

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

A gombaeredetű quorum sensing molekulák hatásának vizsgálata *Candida auris* esetében

Balla Noémi

Témavezető: Dr. Kovács Renátó



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen

2026

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	6
2. Irodalmi áttekintés	9
2.1. Az invazív candidiasis általános jellemzői	9
2.2. A Candida fajok epidemiológiája	11
2.3. A Candida auris általános jellemzése	14
2.4. A Candida auris rezisztenciája és a hozzá társuló terápiás problémák	16
2.5. Quorum sensing	18
2.5.1. Farnesol	19
2.5.2. Tyrosol	22
3. Célkitűzések	24
4. Anyagok és módszerek	25
4.1. A Candida auris izolátum eredete és tenyésztési körülményei	25
4.2. A Candida auris növekedésének vizsgálata	25
4.3. Mikroszkópos vizsgálat a farnesol expozíciót követően	26
4.4. RNS izolálás	26
4.5. Teljes transzkriptom analízis (RNS-seq)	27
4.6. Reverz transzkriptáz-quantitatív polimeráz láncreakciós (RT-qPCR) vizsgálatok	28
4.7. Génontológiai analízis	29
4.8. A Candida auris sejtek mikroelem-tartalmának vizsgálata farnesol és tyrosol expozíciót követően	30
4.9. Oxidatív stresszhez köthető paraméterek mérése	31
5. Eredmények	33
5.1. A quorum sensing molekulák hatása a Candida auris növekedésére	33
5.2. Transzkriptomikai elemzés farnesol- és tyrosol-kezelés hatására	35
5.3. A farnesol és tyrosol-expozíció hogyan befolyásolja a Candida auris sejtek oxidatív stressz folyamatait és fémion-tartalmát	40
6. Diskusszió	43
7. Új megállapítások	50
8. Összefoglalás	51
9. Summary	52
10. Irodalomjegyzék	53
11. Tárgyszavak- Keywords	66
11.1. Magyar tárgyszavak	66
11.2. English keywords	66

<u>12.</u>	<u>Köszönetnyilvánítás</u>	<u>67</u>
<u>13.</u>	<u>Függelék</u>	<u>68</u>
<u>13.1</u>	<u>Mellékletek.....</u>	<u>68</u>
<u>13.2</u>	<u>A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények.....</u>	<u>72</u>

Rövidítések jegyzéke

CDC: Centers for Disease Control and Prevention - Járványügyi és Betegségmegelőzési Központ

CFU: Colony Forming Unit - telepképző egység

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute - Klinikai és Laboratóriumi Standardok Intézete

CVC: Central Venous Catheter - központi vénás katéter

DCF: 2',7'-diklór-fluoreszcein

DCM: Dry cell mass - száraz sejttömeg

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control - Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ

ECMM: European Confederation of Medical Mycology - Orvosi Mikológiai Európai Konföderáció

EPS: Extracelluláris Poliszacharid

FICI: Fractional Inhibitory Concentration Index - gátló koncentráció-hányad index

FPP: Farnezil-pirofoszfát

ICP-OES: Induktívan csatolt plazma optikai emissziós spektrometria

ICU: Intensive Care Unit - intenzív terápiás osztály

MIC: Minimum Inhibitory Concentration - minimális gátló koncentráció

OD: Optikai denzitás

PCA: Principal Component Analysis - főkomponens-analízis

PCR: Polymerase Chain Reaction - polimeráz láncreakció

QSM: Quorum sensing molekulák

QS: Quorum sensing

RIN: RNS integritási szám

RT-qPCR: Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction - reverz transzkripciót követő kvantitatív polimeráz láncreakció

ROS: Reactive Oxygen Species - reaktív oxigénformák

RNS-Seq: RNS-szekvenálás

SNP: Single Nucleotide Polymorphism - egy pontos nukleotid-polimorfizmus

SOD: Szuperoxid dizmutáz

WHO: World Health Organization - Egészségügyi Világszervezet

YPD: Yeast Extract Peptone Dextrose táptalaj

1. Bevezetés

A gombák az eukarióta élővilág egy változatos csoportját alkotják, amelynek fajgazdagsága a mai napig csak részlegesen feltárt. Becslések szerint világszerte 2,2–3,8 millió gombafaj létezhet, ugyanakkor ezek közül mindössze mintegy 300 olyan fajt írtak le, amely képes humán megbetegedést okozni (Hawksworth és mtsai. 2017). A klinikailag releváns gombakórokozók közül kiemelt jelentőséggel bírnak az opportunistá élesztőgombák, különösen a *Candida* nemzetség tagjai, amelyek a humán gombafertőzések egyik leggyakoribb etiológiai ágensei (Pendleton és mtsai. 2017).

Az invazív gombafertőzések jelentősége az elmúlt évtizedekben folyamatosan növekedett, ami paradox módon részben a modern orvoslás következménye. Az immunszuppresszív terápiák, a szervtranszplantáció, a hematológiai malignitások kezelése, az intenzív osztályos ellátás terjedése, valamint az invazív eszközök (például centrális vénás katéterek) széles körű alkalmazása egyaránt növeli a fogékony betegpopuláció arányát. Ezzel párhuzamosan világszerte emelkedett az antifungális rezisztenciával összefüggő esetek száma is. Az antifungális szerek széles körű és sokszor hosszan tartó alkalmazása - nemcsak humán gyógyászatban, hanem a mezőgazdaságban és állatgyógyászatban is - szelekciós nyomást gyakorol a környezetben és a gazdaszervezetben jelen lévő gombapopulációkra, elősegítve a rezisztens törzsek kiszelektálódását és terjedését (Wiederhold és mtsai. 2017). A rezisztencia terjedése különösen súlyos következményekkel jár az invazív candidiasisok esetében, mivel a késlekedő vagy nem megfelelő terápia a mortalitás emelkedésével, a kórházi tartózkodás meghosszabbodásával és az egészségügyi költségek növekedésével társul (Wiederhold és mtsai. 2017). A gombák klinikai jelentőségét tovább fokozza, hogy a globális felmelegedés és az antropogén környezeti hatások olyan új, korábban ritkán észlelt vagy aluldiagnosztizált kórokozók megjelenésével hozhatók összefüggésbe, amelyek gyakran csökkent antifungális érzékenységet és/vagy több gyógyszercsoporttal szembeni rezisztenciát mutatnak (Lockhart és mtsai. 2023). Az utóbbi években a klinikai gyakorlatban egyre nagyobb figyelmet kaptak az olyan kórokozók, mint a *Candida auris*, az azol rezisztens *Aspergillus* fajok vagy a *Lomentospora prolificans*, amelyek új járványügyi és terápiás kihívásokat okoznak a klinikumban (Friedman és mtsai. 2019). Érdemes kiemelni, hogy a *C. auris* nemcsak multirezisztenciája miatt jelent fenyegetést, hanem azért is, mert kivételesen jól adaptálódik a kórházi környezethez, hosszú ideig perzisztál a felületeken, és nozokomiális járványok kialakítására képes (Lockhart és mtsai. 2023).

A gombák patogenitásának egyik alapvető eleme a fenotípusos és morfológiai plaszticitás. Számos faj képes élesztő formából fonalas vagy pszeudohifás formába történő átalakulásra, amely gyakran együtt

jár a biofilmképződéssel. A morfológiai váltás és a biofilmek kialakulása a virulencia meghatározó komponensei. Elősegítik a gazdaszövetek kolonizációját és invázióját, növelik a környezeti stressztűrést, és számottevően hozzájárulnak az antifungális szerekkel szembeni rezisztenciához (De Barros és mtsai. 2020).

A biofilmhez kötődő fertőzések különösen nehezen kezelhetők, mivel a biofilm extracelluláris mátrixa csökkenti a gyógyszerek penetrációját, a sejtek metabolikus heterogenitása pedig mérsékli a célpontot jelentő biológiai folyamatok sérülékenységét. Ennek következtében a klinikai gyakorlatban gyakran szükségessé válik az invazív eszközök eltávolítása, kombinációs kezelések alkalmazása, illetve a terápiás stratégia akár innovatív módosítása (Ramage és mtsai. 2006; Massey és mtsai. 2023).

Mindezen tényezők rámutatnak arra, hogy az invazív candidiasisok és az újonnan megjelenő multirezisztens *Candida* fajok elleni küzdelemben a jelenlegi terápiás repertoár korlátai egyre nyilvánvalóbbá válnak. Bár az elmúlt években több ígéretes fejlesztés indult, a gombaellenes gyógyszerek száma továbbra is korlátozott, és a hatásmechanizmusok diverzitása elmarad a bakteriális infekciók kezelésében megszokott lehetőségektől. A legígéretesebb új antifungális szerek közé sorolható az ibrexafungerp, a rezafungin, új típusú itraconazol molekula, valamint a VT-1161, amelyek részben új farmakológiai tulajdonságokkal, részben kedvezőbb alkalmazhatósággal és egyes esetekben szélesebb hatásspektrummal rendelkezhetnek (Massey és mtsai. 2023). Ezzel párhuzamosan vizsgálat tárgyát képezik alternatív terápiás megközelítések is, beleértve a meglévő antifungális szerek nagy dózisú alkalmazását, az antifungális lock terápiát, illetve különböző kombinációs stratégiákat, amelyek célja a szinergizmus kihasználása és a biofilmekhez köthető rezisztencia csökkentése (Li és mtsai. 2020; Ramage és mtsai. 2012).

A rezisztencia és a biofilmhez köthető perzisztencia klinikai jelentősége indokoltá teszi olyan új szemléletű beavatkozások vizsgálatát is, amelyek nem kizárólag a gombasejtek növekedésének gátlását célozzák, hanem a virulenciafaktorok modulálásán keresztül csökkentik a kórokozó megbetegítő képességét. Ebbe a koncepcióba illeszkedik a quorum sensing jelátvitel, valamint a gombaeredetű quorum sensing molekulák (pl.: farnesol, tyrosol) vizsgálata, amelyek több *Candida* fajban képesek befolyásolni a morfogenezist, a biofilmképződést és bizonyos körülmények között az antifungális szerekkel szembeni válaszkészséget. A szuprafiziológiás koncentrációban alkalmazott quorum sensing molekulák potenciálisan hozzájárulhatnak a biofilm-asszociált infekciók kezelésének fejlesztéséhez, különösen olyan kórokozók esetében, amelyeknél a jelenlegi első vonalbeli terápiák hatékonysága korlátozott vagy gyors rezisztenciakialakulás veszélye áll fenn (Kovács és mtsai. 2020).

Összességében az invazív candidiasisok növekvő terhe, a non-*albicans* fajok előretörése, a multirezisztens kórokozók (különösen a *C. auris*) terjedése, valamint a biofilmhez kapcsolódó terápiás nehézségek együttesen indokolják új antifungális stratégiák és alternatív, virulenciát célzó

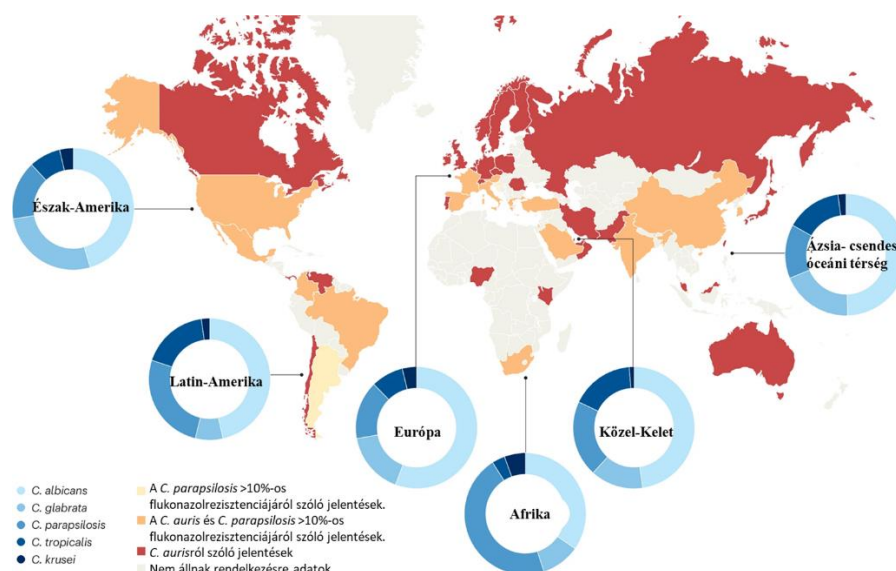
megközelítések részletes vizsgálatát. Jelen disszertáció ennek megfelelően a *C. auris* alternatív terápiás sajátosságaira, valamint a quorum sensing rendszer és a kapcsolódó molekulák (farnesol és a tyrosol) antifungális potenciáljára fókuszál, kiemelve ezen tényezők lehetséges szerepét a jövőbeni terápiás innovációkban.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az invazív candidiasis általános jellemzői

A gombák az eukarióták heterogén csoportját alkotják, és a Föld egyik legelterjedtebb élőlénycsoportjai közé tartoznak. Az orvosi gyakorlatban a legegyszerűbb és legpraktikusabb felosztásuk az élesztőgombák (pl. *Candida* fajok) és a penészgombák (pl. *Aspergillus* fajok) elkülönítésén alapul. A *Candida* fajok jellemzően sarjadzó morfológiájú élesztőgombák, amelyek enyhébb és súlyosabb megbetegedéseket egyaránt okozhatnak (Lass-Flörl és mtsai. 2024). Az invazív candidiasis a *Candida* fajok által okozott mélyszöveti vagy disszeminált fertőzések összefoglaló elnevezése, amely bármely szervet érinthet, és többnyire immunszupresszált betegekben fordul elő (Pappas és mtsai. 2018). Az invazív candidiasis legsúlyosabb formája a *Candida* okozta véráramfertőzés, azaz a candidemia. Ezek a szisztémás infekciók különösen gyakoriak intenzív terápiás osztályon kezelt vagy immunhiányos betegek körében, ahol a *Candida* fajok a nozokomiális véráramfertőzések akár 10%-áért is felelősek lehetnek (Buetti és mtsai. 2022).

