers for Disease Control and Prevention) által kiadott tentatív határértékek ($S < 4$ mg/L ANF, $S < 2$ mg/L CSF, $S < 4$ mg/L MCF, S=susceptible/érzékeny) alapján kategorizáltuk a *C. auris* izolátumok echinocandin érzékenységét. A RZF esetében jelenleg nincs semmilyen elfogadott határérték. Az érzékenységvizsgálat eredménye alapján minden vizsgált *C. auris* izolátum érzékenynek bizonyult a jelenleg használt echinocandinokra (CDC 2021). Szérum jelenlétében a különböző echinocandinok MIC értékei nőttek, a normál RPMI-1640-ben tapasztalt 2-24-szeresére. A legnagyobb mértékben az ANF esetében emelkedett, míg a legkisebb növekedést a CSF-nál tapasztaltuk. Ennek hátterében az szérumfehérjékhez való eltérő mértékű kötődés állhat. A RZF esetében az ANF-hoz képest kisebb emelkedést tapasztaltunk.

V.2.2. Az 50%-os csíraszámcsökkenéshez szükséges idő a vizsgált *C. auris* izolátumok esetében

50% szérum	Klád		Idő (óra)							
			32 mg/L	16 mg/L	8 mg/L	4 mg/L	2 mg/L	1 mg/L	0,5 mg/L	0,25 mg/L
(-)	Dél-ázsiai (3 izolátum)	RZF	1,77	1,77	3	3,75	1,36	1,09	1,23	1,19
		ANF	3,1	3,4	3,4	2,14	2,14	3,51	1,22	1,82
		MCF	1,54	1,62	1,56	1,27	1,58	0,75	2	2,06
		CSF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Kelet-ázsiai (2 izolátum)	RZF	0,67	0,81	10	23	NA	15,5	15,3	16,4
		ANF	1	1,07	1,25	30,1	24,6	19,3	21,6	13,8
		MCF	1,3	6,95	1,56	13,6	18	31,6	69,7	NA
		CSF	1,38	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Dél-afrikai (3 izolátum)	RZF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		ANF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		MCF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		CSF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Dél-amerikai (2 izraeli izolátum)	RZF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		ANF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		MCF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		CSF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Dél-amerikai (2 kolumbiai izolátum)	RZF	5	2,7	1,43	1,36	1,11	1,11	0,88	1,58
		ANF	1,58	1,42	1,15	1,08	1,5	0,91	0,71	1,25
		MCF	2,14	2,07	1,58	1,43	1,36	1,15	1,3	0,91
		CSF	NA	NA	NA	100,3	29,4	15	6	3,75
(+))	Dél-ázsiai (3 isolates)	RZF	1,77	3,34	6,69	15,1	75,3	NA	NV	NV
		ANF	1,5	3,75	7,5	7,5	NA	NA	NV	NV
		MCF	1,58	2,73	4,29	4,29	NA	NA	NV	NV
		CSF	3,75	75	NA	NA	NA	NA	NV	NV
	Kelet-ázsiai (2 izolátum)	RZF	0,71	1,08	1,11	1,2	1,25	1,3	NV	NV
		ANF	0,77	0,77	0,91	0,94	1,67	NA	NV	NV
		MCF	0,64	0,97	1	1,07	0,97	NA	NV	NV
		CSF	0,97	1,58	1,97	1,77	1,97	1,88	NV	NV
	Dél-afrikai (3 izolátum)	RZF	3,42	3,81	4,3	1,85	1,88	100	NV	NV
		ANF	2,04	3,01	2,08	2,48	6,53	NA	NV	NV
		MCF	2,73	3,75	4,29	7,3	NA	NA	NV	NV
		CSF	17,2	43,8	NA	NA	21,1	NA	NV	NV
	Dél-amerikai (2 izraeli izolátum)	RZF	3,76	7,07	10,03	12,57	38,2	39,2	NV	NV
		ANF	5,38	7,17	7,61	80,1	NA	NA	NV	NV
		MCF	7	4,27	24,6	9,56	NA	NA	NV	NV
		CSF	NA	17,3	NA	NA	67,3	NA	NV	NV
	Dél-amerikai (2 kolumbiai izolátum)	RZF	1,37	1,63	2,14	2,17	2,57	3,64	NV	NV
		ANF	1,39	1,92	2,57	1,41	1,89	15,1	NV	NV
		MCF	2,04	1,96	3,08	1,76	45,5	NA	NV	NV
		CSF	1,81	2,15	1,95	1,78	2,01	1,74	NV	NV

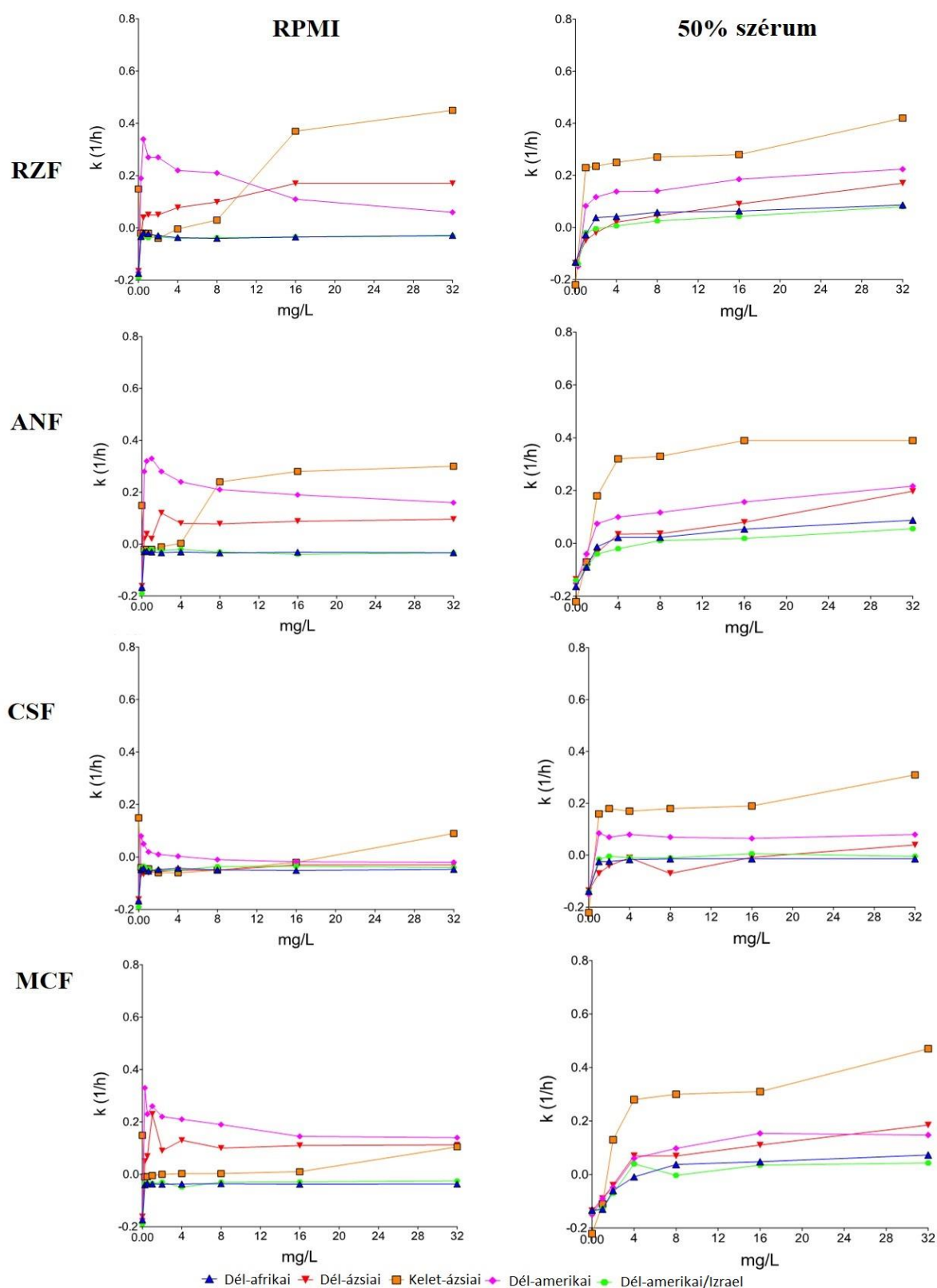
4. Táblázat Az 50%-os CFU csökkenéshez szükséges átlagos idő (órában) ($T_{50} = 0.30103/k$) a kiindulási CFU-hoz képest különböző rezafungin (RZF), anidulafungin (ANF), caspofungin (CSF), and micafungin (MCF) koncentrációkon normál RPMI-1640 és 50% humán szérummal kiegészített RPMI tápközegeben a 4 vizsgált *C. auris* klád esetében. A referenciatörzs (NCPF 13029 = CBS 10913) adatai nincsenek feltüntetve a Kelet-ázsiai klád izolátumai között. A vastaggal szedett adatok azt jelentik, hogy az adott klád minden izolátuma esetében tapasztaltunk legalább 50%-os CFU csökkenést, míg a normál szedés azt jelenti, hogy az adott klád valamely izolátuma ellen nem következett be az 50%-os CFU csökkenés. Utóbbi esetében az átlag azon izolátumok adataiból számolt átlag, ahol ez bekövetkezett. NA: egyik vizsgált izolátum esetében sem következett be az 50%-os CFU csökkenés.; NV: nem vizsgált.

V.2.3 Az életben lévő *C. auris* sejtek száma a dél-amerikai kládba tartozó I-172-es izolátum esetén a különböző időpontokban a különböző echinocandin koncentrációkon



3. ábra A rezafungin (RZF), anidulafungin (ANF), caspofungin (CSF) és a micafungin (MCF) esetén kapott idő-ölés görbék normál RPMI-1640 és 50% szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegekben a dél-amerikai kládba tartozó I-172-es izolátum esetében. A szaggatott vonal a fungicid határt jelöli.

V.2.4. Az ölési ráta értékek alakulása a vizsgált *C. auris* kládok esetében



4. ábra Az átlagos ölési ráta (k) értékek a RZF, ANF, MCF és CSF különböző koncentrációin a két vizsgált tápközegben (RPMI-1640 és 50% humán szérummal kiegészített RPMI-1640) a vizsgált *C. auris* kládok esetében. A referenciatorzs (NCPF 13029 = CBS 10913) adatai nincsenek feltüntetve a Kelet-ázsiai klád izolátumai között. A pozitív k értékek a viabilis sejtek számának csökkenését, míg a negatív azok szaporodását jelentik. A hibavonalak az ábra jobb áttekinthetősége miatt nem szerepelnek.

A vizsgált echinocandinok mindegyike függetlenül a vizsgált *C. auris* kládtól és tápközegtől fungisztikus aktivitásának bizonyult a vizsgált izolátumok ellen (99,9%-os csíraszámcsökkenés nem következett be). Érdekes módon ez a fungisztikus hatás is gyakorta csak az inkubáció első 8-12 órájában állt fenn, melyet jelentős újra növekedés követett.

A Dél-ázsiai klád esetében az átlagos ölési ráta értékek koncentrációfüggő módon alakultak 0,25 és 32 mg/L között az ANF, RZF és MCF esetében RPMI-1640 tápközegben, azonban a vizsgált izolátumok mindegyike ellen csak a RZF (4-32 mg/L) és az ANF (16-32 mg/L) csökkentette az élő sejtek számát. A 27-es izolátum ún. mini-paradox jelenséget mutatott RZF jelenlétében, mivel a 0,25-2 mg/L-es koncentrációtartományon kapott ölési ráta értékek magasabbak voltak, mint a 4-32 mg/L-en mértek. A CSF semelyik koncentráción sem csökkentette az élő sejtek számát, bár a szaporodást némileg képes volt lassítani. Szérum jelenlétében a RZF, ANF és MCF aktivitása koncentráció függő módon alakult 4 és 32 mg/L között, újranovekedést szérum jelenlétében nem tapasztaltunk az említett echinocandinok és a vizsgált izolátumok esetében. A szérummal kiegészített tápközegben a CSF némileg jobb aktivitást mutatott, mint a normál RPMI-1640-ben, azonban csak a 32 mg/L-es koncentráción csökkentette az élő sejtek számát mindhárom Dél-ázsiai kládba tartozó izolátum ellen.

A Kelet-ázsiai kládba tartozó referenciatörzs (NCPF 13029/CBS 10913) ellen a RZF, ANF és a CSF koncentrációfüggő ölü aktivitást mutatott 0,25-32 mg/L között, a legmagasabb koncentráción megközelítve a fungicid hatást (2,6-2,9 log CFU csökkenés) RPMI-1640 tápközegben. A MCF ezzel szemben a legjobb aktivitást 0,25-2 mg/L-en mutatta (a k értékek 0,21-0,25 1/h voltak), az ennél magasabb koncentrációkon szintén ún. mini-paradox jelenséget figyeltünk meg (k : 0,11-0,14 1/h). A klinikai izolátumok ellen az echinocandinok aktivitása elmaradt a referenciatörzsnél tapasztaltakhoz képest, az átlagos ölési ráta értékek nem minden esetben voltak pozitívak 0,25-4 mg/L-es koncentrációkon. Csak a RZF és az ANF mutatott 8-32 mg/L-es koncentrációtartományon mindkét izolátum ellen pozitív k értékeket. Szérum jelenlétében a referenciatörzs ellen a RZF és CSF koncentrációfüggő ölü aktivitást mutatott 1 és 32 mg/L között, az ANF azonban csak ≥ 2 mg/L-es, a MCF pedig ≥ 4 mg/L koncentrációk mellett volt képes csökkenteni az élő sejtek számát. A klinikai izolátumok ellen az echinocandinok ölü aktivitása ugyanazokon a koncentrációkon kezdődött, amelyeken a referenciatörzs esetében is, azonban érdekes módon koncentrációfüggetlen módon alakult.

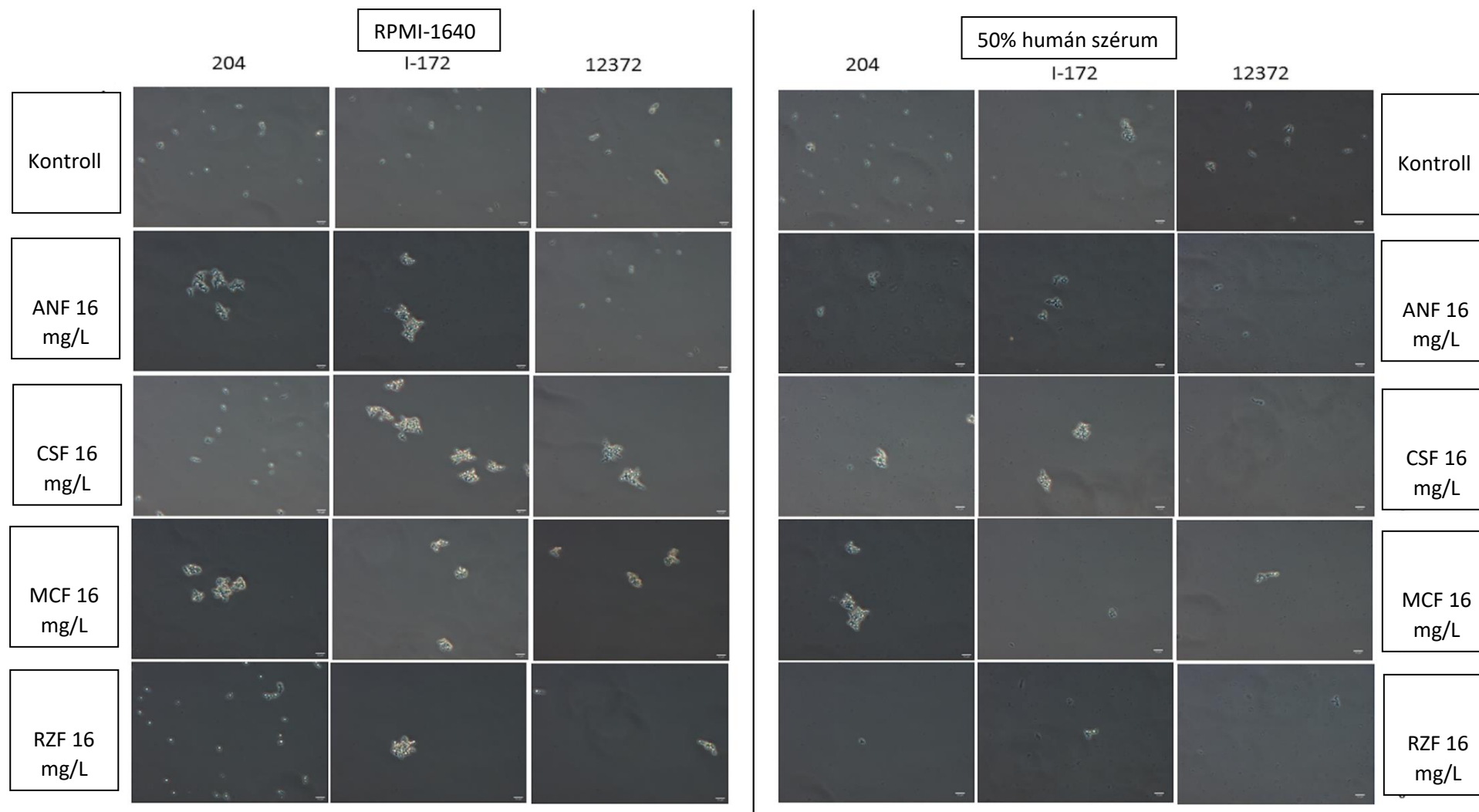
A Dél-afrikai izolátumok kifejezetten ellenállónak bizonyultak az echinocandinok hatására RPMI-1640 tápközegben. Bár a szaporodás üteme jelentősen csökkent minden vizsgált echinocandin koncentráción, jelentős CFU csökkenést nem tapasztaltunk még 256-512 x MIC koncentrációk mellett sem. A legmagasabb aktivitást (0,4 log CFU csökkenés) a 185-ös

izolátum ellen mutatta az ANF 1 mg/L-es koncentráción. Szérum jelenlétében némileg jobb ölü aktivitást figyeltünk meg, azonban csak a RZF expozíció eredményezett pozitív k értékeket mindhárom izolátum ellen, mégpedig a 8-32 mg/L-es koncentrációtartományon (átlagos k értékek 0,07-0,09 1/h).

A Dél-amerikai klád esetében az Izraelből származó invazív izolátumok és a kolumbiai kórházi környezeti izolátumok eltérő módon reagáltak az echinocandin expozícióra. A szérummentes RPMI-1640 tápközegben az izraeli izolátumok viselkedése nagyon hasonló volt a Dél-afrikai izolátumokéhoz, egyik echinocandin esetében sem volt ölés megfigyelhető egyik vizsgált koncentráción sem. Ezzel szemben a kolumbiai kórházi izolátumok esetében tapasztaltunk CFU csökkenést, továbbá jelentős mini-paradox jelenséget figyeltünk meg, ugyanis minden echinocandin szignifikánsan jobb ölü aktivitást mutatott alacsonyabb koncentrációkon (a k értékek átlaga 32 mg/L echinocandin koncentráció mellett 0,0975 1/h, míg a k értékek átlaga 0,5 mg/L mellett 0,26 1/h volt). Szérum jelenlétében az izraeli izolátumok ellen a RZF 8-32 mg/L között mutatott ölü aktivitást (átlagos k értékek 0,03-0,08 1/h), illetve az ANF és az MCF 32 mg/L-es koncentrációkon (MCF k 0,06, ANF k 0,04 1/h). A CSF egyik koncentrációja sem csökkentette az élő gombasejtek számát. A kolumbiai izolátumok ellen a RZF, az ANF és a MCF koncentrációfüggő ölü hatást fejtettek ki, ezzel szemben a CSF hatása koncentrációfüggetlen módon alakult. Érdekes kiemelni, hogy a RZF ez ellen a két izolátum ellen már 1 mg/L-es koncentráción képes volt csökkenteni az élő sejtek számát.

Összességében elmondható, hogy a leggyengébb aktivitást a vizsgálatok során a CSF mutatta, míg a másik három echinocandin aktivitása nagyjából hasonlóan alakult, a RZF minden izolátum ellen legalább olyan hatékornak bizonyult, mint az ANF és az MCF.

V.2.5. Az echinocandinok által indukált morfológiai változások különböző kládokba tartozó *C. auris* izolátumok esetében



5. ábra Az echinocandin expozíciónak kitett (16 mg/L RZF, MCF, CSF, ANF) és nem kitett kontroll *C. auris* izolátumok (204, I-172, 12372) sejtjeinek fázis-kontraszt mikroszkópos felvétele. A képek 24 óra inkubációt követően készültek a két tápközegben (RPMI-1640 és 50% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegben).

Az echinocandin expozíció hatására normál RPMI-1640 tápközegben gyakorta tapasztaltunk nagyméretű, akár 100 sejtet meghaladó méretű aggregátumokat függetlenül a vizsgált *C. auris* kládtól és az izolátumtól, valamint az echinocandin típusától és annak koncentrációjától. Szérum jelenlétében az aggregátumok mérete jelentősen kisebb volt, mint a szérummentes tápközegben és számuk is alacsonyabb volt. Érdekes módon a szérum jelenléte önmagában, echinocandinok nélkül is képes volt kisméretű aggregátumok képződését indukálni, azonban ezek mérete elmaradt az echinocandin expozíció által indukáltak méretétől.

VI. Megbeszélés

A MCF véráramban tapasztalt farmakokinetikai paramétereiről, valamint farmakodinámiás aktivitásáról széleskörű ismeretekkel rendelkezünk, ezzel szemben az egyéb invazív *Candida* infekciók, mint a pleurális és peritoneális érintettséggel járó fertőzések esetében jóval kevesebb eredmény áll rendelkezésre (Zhao és mtsai. 2019). Az ilyen infekciók terápiájára a jelenlegi ajánlások alapján mindhárom jelenleg alkalmazott vegyületcsoport (AMB, triazolok, echinocandinok) alkalmas. A gyakori primer triazol rezisztenciával vagy csökkent érzékenységgel rendelkező potenciális kórokozók (pl. *C. glabrata*, *C. krusei*), valamint az AMB-hez jelentős toxicitása miatt azonban, jelenleg az echinocandinok az elsőként választandó szerek az említett anatómiai területek *Candida* infekcióinak terápiája során (Pappas és mtsai 2016, Pemán és mtsai. 2017).