A recens epidemiológiai adatok alapján a *C. albicans* továbbra is a leggyakoribb faj, ugyanakkor világszerte növekszik a különböző non-*albicans* fajok által okozott invazív fertőzések aránya. Különösen aggasztó a több gyógyszercsoporttal szemben is rezisztenciát mutató fajok - például *C. parapsilosis*, *C. glabrata* és *C. auris* - előretörése (1. ábra). Az invazív candidiasis előfordulását és prevalenciáját számos tényező befolyásolja, többek között a földrajzi régió, az adott ország egészségügyi rendszerének sajátosságai, a betegek demográfiai jellemzői és a környezeti tényezők (Pfaller és mtsai. 2020). Az invazív candidiasis diagnosztikája és kezelése jelentős kihívást jelent, mivel a hagyományos diagnosztikai módszerek nem mindig rendelkeznek kellően magas érzékenységgel és/vagy specificitással (Lass-Flörl és mtsai. 2024).



1. ábra *A Candida* fajok eloszlásának földrajzi változékonysága és azoknak az országoknak a felsorolása, amelyek a legnagyobb aggodalomra okot adó fajokat (*C. auris*, flukonazol rezisztens *C. parapsilosis*) jelentették (Lass-Flörl és mtsai. 2024).

Az egyes *Candida* fajok fertőzőképességét számos virulenciafaktor támogatja (pl. szekretált aszpartil-proteinázok, lipázok), amelyek lehetővé teszik a belső szervek fertőzését, az inváziót és a disszeminációt (Talapko és mtsai. 2021). A virulenciafaktorok és a gazdaszervezet immunválasza együttesen súlyos szervi elégtelenséget válthatnak ki. Neutropénia esetén a *Candida* sejtek könnyebben terjedhetnek a szervezetben, ugyanakkor a fertőzés későbbi szakaszában a túlzott neutrofil granulocytá felhalmozódás jelentős szövetkárosodást idézhet elő, amely nem elsősorban a kórokozó közvetlen hatásából, hanem a túlzott immunválaszból ered (Jae-Chen és mtsai. 2015). Az invazív candidiasis klinikai spektrumának megértése kulcsfontosságú a megfelelő diagnosztikai és terápiás megközelítések kialakításához. A diagnózis felállítása jelentős kihívást jelent, mivel gyakran hiányoznak a specifikus tünetek, különösen akkor, ha az invazív infekció háttérében nem azonosítható egyértelmű fertőzési forrás (Pappas és mtsai. 2018). Ez a bizonytalanság különösen újszülöttek esetében jelent problémát, akiknél a tünetek (pl. remegés, csökkent aktivitás, testhőmérséklet-ingadozás és légzési nehézség) nem specifikusak (Kilpatrick és mtsai. 2022). A gyors és célzott diagnózis továbbra is komoly kihívást jelent, részben azért, mert a klinikai tünetek nem jellegzetesek, másrészt pedig azért, mert a *Candida* fajok az emberi mikrobiom normál részét képezhetik. Ez megnehezíti annak megkülönböztetését, hogy kolonizáló, ártalmatlan jelenlétről vagy valódi kórokozóról van-e szó (Lass-Flörl és mtsai. 2024). Emellett a hagyományos diagnosztikai módszerek gyakran alacsony érzékenységgűek és időigényesek, ami késleltetheti a célzott terápia megkezdését (Giacobbe és mtsai. 2022).

Az invazív candidiasis különösen súlyos következményekkel járhat egészségügyi intézményekben, ahol a halálozási arány elérheti a 30–40%-ot. A túlélők gyakran súlyos állapotból gyógyulnak fel, és hosszú távú szövődeményekkel szembesülhetnek, például elhúzódó felépüléssel, szervkárosodással (pl. vese- vagy májelégtelenség), valamint a disszeminált fertőzés következtében kialakuló endocarditisszel (Mazi és mtsai. 2022). Ezek a maradványtünetek jelentősen rontják az életminőséget (Fukazawa és mtsai. 2019). A túlélés javítása érdekében elengedhetetlen a hatékony antifungális stewardship, az egyénre szabott profilaxis, a célzott kezelés, valamint a rezisztencia alakulásának folyamatos nyomon követése. Fontos, hogy az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által javasolt alapvető intézkedések az elkövetkező évek prioritásává váljanak (WHO, 2022). A *Candida* fajok epidemiológiájának mélyebb megértése kulcsfontosságú a kezelés és a járványkontroll szempontjából. Emellett figyelembe kell venni, hogy az egyes országok sajátos kihívásokkal néznek szembe a *Candida* infekciók kezelése terén. A helyi epidemiológiai jellemzők, az alapbetegségek megoszlása és gyakorisága (pl. HIV/AIDS), az egészségügyi rendszer struktúrája, valamint a rendelkezésre álló diagnosztikai és terápiás lehetőségek jelentős hatással lehetnek ezen infekciók kimenetelére (Chakrabarti és mtsai. 2023).

2.2. A *Candida* fajok epidemiológiája

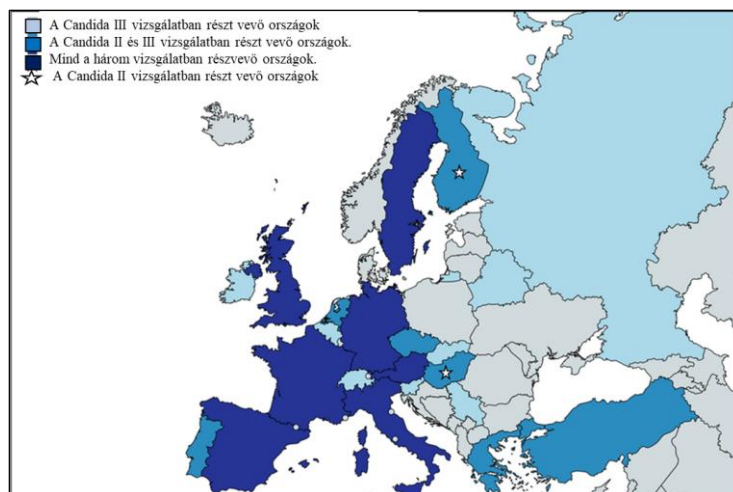
Az invazív gombafertőzések előfordulása az elmúlt évtizedekben jelentősen növekedett, és a *Candida* fajok továbbra is az invazív, nozokomiális gombafertőzések vezető kórokozói közé tartoznak (Pappas és mtsai. 2018). A candidaemia az intenzív osztályon kezelt betegek körében a negyedik leggyakoribb véráramfertőzés, amely egyaránt érinti a férfi és női betegeket; világszerte évente mintegy 700 000 esetet azonosítanak (Denning, 2024).

Az irodalmi adatok alapján legalább 15–20 különböző *Candida* faj ismert, amely képes humán fertőzést okozni, azonban az invazív fertőzések túlnyomó többségéért mindössze 5–6 faj felelős: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* és *C. auris*. Az egyes fajok elterjedése és prevalenciája függ a földrajzi régiótól, a betegpopuláció jellemzőitől és a klinikai környezettől is (Hoog és mtsai. 2023; Pappas és mtsai. 2018).

Külön figyelmet érdemel a 2009-ben Japánban leírt *C. auris* megjelenése, amely azóta világszerte elterjedt, és a kórházi környezet egyik kritikus jelentőségű kórokozójává vált. Eddig több mint 40 országban dokumentáltak *C. auris* okozta fertőzéseket, amelyekhez 30–60%-os halálozási arány társulhat (Fisher és mtsai. 2023). Különösen aggasztó az echinocandin-rezisztens *C. auris* törzsek számának növekedése, mivel az echinocandinok jelenleg első

vonalbeli terápiás szernek számítanak az invazív *Candida* fertőzések, köztük a *C. auris* okozta infekciók kezelésében (Lyman és mtsai. 2023).

A *Candida* fertőzésekre való fogékonyságot számos tényező növelheti, többek között a diabetes mellitus, az előrehaladott életkor, az elhúzódó antibiotikum-terápia, a hemodialízis, a centrális vénás katéter (CVC) jelenléte, az immunszuppresszív kezelés, az invazív beavatkozások, a hosszan tartó kórházi kezelés vagy intenzív osztályos ellátás, a gépi lélegeztetés, a parenterális táplálás, a transzplantáció és a kemoterápia (Lass-Flörl és mtsai. 2024). Az invazív candidiasis epidemiológiájának, rezisztenciaviszonyainak és klinikai jellemzőinek vizsgálatára az Európai Orvosi Mikológiai Társaság (ECMM) eddig három páneurópai, multicentrikus tanulmányt végzett 1997 és 2022 között (Hoenigl és mtsai. 2023) (2. ábra).



2. ábra Az Európai Orvosi Mikológiai Társaság (ECMM) három *Candida* vizsgálatában részt vevő európai országok (Wolfgruber és mtsai. 2024).

Az első vizsgálat célja a candidaemia nyugat-európai epidemiológiai és mikológiai profiljának frissítése volt; a tanulmányban hét ország – Ausztria, Németország, Franciaország, Olaszország, Spanyolország, Svédország és az Egyesült Királyság – vett részt. A második vizsgálat az invazív *Candida*-fertőzések intenzív osztályos sebészeti betegekre gyakorolt hatását elemezte, immár 14 európai ország részvételével. A harmadik, legfrissebb vizsgálat 64 intézményből származó, 20 európai ország adatait dolgozta fel, tenyésztéssel igazolt candidaemiás esetek alapján. A tanulmány kiemelten vizsgálta az irányelvetartás és a klinikai kimenetek kapcsolatát, továbbá az epidemiológiai jellemzőket, a predisponáló tényezőket, az antifungális érzékenységet, az alkalmazott kezeléseket és a kórlefolyást (Wolfgruber és mtsai. 2024).

Az adatok alapján az elmúlt évtizedekben eltolódás figyelhető meg a *C. albicans* dominanciájától a non-*albicans Candida* fajok irányába. A *C. albicans* aránya a három ECMM vizsgálat során folyamatosan csökkent: az első vizsgálatban 56,4%, a Candida II-ben 54%, míg a Candida III-ban már csak 46% volt (Hoenigl és mtsai., 2023). Bár a *C. albicans* továbbra is a leggyakrabban izolált faj, az elmúlt években, különösen hematológiai malignitásban szenvedő betegeknél, egyre gyakoribbá vált a non-*albicans* fajok izolálása, ami ezeknek a speciesek a növekvő klinikai jelentőségére utal (Castanheira és mtsai. 2016).

Mindhárom ECMM vizsgálat magas halálozási arányokat mutatott, különösen az idősebb, daganatos és intenzív osztályon kezelt betegek körében. A non-*albicans* fajok gyakoribb előfordulása, a *C. auris* terjedése, valamint a rezisztencia növekedése komoly fenyegetést jelenthet a jövőbeni candidaemiás esetek szempontjából (Hoenigl és mtsai. 2023).

Az ECMM a jövőben is folytatja az invazív *Candida* fertőzések nyomon követését. A készülő, Candida IV elnevezésű multicentrikus vizsgálat már globális fókuszú lesz, és kizárólag a non-*albicans Candida* fajok által okozott candidaemiás eseteket elemzi. A világ különböző kórházaiból gyűjtött adatok alapján a kutatás célja az antifungális rezisztencia és tolerancia, valamint ezek klinikai kimenetelekre gyakorolt hatásának feltárása. A vizsgálat az új antifungális szerek in vitro érzékenységi vizsgálatait is magában foglalja, és várhatóan mintegy 2000 beteget von be a 2024. április 1. és 2025. szeptember 30. közötti megfigyelési időszakban (Wolfgruber és mtsai. 2024).

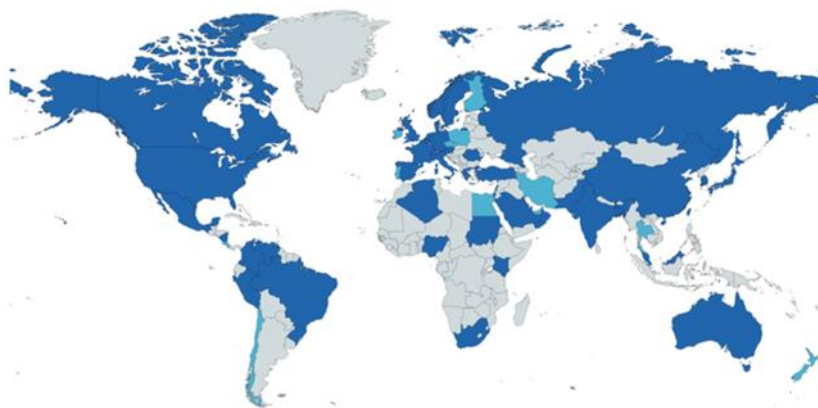
Az 1997 és 2022 között lefolytatott három ECMM-vizsgálat jelentős betekintést nyújtott az invazív *Candida*-fertőzések epidemiológiájába. Az eredmények rámutattak a fajeloszlás változó mintázataira, az antifungális rezisztencia aggasztó növekedésére és az ezekhez társuló magas halálozási arányokra (Hoenigl és mtsai. 2023). A rezisztenciaarányok emelkedése egyértelművé teszi új, hatékonyabb antifungális szerek fejlesztésének szükségességét.

A fokozódó rezisztencia mellett egyre gyakrabban jelennek meg újonnan felbukkanó fajok, például a *C. auris*, amely a feltételezések szerint a klímaváltozás és az emelkedő környezeti hőmérséklet következtében adaptív előnyre tehetett szert (Rhodes és mtsai. 2019). Jelenleg számos új antifungális szer áll klinikai fejlesztés alatt, új hatásmechanizmusokkal és esetenként nagyobb aktivitással a különböző *Candida* fajokkal szemben. Ezek a készítmények hozzájárulhatnak a jelenlegi terápiás korlátok leküzdéséhez, például a tartós kórházi kezelés vagy a gyakori gyógyszeradagolás szükségességének csökkentéséhez (Rhodes és mtsai. 2019). Az újonnan jóváhagyott antifungális szerek (ibrexafungerp, a rezafungin és az oteseconazole) jelentősen bővítik a rendelkezésre álló terápiás lehetőségeket. Emellett ígéretes új

készítmények, például a fosmanogepix is klinikai vizsgálatok alatt állnak (Hoenigl és mtsai. 2021).

2.3. A *Candida auris* általános jellemzése

A *C. auris*-t először 2009-ben izolálták Japánban, egy női beteg hallójáratából (Rhodes és Fisher, 2019). Azóta ez az élesztőfaj a klinikai gyakorlat egyik legaggasztóbb kórokozójává vált, mivel egyedülálló módon képes nagy kiterjedésű kórházi járványokat okozni, és jelentős antifungális rezisztenciát mutat. A klinikai izolátumok több mint 90%-a rezisztens a fluconazzal szemben; a törzsek 15–30%-a amphotericin B-re, míg az izolátumok 2–5%-a echinocandinokra rezisztens (Lockhart és mtsai. 2017). A *C. auris* előfordulását mára valamennyi kontinensen dokumentálták (Du és mtsai., 2020) (3. ábra). Különösen figyelemre méltó, hogy a világ különböző régióiban egymástól genetikailag jól elkülöníthető kládok jelentek meg viszonylag rövid időn belül. Egyes kutatók szerint ez a jelenség összefügghet a globális felmelegedés által kifejtett szelekciós nyomással is (Casadevall és mtsai. 2021).



3. ábra A *Candida auris* globális epidemiológiája 2023 októberéig. A világoskék az egyszeri *C. auris* eseteket jelöli, míg a sötétkék jelölés azt mutatja, ha egy országban több *C. auris* esetet is azonosítottak már. A szürke szín jelöli azokat az országokat, ahol a szakirodalomban nem jelent meg *C. auris* eset. (Silva és mtsai., 2024)

Amint arra a korábbiakban utaltam, a *C. auris* kifejezetten hajlamos nozokomiális járványok kialakítására. Az Egyesült Államokban például a CDC (Centers for Disease Control and Prevention) 1157 igazolt vagy valószínűsíthető fertőzést, valamint több mint 3043 kolonizációs esetet dokumentált (de Jong és mtsai. 2021). A COVID–19-világjárvány idején több dél-amerikai országban is első alkalommal jelentettek *C. auris* járványokat. Fejlettebb országokban a kezdeti, nagyszabású járványokat követően az esetek inkább sporadikusan fordulnak elő, gyakran kisebb klaszterek formájában (Desoubeaux és mtsai. 2021). Ezzel szemben egyes alacsony jövedelmű országokban a *C. auris* által okozott fertőzések az összes *Candida* fertőzés

akár 14%-át is kitehetik, és gyermekek esetében az ötödik leggyakoribb véráramfertőzést okozó gombaként írták le (Shuping és mtsai. 2021).

A teljes genomszekvenáláson alapuló vizsgálatok kimutatták, hogy a *C. auris* izolátumok közötti genetikai eltérések jelentősek. A földrajzi kládokat több ezer egy pontos nukleotid-polimorfizmus (SNP) választja el egymástól. Négy fő kládot azonosítottak – dél-ázsiai, kelet-ázsiai, dél-afrikai és dél-amerikai –, amelyek kládon belül minimális genetikai diverzitást mutatnak. Emellett egy potenciális ötödik, iráni izolátumokat tartalmazó kládot is leírtak, amelyet több mint 200 000 SNP különít el a többi kládtól (Du és mtsai. 2020).

A *C. auris* virulenciáját különböző modellekben vizsgálták: in vitro rendszerekben, in vivo egérmodellekben, gerinctelen állatokkal (pl. *Caenorhabditis elegans* vagy *Galleria mellonella*), valamint ex vivo orális és bőrfelszíni modellekben (Desoubeaux és mtsai. 2021). Több tanulmány is rámutatott arra, hogy a különböző *C. auris* törzsek és kládok virulenciája eltérő lehet. Carvajal és munkatársai több mint 100 izolátumot vizsgáltak a *G. mellonella* modellen, és a mortalitási adatok alapján két csoportot különítettek el, egy erősen patogén és egy mérsékelten patogén csoportot (Carvajal és mtsai. 2021). Abe és munkatársai immunszuppresszált egérmodellben azt találták, hogy a véráramfertőzésekkel szemben a törzsek hatékonyabban kolonizálták a gastrointesztinális traktust, mint a nem invazív, például krónikus otitis mediából származó izolátumok (Abe és mtsai. 2020). Hasonlóan más *Candida* fajokhoz, a *C. auris* is képes pszeudohifák képzésére, fenotípusos átalakulásra, valamint biofilmképzésre mind abiotikus, mind biotikus felszíneken. Ezek a tulajdonságok hozzájárulnak a virulenciához, az antifungális szerekkel szembeni toleranciához és a rezisztenciához, valamint a gazdaszervezetben való perzisztenciához (Sherry és mtsai. 2017). Szinte valamennyi *C. auris* törzs in vitro rezisztens a fluconazzal szemben, és egyes kládok az egyéb azol típusú szerekkel szemben is emelkedett minimális gátló koncentráció (MIC) értékeket mutatnak, gyakran meghaladva a *C. albicans* és *C. glabrata* esetében mért értékeket (CDC, 2020). A rezisztenciaprofil részben kládfüggő. Például a dél-afrikai izolátumok fluconazol- és voriconazol iránti MIC értékei lényegesen magasabbak, mint a dél-ázsiaiaké (Székely és mtsai. 2019). Emellett csökkent érzékenységet tapasztaltak amphotericin B-re és echinocandinokra is, és multirezisztencia is kialakulhat az antifungális terápia során. A közelmúltban javasolt klinikai breakpointok alapján Chowdhary és munkatársai kimutatták, hogy az indiai izolátumok 90%-a fluconazol rezisztens, 8%-a amphotericin B-re, 2%-a echinocandinokra rezisztens, míg 25%-uk multirezisztens (Chowdhary és mtsai. 2019). Ezen adatok alapján az echinocandinokat javasolják első vonalbeli kezelésként invazív *C. auris* fertőzések esetén (CDC, 2020).

Bravo Ruiz és munkatársai kimutatták, hogy a *C. auris* jelentős genomi plaszticitással reagál különböző környezeti stresszorokra, ami indokoltá teszi új terápiás megközelítések kidolgozását (Bravo Ruiz és mtsai. 2019). Az új triazol- és tetrazolszármazékok ígéretes aktivitást mutatnak az azolrezisztens *C. auris* törzsekkel szemben, míg az új echinocandin, a rezafungin, hatékonynak bizonyult mind in vitro, mind állatmodellekben. Emellett az ibrexafungerp és a fosmanogepix szintén hatékonynak bizonyult több szerrel szemben a rezisztens *C. auris* törzsek ellen (Desoubeaux és mtsai., 2021).

2.4. A *Candida auris* rezisztenciája és a hozzá társuló terápiás problémák

Az elmúlt évtizedben a *C. auris* multirezisztens kórokozóként jelent meg, amely elsősorban az intenzív osztályokon okoz kórházi járványokat, és világszerte jelentős közegészségügyi fenyegetést jelent (Sabino és mtsai. 2020). Optimális növekedési hőmérséklete 37–40 °C közé esik, ahol rendszerint kerek vagy ovális alakú élesztősejtként növekszik. Egyes törzsek 42 °C-on is képesek szaporodni, ami megkülönbözteti a *C. auris*-t a *C. albicans*-tól (Bravo Ruiz és mtsai. 2020). Stresszhelyzetekben, replikációs zavar vagy magas nátrium-klorid-koncentráció esetén, a *C. auris* fonalas morfológiájú alakokat is képezhet. Ezek a fenotípusos változások törzsfüggő módon jelentkeznek. A faj egyik meghatározó tulajdonsága a környezeti túlélőképesség. Jól növekszik lúgos közegben, ugyanakkor anaerob környezetben nem képes szaporodni, ami arra utal, hogy nem tekinthető az emberi bélflóra tipikus tagjának (Fernandes és mtsai. 2022). A legtöbb *Candida* fajjal ellentétben a *C. auris* gyakran kolonizálja a bőrt, de kimutatható az orrüregben, sebekben, a húgyutakban és a véráramban is, ami jelentősen megnehezíti a járványok kontrollját (Horton és mtsai. 2020). Hő- és sótűrő képessége hasznos lehet az azonosítás során, ugyanakkor önmagában nem elegendő. A pontos laboratóriumi azonosítás nehézsége az egyik legnagyobb kihívás a megelőzés és a járványkontroll szempontjából (Ruiz-Gaitán és mtsai. 2018). A *C. auris*-t a CDC az egyik legsúlyosabb közegészségügyi fenyegetésként tartja számon, és az ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) is több száz esetet jelentett Európa szerte 2015 és 2017 között (Sabino és mtsai. 2020). Egyes országokban a 2015-ben megkezdett surveillance óta az intenzív osztályos betegek mintegy 20%-ánál igazoltak kolonizációt vagy fertőzést.

A fertőzés különösen súlyos következményekkel járhat, ha a bőrön történő kolonizációt követően orvosi beavatkozás révén a kórokozó a véráramba jut, majd belső szerveket (máj, tüdő, vese, húgyutak) érint. A kórházi környezetben való fennmaradás és a környezeti felszínekről, például betegágyakról, orvosi eszközökről, függönyökről vagy padlóburkolatokról

történő terjedés a fertőzés felszámolását rendkívül megnehezíti (Fernandes és mtsai. 2022). Emellett a *C. auris* több hagyományos fertőtlenítőszerrel szemben is csökkent érzékenységet mutat (pl. alkoholok, kvaterner ammóniumvegyületek), ami további kihívást jelent az egészségügyi intézményekben (Shastri és mtsai. 2020).

Az antifungális rezisztencia elsősorban a gomba genomjában bekövetkező változások következtében alakul ki, amelyek az adott hatóanyaggal szembeni csökkent érzékenységhez és a terápiás kudarc valószínűségének növekedéséhez vezetnek (Arastehfar és mtsai. 2020). Klinikai értelemben rezisztenciáról akkor beszélünk, amikor a megfelelően alkalmazott antifungális kezelés nem eredményez mikrobiológiai vagy klinikai javulást (Parente-Rocha és mtsai., 2017).

A különböző kládok eltérő mutációkat hordoznak: az *FKSI* gén S639P mutációja az echinocandin rezisztenciával, míg az *ERG11* gén Y132F mutációja az azol rezisztenciával hozható összefüggésbe (Chow és mtsai. 2020). A rezisztencia kialakulása összefüggést mutat az antifungális szerek egyre gyakoribb klinikai és mezőgazdasági alkalmazásával. Ruiz-Gaitán és munkatársai kimutatták, hogy a candidaemiás esetek 32%-ában a betegek korábban részesültek profilaktikus vagy terápiás antifungális kezelésben (Ruiz-Gaitán és mtsai. 2018).

A biofilmképzés a *C. auris* egyik legfontosabb virulenciafaktora, amely jelentős védelmet biztosít az antifungális szerekkel szemben. Az extracelluláris polimerekből (EPS) álló mátrix elsősorban β -1,3-glükánt, β -1,6-glükánt, mannánokat és fehérjéket tartalmaz. Ez a polimer diffúziós gátként működik, csökkentve a gyógyszermolekulák penetrációját a biofilm mélyebb rétegeibe. Domínguez és munkatársai igazolták, hogy az EPS lebontása fokozza a biofilmek érzékenységét, megerősítve ennek a struktúrának a kulcsszerepét a rezisztenciában. A biofilmek gyógyszerrezisztenciáját további tényezők is erősítik, például a sejtek lassabb osztódása, a neutrofil granulocyták csökkent aktivitása és az efflux pumpák túltermelődése (Domínguez és mtsai. 2019). Kean és munkatársai transzkripciós elemzése több ABC-transzporter családba tartozó efflux pumpa fokozott expresszióját mutatta ki (Kean és mtsai. 2018).

Az echinocandinok jelenleg elsőként választandó szerek az invazív *C. auris* fertőzések kezelésében, azonban napi intravénás alkalmazásuk korlátozza a hosszú távú terápiát (Santos és mtsai. 2018). Ígéretes új molekula az ibrexafungerp (korábban SCY-078), amely szintén a β -1,3-glükán-bioszintézist gátolja. Számos tanulmány igazolta antifungális hatékonyságát, így potenciális alternatívát jelenthet *C. auris* ellen (Ghannoum és mtsai. 2020). A rezafungin szintén erőteljes kládfüggetlen aktivitást mutatott több izolátummal szemben (Helleberg és mtsai. 2020). Alternatív terápiás stratégiaként az antimikrobiális peptidek is előtérbe kerültek.