A jelenlegi szűkös ismereteink alapján úgy tűnik, hogy a MCF mind a pleurális, mind a peritoneális folyadékban jelentősen alacsonyabb koncentrációban van jelen, mint a vérplazmában. A 100 mg-os sztenderd dózisok alkalmazása mellett a $C_{\max}$ értéke ≤ 2 mg/L, míg a $C_{\text{through}} \leq 1$ mg/L a peritoneális folyadékban. Érdeemes kiemelni továbbá, hogy populáció-farmakokinetikai szimulációk alapján, az esetek jelentős részében a koncentrációk az 1 mg/L-t sem érik el (Grau és mtsai. 2015, García-de-Lorenzo és mtsai. 2016). Az echinocandinok, így a MCF is jelentős mértékben kötődik szérumfehérjéhez, így az említett anatómiai területek infekciói során a farmakodinámiás aktivitása jelentősen csökkenthet. A pleurális, illetve peritoneális folyadék fehérjekoncentrációja gyulladásos folyamatok nélkül 20-30 g/L között alakul, mely elmarad a szérumban mérhető fehérjekoncentráció mögött, azonban infekció során ez egészen 50 mg/L-es protein koncentrációt érhet el (Huang és mtsai. 2014, Wahidi és mtsai. 2009, Ferreira és mtsai. 2017, Davies és mtsai. 2010). Vizsgálataink során ezért alkalmaztunk 10% és 30% szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközeget, előbbi a fiziológiás, utóbbi a gyulladásos fehérjekoncentrációnak feleltethető meg.

Eredményeink alapján már a 10% humán szérum is jelentősen befolyásolta a MCF ölü aktivitását a vizsgált fajok ellen, mely alól csak a *C. albicans* klinikai izolátumok jelentettek kivételt. Esetükben minden vizsgált MCF koncentráción (0,25-2 mg/L) jelentős csíraszámcsökkenést tapasztaltunk, bár 30% szérumban 0,25 mg/L MCF koncentráción az ölés hatékonysága szignifikánsan ($p < 0,05$) elmaradt a 10% szérumot tartalmazó tápközeghez képest. A recens epidemiológiai adatok alapján a *Candida* fajok okozta empyema thoracis esetek több, mint 35-48%-ban non-*albicans* faj a kórokozó, illetve IAC-os esetek majd feléért is ezek felelnek (Williams és mtsai. 2017, Senger és mtsai. 2021). A vizsgált non-*albicans* fajok

ellen a klinikailag releváns 1 mg/L-es MCF koncentráción 30% szérumban azonban elégtelen ölü aktivitást tapasztaltunk, mely felveti a jelenleg alkalmazott MCF adagolás elégtelenségét non-*albicans* fajok okozta pleurális és peritoneális *Candida* infekciók kezelésében. Az RPMI-1640 tápközegekben tapasztalt alacsony MIC értékek, valamint a jelentős ölü aktivitás, ellentétben a szérumban jelenléte tapasztalttal megerősítik azon eredményeket, melyek alapján a szérumbanmentes tápközegekben az echinocandinok, így a MCF aktivitása is jelentősen túlbecsült és nem biztos, hogy releváns az *in vivo* tapasztalható aktivitás szempontjából, főleg non-*albicans* fajok ellen (Maki és mtsai 2008).

A gyenge ölü aktivitás további következménye lehet a vizsgált fajok ellen a potenciálisan kialakuló echinocandin rezisztencia a terápia során. A szuboptimális expozíció több tanulmány szerint is kapcsolatba hozható az echinocandin terápia során kialakuló echinocandin rezisztens izolátumok okozta áttörésszerű infekciókkal (Bizerra és mtsai 2014, Shields és mtsai. 2014). Ebből a szempontból az abdominális *Candida* infekciók különös jelentőséggel bírnak (Shields és mtsai 2014, Gioia és mtsai. 2020). Bár a *Candida* fajok által okozott pleurális infekciók ritka klinikai manifesztációk, azonban több esetben is leírtak már echinocandin rezisztens *Candida* izolátum okozta áttörésszerű infekciót az említett anatómiai területen is (Ali & Abate 2020, Xiao és mtsai. 2018).

A szérumban jelenléte nagyban befolyásolta a MCF *C. auris* ellenes aktivitását is, érdekes módon azonban a 4 mg/L-es koncentráción és fölötté ellentétben az egyéb vizsgált non-*albicans* fajokkal, növelte azt. A különböző kládok ellen az RPMI-1640 tápközegekben jelentős különbségeket tapasztaltunk. Bár a Kelet-ázsiai izolátumok ellen az átlagos ölési ráta értékek jelentősen elmaradtak az ANF-hoz és a RZF-hoz képest, addig szérumban a MCF ölési aktivitása hasonlóan alakult a másik két említett echinocandinéhoz. A Dél-afrikai és Izraelből származó Dél-amerikai kládba tartozó izolátumok ellen a MCF a többi echinocandinhoz hasonlóan negatív ölési ráta értékeket produkált minden vizsgált koncentráción a szérumbanmentes tápközegekben, a szérumban jelenléte azonban ezen izolátumok ellen is fokozta az aktivitást. A Dél-ázsiai, valamint a kolumbiai izolátumok ellen RPMI-1640-ben is tapasztaltunk ölü aktivitást, továbbá mini-paradox jelenséget; szérumban jelenléte utóbbi megszűnt, az ölési ráta értékek hasonlóan alakultak a két eltérő földrajzi helyről származó izolátumok esetén. Fontos leszögezni azonban, hogy a fokozott aktivitás is csupán gyenge fungisztikus hatásának bizonyult, hiszen egyik vizsgált izolátum ellen sem tapasztaltunk fungicid (99,9%-os élősejtszám csökkenés) hatást. Jelenleg csak egyetlen másik tanulmány áll rendelkezésre, mely az echinocandinok *in vitro* farmakodinámiai aktivitását vizsgálta, mely csupán az ANF-ra és a CSF-ra terjedt ki. Dudiuk és mtsai. hasonlóan gyenge sztatikus aktivitásról számoltak be a két

említett hatóanyaggal végzett vizsgálataik során Dél-amerikai izolátumok ellen (Dudiuk és mtsai. 2019). Az egyelőre nem világos, hogy mi áll ennek a gyenge aktivitásnak a hátterében, összehasonlítva az egyéb klinikailag releváns *Candida* fajokkal. Az ismert, hogy a *C. auris*-hoz filogenetikailag közelálló fajok körében is gyakori a csökkent érzékenység az antifungális hatóanyagok iránt (Muñoz és mtsai. 2018), azonban ez önmagában nem ad kielégítő magyarázatot a gyenge aktivitásra. Ismert, illetve általunk is megerősítést nyert, hogy a *C. auris* izolátumok egy része negatív külső körülmények nélkül is, míg másik részük sejtfal és sejtmembrán aktív antifungális szerek hatására nagyméretű aggregátumokat képez, mely részben magyarázatot adhat a gyenge aktivitásra, hiszen az aggregált sejtek feltételezhetően védelmet biztosíthatnak az echinocandinok, illetve egyéb antifungális hatóanyagokkal szemben (Székely és mtsai. 2019). A szérumban tapasztalt jobb aktivitásra azonban ez sem ad elégséges magyarázatot. Mivel a *C. auris* esetében az egyéb *Candida* fajokhoz képest is sok kitin található a sejtfalban, és ismert, hogy a *Candida* fajok az echinocandin expozícióra válaszul proporcionálisan fokozzák a kitinszintézist, ezért lehetséges, hogy éppen a szérumfehérjék jelenlétében tapasztalt alacsony szabad echinocandin koncentráció az oka annak, hogy jobb aktivitást tapasztaltunk. Ennek némileg ellentmond az, hogy mini-paradox jelenséget nem tapasztaltunk szérum jelenlétében a maximális vizsgált echinocandin koncentrációkon sem. Tovább árnyalja a képet az is, hogy a MCF és a RZF hatékonyságát vizsgáló *in vivo* állatmodelles eredmények nagyfokú hatékonyságról számolnak be *C. auris* ellen (Lepak és mtsai. 2018). Ennek hátterében a RZF sokkal jobb farmakokinetikai paraméterei (magasabb C_{max} és $C_{through}$) állhatnak (Lepak és mtsai. 2018), továbbá felmerülhet az ellentmondásos *in vitro* és *in vivo* eredmények hátterében az, hogy a *C. auris in vivo* körülmények közötti túlélése és szaporodása, valamint a RZF expozíció együttesen meghaladják az adaptációs képességeit.

Eredményeink alapján a MCF jelenleg alkalmazott sztenderd dózisaival nem feltétlenül érhető el terápiás koncentráció a non-*albicans Candida* fajok okozta pleurális és peritoneális infekciók, valamint a szérumban sem a *C. auris* okozta véráramfertőzések terápiája során. Mivel az echinocandinok, így a MCF is széles terápiás ablakkal rendelkeznek, a jelenleg alkalmazott dózisoknál magasabbakat alkalmazva, valószínűleg a terápiás sikerek aránya növelhető lenne az említett kórképekben.

VII. Fontosabb eredmények

A micafungin *in vitro* farmakodinámiás aktivitása eredményeink alapján megfelelő a *C. albicans* okozta pleurális és peritoneális infekciók kezelésében, azonban a kevésbé gyakori *Candida* fajok ellen a jelenleg alkalmazott dózisokkal elérhető koncentrációk valószínűleg nem minden esetben elégségesek a kórokozó non-*albicans* fajok eradikálására az említett anatómiai területekről és a jelenleg alkalmazott dózisoknál magasabb dózisok alkalmazása lehet szükséges.

Az echinocandinok *in vitro* aktivitása jelentősen eltér a különböző *C. auris* kládok között. A legérzékenyebbek a Kelet-ázsiai izolátumok bizonyultak, ellenben a Dél-afrikai és az Izraelből származó Dél-amerikai kládba tartozó izolátumok nagy mértékben képesek tolerálni az echinocandin expozíciót.

A humán szérum jelenléte *in vitro* alacsony koncentrációk (<2 mg/l) mellett csökkenti az echinocandinok aktivitását, azonban magasabb koncentrációk mellett némileg fokozza azt, illetve kiegyenlíti az egyes echinocandinok között RPMI-1640 tápközegben tapasztalt aktivitásbeli különbségeket.

A második generációs echinocandin rezafungin aktivitása megegyezik, vagy jobb, mint az első generációs echinocandinok aktivitása a különböző *C. auris* izolátumok ellen.

VII. Összefoglalás

Az utóbbi évtizedekben az ismereteink jelentősen bővültek az echinocandinok, így a micafungin farmakokinetikájával és farmakodinámiás paramétereivel kapcsolatban, azonban a véráramtól eltérő anatómiai területeket érintő fertőzésekben, valamint a gyorsan terjedő és gyakran gyógyszerrezisztens *C. auris* ellenes aktivitásáról kevés ismerettel rendelkezünk. A jelenlegi adatok alapján a micafungin elméletileg terápiás koncentrációt ér el mind a különböző *Candida* fajok okozta pleurális, mind a peritoneális infekciók, valamint a *C. auris* véráramfertőzések kezelése során is. A farmakokinetikai eredmények azonban nem veszik figyelembe az echinocandinok jelentős fehérjekötődését, mely részben magyarázhatja a terápiás sikertelenség magas arányát a megfelelő gyógyszerkoncentráció ellenére. Kísérleteinkben a szérumfehérjék szerepét vizsgáltuk a micafungin farmakodinámiájára *in vitro* idő-ölés módszerrel a pleurális és peritoneális infekciók kezelése során elérhető koncentrációkon (0,25-2 mg/L) a leggyakrabban izolált *Candida* fajok klinikai és referenciatörzsei ellen. Annak érdekében, hogy szimuláljuk az echinocandinok jelentős fehérjekötődését, az RPMI-1640 tápközeget kiegészítettük humán szérummal (10 és 30%), amely megfeleltethető a normál és a gyulladásos pleurális és peritoneális folyadékok fehérjekoncentrációjának. A szérumfehérjék micafungin aktivitására gyakorolt hatását különböző *C. auris* kládok izolátumai ellen is vizsgáltuk és összehasonlítottuk a jelenleg forgalomban lévő echinocandinokkal, valamint a klinikai kipróbálás alatt lévő rezafunginnal a véráramban releváns koncentrációkon (0,25-32 mg/L szérummentes és 1-32 mg/L 50% humán szérumot tartalmazó tápközegekben).