A Myr-WRGITKVVKKV (Myr-B) peptid hatásosnak bizonyult planktonikus *C. auris* sejtek és biofilmek ellen is (Bugli és mtsai. 2022). Az emberi eredetű katelicidin LL-37 szintén erős gombaellenes aktivitást mutat, többek között oxidatív stressz indukciója és a sejtintegritás megbontása révén (Rather és mtsai. 2022). A nanorészecskék szintén ígéretes terápiás megközelítést jelentenek. Az ezüst–réz–kobalt (Ag–Cu–Co) trimetallikus nanorészecskék alacsony koncentrációban is hatékonyak voltak *C. auris*-szal szemben, sejtalkárosodást és reaktív oxigénradikál-képződést indukálva (Kamli és mtsai. 2021).

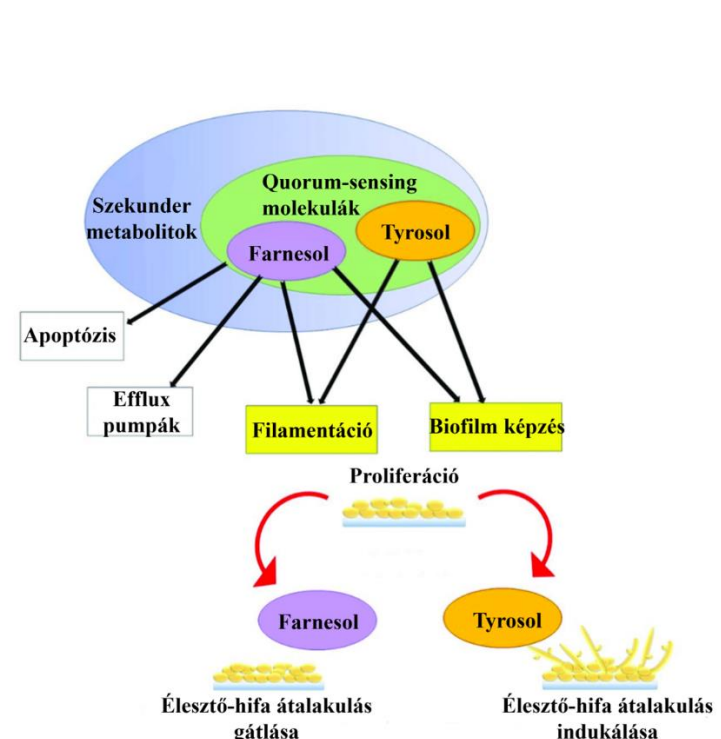
2.5. Quorum sensing

A különböző mikrobák az evolúció során számos, sejtek közötti kommunikációs mechanizmust fejlesztettek ki, amelyek elősegítik a populáció kollektív működését. Ezen kommunikációs stratégiák közül a quorum sensing (QS) alapú folyamatok a legszélesebb körben tanulmányozott formák közé tartoznak. A quorum sensing egy sejtdenzitáson alapuló inger–válasz rendszer, amelyet kis molekulatömegű, hormonszerű jelzőmolekulák, úgynevezett quorum sensing molekulák (QSM-ek) szabályoznak. A mikrobiális populáció növekedése során ezek a molekulák folyamatosan kiválasztódnak és felhalmozódnak a környezetben. Amikor koncentrációjuk elér egy kritikus küszöbértéket, szinkronizált génexpressziót váltanak ki, és összehangolt sejtválaszt indukálnak.

A quorum sensing jelenségét először az 1960-as években írták le baktériumokban. Azóta a bakteriális quorum sensing szabályozását kiterjedten vizsgálták, mivel számos biológiai folyamatban játszik szerepet. Bár a gombák quorum sensing mechanizmusairól lényegesen kevesebb információ áll rendelkezésre, Lingappa és munkatársai már 1969-ben leírtak egy sejtsűrűség-függő filamentációs szabályozást *C. albicans* esetében, amely a gombák quorum sensing szabályozásának első dokumentált példájának tekinthető.

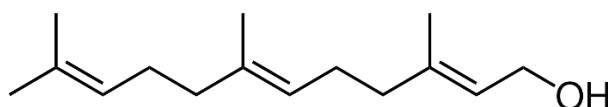
A 2000-es évek elején Hornby és munkatársai azonosították az első, szerkezetileg is jellemzett, gombaeredetű quorum sensing molekulát, a farnesolt, amely kulcsszerepet játszik a gombákra jellemző élesztő-hifa átalakulás szabályozásában (4. ábra). Ezt megelőzően is közöltek megfigyeléseket quorum sensing jelenségekről *Aspergillus* és *Penicillium* fajokban (Kovács és mtsai. 2020). Jelenleg négy fő, gombaeredetű quorum sensing molekulát említenek leggyakrabban: farnesol, tyrosol, feniletanol és tryptophol; ezek a morfogenezis szabályozásában, az apoptózis indukciójában és a virulencia alakulásában is szerepet játszhatnak (Wongsuk és mtsai. 2016).

Az utóbbi években több tanulmány is beszámolt arról, hogy egyes quorum sensing molekulák szuprafiziológias koncentrációban oxidatív stresszt válthatnak ki, ami antifungális hatással társulhat. A quorum sensinghez kapcsolódó vizsgálatok túlnyomó többsége *C. albicans* törzseken történt, így eredményeik nem mindig extrapolálhatók más, non-*albicans* fajokra. Ennek ellenére az utóbbi időben egyre több kutatás foglalkozik a quorum sensing molekulák hatásaival non-*albicans* *Candida* fajokban is, ami hozzájárul ezen vegyületek antifungális potenciáljának pontosabb megértéséhez in vitro és in vivo környezetben egyaránt (Kovács és mtsai. 2020).



4. ábra A külsőleg hozzáadott farnesol és tyrosol szerepe a proliferációs szakaszban, mely a biofilmképződésének egy fontos fázisa (Célia és mtsai. 2020).

2.5.1. Farnesol



5. ábra A farnesol kémiai szerkezete (PubChem).

A farnesol (3,7,11-trimetil-2,6,10-dodekatrien-1-ol) az elsőként leírt gombaeredetű quorum sensing molekula (5. ábra). *C. albicans* esetében a szterol bioszintetikus útvonal melléktermékeként keletkezik, mégpedig a farnezil-pirofoszfát (FPP) defoszforilációja révén.

Az ergoszterol-bioszintézis gátlásakor a farnesol termelése szignifikánsan megnő, mivel az anyagcsere-fluxus megváltozása következtében felhalmozódik az FPP, amely a farnesol közvetlen prekursora (Hornby és mtsai. 2003). Becslések szerint az FPP mintegy 1,6%-a alakul át farnesollá defoszforiláció útján.

E reakciót *Saccharomyces cerevisiae*-ben a Dpp1 és Lpp1 foszfatázok katalizálják. *C. albicans*-ban a Dpp3 homológ enzim tölti be ezt a szerepet; hiánya csökkent farnesol termelést eredményez. Emellett a Dpp1 és Dpp2 szintén hozzájárulhatnak a farnesol szintézishez. Feltételezhető, hogy ezek a foszfatázok redundáns módon működnek, vagy specifikus fiziológiai és környezeti tényezők hatására differenciáltan vesznek részt a farnesol termelésben. A farnesol egyik legismertebb biológiai hatása az élesztő–hifa morfológiai átmenet szabályozása és a biofilmképződés gátlása több *Candida* faj esetében. Ennek megfelelően több központi jelátviteli útvonalat is befolyásol (Lindsay és mtsai. 2012). Közvetlenül gátolja a cAMP-mediált jelátvitelt, ezáltal gátolja a filamentációt, valamint stabilizálja az Nrg1 fehérjét, amely a filamentáció negatív regulátora (Lu és mtsai. 2014).

Bár a farnesolt először *C. albicans*-ban írták le, a molekula más gombafajokban is gátolja a filamentációt és a növekedést, többek között *S. cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *Penicillium expansum*, *Fusarium graminearum* és *Paracoccidioides brasiliensis* esetében is (Kovács és mtsai. 2020). Korábbi vizsgálatok szerint a farnesol szuprafiziológiás koncentrációban (200–300 μM) jelentős oxidatív stresszt indukál, míg fiziológiás koncentrációban (30–40 μM) inkább védőhatást fejthet ki a reaktív oxigén gyökökkel szemben.

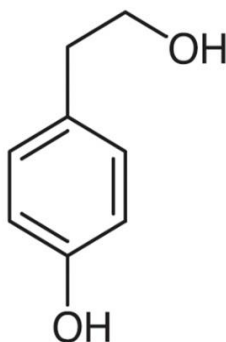
A farnesol emellett immunmodulátor tulajdonságokkal is rendelkezik: serkenti a makrofágok kemokintermelését és aktivációját, fokozza a neutrofil granulociták és monociták működését, valamint befolyásolja a monociták dendritikus sejtekké történő differenciálódását (Polke és mtsai. 2018). Tumorsejtekben sejtnövekedésgátló és apoptózist indukáló hatást is leírtak.

Fiziológiás koncentrációban a farnesol nem gyakorol jelentős hatást a már hifát képző vagy biofilmet kialakító *Candida* sejtekre, ugyanakkor szuprafiziológiás koncentrációban biofilmdegradációt idézhet elő (Mehmood és mtsai. 2019). Több vizsgálat kimutatta, hogy a farnesol csökkentheti a *Candida* sejtek azolrezisztenciáját, amit többek között a Cdr1 efflux pumpa modulációja, a reaktív oxigén gyökök képződésének fokozódása és a glutation homeosztázis változása magyarázhat (Rodrigues és mtsai. 2020). Emellett befolyásolja az ergoszterol bioszintézisben szerepet játszó gének expresszióját is. Dižová és munkatársai *Candida albicans* biofilmekben 200 μM farnesol jelenlétében az ERG20, ERG11 (lanoszterol-14 α -demetilázt kódoló gén), mely az ergoszterol-bioszintézis kulcsenzime és ERG9 (szkvalén-

szintázt kódoló gén) gének csökkent expresszióját mutatták ki (Dižová és mtsai. 2018). Ez a koncentráció szuprafiziológiásnak tekinthető, mivel fiziológiás körülmények között a *C. albicans* által termelt farnesol koncentrációja általában 13,7–58,5 μM tartományba esik, míg a legtöbb non-*albicans* *Candida* faj ennél jóval kisebb mennyiséget (0,4–1 μM) szekretál. Chen és munkatársai szerint a *CYR1* és *PDE2* gének szerepet játszanak az antifungális rezisztenciamechanizmusok szabályozásában *C. albicans* biofilmekben; a farnesol ezen gének expressziójának módosításán keresztül csökkentheti a biofilmek rezisztenciáját (Chen és mtsai. 2018). Kombinációs vizsgálatokban a farnesol szinergista kölcsönhatást mutatott fluconazzal, amphotericin B-vel és micafunginnal *C. albicans* biofilmek esetében (Katragkou és mtsai. 2015). Non-*albicans* *Candida* fajok vonatkozásában Nagy és munkatársai kimutatták, hogy a farnesol in vitro szignifikánsan fokozza az echinocandinok és triazolok hatását *C. auris* biofilmek ellen (Nagy és mtsai. 2020). In vivo modellben napi 75 μM farnesol-kezelés csökkentette a *C. auris* életképes gombasejtek számát immunszuppresszált egerek veséiben, különösen akkor, ha az inokulumot előzetesen farnesol-expozíciónak tették ki. Az antifungális hatás részben a fokozott reaktív oxigéngyök termeléssel és a sejtmembrán integritásának megváltozásával magyarázható, mivel a farnesol amfipatikus molekulaként beépül a membránba (Nagy és mtsai. 2020).

A farnesol antibakteriális hatással is rendelkezik, önmagában és antibiotikumokkal kombinálva egyaránt. Kevert biofilmekben befolyásolja például a *Staphylococcus aureus* antibiotikum választását, valamint csökkenti a staphyloxantin termelést, amely a baktérium fontos virulenciafaktora (Vila és mtsai. 2019).

2.5.2. Tyrosol



6. ábra A tyrosol kémiai szerkezete (PubChem).

A tirozinból származó tyrosol (2-(4-hidroxifenil)-etanol) olyan quorum sensing molekula, amelyet a *C. albicans* többek között tiraminon vagy 4-hidroxifenil-acetaldehiden keresztül szintetizál (Alem és mtsai., 2006) (6. ábra). *C. albicans* tenyészetekben a tyrosol az exponenciális növekedési fázis során folyamatosan felszabadul, és a sejtszám növekedésével arányosan halmozódik fel a tápközegben. A molekula képes lerövidíteni a csíratömlőképződés megindulása előtti adaptációs (lag) fázist, és elősegíti a csíratömlőképződést, különösen olyan környezetben, amely eleve fonalas növekedést indukál (Alem és mtsai., 2006).

A tyrosol befolyásolja a *C. albicans* sejtciklusát, a DNS replikációt és a kromoszómaszegregációt (Chen és mtsai. 2004). Emellett gátolja a neutrofil granulociták oxidatív stresszválaszt, ami hozzájárulhat a gomba immunelkerülő mechanizmusaihoz (Bigagli és mtsai. 2017). A biofilmképződésben is jelentős szerepet játszik: különösen a kialakulás korai, 2-6 óra közötti szakaszában serkenti a hifaképződést, és a biofilmek akár 50%-kal több tyrosolt bocsátanak ki, mint a planktonikus sejtek (Alem és mtsai., 2006).

A non-*albicans* *Candida* fajok közül a tyrosol szerepét *C. auris* esetében is igazolták, ahol elősegíti a biofilmek képződését, valamint lehetővé teszi a növekedést élesztő- vagy pszeudohifa-alakban (Semreen és mtsai., 2019). *C. parapsilosis*-ban RNS-Seq elemzések alapján a tyrosol 261 gén expresszióját fokozta, míg 181 génét csökkentette ($\geq 1,5$ -szeres változás), ugyanakkor nem befolyásolta a kezdeti adhézión folyamatokat. Emellett felülszabályozta az efflux pumpák génjeit, fokozta az oxidatív stresszválaszt, miközben gátolta a növekedést, a riboszómabiogenezist és a virulenciát. Metabolikus szinten a tyrosol hatására az anyagcsere a glikolízis és az etanol-fermentáció irányába tolódott el (Jakab és mtsai. 2019). A tyrosol toxikus hatásait különböző humán sejtvonalakon is vizsgálták: 3–15 mM közötti koncentrációkban citotoxicitást figyeltek meg humán fibroblasztokon (GN61), hámsejteken (S-G), nyálmirigy-karcinóma (HSG1), valamint vastagbél-adenokarcinóma (Caco-2)

sejtvonalakon (Kovács és mtsai. 2020). A tyrosolhoz hasonlóan a farnesol citotoxikus hatását is vizsgálták különböző humán sejtvonalakon. A rendelkezésre álló adatok alapján a farnesol koncentráció- és sejtvonalfüggő módon apoptózist és sejtnövekedés-gátlást indukálhat, ugyanakkor egyes sejtvonalakon még magasabb koncentrációk mellett sem figyeltek meg jelentős toxicitást. Bár kevésbé kutatott, mint a farnesol, néhány tanulmány beszámolt a tyrosol monoterápiás, illetve antifungális szerekkel (pl. amphotericin B, fluconazol, itraconazol) kombinált alkalmazásáról *Candida* fajok ellen (Rodrigues és mtsai. 2020). Arias és munkatársai kimutatták, hogy 100–200 μ M tyrosol jelentősen csökkentette a *C. albicans* és *C. glabrata* kétnapos orális biofilmjeinek metabolikus aktivitását, ami sejtszámcsökkenéssel is járt (Arias és mtsai. 2016). Állatmodellekben is igazolták a tyrosol hatását. Jakab és munkatársai kimutatták, hogy napi 15 mM tyrosol kezelés csökkentette az élő gombasejtek számát immunhiányos egerekben. A hatást az *ALS6* (adhéziós faktor), valamint a *FAD2* és *FAD3* (virulenciával összefüggő) gének csökkent expressziója kísérte. A jelenség hátterében részben az oxidatív stressz fokozódása, a növekedés és a riboszómabiogenezis gátlása, valamint az anyagcsere fermentáció irányába történő eltolódása állhat (Jakab és mtsai. 2019).

A tyrosol iránti tudományos érdeklődés az utóbbi években növekedett, különösen a fogászat területén, ahol potenciális alternatívát jelenthet a *Candida* fajok által okozott szájüregi fertőzések megelőzésében és kezelésében (Costa és mtsai. 2025). A tyrosol és farnesol kombinációja szinergista hatást mutatott *C. glabrata* ellen mind planktonikus, mind szesszilis formában, ami új szájhigiéniai készítmények fejlesztésének lehetőségét veti fel (Monteiro és mtsai. 2017). Ugyanakkor további vizsgálatok szükségesek az orális mikrobiom egyensúlyára gyakorolt hatások tisztázására.

A tyrosolt széles körben alkalmazzák a gyógyszeriparban, mivel számos gyógyszer, táplálékkiegészítő és kozmetikai készítmény fontos összetevője (Song és mtsai. 2024). Jelentős intermedierek például a szalidroزيد, az icariside D2 és a hidroxitirozol szintézisében (Liao és mtsai. 2018; Li és mtsai. 2018). Ipari előállítása három fő módon történhet: növényi kivonással (pl. olívból), kémiai szintézissel, illetve biotechnológiai úton, cukrok mikrobiális átalakításával (Guo és mtsai. 2019). Potenciális quorum sensing gátló és virulenciacsökkentő tulajdonságai miatt ígéretes alternatív antifungális stratégia lehet, bár molekuláris hatásmechanizmusainak teljes feltérképezése még további kutatásokat igényel (Rodrigues és mtsai. 2020; Kovács és mtsai. 2020).

3. Célkitűzések

A jelen munka célja a *C. auris* gombaeredetű quorum sensing molekulákra (farnesolra és a tyrosolra) adott molekuláris és élettani válaszanak átfogó vizsgálata volt. Kutatásunk elsődleges célkitűzése annak feltárása volt, hogy ezen molekulák expozícióját követően milyen globális géntranszkripciós változások következnek be a *C. auris*-ban, és ezek miként járulnak hozzá a megfigyelt antifungális, növekedésgátló és virulenciacsökkentő hatásokhoz.

Fő célok:

- a teljes transzkriptom szintű változások azonosítása farnesol- és tyrosol-expozíciót követően,
- az oxidatív stresszválaszban részt vevő gének és enzimaktivitások elemzése, valamint az intracelluláris mikroelemek (vas, cink, mangán, réz) koncentrációváltozásainak vizsgálata,
- az anyagcsere kulcsútvonalainak – különösen a zsírsav- és ergoszterol-bioszintézis, β -oxidáció, valamint a nukleinsav-szintézis – transzkripciós szintű módosulásainak feltérképezése,
- a virulenciával, adhézióval, biofilmképződéssel és gyógyszer-efflux pumpákkal kapcsolatos gének transzkripciós mintázatának meghatározása

4. Anyagok és módszerek

4.1 A *Candida auris* izolátum eredete és tenyésztési körülményei

Vizsgálatainkhoz a kutatócsoportunk által korábban teljes genomszinten szekvenált *C. auris* izolátumot (NCPF 8973; hozzáférési szám: JANPVY000000000) használtuk, amelyet az Egyesült Királyságban működő bristoli Nemzeti Mikológiai Referencialaboratóriumtól szereztünk be. A törzs a dél-ázsiai/indiai kládba tartozik, és nem aggregálódó fenotípust mutat (Borman és mtsai. 2017). A kísérletek során alkalmazott izolátumot 20% glicerolt tartalmazó folyékony Bouillon tápközegben, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A vizsgálatok megkezdésekor a *Candida* izolátumot YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) táptalajon tenyésztettük és tartottuk fenn (1% élesztőkivonat [Alfa Aesar, USA], 2% mikológiai pepton [Oxoid, Egyesült Királyság], 2% glükóz [VWR International LLC, Magyarország], 2% agar hozzáadásával vagy anélkül, attól függően, hogy szilárd vagy folyékony tápközegről beszélünk; pH 5,6).

4.2 A *Candida auris* növekedésének vizsgálata

A növekedési kísérletekhez a *C. auris* előtenyészeteket standard YPD folyékony tápközegben inkubáltuk $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, 2,3 Hz rázatási frekvencia mellett, 18 órán keresztül. Ezt követően a sejtszuszpenziót YPD-vel 0,1 optikai sűrűségre (OD_{640}) hígítottuk, amely megközelítőleg $2,5 \pm 0,5 \times 10^6$ CFU/ml sejtszámnak felel meg. A tenyészeteket ezt követően $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, 2,3 Hz-es rázás mellett inkubáltuk tovább.

A tyrosol hatásának vizsgálatához a tenyészeteket 4 órás előinkubációt követően 15 mM végkoncentrációjú tyrosollal kezeltük. A felhasznált tyrosolt (2-(4-hidroxifenil)-etanol; Merck, Magyarország) 0,1M koncentrációjú törzsoldatként standard YPD tápközegben oldottuk fel, majd ebből a törzsoldatból kiindulva kalkuláltuk ki a 15 mM-os végkoncentrációval működő kísérleti rendszert. A növekedés változását ezt követően óránként követtük nyomon az OD_{640} és a CFU/ml értékek meghatározásával. Az alkalmazott tyrosol koncentráció biztonságosnak tekinthető, és korábbi vizsgálataink alapján különböző humán sejtvonalak is jól tolerálják (Jakab és mtsai. 2019). A méréseket hat független kísérletben végeztük; az eredményeket átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg. A statisztikai elemzést párosított Student-féle t-próbával végeztük a GraphPad Prism 6.05 szoftver (GraphPad Software, LLC, Boston, USA)

alkalmazásával. A tyrosollal kezelt és a kezeletlen kontrollminták közötti különbségeket $p < 0,05$ esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

A farnesol transzkripciós válasza gyakorolt hatásának vizsgálata során a fenti tenyésztési protokollt alkalmaztuk kisebb módosításokkal. Az előtenyészeteket 5 ml YPD táptalajban inkubáltuk 30 °C-on, 2,3 Hz-es rázás mellett 18 órán keresztül, majd 0,1 OD₆₄₀ értékre hígítottuk, és 37 °C-on inkubáltuk tovább. A 4. órában a tenyészetekhez 75 µM végkoncentrációt beállítva adtunk farnesolt. A farnesolt (Merck, Magyarország) 3M koncentrációjú törzsoldat formájában szereztük be, majd 100%-os metanolban 30mM koncentrációjú munkatörzsoldatra hígítottuk, majd ebből a törzsoldatból kiindulva kalkuláltuk ki a 75µM -os végkoncentrációval működő kísérleti rendszert. A növekedést az OD₆₄₀ és a CFU/ml értékek időbeli változásának meghatározásával követtük nyomon (Nagy és mtsai. 2020). A kísérleteket szintén hat független ismétlésben végeztük; az adatokat átlag ± szórás formájában adtuk meg. A statisztikai kiértékelést itt is párosított Student-féle t-próbával végeztük, és a farnesollal kezelt, illetve kontroll sejtek közötti különbségeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

4.3 Mikroszkópos vizsgálat a farnesol expozíciót követően

A farnesol által indukált morfológiai és életképességbeli változásokat 75 µM koncentráció alkalmazásával vizsgáltuk 0, 4 és 6 órás, 37 °C-on történő inkubációt követően. A 999 µl tenyészethez 1 µl 20mM koncentrációjú propidium-jodidot (Thermo Fisher Scientific, USA) adtunk. A fluoreszcensen festett sejteket további 30 percig inkubáltuk 37 °C-on, majd 10 µl szuszpenziót tárgylemezre vittünk, és Zeiss Axioskop 2 mot fénymikroszkóppal, Zeiss Axiocam HRc kamerával vizsgáltuk. A sejt-morfológia értékelését fáziskontraszt-technikával, míg az életképtelen sejtek arányának meghatározását fluoreszcens mikroszkópiával végeztük. A képek további elemzését és az elhalt sejtek százalékos arányának kiszámítását ImageJ szoftverrel (2.1.0/1.53c verzió; Fiji, ImageJ; Wayne Rasband, National Institutes of Health) végeztük.

4.4 RNS izolálás

A teljes RNS-t kezeletlen kontroll *C. auris* sejtekből, valamint quorum sensing molekulával kezelt tenyészetekből izoláltuk három egymástól független biológiai ismétlésben. A kezelések során a sejtekhez 75 µM végkoncentrációban farnesolt, illetve 15 mM végkoncentrációban

tyrosoltadtunk a kísérleti rendszerünktől függően. A farnesol- és tyrosol expozíciót követően a sejteket a kezelés utáni 2. órában gyűjtöttük be centrifugálással (5 perc, 4 000 g relatív centrifugális erőn, 4 °C-on). A sejteket három alkalommal foszfátpufferes sóoldattal (PBS) mostuk, majd –70 °C-on tároltuk a további feldolgozásig.

Mind a farnesollal, mind a tyrosollal kezelt, illetve a kontroll minták esetében a sejttömeget fagyasztva szárítottuk (CHRIST Alpha 1-2 LDplus liofilizátor, Osterode, Németország). A teljes RNS izolálását TRIzol/TRISOL reagens (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific) alkalmazásával végeztük a Chomczynski (1993) által leírt módszer szerint. A végső RNS-koncentráció és minőség meghatározására a mintákat Agilent BioAnalyzer készüléken elemeztük az Eukaryotic Total RNA Nano kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) alkalmazásával, a gyártó protokollja szerint. A könyvtárkészítési lépésekhez kizárólag azokat a mintákat használtuk fel, amelyek RNS-integritási száma (RIN) meghaladta a 7 értéket.

4.5 Teljes transzkriptom analízis (RNS-seq)

A transzkriptom adatok meghatározásához nagy áteresztőképességű mRNS szekvenálást végeztünk. Az RNS-Seq könyvtárakat teljes RNS-ből készítettük a NEBNext Ultra II RNA Sample Preparation Kit (New England Biolabs, Ipswich, USA) alkalmazásával a gyártó utasításai szerint. A könyvtárkészítést és a szekvenálást a Debreceni Egyetem Genomikai Medicina és Bioinformatikai laboratóriuma végezte. A szekvenálást Illumina NextSeq500 platformon végeztük, 75 bázispár hosszúságú single-end olvasatok generálásával. Mintánként megközelítőleg 18–22 millió read keletkezett. A nyers szekvenálási readeket a *C. auris* referencia genomhoz illesztettük (genome: https://fungi.ensembl.org/_candida_auris_gca_002759435/Info/Index; features: http://www.candidagenome.org/download/gff/C_auris_B8441/archive/C_auris_B8441_version_s01-m01-r11_features_with_chromosome_sequences.gff.gz). Az illesztett read-ek aránya mintánként 90-95% között változott. A normalizált géntranszkripciók értékek meghatározásához a DESeq algoritmust (StrandNGS szoftver) alkalmaztuk. A kezelt (75 µM farnesollal vagy 15 mM tyrosollal) és kezeletlen kontroll minták közötti transzkripciók különbségeket moderált t-próbával hasonlítottuk össze. A többszörös tesztelésből eredő hibák korrigálására a Benjamini–Hochberg-féle hamis felfedezési arány (FDR) módszert alkalmaztuk. A korrigált $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Differenciálisan átíródó génnek azokat a géneket tekintettük, amelyek transzkripciója legalább 1,5-szeres változást mutatott (felülszabályozódás esetén $FC > 1,5$, alulszabályozódás esetén $FC <$

-1,5). A fold change (FC) értékeket a normalizált transzkripciós adatokból számítottuk. Az RNS-Seq vizsgálatokat mindkét kezelés esetében három egymástól független biológiai ismétlésből származó mintákon végeztük.