A pleurális és peritoneális izolátumok ellen a micafungin aktivitása megfelelő volt a *C. albicans* klinikai izolátumok ellen, mivel jelentősen csökkentette az életben lévő *Candida* sejtek számát minden vizsgált koncentráción még 30% szérumban is. A non-*albicans* fajok ellen az eredmények kevésbé megnyugtatóak, hiszen 30% szérumban a *C. krusei* és *C. parapsilosis* fajok ellen még a 2 mg/L micafungin sem volt hatékony. Érdekes módon a *C. auris* ellen 50% szérumban az echinocandinok aktivitása jobb volt 4-32 mg/L között a normál RPMI-1640-ben tapasztaltnál képest, azonban a hatás minden esetben fungisztatikus maradt. Eredményeink arra utalnak, hogy a jelenlegi micafungin adagolással csak szuboptimális expozíció érhető el a non-*albicans* fajok okozta pleurális és peritoneális infekciókban, továbbá folyamatos legalább 4 mg/L-es koncentráció elérésére van szükség a véráramban *C. auris* ellen, amely koncentráció csak a jelenleginél használt magasabb napi dózissal lehetséges.

VIII. Summary

Our knowledge of pharmacokinetics and pharmacodynamics of echinocandins, including micafungin have increased substantially in the past decades, yet data on activity on body sites other than the bloodstream, and also against the highly transmissible often drug-resistant *C. auris* is scarce. Based on pharmacokinetic data obtained by others, micafungin is supposed to have sufficient activity in case of pleural and peritoneal infections and also against *C. auris* bloodstream infections. Pharmacokinetic data however does not take into account the highly protein-bound nature of echinocandins, which may partly explain the high rate of therapeutic failures despite adequate drug concentrations seemingly achieved. In our experiments, we examined the role of serum proteins on the pharmacodynamic activity of micafungin using time-kill methodology *in vitro* on clinically attainable concentrations in case of pleural and peritoneal infections (0.25-2 mg/L) against a panel of clinical isolates and reference strains of most prevalent *Candida* species in RPMI-1640 medium, and to simulate the high protein binding of micafungin, human serum (10 and 30 %) was also added resulting in protein concentrations equal to normal and inflammatory pleural and peritoneal fluids. The impact of the presence of serum proteins on the activity of micafungin against geographically distinct clades of *C. auris* was also assessed and was compared to already approved echinocandins (anidulafungin and caspofungin) and rezafungin at clinically relevant concentrations in the bloodstream (0.25-32 mg/L in absence and 1-32 mg/L in presence of 50% human serum).

For pleural and peritoneal isolates the activity of micafungin was satisfactory against *C. albicans* clinical isolates resulting in a significant decrease in living fungal cells at all tested concentrations even in presence of 30% human serum for clinical isolates, however, against non-*albicans Candida* species the results are less appealing, only 2 mg/L was uniformly effective against them, with the exception of *C. krusei* and *C. parapsilosis* both of them was able to grow at the highest concentration tested in presence of 30% serum. Interestingly, against *C. auris* the activity of all echinocandins was better in presence of serum at higher concentrations (4-32 mg/L) compared to the normal RPMI-1640, however the effect was merely fungistatic in both media. In conclusion, our data suggest that the recently used micafungin dosages may result in inefficient drug exposures unable to eradicate fungal cells of non-*albicans Candida* species from the pleura and the peritoneum and a continuous 4 mg/L concentration should be achieved in the bloodstream against *C. auris*, which can only be met with increased doses.

IX. Társszerzők közreműködése

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények társszerzői által végzett feladatok bemutatása:

Tóth, Z., Kardos, T., Kovács, R., Kardos, G., Nagy, F., Prépost, E., Barta, Z., Takács, I., Majoros, L.: 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), 905-912, 2018.

Kísérletek megtervezése: Dr. Majoros László, Tóth Zoltán

Az izolátumok gyűjtése és identifikálása: Tóth Zoltán, Nagy Fruzsina, Dr. Kovács Renátó

Az izolátumok érzékenységeinek meghatározása és az idő ölés kísérletek elvégzése: Tóth Zoltán, Dr. Kardos Tamás, Nagy Fruzsina, Dr. Prépost Eszter

Statisztikai elemzés: Dr. Kovács Renátó

A kézirat revíziója: Dr. Majoros László, Dr. Kardos Gábor, Dr. Barta Zsolt, Dr. Takács István

Kovács, R., Tóth, Z., Locke, J., Forgács, L., Kardos, G., Nagy, F., Borman, A., Majoros, L.: 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), 1-12, 2021.

Kísérletek megtervezése: Dr. Kovács Renátó Dr. Majoros László, Tóth Zoltán

Az izolátumok gyűjtése és identifikálása: Dr. Andrew Borman, Tóth Zoltán

Az izolátumok érzékenységeinek meghatározása és az idő ölés kísérletek elvégzése: Tóth Zoltán, Nagy Fruzsina, Forgács Lajos

Fáziskontraszt mikroszkópia: Tóth Zoltán

Statisztikai elemzés: Dr. Kovács Renátó

A kézirat revíziója: Dr. Kovács Renátó, Dr. Majoros László, Dr. Kardos Gábor, Dr. Jeffrey Locke, Dr. Andrew Borman

X. Irodalomjegyzék

Ademe, M., & Girma, F. (2020). *Candida auris* : From Multidrug Resistance to Pan-Resistant Strains. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1287-1294. 10.2147/IDR.S249864

Aguilar-Zapata, D., Petraitiene, R., & Petraitis, V. (2015). Echinocandins: The Expanding Antifungal Armamentarium. *Clinical Infectious Diseases*, 61(suppl_6), S604-S611. 10.1093/cid/civ814

Ali, N., & Abate, G. (2020). *Candida* Empyema as a Red Flag for Esophageal Rupture: A Case Report and Literature Review. *Case Reports in Infectious Diseases*, 2020, 1-4. 10.1155/2020/3935691

Anderson, T. M., Clay, M. C., Cioffi, A. G., Diaz, K. A., Hisao, G. S., Tuttle, M. D., Nieuwkoop, A. J., Comellas, G., Maryum, N., Wang, S., Uno, B. E., Wildeman, E. L., Gonen, T., Rienstra, C. M., & Burke, M. D. (2014). Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. *Nature Chemical Biology*, 10(5), 400-406. 10.1038/nchembio.1496

Andes, D., Ambrose, P. G., Hammel, J. P., Van Wart, S. A., Iyer, V., Reynolds, D. K., Buell, D. N., Kovanda, L. L., & Bhavnani, S. M. (2011). Use of Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analyses To Optimize Therapy with the Systemic Antifungal Micafungin for Invasive Candidiasis or Candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(5), 2113-2121. 10.1128/AAC.01430-10

Arendrup, M. C., & Patterson, T. F. (2017). Multidrug-Resistant *Candida*: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(suppl_3), S445-S451. 10.1093/infdis/jix131

Arendrup, M., & Perlin, D. (2014). Echinocandin Resistance: An Emerging Clinical Problem? *Current Opinion in Infectious Diseases*, 27(6), 484-492. 10.1097/QCO.0000000000000111

Ashley, E. S. D., Lewis, R., Lewis, J. S., Martin, C., & Andes, D. (2006). Pharmacology of Systemic Antifungal Agents. *Clinical Infectious Diseases*, 43(Supplement-1), S28-S39. 10.1086/504492

Baddley, J. W., Benjamin, D. K., Patel, M., Miró, J., Athan, E., Barsic, B., Bouza, E., Clara, L., Elliott, T., Kanafani, Z., Klein, J., Lerakis, S., Levine, D., Spelman, D., Rubinstein, E., Tornos, P., Morris, A. J., Pappas, P., Fowler, V. G., . . . Cabell, C. (2008). *Candida* Infective Endocarditis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 27(7), 519-529. 10.1007/s10096-008-0466-x

Bader, J. C., Bhavnani, S. M., Andes, D. R., & Ambrose, P. G. (2018). We Can Do Better: a Fresh Look at Echinocandin Dosing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(suppl_1), i44-i50. 10.1093/jac/dkx448

Bain, J. M., Alonso, M. F., Childers, D. S., Walls, C. A., Mackenzie, K., Pradhan, A., Lewis, L. E., Louw, J., Avelar, G. M., Larcombe, D. E., Netea, M. G., Gow, N. A. R., Brown, G. D., Erwig, L. P., & Brown, A. J. P. (2021). Immune cells fold and damage fungal hyphae. *Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS*, 118(15), 1. 10.1073/pnas.2020484118

Bayegan, S., Majoros, L., Kardos, G., Kemény-Beke, A., Miszti, C., Kovacs, R., & Gesztelyi, R. (2010). In Vivo Studies with a *Candida tropicalis* Isolate Exhibiting Paradoxical Growth In Vitro in the Presence of High Concentration of Caspofungin. *The Journal of Microbiology*, 48(2), 170-173. 10.1007/s12275-010-9221-y

Benedict, K., Jackson, B. R., Chiller, T., & Beer, K. D. (2019). Estimation of Direct Healthcare Costs of Fungal Diseases in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 68(11), 1791-1797. 10.1093/cid/ciy776

Bizerra, F. C., Jimenez-Ortigosa, C., Souza, A. C. R., Breda, G. L., Queiroz-Telles, F., Perlin, D. S., & Colombo, A. L. (2014). Breakthrough Candidemia due to Multidrug-resistant *Candida glabrata* during Prophylaxis with a Low Dose of Micafungin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(4), 2438-2440. 10.1128/AAC.02189-13

Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R. O., & Denning, D. W. (2017). Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. *Journal of Fungi (Basel)*, 3(4), 57. 10.3390/jof3040057

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), 189. 10.1128/mSphere.00189-16

Böttcher, B., Pöllath, C., Staib, P., Hube, B., & Brunke, S. (2016). *Candida* Species Rewired Hyphae Developmental Programs for Chlamydospore Formation. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1697. 10.3389/fmicb.2016.01697

Bravo Ruiz, G., Ross, Z. K., Gow, N. A. R., & Lorenz, A. (2020). Pseudohyphal Growth of the Emerging Pathogen *Candida auris* Is Triggered by Genotoxic Stress through the S Phase Checkpoint. *mSphere*, 5(2), 151. 10.1128/mSphere.00151-20

Brown, G.D., Denning, D.W., Gow, N.A.R., Levitz, S.M., Netea, M.G., White, T.C. (2012) Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Science Translational Medicine* 2012;4:1–9. doi: 10.1126/scitranslmed.3004404.