4.6 Reverz transzkriptáz-kvantitatív polimeráz láncreakció (RT-qPCR) vizsgálatok

Az RNS-Seq eredmények megerősítésére reverz transzkriptáz-kvantitatív polimeráz láncreakció (RT-qPCR) vizsgálatokat végeztünk. A tyrosol-kezelés esetében hat felülszabályzott, öt alulszabályzott, valamint öt, szignifikáns transzkripciós változást nem mutató gént választottunk ki további analízisre. A farnesol-kezelés során öt felülszabályzott, öt alulszabályzott, valamint öt, szignifikáns transzkripciós változást nem mutató génnek transzkripciós változásait validáltuk. A tyrosol-vizsgálat során az RT-qPCR reakciókat Xceed qPCR SG 1-step 2× Mix Lo-ROX kittel (Institute of Applied Biotechnologies, Prague, Czech Republic) végeztük a gyártó utasításai szerint, reakciónként 500 ng DNáz kezelten (Merck, Magyarország) előkészített teljes RNS felhasználásával. A farnesol-vizsgálat esetében a reakciókat Luna Universal One-Step RT-qPCR kittel (New England Biolabs, USA) végeztük a gyártó protokollja alapján, reakciónként szintén 500 ng DNáz-kezelt (Sigma, Budapest, Magyarország) teljes RNS alkalmazásával. Az oligonukleotid primereket az OligoExplorer (version 1.1.) és OligoAnalyzer (version 1.0.2.) szoftverek segítségével terveztük, majd az Integrated DNA Technologies cégtől szereztük be. A tyrosol-kezelés esetében a méréseket LightCycler® 480 II real-time PCR készüléken (Roche, Switzerland), míg a farnesol-kezelés során LightCycler® 96 real-time PCR készüléken (Roche, Switzerland) végeztük. Mindkét vizsgálatban mintánként három párhuzamos technikai ismétlést alkalmaztunk, és az analízisek három független biológiai ismétlésből származó mintákon történtek. A relatív géntranszkripciós szinteket ($\Delta\Delta CP$) az alábbi módon számítottuk ki. $\Delta\Delta CP = \Delta CP_{\text{kezelt minta}} - \Delta CP_{\text{kezeletlen minta}}$, ahol $\Delta CP = CP_{\text{referencia gén}} - CP_{\text{vizsgált gén}}$, és CP az a ciklusszám, amelynél a minta átlépi a PCR termék kimutatását jelző fluoreszcencia küszöböt. A referencia gén az aktint kódoló housekeeping gén az *ACT1* (B9J08_000486) volt (lásd 1 és 2. melléklet). A $\Delta\Delta CP$ értékeket átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg, három egymástól független biológiai ismétlés alapján. A statisztikai különbségeket Student-féle t-próbával értékeltük, és a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. A nullától szignifikánsan eltérő (pozitív vagy negatív) $\Delta\Delta CP$ értékeket differenciális génexpresszióknak tekintettük.

4.7 Génontológiai analízis

A szignifikáns génontológiai (GO) kategóriák azonosítását a Candida Genome Database Gene Ontology Term Finder eszközzel végeztük (<http://www.candidagenome.org/cgi-bin/GO/goTermFinder>), a „function”, „process” és „component” GO-kategóriák felhasználásával. Az értékelés során kizárólag a $p < 0,05$ értékű találatokat vettük figyelembe. A GO-analízisen túl további, funkcionálisan rokon géncsoportokat is létrehoztunk a Candida Genome Database (<http://www.candidagenome.org>) adatainak felhasználásával, illetve irodalmi források alapján. Az egyes géncsoportokba tartozó *C. auris* gének fel- és le-szabályozott génhalmazokban történő dúsulását Fisher-féle egzakt próbával vizsgáltuk ($p < 0,05$). A statisztikai számításokat R platform segítségével végeztük (www.R-project.org/).

(ii) Virulenciával összefüggő gének

A virulenciához kapcsolódó géncsoport a *C. albicans* virulenciájának genetikai szabályozásában szerepet játszó gének alapján került összeállításra (Mayer és mtsai. (2013); Höfs és mtsai. (2016); Araújo és mtsai. (2017)), valamint a korábban publikált génlisták alapján (Jakab és mtsai. 2021). A kategória magában foglalta az adhézióval, biofilmképződéssel, morfogenezissel és stresszválasszal összefüggő géneket.

(ii) Anyagcsereútvonalakhoz kapcsolódó gének

Ebbe a csoportba a szénhidrát-, ergoszterol- és zsírsav-anyagcsere biokémiai útvonalaihoz tartozó gének kerültek besorolásra a Candida Pathway Database alapján: <http://pathway.candidagenome.org/>

(iii) Oxidatív stresszhez és antioxidáns védekezéshez kapcsolódó gének

A kategória tartalmazta a funkcionálisan igazolt vagy feltételezett antioxidáns enzimeket kódoló géneket, beleértve: katalázok (GOID: 4096), szuperoxid-dizmutázok (GOID: 4784), glutation- és glutaredoxin-rendszer (GOID: 6749), tioredoxinok (GOID: 8379 és 51920), peroxidázok (GOID: 4601), valamint az oxidatív stresszválasz szabályozásában részt vevő géneket.

(iv) Vasanyagcseréhez kapcsolódó gének

A vasfelvételben és vas-homeosztázisban szerepet játszó géneket a korábban publikált génlisták (Jakab és mtsai. 2021) felhasználásával állítottuk össze. Ide tartoztak a reduktív vasfelvételi rendszer, sziderofór-transzport és hemoglobin-hasznosítás elemei.

(v) Cink-, mangán- és réz-homeosztázissal kapcsolatos gének

A cink-, mangán- és rézfelvételben, illetve -homeosztázisban szerepet játszó géneket Gerwien és mtsai. (2018), valamint Jakab és mtsai. (2021) munkái alapján gyűjtöttük össze. A kategória tartalmazta a transzportereket, szabályozó faktorokat és a fémion-anyagcsere kulcsenzimjeit.

4.8 A Candida auris sejtek mikroelem-tartalmának vizsgálata farnesol és tyrosol expozíciót követően

A *C. auris* előtenyészeteket a korábban ismertetett módszer szerint tenyésztettük, majd a sejteket különböző körülmények között, tyrosol- vagy farnesol-expozíciót követően 2 órán keresztül inkubáltuk. A sejtek begyűjtése centrifugálással történt (5 perc, 4 000 g, 4 °C-on). Ezt követően a száraz sejttömeget (DCM) fagyasztva szárítással határoztuk meg Jakab és munkatársai módszere alapján (Jakab és mtsai. 2021).

A kapott száraz biomasszából meghatároztuk a sejten belüli vas-, cink-, mangán- és réztartalmat induktívan csatolt plazma optikai emissziós spektrometriával (ICP-OES; 5110 Agilent Technologies, USA). A mérést megelőzően a mintákat légköri nyomáson végzett savas feltárásnak vetettük alá, 3 ml 65%-os salétromsav (HNO₃) és 1 ml 30%-os hidrogén-peroxid (H₂O₂) felhasználásával, steril üvegedényekben.

Az elemzéseket három független biológiai ismételtsben végeztük el. Az eredményeket száraz sejttömeg-alapú egységekben (mg/kg DCM) fejeztük ki, és átlag ± szórás formájában adtuk meg (Jakab és mtsai. 2021). A kezelések hatására bekövetkező fémiontartalom változások statisztikai értékelését Student-féle t-próbával végeztük. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4.9 Oxidatív stresszhez köthető paraméterek mérése

A reaktív oxigénszármazékok (ROS) felszabadulásának és az antioxidáns enzimek aktivitásának meghatározásához az előtenyészeteket YPD folyékony tápközegben 0,1 OD₆₄₀ értékre hígítottuk, majd 37 °C-on 4 órán keresztül inkubáltuk. Ezt követően a tápközeget 15 mM végkoncentrációjú tyrosollal egészítettük ki, és a *C. auris* sejteket a 2 órás tyrosol-kezelés végén centrifugálással gyűjtöttük be (5 perc, 4 000 g relatív centrifugális erő, 4 °C). A reaktív oxigénszármazékok mennyiségi meghatározását tyrosollal kezelt és kezeletlen mintákban egy olyan reakció segítségével végeztük, amely során a 2',7'-diklór-fluoreszcein-diacetát (Merck, Magyarország) 2',7'-diklór-fluoreszceinné (DCF) alakul. A keletkező DCF mennyisége közvetlenül arányos a jelen lévő reaktív oxigénszármazékok koncentrációjával.

A sejtek redukált és oxidált glutationtartalmát (GSH és GSSG) az 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoésav) (DTNB; GR assay) alkalmazásával határoztuk meg Jakab és munkatársai (2015) módszere szerint. Az oxidatív stresszparaméterek közül a szuperoxid-dizmutáz (SOD), a kataláz, a glutation-reduktáz (GR) és a glutation-peroxidáz (GPx) aktivitását szintén a korábban publikált módszer alapján mértük (Jakab és mtsai. 2015).

A reaktív oxigénszármazékok mennyiségét és az enzimek aktivitását három független biológiai ismétlésben határoztuk meg, az eredményeket átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg. A tyrosollal kezelt és kezeletlen minták közötti különbségek statisztikai értékelését párosított Student-féle t-próbával végeztük a GraphPad Prism 6.05 szoftver (GraphPad Software, LLC, USA) alkalmazásával. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Nem önállóan végzett munkák

- A tyrosollal kezelt gombasejtek intracelluláris fém tartalmának a meghatározását ICP-OES technikával végeztük Ragyák Ágotával közösen.
- A farnesollal kezelést követően a *C. auris* sejteken az ICP-OES méréseket közösen végeztük Ragyák Ágotával és Sajtós Zsófiával végeztük.