Caceres, D. H., Forsberg, K., Welsh, R. M., Sexton, D. J., Lockhart, S. R., Jackson, B. R., & Chiller, T. (2019). *Candida auris* : A Review of Recommendations for Detection and Control in Healthcare Settings. *Journal of Fungi (Basel)*, 5(4), 111. 10.3390/jof5040111

Casadevall, A., Kontoyiannis, D. P., & Robert, V. (2021). Environmental *Candida auris* and the Global Warming Emergence Hypothesis. *mBio*, 12(2)10.1128/mBio.00360-21

Cavalheiro, M., & Teixeira, M. C. (2018). *Candida* Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Frontiers in Medicine*, 5, 28. 10.3389/fmed.2018.00028

Cavassin, F. B., Baú-Carneiro, J. L., Vilas-Boas, R. R., & Queiroz-Telles, F. (2021). Sixty years of Amphotericin B: An Overview of the Main Antifungal Agent Used to Treat Invasive Fungal Infections. *Infectious Diseases and Therapy*, 10(1), 115-147. 10.1007/s40121-020-00382-7

CDC. Available online: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html> (accessed on 20 June 2021)

Chen, S. C. A., Marriott, D., Playford, E. G., Nguyen, Q., Ellis, D., Meyer, W., Sorrell, T. C., & Slavin, M. (2009). Candidaemia with Uncommon *Candida* Species: Predisposing Factors, Outcome, Antifungal Susceptibility, and Implications for Management. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(7), 662-669. 10.1111/j.1469-0691.2009.02821.x

Chen, S., Slavin, M., & Sorrell, T. (2011). Echinocandin Antifungal Drugs in Fungal Infections. *Drugs (New York, N.Y.)*, 71(1), 11-41. 10.2165/11585270-000000000-00000

Chitapanarux, I., Wongsrita, S., Sripan, P., Kongsupapsiri, P., Phakoetsuk, P., Chachvarat, S., & Kittidachanan, K. (2021). An Underestimated Pitfall of Oral Candidiasis in Head and Neck Cancer Patients Undergoing Radiotherapy: an Observation Study. *BMC Oral Health*, 21(1), 353. 10.1186/s12903-021-01721-x

Chowdhary, A., Prakash, A., Sharma, C., Kordalewska, M., Kumar, A., Sarma, S., Tarai, B., Singh, A., Upadhyaya, G., Upadhyay, S., Yadav, P., Singh, P. K., Khillan, V., Sachdeva, N., Perlin, D. S., & Meis, J. F. G. M. (2018). A Multicentre Study of Antifungal Susceptibility Patterns among 350 *Candida auris* Isolates (2009-17) in India: Role of the ERG11 and FKS1 Genes in Azole and Echinocandin Resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(4), 891-899. 10.1093/jac/dkx480

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved standard, 3rd ed. M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Cortegiani, A., Misseri, G., Fasciana, T., Giammanco, A., Giarratano, A., & Chowdhary, A. (2018). Epidemiology, Clinical Characteristics, Resistance, and Treatment of Infections by *Candida auris*. *Journal of Intensive Care*, 6(1), 69. 10.1186/s40560-018-0342-4

Csank, C., & Haynes, K. (2000). *Candida glabrata* Displays Pseudohyphal Growth. *FEMS Microbiology Letters*, 189(1), 115-120. 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09216.x

Davies, H. E., Davies, R. J. O., & Davies, C. W. H. (2010). Management of Pleural Infection in Adults: British Thoracic Society Pleural Disease Guideline 2010. *Thorax*, 65(Suppl 2), ii41-ii53. 10.1136/thx.2010.137000

Davis, M. R., Donnelley, M. A., & Thompson, G. R. (2020). Ibrexafungerp: A Novel Oral Glucan Synthase Inhibitor. *Medical Mycology* (Oxford), 58(5), 579-592. 10.1093/mmy/myz083

de la Torre, P., & Reboli, A. C. (2014). Micafungin: an Evidence-based Review of Its Place in Therapy. *Core Evidence*, 9, 27-39. 10.2147/CE.S36304

de S Araújo, Glauber R, Souza, W. d., & Frases, S. (2017). The Hidden Pathogenic Potential of Environmental Fungi. *Future Microbiology*, 12(16), 1533-1540. 10.2217/fmb-2017-0124

Diezmann, S., Cox, C. J., Schönián, G., Vilgalys, R. J., & Mitchell, T. G. (2004). Phylogeny and Evolution of Medical Species of *Candida* and Related Taxa: a Multigenic Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(12), 5624-5635. 10.1128/JCM.42.12.5624-5635.2004

Drusano, G. L. (2004). Antimicrobial pharmacodynamics: Critical Interactions of 'Bug and Drug'. *Nature Reviews. Microbiology*, 2(4), 289-300. 10.1038/nrmicro862

Dudiuk, C., Berrio, I., Leonardelli, F., Morales-Lopez, S., Theill, L., Macedo, D., Yesid-Rodriguez, J., Salcedo, S., Marin, A., Gamarra, S., & Garcia-Effron, G. (2019). Antifungal Activity and Killing Kinetics of Anidulafungin, Caspofungin and Amphotericin B against *Candida auris*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(8), 2295-2302. 10.1093/jac/dkz178

Eschenauer, G., Depestel, D. D., & Carver, P. L. (2007). Comparison of Echinocandin Antifungals. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(1), 71-97. 10.2147/tcrm.2007.3.1.71

Fakhim, H., Vaezi, A., Dannaoui, E., Chowdhary, A., Nasiry, D., Faeli, L., Meis, J. F. G. M., & Badali, H. (2018). Comparative Virulence of *Candida auris* with *Candida haemulonii*, *Candida glabrata* and *Candida albicans* in a Murine Model. *Mycoses*, 61(6), 377-382. 10.1111/myc.12754

Felton, T., Troke, P. F., & Hope, W. W. (2014). Tissue Penetration of Antifungal Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(1), 68-88. 10.1128/CMR.00046-13

Ferreiro, L., Porcel, J. M., & Valdés, L. (2017). Diagnóstico y Manejo de los Trasudados Pleurales. *Archivos de Bronconeumología*, 53(11), 629-636. doi:10.1016/j.arbres.2017.04.018 Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0300289617301461>

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 & Infectious Diseases*, 27(2), 127-131. 10.1007/s10096-007-0411-4

Forgács, L., Borman, A. M., Prépost, E., Tóth, Z., Kardos, G., Kovács, R., Szekely, A., Nagy, F., Kovacs, I., & Majoros, L. (2020). Comparison of In Vivo Pathogenicity of Four *Candida auris* Clades in a Neutropenic Bloodstream Infection Murine Model. *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 1160-1169. 10.1080/22221751.2020.1771218

Gabaldón Estevan, Juan Antonio, 1973, Naranjo Ortiz, M. Á., & Marcet Houben, M. (2016). Evolutionary Genomics of Yeast Pathogens in the *Saccharomycotina*. 10.1093/femsyr/fow064

Galocha, M., Pais, P., Cavalheiro, M., Pereira, D., Viana, R., & Teixeira, M. C. (2019). Divergent Approaches to Virulence in *C. albicans* and *C. glabrata*: Two Sides of the Same Coin. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2345. 10.3390/ijms20092345

Gamaletsou, M. N., Kontoyiannis, D. P., Sipsas, N. V., Moriyama, B., Alexander, E., Roilides, E., Brause, B., & Walsh, T. J. (2012). *Candida* Osteomyelitis: Analysis of 207 Pediatric and Adult Cases (1970–2011). *Clinical Infectious Diseases*, 55(10), 1338-1351. 10.1093/cid/cis660

García-de-Lorenzo, A., Luque, S., Grau, S., Agrifoglio, A., Cachafeiro, L., Herrero, E., Asensio, M. J., Sánchez, S. M., & Roberts, J. A. (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(10), 5914-5921. 10.1128/AAC.00727-16

Garcia-Rubio, R., de Oliveira, H. C., Rivera, J., & Trevijano-Contador, N. (2019). The Fungal Cell Wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2993. 10.3389/fmicb.2019.02993

Garcia-Solache, M. A., & Casadevall, A. (2010). Global Warming Will Bring New Fungal Diseases for Mammals. *mBio*, 1(1)10.1128/mBio.00061-10

Gioia, F., Gomez-Lopez, A., Alvarez, M. E., Gomez-García de la Pedrosa, Elia, Martín-Davila, P., Cuenca-Estrella, M., Moreno, S., & Fortun, J. (2020). Pharmacokinetics of Echinocandins in Suspected *Candida* Peritonitis: A potential Risk for Resistance. *International Journal of Infectious Diseases*, 101, 24-28. 10.1016/j.ijid.2020.09.019

Grau, S., Luque, S., Campillo, N., Samsó, E., Rodríguez, U., García-Bernedo, C. A., Salas, E., Sharma, R., Hope, W. W., & Roberts, J. A. (2015). Plasma and Peritoneal Fluid Population Pharmacokinetics of Micafungin in Post-surgical Patients with Severe Peritonitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(10), 2854-2861. 10.1093/jac/dkv173

Healey, K. R., Paderu, P., Hou, X., Jimenez Ortigosa, C., Bagley, N., Patel, B., Zhao, Y., & Perlin, D. S. (2020). Differential Regulation of Echinocandin Targets Fks1 and Fks2 in *Candida glabrata* by the Post-Transcriptional Regulator Ssd1. *Journal of Fungi (Basel)*, 6(3), 143. 10.3390/jof6030143

Hokken, M. W. J., Zwaan, B. J., Melchers, W. J. G., & Verweij, P. E. (2019). Facilitators of Adaptation and Antifungal Resistance Mechanisms in Clinically Relevant Fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 132, 103254. 10.1016/j.fgb.2019.103254

Hu, S., Zhu, F., Jiang, W., Wang, Y., Quan, Y., Zhang, G., Gu, F., & Yang, Y. (2021). Retrospective Analysis of the Clinical Characteristics of *Candida auris* Infection Worldwide From 2009 to 2020. *Frontiers in Microbiology*, 12, 658329. 10.3389/fmicb.2021.658329

Huang, L., Xia, H. H., & Zhu, S. (2014). Ascitic Fluid Analysis in the Differential Diagnosis of Ascites: Focus on Cirrhotic Ascites. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 2(1), 58-64. 10.14218/JCTH.2013.00010

Jackson, B. R., Chow, N., Forsberg, K., Litvintseva, A. P., Lockhart, S. R., Welsh, R., Vallabhaneni, S., & Chiller, T. (2019). On the Origins of a Species: What Might Explain the Rise of *Candida auris*? *Journal of Fungi (Basel)*, 5(3), 58. 10.3390/jof5030058

Jacobsen, I. D., Brunke, S., Seider, K., Schwarzmüller, T., Firon, A., d'Enfert, C., Kuchler, K., & Hube, B. (2010). *Candida glabrata* Persistence in Mice Does Not Depend on Host Immunosuppression and Is Unaffected by Fungal Amino Acid Auxotrophy. *Infection and Immunity*, 78(3), 1066-1077. 10.1128/IAI.01244-09

Jang, S., Hough, G., & Mueller, B. (2018). Ex vivo Rezafungin Adsorption and Clearance During Continuous Renal Replacement Therapy. *Blood Purification*, 46(3), 214-219. 10.1159/000489212

Jeffery-Smith, A., Taori, S. K., Schelenz, S., Jeffery, K., Johnson, E. M., Borman, A., Manuel, R., & Brown, C. S. (2018). *Candida auris*: a Review of the Literature. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(1)10.1128/CMR.00029-17

Jensen, R. H., Astvad, K. M. T., Silva, L. V., Sanglard, D., Jørgensen, R., Nielsen, K. F., Mathiasen, E. G., Doroudian, G., Perlin, D. S., & Arendrup, M. C. (2015). Stepwise Emergence of Azole, Echinocandin and Amphotericin B Multidrug Resistance *In Vivo* in *Candida albicans* Orchestrated by Multiple Genetic Alterations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(9), 2551-2555. 10.1093/jac/dkv140