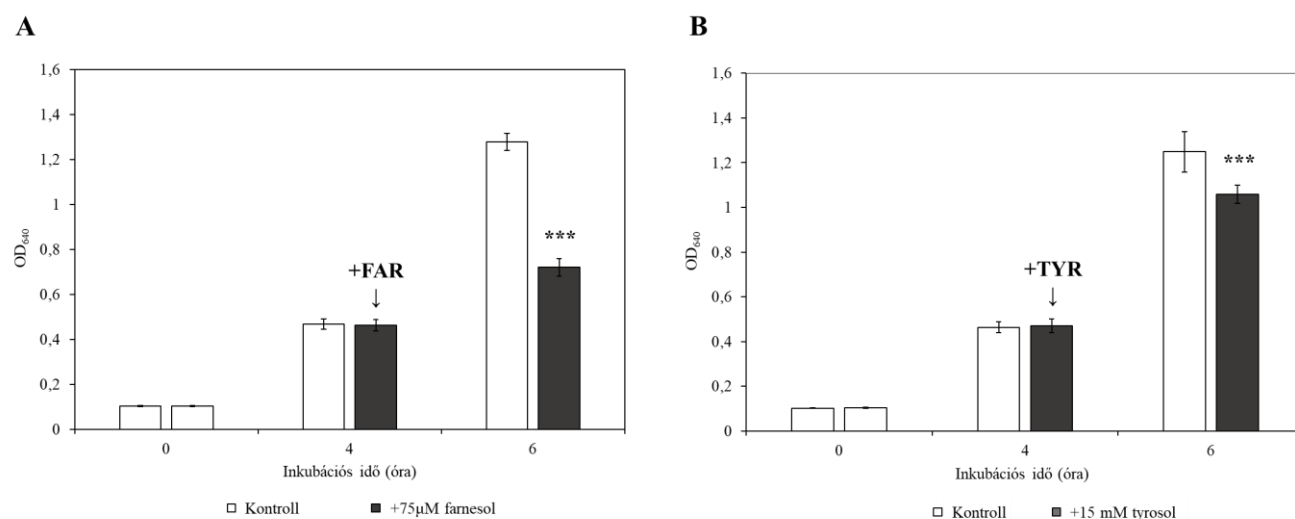
5. Eredmények

5.1 A quorum sensing molekulák hatása a *Candida auris* növekedésére

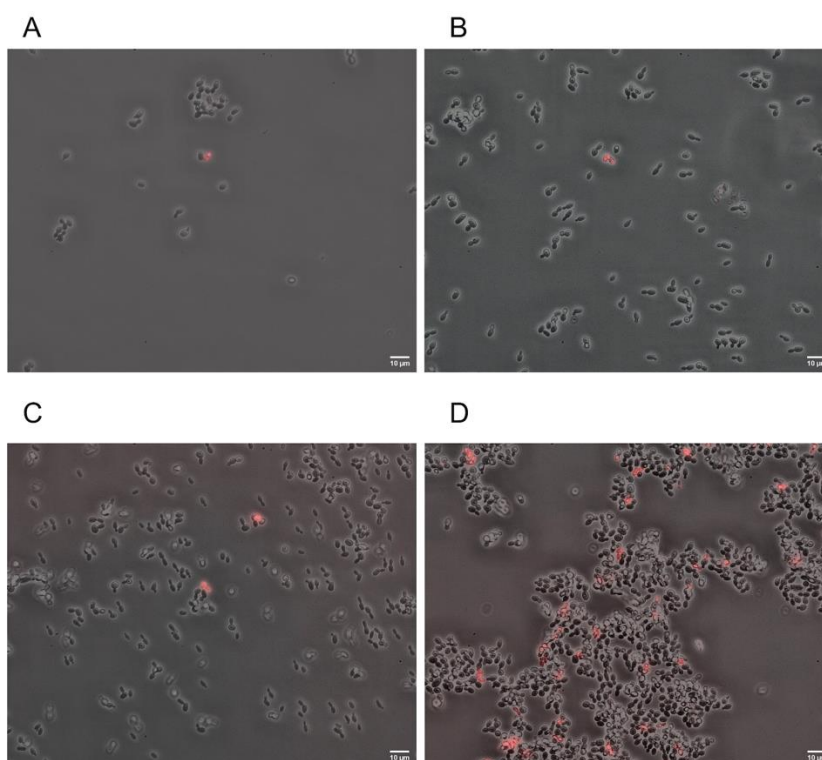
A *Candida auris* sejteinek növekedését és patogénitási tulajdonságait a különböző quorum sensing molekulák, így a farnesol és a tyrosol jelenlétében vizsgáltuk. A farnesollal végzett kísérletekben (75 μ M, YPD táptalaj) az előinkubált sejtekhez történő hozzáadás után markáns növekedésgátlás volt kimutatható, amely már a kezelés utáni 2. órától megjelent. Ezt az abszorbancia értékek (OD_{640}) és a telepkepző egységek száma (CFU) egyaránt megerősítette. A gátló hatás már 2 órán belül szignifikánsan érvényesült, amelyet a CFU szám csökkenése (kontroll: $5,8 \times 10^7 \pm 1,1 \times 10^7$ CFU/ml; farnesollal kezelt sejtek: $1,1 \times 10^7 \pm 0,3 \times 10^7$ CFU/ml; $p < 0,001$), illetve az optikai denzitás mérhető különbsége (kontroll: $1,28 \pm 0,04$; kezelt: $0,72 \pm 0,04$ OD_{640} ; $p < 0,001$) is alátámasztott (7. ábra A). Tizenkét órás inkubáció után a kontroll mintákban $5,5 \pm 0,2$ g/l, míg a farnesollal kezelt sejtekben mindössze $1,3 \pm 0,1$ g/l volt ($p < 0,001$). Az életképtelen sejtek aránya $3,3\% \pm 1,2\%$, $1\% \pm 0\%$, $1,7\% \pm 0,6\%$, illetve $3,6\% \pm 0,6\%$ volt a 0 órás, 4 órás, 6 órás kezeletlen, valamint a 6 órás farnesol kezelt sejtek (2 órás farnesol expozíció) esetében (8. ábra A–D).

A tyrosollal végzett kezelések (15 mM, YPD táptalaj) szintén szignifikáns növekedéscsökkenést eredményeztek már 2 órán belül, amelyet a CFU szám (kontroll: $5,6 \times 10^7 \pm 1,2 \times 10^7$ CFU/ml; kezelt: $2,5 \times 10^7 \pm 0,6 \times 10^7$ CFU/ml; $p < 0,001$) és az abszorbancia adatok (kontroll: $1,25 \pm 0,09$; kezelt: $1,06 \pm 0,04$ OD_{640} ; $p < 0,001$) igazoltak.

Összességében elmondható, hogy míg a farnesol és a tyrosol egyaránt gátolta a *C. auris* növekedését rövid időn belül. A farnesol viszont markánsabb hatást gyakorolt a biomassza-csökkenésre, ami potenciális antifungális jelentőségére utalhat.



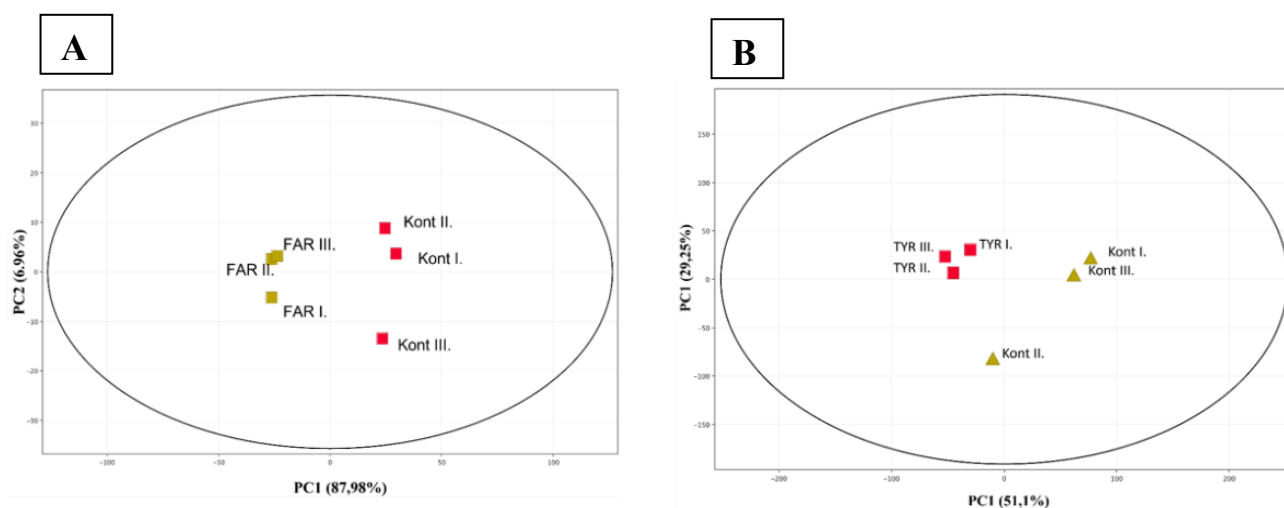
7. ábra A farnesol és a tyrosol hatása a *Candida auris* növekedésére. A növekedést YPD tápközegben az abszorbancia (OD₆₄₀) mérésével követtük. A farnesolt 4 óra inkubáció után 75 µM, a tyrosolt pedig 15 mM végső koncentrációban adtuk hozzá. Az adatok átlag ± szórás (SD) értékeket mutatnak független kísérletekből. A csillaggal jelölt értékek a kontroll és a kezelt kultúrák közötti szignifikáns különbséget jelzik, amelyet páros Student-féle t-próbával határoztuk meg.



8. ábra A kezetlen *Candida auris* sejtek fáziskontraszt- és fluoreszcens mikroszkópos felvételei 0, 4 és 6 órában (A, B, illetve C), valamint a 6. órában a kétórás 75 µM-os farnesol kezelt sejtek képei (D). Az életképtelen sejtek festésére propidium-jodid fluoreszcens festéket alkalmaztunk (piros jel). Skála: 10 µm.

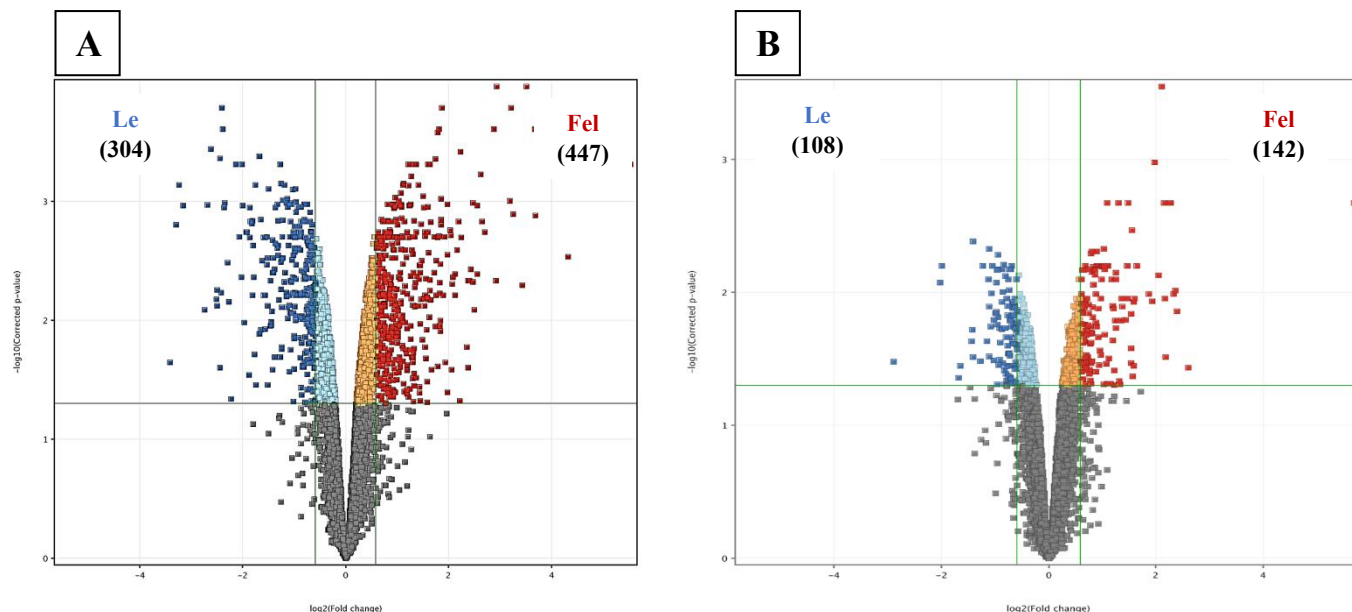
5.2 Transzkriptomikai elemzés farnesol- és tyrosol-kezelés hatására

A *C. auris* farnesol- és tyrosol-kezelésre adott transzkripciós válaszában részletes vizsgálata során a transzkriptomikai elemzést végeztünk, amelyet főkomponens analízissel (PCA) egészítettük ki a minták közötti hasonlóságok vizuális ábrázolása érdekében. A főkomponens-analízis (PCA) egy többváltozós statisztikai módszer, amely lehetővé teszi a minták közötti globális transzkriptomikai különbségek vizualizálását és a kezelési csoportok elkülönülésének értékelését. Az eredmények alapján a farnesollal és tyrosollal kezelt sejtek jól elkülönültek a kezeletlen kontroll mintáktól, miközben az azonos kísérleti feltételekhez tartozó biológiai ismétlések szorosan csoportosultak (9. ábra A és B). Ez azt mutatta, hogy a biológiai ismétlések között magas szintű korreláció áll fenn, ugyanakkor a farnesol-expozíció jelentős transzkriptomikai változásokat idézett elő.



9. ábra Főkomponens elemzés a transzkriptom-adatakon. A szimbólumok a kezeletlen kontrollt és a 75 μ M farnesollal (A) és a 15 mM tyrosollal (B) kezelt tenyészeteket jelölik. Az adatok három független kísérletsorozatból (I–III) származnak. Az A ábrán a farnesol kezelést sárgával (FAR I–III.), a kontrollokat (Kont I–III) jelöltem. A B ábrán a tyrosol kezelést pirossal (TYR I–III), a kontrollokat sárgával (Kont I–III) jelöltem. Az elemzést a StrandNGS szoftver alapértelmezett beállításával végeztük.

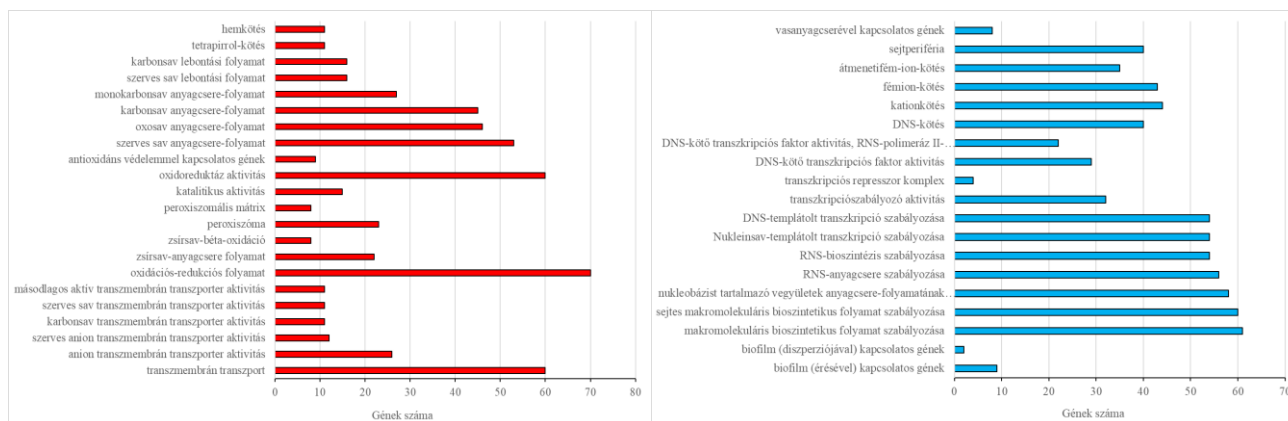
RNS-Seq elemzés során összesen 1766 differenciálisan expresszáldó gén azonosítható a farnesol-kezelés hatására, ebből 447 gén fel-, míg 304 gén leszabályzódott a kontrollhoz képest (10. ábra A). Ezzel szemben a tyrosol kezelés 615 differenciálisan expresszáldó gént eredményezett ezek közül 142 fel-, míg 108 leszabályozott volt (10. ábra B).