- Kardos, T., Saleh, Q., Kovács, R., Gesztelyi, R., Kardos, G., Bozó, A., Tóth, Z., & Majoros, L.** (2017). Postantifungal Effect of Micafungin Against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida africana* in the Presence and Absence of Serum. *The New Microbiologica*, 40(4), 286-288. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28994449>
- Kauffman, C. A., & Carver, P. L.** (2008). Update on Echinocandin Antifungals. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 29(2), 211-219. 10.1055/s-2008-1063859
- Ko, S., Chen, K., Hsueh, P., Luh, K., & Yang, P.** (2000). Fungal Empyema Thoracis. *Chest*, 117(6), 1672-1678. 10.1378/chest.117.6.1672
- Kovács, R., Gesztelyi, R., Perlin, D., Kardos, G., Domán, M., Berényi, R., & Majoros, L.** (2014). Killing Rates for Caspofungin Against *Candida albicans* After Brief and Continuous Caspofungin Exposure in the Presence and Absence of Serum. *Mycopathologia* (1975), 178(3), 197-206. 10.1007/s11046-014-9799-4
- Ku, T. S. N., Walraven, C. J., & Lee, S. A.** (2018). *Candida auris*: Disinfectants and Implications for Infection Control. *Frontiers in Microbiology*, 9, 726. 10.3389/fmicb.2018.00726
- Kullberg, B. J., & Arendrup, M. C.** (2015). Invasive Candidiasis. *The New England Journal of Medicine*, 373(15), 1445-1456. 10.1056/NEJMra1315399
- Lahmer, T., Brandl, A., Rasch, S., Schmid, R. M., & Huber, W.** (2016). Fungal Peritonitis. 10.1371/journal.pone.0158389
- Lamoth, F., & Kontoyiannis, D. P.** (2018). The *Candida auris* Alert: Facts and Perspectives. *The Journal of Infectious Diseases*, 217(4), 516-520. 10.1093/infdis/jix597
- Lepak, A. J., Zhao, M., & Andes, D. R.** (2018). Pharmacodynamic Evaluation of Rezafungin (CD101) against *Candida auris* in the Neutropenic Mouse Invasive Candidiasis Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(11)10.1128/AAC.01572-18

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(8)10.1128/AAC.00791-17

Lewis, R. E., (2011). Current Concepts in Antifungal Pharmacology. *Mayo Clinic Proceedings*, 86(8), 805-817. 10.4065/mcp.2011.0247

Lo, H., Köhler, J. R., DiDomenico, B., Loeberberg, D., Cacciapuoti, A., & Fink, G. R. (1997). Nonfilamentous *C. albicans* Mutants Are Avirulent. *Cell*, 90(5), 939-949. 10.1016/S0092-8674(00)80358-X

Lockhart, S. R., Etienne, K. A., Vallabhaneni, S., Farooqi, J., Chowdhary, A., Govender, N. P., Colombo, A. L., Calvo, B., Cuomo, C. A., Desjardins, C. A., Berkow, E. L., Castanheira, M., Magobo, R. E., Jabeen, K., Asghar, R. J., Meis, J. F. G. M., Jackson, B., Chiller, T., & Litvintseva, A. P. (2017). Simultaneous Emergence of Multidrug-Resistant *Candida auris* on 3 Continents Confirmed by Whole-Genome Sequencing and Epidemiological Analyses. *Clinical Infectious Diseases*, 64(2), 134-140. 10.1093/cid/ciw691

Lockhart, S. R. (2019). *Candida auris* and Multidrug Resistance: Defining the New Normal. *Fungal Genetics and Biology*, 131, 103243. 10.1016/j.fgb.2019.103243

Lortholary, O., Renaudat, C., Sitbon, K., Madec, Y., Denoeud-Ndam, L., Wolff, M., Fontanet, A., Bretagne, S., & Dromer, F. (2014). Worrisome Trends in Incidence and Mortality of Candidemia in Intensive Care Units (Paris area, 2002–2010). *Intensive Care Medicine*, 40(9), 1303-1312. 10.1007/s00134-014-3408-3

Mainas, E., Apostolopoulou, O., Siopi, M., Apostolidi, S., Neroutsos, E., Mirfendereski, H., Marchand, S., Couet, W., Dokoumetzidis, A., Valsami, G., Sambatakou, H., Dimopoulos, G., & Meletiadis, J. (2020). Comparative Pharmacokinetics of the Three Echinocandins in ICU Patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(10), 2969-2976. 10.1093/jac/dkaa26

Majoros, L., & Kardos, G. (2008). Fungicidal Activity of Azole Antifungal Agents. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 7(2), 118-125. 10.2174/187152108783954623

Maki, K., Matsumoto, S., Watabe, E., Iguchi, Y., Tomishima, M., Ohki, H., Yamada, A., Ikeda, F., Tawara, S., & Mutoh, S. (2008). Use of a Serum-based Antifungal Susceptibility Assay to Predict the *In Vivo* Efficacy of Novel Echinocandin Compounds. *Microbiology and Immunology*, 52(8), 383-391. 10.1111/j.1348-0421.2008.00053.x

Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* Pathogenicity Mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119-128. 10.4161/viru.22913

Melo, A. S., Bizerra, F. C., Freymüller, E., Arthington-Skaggs, B. A., & Colombo, A. L. (2011). Biofilm Production and Evaluation of Antifungal Susceptibility Amongst Clinical *Candida* spp. Isolates, including Strains of the *Candida parapsilosis* Complex. *Medical Mycology (Oxford)*, 49(3), 253-262. 10.3109/13693786.2010.530032

Mohamed, A. A., Lu, X., & Mounmin, F. A. (2019). Diagnosis and Treatment of Esophageal Candidiasis: Current Updates. *Canadian Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 3585136-6. 10.1155/2019/3585136

Montravers, P., Mira, J., Gangneux, J., Leroy, O., & Lortholary, O. (2011). A Multicentre Study of Antifungal Strategies and Outcome of *Candida* spp. Peritonitis in Intensive-Care Units. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(7), 1061-1067. 10.1111/j.1469-0691.2010.03360.x

Moyes, D. L., Wilson, D., Richardson, J. P., Mogavero, S., Tang, S. X., Wernecke, J., Höfs, S., Gratacap, R. L., Robbins, J., Runglall, M., Murciano, C., Blagojevic, M., Thavaraj, S., Förster, T. M., Hebecker, B., Kasper, L., Vizcay, G., Iancu, S. I., Kichik, N., . . . Naglik, J. R. (2016). Candidalysin is a Fungal Peptide Toxin Critical for Mucosal Infection. *Nature (London)*, 532(7597), 64-68. 10.1038/nature17625

Mroczyńska, M., & Brillowska-Dąbrowska, A. (2020). Review on Current Status of Echinocandins Use. *Antibiotics (Basel)*, 9(5), 227. 10.3390/antibiotics9050227

Muñoz, J. F., Gade, L., Chow, N. A., Loparev, V. N., Juieng, P., Berkow, E. L., Farrer, R. A., Litvintseva, A. P., & Cuomo, C. A. (2018). Genomic Insights into Multidrug-resistance, Mating and Virulence in *Candida auris* and Related Emerging Species. *Nature Communications*, 9(1), 5346-13. 10.1038/s41467-018-07779-6

Naglik, J. R., Gaffen, S. L., & Hube, B. (2019). Candidalysin: Discovery and Function in *Candida albicans* Infections. *Current Opinion in Microbiology*, 52, 100-109. 10.1016/j.mib.2019.06.002

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(11), 4214-4216. 10.1128/AAC.01589-06

Odds, F. C., Brown, A. J. P., & Gow, N. A. R. (2003). Antifungal Agents: Mechanisms of Action. *Trends in Microbiology* (Regular Ed.), 11(6), 272-279. 10.1016/S0966-842X(03)00117-3

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(6), 2253-2256. 10.1128/AAC.01536-06

Papon, N., Courdavault, V., Clastre, M., & Bennett, R. J. (2013). Emerging and emerged pathogenic *Candida* species: Beyond the *Candida albicans* paradigm. *PLoS Pathogens*, 9(9), e1003550. 10.1371/journal.ppat.1003550

Pappas, P. C., Lionakis, M. S., Arenup, M. C., Ostrosky-Zeichner, L., & Kullberg, B. J. (2018). Invasive Candidiasis. *Nature Reviews. Disease Primers*, 4(1), 18026. 10.1038/nrdp.2018.26

Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D. R., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-Zeichner, L., Reboli, A. C., Schuster, M. G., Vazquez, J. A., Walsh, T. J., Zaoutis, T. E., & Sobel, J. D. (2016). Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 62(4), 1. 10.1093/cid/civ933

Pappas, P. G., Rotstein, C. M. F., Betts, R. F., Nucci, M., Talwar, D., De Waele, J. J., Vazquez, J. A., Dupont, B. F., Horn, D. L., Ostrosky-Zeichner, L., Reboli, A. C., Suh, B., Digumarti, R., Wu, C., Kovanda, L. L., Arnold, L. J., & Buell, D. N. (2007). Micafungin versus Caspofungin for Treatment of Candidemia and Other Forms of Invasive Candidiasis. *Clinical Infectious Diseases*, 45(7), 883-893. 10.1086/520980

Patil, A., & Majumdar, S. (2017). Echinocandins in Antifungal Pharmacotherapy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(12), 1635-1660. 10.1111/jphp.12780

Patterson, T. F., Thompson, 3., George R, Denning, D. W., Fishman, J. A., Hadley, S., Herbrecht, R., Kontoyiannis, D. P., Marr, K. A., Morrison, V. A., Nguyen, M. H., Segal, B. H., Steinbach, W. J., Stevens, D. A., Walsh, T. J., Wingard, J. R., Young, J. H., & Bennett, J. E. (2016). Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 63(4), e1-e60. 10.1093/cid/ciw326

Pea, F., & Lewis, R. E. (2018). Overview of Antifungal Dosing in Invasive Candidiasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(suppl_1), i33-i43. 10.1093/jac/dkx447

Pemán, J., Aguilar, G., Valía, J. C., Salavert, M., Navarro, D., & Zaragoza, R. (2017). Jávea Consensus Guidelines for the Treatment of *Candida* Peritonitis and Other Intra-abdominal Fungal Infections in Non-neutropenic Critically Ill Adult Patients. *Revista Iberoamericana De Micología*, 34(3), 130-142. 10.1016/j.riam.2016.12.001

Perlin, D. S. (2015a). Echinocandin Resistance in *Candida*. *Clinical Infectious Diseases*, 61(suppl_6), S612-S617. 10.1093/cid/civ791

Perlin, D. S. (2015b). Mechanisms of Echinocandin Antifungal Drug Resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), 1-11. 10.1111/nyas.12831

Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 133-163. 10.1128/CMR.00029-06

Pfaller, M. A., Castanheira, M., Diekema, D. J., Messer, S. A., & Jones, R. N. (2011). 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(11), 3800-3804. <http://jcm.asm.org/content/49/11/3800.abstract>

Polke, M., Hube, B., & Jacobsen, I. D. (2015). *Candida* Survival Strategies. *Advances in Applied Microbiology*, 91, 139-235. 10.1016/bs.aambs.2014.12.002

Pound, M. W., Townsend, M. L., Dimondi, V., Wilson, D., & Drew, R. H. (2011). Overview of Treatment Options for Invasive Fungal Infections. *Medical Mycology (Oxford)*, 49(6), 561-580. 10.3109/13693786.2011.560197

Proma, F. H., Shourav, M. K., & Choi, J. (2020). Post-Antibiotic Effect of Ampicillin and Levofloxacin to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Based on Microscopic Imaging Analysis. *Antibiotics (Basel)*, 9(8), 458. 10.3390/antibiotics9080458

Rajendran, R., Sherry, L., Nile, C. J., Sherriff, A., Johnson, E. M., Hanson, M. F., Williams, C., Munro, C. A., Jones, B. J., & Ramage, G. (2016). Biofilm Formation is a Risk Factor for Mortality in Patients with *Candida albicans* Bloodstream Infection—Scotland, 2012–2013. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(1), 87-93. 10.1016/j.cmi.2015.09.018

Rauseo, A. M., Coler-Reilly, A., Larson, L., & Spec, A. (2020). Hope on the Horizon: Novel Fungal Treatments in Development. *Open Forum Infectious Diseases*, 7(2), ofaa016. 10.1093/ofid/ofaa016

Romera, D., Aguilera-Correa, J. J., Gadea, I., Viñuela-Sandoval, L., García-Rodríguez, J., & Esteban, J. (2019). *Candida auris*: a Comparison between Planktonic and Biofilm Susceptibility to Antifungal Drugs. *Journal of Medical Microbiology*, 68(9), 1353-1358. 10.1099/jmm.0.001036

Rueda, C., Cuenca-Estrella, M., & 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(2), 1071-1083.
10.1128/AAC.00946-13

Sardi, J. C. O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M., & Mendes Giannini, M. J. S. (2013). *Candida* species: Current epidemiology, Pathogenicity, Biofilm formation, Natural Antifungal Products and New Therapeutic Options.62(1), 10-24.
10.1099/jmm.0.045054-0

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), 41-44.
10.1111/j.1348-0421.2008.00083.x

Seider, K., Brunke, S., Schild, L., Jablonowski, N., Wilson, D., Majer, O., Barz, D., Haas, A., Kuchler, K., Schaller, M., & Hube, B. (2011). The Facultative Intracellular Pathogen *Candida glabrata* Subverts Macrophage Cytokine Production and Phagolysosome Maturation. *The Journal of Immunology* (1950), 187(6), 3072-3086. 10.4049/jimmunol.1003730

Senger, S. S., Thompson, G. R., Samanta, P., Ahrens, J., Clancy, C. J., & Nguyen, M. H. (2021). *Candida* Empyema Thoracis at Two Academic Medical Centers: New Insights Into Treatment and Outcomes. *Open Forum Infectious Diseases*, 8(4), ofaa656.
10.1093/ofid/ofaa656

Shaw, K. J., & Ibrahim, A. S. (2020). Fosmanogepix: A Review of the First-in-Class Broad Spectrum Agent for the Treatment of Invasive Fungal Infections. *Journal of Fungi (Basel)*, 6(4), 239. 10.3390/jof6040239

Sherry, L., Ramage, G., Kean, R., Borman, A., Johnson, E. M., Richardson, M. D., & Rautemaa-Richardson, R. (2017). Biofilm-Forming Capability of Highly Virulent, Multidrug-Resistant *Candida auris*. *Emerging Infectious Diseases*, 23(2), 328-331.
10.3201/eid2302.161320

Shields, R. K., Nguyen, M. H., Press, E. G., & Clancy, C. J. (2014). Abdominal Candidiasis Is a Hidden Reservoir of Echinocandin Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(12), 7601-7605. 10.1128/AAC.04134-14

Silva, S., Hooper, S. J., Henriques, M., Oliveira, R., Azeredo, J., & Williams, D. W. (2011). The Role of Secreted Aspartyl Proteinases in *Candida tropicalis* Invasion and Damage of Oral Mucosa. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(2), 264-272. 10.1111/j.1469-0691.2010.03248.x

Simon, J., Sun, H., Leong, H. N., Barez, M. Y. C., Huang, P., Talwar, D., Wang, J., Mansor, M., Wahjuprajitno, B., Patel, A., Wittayachanyapong, S., Sany, B. S. M., Lin, S., & Dimopoulos, G. (2013). Echinocandins in Invasive Candidiasis. *Mycoses*, 56(6), 601-609. 10.1111/myc.12085

Singh, D. K., Németh, T., Papp, A., Tóth, R., Lukácsi, S., Heidingsfeld, O., Dostal, J., Vágvölgyi, C., Bajtay, Z., Józsi, M., & Gácsér, A. (2019). Functional Characterization of Secreted Aspartyl Proteases in *Candida parapsilosis*. *mSphere*, 4(4)10.1128/mSphere.00484-19

Sinkó, J., Sulyok, M., & Denning, D. W. (2015). Burden of Serious Fungal Diseases in Hungary. *Mycoses*, 58(S5), 29-33. 10.1111/myc.12385

Soares, E. V. (2011). Flocculation in *Saccharomyces cerevisiae*: a Review. *Journal of Applied Microbiology*, 110(1), 1-18. 10.1111/j.1365-2672.2010.04897.x

Sofjan, A. K., Mitchell, A., Shah, D. N., Nguyen, T., Sim, M., Trojcak, A., Beyda, N. D., & Garey, K. W. (2018). Rezafungin (CD101), a Next-generation Echinocandin: A Systematic Literature Review and Assessment of Possible Place in Therapy. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, 58-64. 10.1016/j.jgar.2018.02.013

Song, J. C., & Stevens, D. A. (2016). Caspofungin: Pharmacodynamics, Pharmacokinetics, Clinical Uses and Treatment Outcomes. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(5), 813-846. 10.3109/1040841X.2015.1068271

Spangler, S. K., Lin, G., Jacobs, M. R., & Appelbaum, P. C. (1998). Postantibiotic Effect and Postantibiotic Sub-MIC Effect of Levofloxacin Compared to Those of Ofloxacin, Ciprofloxacin, Erythromycin, Azithromycin, and Clarithromycin against 20 Pneumococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(5), 1253-1255. 10.1128/AAC.42.5.1253

Spivak, E. S., & Hanson, K. E. (2018). *Candida auris*: an Emerging Fungal Pathogen. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(2)10.1128/JCM.01588-17

Solomon, D. A., Nyerere, A. K., Kanyua, A., & Ngugi, C. W. (2021). Prevalence, Species Distribution and Antifungal Susceptibility Profile of *Candida* Species Isolated from Bloodstream of Critical Care Unit Patients in a Tertiary Care Hospital in Kenya. *Open Journal of Medical Microbiology* (Irvine, CA), 11(1), 32-46. 10.4236/ojmm.2021.111003

Staib, P., & Morschhäuser, J. (1999). Chlamydospore Formation on Staib Agar as a Species-specific Characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses*, 42(9-10), 521-524. 10.1046/j.1439-0507.1999.00516.x

Steinbach, W. J., Lamoth, F., & Juvvadi, P. R. (2015). Potential Microbiological Effects of Higher Dosing of Echinocandins. *Clinical Infectious Diseases*, 61(suppl_6), S669-S677. 10.1093/cid/civ725

Suwunnakorn, S., Wakabayashi, H., Kordalewska, M., Perlin, D. S., & Rustchenko, E. (2018). FKS2 and FKS3 Genes of Opportunistic Human Pathogen *Candida albicans* Influence Echinocandin Susceptibility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(4)10.1128/AAC.02299-17

Szekely, A., Borman, A. M., & 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)10.1128/JCM.02055-18

Tóth, Z., Forgács, L., Kardos, T., Kovács, R., Locke, J. B., Kardos, G., Nagy, F., Borman, A. M., Adnan, A., & Majoros, L. (2020). Relative Frequency of Paradoxical Growth and Trailing Effect with Caspofungin, Micafungin, Anidulafungin, and the Novel Echinocandin Rezafungin against *Candida* Species. *Journal of Fungi* (Basel), 6(3), 136. 10.3390/jof6030136

Tsay, S. V., Mu, Y., Williams, S., Epton, E., Nadle, J., Bamberg, W. M., Barter, D. M., Johnston, H. L., Farley, M. M., Harb, S., Thomas, S., Bonner, L. A., Harrison, L. H., Hollick, R., Marceaux, K., Mody, R. K., Pattee, B., Shrum Davis, S., Phipps, E. C., . . . Vallabhaneni, S. (2020). Burden of Candidemia in the United States, 2017. *Clinical Infectious Diseases*, 71(9), e449-e453. 10.1093/cid/ciaa193

Vergidis, P., Clancy, C. J., Shields, R. K., Park, S. Y., Wildfeuer, B. N., Simmons, R. L., & Nguyen, M. H. (2016). Intra-abdominal Candidiasis: the Importance of Early Source Control and Antifungal Treatment. *PloS One*, 11(4), e0153247. 10.1371/journal.pone.0153247

Vitális, E., Nagy, F., Tóth, Z., Forgács, L., Bozó, A., Kardos, G., Majoros, L., & Kovács, R. (2020). *Candida* Biofilm Production is Associated with Higher Mortality in Patients with Candidaemia. *Mycoses*, 63(4), 352-360. 10.1111/myc.13049

Wahidi, M. M., Willner, D. A., Snyder, L. D., Hardison, J. L., Chia, J. Y., & Palmer, S. M. (2009). Diagnosis and Outcome of Early Pleural Space Infection Following Lung Transplantation. *Chest*, 135(2), 484-491. 10.1378/chest.08-1339

Wasmann, R. E., Muilwijk, E. W., Burger, D. M., Verweij, P. E., Knibbe, C. A., & Bruggemann, R. J. M. (2018). Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Micafungin. *Clinical Pharmacokinetics*, 57(3), 267-286. 10.1007/s40262-017-0578-5

Williams, J., Lanfranco, O. A., Lemos-Ramirez, J., Bhargava, P., Alangaden, G., & Ramesh, M. (2017). Epidemiology, Risk Factors and Outcomes of *Candida* Empyema: A 5-Year Single-Centered Experience. *Open Forum Infectious Diseases*, 4(suppl_1), S88. 10.1093/ofid/ofx163.046

Xiao, M., Fan, X., Hou, X., Chen, S. C., Wang, H., Kong, F., Sun, Z., Chu, Y., & Xu, Y. (2018). Clinical Characteristics of the First Cases of Invasive Candidiasis in China due to Pan-echinocandin-resistant *Candida tropicalis* and *Candida glabrata* Isolates with Delineation of their Resistance Mechanisms. *Infection and Drug Resistance*, 11, 155-161. 10.2147/IDR.S152785

Yamada, N., Kumada, K., Ogura, S., Kishino, S., Mochizuki, N., & Ohno, K. (2011). Distribution of Micafungin in the Tissue Fluids of Patients with Invasive Fungal Infections. *Journal of Infection and Chemotherapy: Official Journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 17(5), 731-734. 10.1007/s10156-011-0240-3

Yapar, N. (2014). Epidemiology and Risk Factors for Invasive Candidiasis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 10, 95-105. 10.2147/TCRM.S40160

Yue, H., Bing, J., Zheng, Q., Zhang, Y., Hu, T., Du, H., Wang, H., & Huang, G. (2018). Filamentation in *Candida auris*, an Emerging Fungal Pathogen of Humans: Passage Through the Mammalian Body Induces a Heritable Phenotypic Switch. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1), 1-13. 10.1038/s41426-018-0187-x

Zhao, Y., Perez, W. B., Jiménez-Ortigosa, C., Hough, G., Locke, J. B., Ong, V., Bartizal, K., & Perlin, D. S. (2016). CD101: a Novel Long-acting Echinocandin. *Cellular Microbiology*, 18(9), 1308-1316. 10.1111/cmi.12640

Zhao, Y., & Perlin, D. S. (2020). Review of the Novel Echinocandin Antifungal Rezafungin: Animal Studies and Clinical Data. *Journal of Fungi (Basel)*, 6(4), 192. 10.3390/jof6040192

Zhao, Y., Prideaux, B., Baistrocchi, S., Sheppard, D. C., & Perlin, D. S. (2019). Beyond Tissue Concentrations: Antifungal Penetration at the Site of Infection. *Medical Mycology (Oxford)*, 57(Supplement_2), S161-S167. 10.1093/mmy/myy067



Nyilvántartási szám: DEENK/228/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tóth Zoltán

Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

MTMT azonosító: 10062962

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Kovács, R. L., **Tóth, Z.**, Locke, J. B., Forgács, L., Kardos, G., Nagy, F., Borman, A. M., Majoros, L.: 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), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9040863>
IF: 4.128 (2020)
2. **Tóth, Z.**, Kardos, T., Kovács, R. L., Kardos, G., Nagy, F., Prépost, E., Barta, Z., Takács, I., Majoros, L.: 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), 905-912, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-018-0302-5>
IF: 2.278

További közlemények

3. Balázs, B., **Tóth, Z.**, Kacsir, I., Sipos, A., Buglyó, P., Somsák, L., Bokor, É., Kardos, G., Bai, P.: Targeting multiresistant Gram-positive bacteria by ruthenium, osmium, iridium and rhodium half-sandwich type complexes with bidentate monosaccharide ligands.
Front. Chem. 10, 1-9, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2022.868234>
IF: 5.221 (2020)





4. Pető, Á., Kósa, D., Haimhoffer, Á., Nemes, D., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vecsernyés, M., Váradi, J., Fenyvesi, F., Frum, A., Gligor, F. G., Vicaș, L. G., Marian, E., Jurca, T., Pallag, A., Muresan, M., **Tóth, Z.**, Bácskay, I.: Topical Dosage Formulation of Lyophilized *Philadelphus coronarius* L. Leaf and Flower: antimicrobial, Antioxidant and Anti-Inflammatory Assessment of the Plant. *Molecules*. 27 (9), 1-18, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27092652>
IF: 4.411 (2020)
5. Nagy, F., **Tóth, Z.**, Nyikos, F., Forgács, L., Jakab, Á., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: In vitro and in vivo interaction of caspofungin with isavuconazole against *Candida auris* planktonic cells and biofilms. *Med. Mycol.* 59 (10), 1015-1023, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myab032>
IF: 4.076 (2020)
6. Balázs, B., Nagy József, B., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Károlyi, S., Turcsányi, I., Bistyák, A., Kálmán, A., Sárközi, R., Kardos, G.: Occurrence of *Escherichia coli* producing extended spectrum [béta]-lactamases in food-producing animals. *Acta Vet. Hung.* 69 (3), 1-5, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2021.00036>
IF: 0.955 (2020)
7. Kovács, R. L., Nagy, F., **Tóth, Z.**, Forgács, L., Tóth, L., Váradi, G., Tóth, G. K., Vadászi, K., Borman, A. M., Majoros, L., Galgóczy, L.: The Neosartorya fischeri Antifungal Protein 2 (NFAP2): a New Potential Weapon against Multidrug-Resistant *Candida auris* Biofilms. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2), 1-14, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22020771>
IF: 5.923 (2020)
8. Balázs, B., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Kovács, R. L., Tóth, H., Nagy József, B., Tóth, Á., Szarka, K., Majoros, L., Kardos, G.: The Role of Uniform Meropenem Usage in *Acinetobacter baumannii* Clone Replacement. *Antibiotics*. 10 (2), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10020127>
IF: 4.639 (2020)
9. 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: 4.389 (2020)





10. Papp, Z., Borman, A. M., Forgács, L., Kovács, R. L., **Tóth, Z.**, Chun-Ju, C., Kardos, G., Juhász, B., Szilvássy, J., Majoros, L.: Unpredictable In Vitro Killing Activity of Amphotericin B against Four Candida auris Clades.
Pathogens. 10 (8), 1-11, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens10080990>
IF: 3.492 (2020)
11. Nagy, M., Szemán-Nagy, G., Kiss, A., Nagy, Z. L., Tálas, L., Rácz, D., Majoros, L., **Tóth, Z.**, Máthéné Szigeti, Z., Pócsi, I., Kéki, S.: Antifungal Activity of an Original Amino-Isocyanonaphthalene (ICAN) Compound Family: Promising Broad Spectrum Antifungals.
Molecules. 25 (4), 1-12, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25040903>
IF: 4.411
12. Vitális, E., Nagy, F., **Tóth, Z.**, Forgács, L., Bozó, A., Kardos, G., Majoros, L., Kovács, R. L.: Candida biofilm production is associated with higher mortality in patients with candidaemia.
Mycoses. 63 (4), 352-360, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/myc.13049>
IF: 4.377
13. Nemes, D., Kovács, R. L., Nagy, F., **Tóth, Z.**, Herczegh, P., Borbás, A., Kelemen, V., Pfliegler, V. P., Rebenku, I., Hajdu, P., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Bácskay, I.: Comparative biocompatibility and antimicrobial studies of sorbic acid derivatives.
Eur. J. Pharm. Sci. 143, 1-9, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105162>
IF: 4.384
14. Forgács, L., Borman, A. M., Prépost, E., **Tóth, Z.**, Kardos, G., Kovács, R. L., Székely, A., Nagy, F., Kovács, I., Majoros, L.: Comparison of in vivo pathogenicity of four Candida auris clades in a neutropenic bloodstream infection murine model.
Emerg. Microbes Infect. 9 (1), 1160-1169, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2020.1771218>
IF: 7.163
15. Nagy, F., Vitális, E., Jakab, Á., Borman, A. M., Forgács, L., **Tóth, Z.**, Majoros, L., Kovács, R. L.: In vitro and in vivo effect of exogenous farnesol exposure against Candida auris.
Front. Microbiol. 11, 1-12, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.00957>
IF: 5.64





16. **Tóth, Z.**, Forgács, L., Kardos, T., Kovács, R. L., Locke, J. B., Kardos, G., Nagy, F., Borman, A. M., Adnan, A., Majoros, L.: Relative Frequency of Paradoxical Growth and Trailing Effect with Caspofungin, Micafungin, Anidulafungin, and the Novel Echinocandin Rezafungin against *Candida* Species.
J. Fungi. 6 (3), 1-9, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jof6030136>
IF: 5.816
17. Prépost, E., **Tóth, Z.**, Perlin, D., Gesztelyi, R., Kardos, G., Kovács, R. L., Nagy, F., Forgács, L., Majoros, L.: 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*.
Infect Drug Resist. 12, 1805-1814, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/IDR.S198764>
IF: 2.984
18. Nagy, F., **Tóth, Z.**, Daróczy, L., Székely, A., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: Farnesol increases the activity of echinocandins against *Candida auris* biofilms.
Med. Mycol. 2019, 1-4, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myz057>
IF: 2.822
19. Nagy, F., **Tóth, Z.**, Bozó, A., Czeglédi, A., Rebenku, I., Majoros, L., Kovács, R. L.: Fluconazole is not inferior than caspofungin, micafungin or amphotericin B in the presence of 50% human serum against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* biofilms.
Med. Mycol. 57 (5), 573-581, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myy108>
IF: 2.822
20. **Tóth, Z.**, Forgács, L., Locke, J. B., Kardos, G., Nagy, F., Kovács, R. L., Székely, A., Borman, A. M., Majoros, L.: In vitro activity of rezafungin against common and rare *Candida* species and *Saccharomyces cerevisiae*.
J. Antimicrob. Chemother. 74 (12), 3505-3510, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkz390>
IF: 5.439
21. Jakab, Á., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Nemes, D., Bácskay, I., Kardos, G., Emri, T., Pócsi, I., Majoros, L., Kovács, R. L.: Physiological and transcriptional response of *Candida parapsilosis* to exogenous tyrosol.
Appl. Environ. Microbiol. 85 (20), e01388-e01419, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01388-19>
IF: 4.016





22. Kovács, R. L., Nagy, F., **Tóth, Z.**, Bozó, A., Balázs, B., Majoros, L.: Synergistic effect of nikkomycin Z with caspofungin and micafungin against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* biofilms.
Lett. Appl. Microbiol. 69 (4), 271-278, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/lam.13204>
IF: 2.173
23. Nagy, F., Bozó, A., **Tóth, Z.**, Daróczy, L., Majoros, L., Kovács, R. L.: In vitro antifungal susceptibility patterns of planktonic and sessile *Candida kefyr* clinical isolates.
Med. Mycol. 56 (4), 493-500, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myx062>
IF: 2.851
24. Kardos, T., Kovács, R. L., Kardos, G., Varga, I., Bozó, A., **Tóth, 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.
J. Chemother. 30 (4), 233-239, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/1120009X.2018.1487150>
IF: 1.599
25. Kovács, R. L., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Daróczy, L., Bozó, A., Majoros, L.: Activity of exogenous tyrosol in combination with caspofungin and micafungin against *Candida parapsilosis* sessile cells.
J. Appl. Microbiol. 122 (6), 1529-1536, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.13452>
IF: 2.16
26. Kovács, R. L., Saleh, Q., Bozó, A., **Tóth, Z.**, Gesztelyi, R., Kardos, T., Kardos, G., Takács, 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), 979-987, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-017-0178-9>
IF: 1.476
27. Kardos, T., Saleh, Q., Kovács, R. L., Gesztelyi, R., Kardos, G., Bozó, A., **Tóth, Z.**, Majoros, L.: Postantifungal effect of micafungin against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida africana* in the presence and absence of serum.
New Microbiol. 40 (4), 286-288, 2017.
IF: 1.412





28. Kovács, R. L., Bozó, A., Gesztelyi, R., Domán, M., Kardos, G., Nagy, F., **Tóth, Z.**, Majoros, L.:
Effect of caspofungin and micafungin in combination with farnesol against *Candida*
parapsilosis biofilms.
Int. J. Antimicrob. Agents. 47 (4), 304-310, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.01.007>
IF: 4.307

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 105,364

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
6,406**

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

Debrecen, 2022.04.28.



XI. Tárgyszavak - Keywords

echinocandinok, *Candida*, *C. auris*, *in vitro* farmakodinámia, humán szérum

echinocandins, *Candida*, *C. auris*, *in vitro* pharmacodynamics, human serum

XII. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindenekelőtt témavezetőmnek, Dr. Kovács Renátó egyetemi adjunktusnak a szakmai segítségéért és támogatásáért, melyet a kísérletek és a disszertációm megírása során nyújtott.

Külön köszönettel tartozom Dr. Majoros László egyetemi docensnek, korábbi témavezetőmnek amiért mindig számíthattam rá és kérdéseimmel mindig fordulhattam hozzá.

Köszönöm Prof. Dr. Kónya József intézetigazgatónak, hogy PhD tanulmányaimat az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben végezhettem el.

Hálával tartozom Dr. Szarka Krisztina és Dr. Kardos Gábor egyetemi docenseknek, hogy felkeltették az érdeklődésem az orvosi mikrobiológia tudománya iránt és hasznos tanácsaikkal támogatták szakmai fejlődésem.

Köszönöm Balázs Bencének, Dr. Nagy Fruzsínának és Forgács Lajosnak a segítségüket, melyet a munkám elvégzése során nyújtottak, mindemellett hálás vagyok a jó társaságért.

Szeretném megköszönni Dr. Domán Marianna és Dr. Bozó Aliz egykori PhD hallgatóknak metodikai iránymutatásaikat, Dr. Csoma Eszter egyetemi adjunktusnak pedig pályázati és szakmai kérdésekben adott segítségét.

Továbbá szeretném megköszönni a segítségét az Orvosi Mikrobiológia Intézet valamennyi korábbi és jelenlegi dolgozójának, akik hozzájárultak a kutatómunkám elvégzéséhez az elmúlt években.

Köszönöm az Emberi Erőforrások Minisztériuma, valamint az Innovációs és Technológiai Minisztérium által meghirdetett Új Nemzeti Kiválóság Programnak (ÚNKP-18-3, ÚNKP-19-3, ÚNKP-21-4), illetve az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 „Az orvos-, egészségtudományi-és gyógyszerészképzés tudományos műhelyeinek fejlesztése” projektnek a kutató munkám kivitelezéséhez nyújtott támogatásukat.

Végül szeretném megköszönni családomnak a rengeteg támogatást és türelmet, amivel hozzájárultak PhD tanulmányaim sikeres elvégzéséhez.

XIII. Függelék