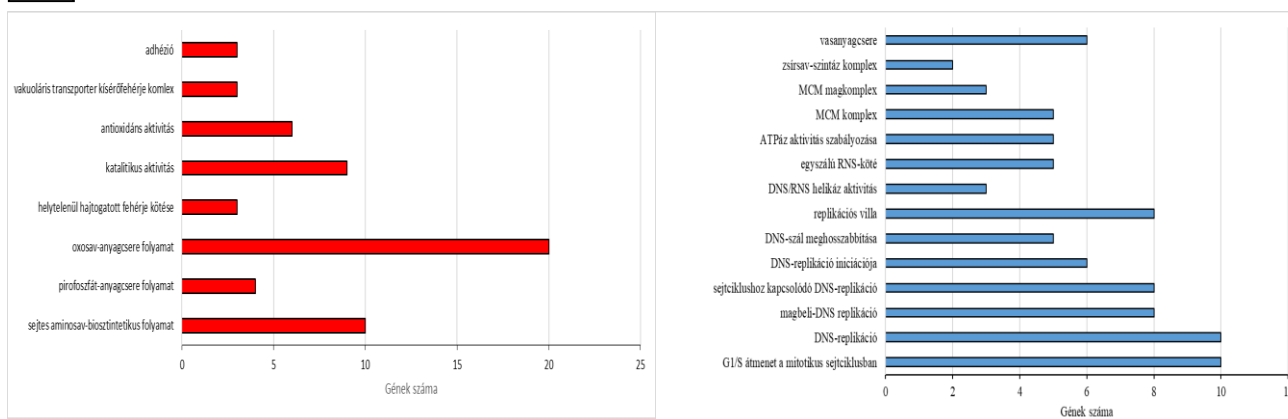
10. ábra A farnesol (A) és tyrosol (B) által indukált transzkripciós változások áttekintése *Candida auris*-ban. A felülszabályzott (piros) és alulszabályzott (kék) géneket differenciálisan expresszált géneknek (DEG) tekintettük (korrigált p -érték $<0,05$), amelyek transzkripciója legalább 1,5-szeres mértékben nőtt vagy csökkent a farnesol kezelt mintákhoz képest a kezeletlenekhez viszonyítva.

A farnesolra érzékeny gének funkcionális csoportosítását GO elemzéssel végeztük. A virulenciához kapcsolódó, leszabályozott géncsoportban csökkent a biofilmérésben (*RBT1*, *HWPI*, *BCR1*, *EFG1*, *DSE1*, *BRG1*, *UME6*, *ZAP1*, *RLM1*) és a biofilm disszperzióban (*NRG1*, *UME6*) szerepet játszó gének, valamint a morfogenezishez kapcsolódó gének (*EFG1*, *HWPI*, *HGC1*, *WAL1*, *VRP1*) transzkripciója. Az *RBT1* és *NRG1* gének alulszabályozódását RT-qPCR vizsgálatokkal is megerősítettük. Az oxidatív stresszhez kapcsolódó, felülszabályzott gének közé tartoztak a *CCP1*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD6*, *GPX1*, *DOT5*, *PRX1* és *AHP1*, továbbá a *HSP21*, *YPD1* és *HOG1*. A kataláz (*CAT1*) fokozott transzkripcióját szintén RT-qPCR-rel igazoltuk (13. ábra A).

A



B



11. ábra Az felül- és alul szabályozódott gének farnesol (A) illetve tyrosol (B) kezelés hatására funkcionális dúsulási elemzését a Candida Genome Database Gene Ontology Term Finder platformja segítségével végeztük el, a funkció és a biológiai folyamat génontológiai (GO) kifejezések alapján. Pirossal a felül szabályozódott gének láthatóak, kékek pedig az alul szabályozódott gének. Az értékelés során kizárólag azokat az eredményeket vettük figyelembe, amelyek szignifikancia értéke kisebb volt, mint 0,05. Emellett az egyes funkcionális géncsoportokhoz tartozó *C. auris* gének dúsulását szintén elemeztük, Fisher-féle egzakt próbával.

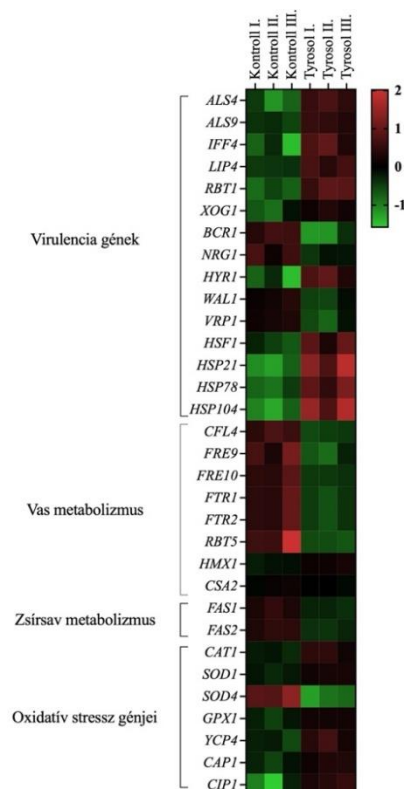
A metabolikus útvonalak elemzése során megállapítottuk, hogy a farnesol gátolta a glükoneogenezis kulcsenzimeit kódoló *PCK1* és *FBP1* gének transzkripcióját, ugyanakkor nem befolyásolta a glikolízis és a citrátkör géneinek átírását. A glioxilátciklus (*ACO2*, *ICL1*, *MDH1-3*) és a zsírsav- β -oxidáció (*POX1*, *ECII*, *FAT1*, *FAA21*, *POT1*) génjei felülszabályozódtak míg az inozitol-1-foszfát-szintáz kódoló *INO1* expressziója csökkent.

Az ionhomeosztázishoz kapcsolódó gének – így a redukzív vassfelvétel elemei (*FRE10*, *FET31*, *SMF12*, *FTR1*), a sziderofortranszportban részt vevő *SIT1*, a hemoglobinhasznosításban szerepet játszó *RBT5*, valamint a mangán- (*SMF1*), réz- (*CRP1*) és cinkmetabolizmushoz (*CSR1*) kötődő gének – a leszabályozott csoportba tartoztak. A *POT1* felregulációját RT-qPCR-rel is megerősítettük (Jakab és mtsai. 2021). A transzmembrán transzporttal összefüggő gének közül farnesol kezelés hatására 60 gén átírása fokozódott, köztük öt feltételezett

gyógyszer transzporter (*MDR1*, *CDR1*, *CDR4*, *HOL3*, *YOR1*), több szénhidrát transzporter (*HGT2*, *HGT17*, *HGT19*, *HXT5*), aminosav transzporterek, valamint foszfát és szulfát transzporterek (*PHO84*, *PHO89*, *GIT1*, *SUL2*) (11. ábra A). A *CDR1*, *MDR1* és *HGT2* felülszabályozódását RT-qPCR vizsgálatok is igazolták (Jakab és mtsai. 2021). A tyrosol kezelés hatására a virulenciával kapcsolatos gének közül felülszabályozódott az adhéziót elősegítő *ALS4*, *ALS9*, *IFF4*, a lipázszekréciót kódoló *LIP4*, a biofilmérésben szerepet játszó *RBT1* és *XOG1*, valamint a morfogenezishez kapcsolódó *HYR1*. Emellett a stresszválaszhoz kötődő *HSF1*, *HSP21*, *HSP78* és *HSP104* transzkripciója is nőtt, míg a *BCR1*, *NRG1*, *WAL1* és *VRP1* gének átírása csökkent.

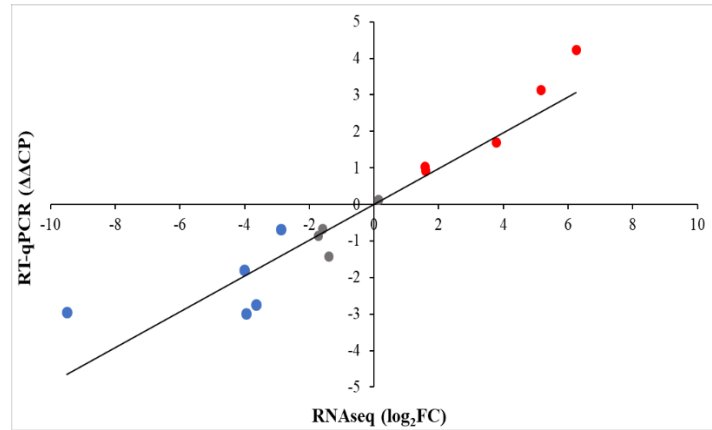
Metabolikus szinten a tyrosol csökkentette a redukzív vasfelvételhez (*CFL4*, *FRE9*, *FRE10*, *FTR1*, *FTR2*), a hemoglobin felhasználáshoz (*RBT5*, *HMX1*, *CSA2*) és a zsírsav bioszintézishez (*FAS1*, *FAS2*) kapcsolódó gének transzkripcióját, miközben a szénhidrát- és ergoszterol metabolizmus génjeit nem befolyásolta. A DNS replikációhoz kapcsolódó gének, valamint az MCM-komplex alegységei csökkent transzkripciót mutattak.

Oxidatív stresszhez kapcsolódóan a katalázt (*CAT1*), a szuperoxid-diszmutázt (*SOD1*), a glutation-peroxidázt (*GPXI*), továbbá a *YCP4*, *CAP1* és *CIP1* géneket felülszabályozottnak találtuk, míg a *SOD4* transzkripciója csökkent (11. ábra B és 12. ábra). E változásokat RT-qPCR vizsgálatok is alátámasztották (13. ábra B).

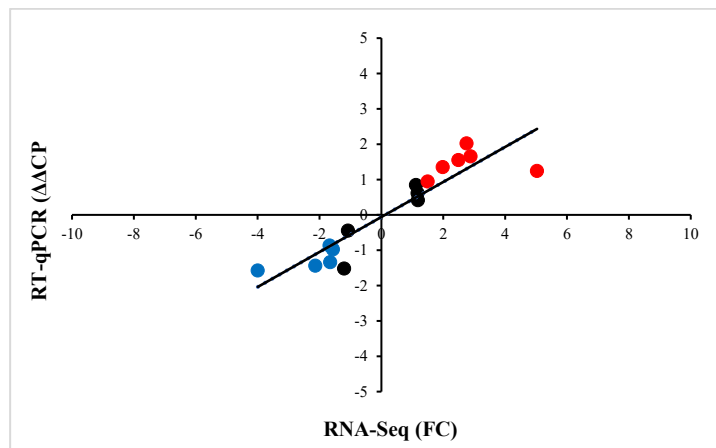


12. ábra A tyrosol hatása a *Candida auris* kiválasztott génjeinek transzkripciójára. A hőtérkép a reprezentatív gének transzkripció profilját mutatja a színskála szerint, amely a géntranszkripció változásait jelzi.

A



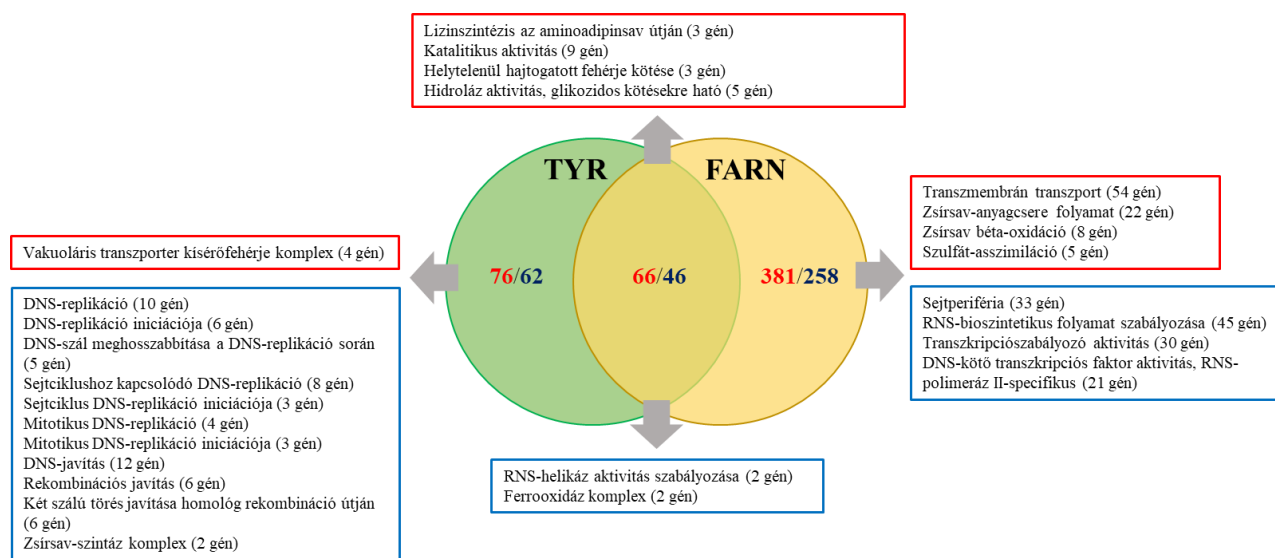
B



13. ábra Az RT-qPCR és a transzkriptom szekvenálás (RNS-seq) eredményeinek az összehasonlítása a farnesol kezelést (A) és a tyrosol kezelést (B) követően. Az RNS-seq adatok FC (fold change = relatív változás) értékeként kerültek bemutatásra. A CP értékek a RT-qPCR során a keresztezési ciklusszámot jelölik. Referenciagénként a B9J08_000486 (*ACT1*- aktint) gént alkalmaztuk (lásd 1. és 2. melléklet). Az ábrán a nullától szignifikánsan eltérő $\Delta\Delta CP$ -értékeket ($p < 0,05$, Student-féle t -próba, $n = 3$) piros, illetve kék színnel jelöltük. A piros pontok a felülszabályozott, míg a kék pontok az alulszabályozott géneket jelölik. A két módszer során kapott eredmények összehasonlítását a Pearson-féle korrelációs együtthatóval végeztük, melynek értékei 0.87-0.94 között voltak.

A farnesol és a tyrosol hatásainak összehasonlítása során megállapítottuk, hogy a farnesol lényegesen kifejezettebb transzkriptomikai változásokat idézett elő. Farnesol kezelés hatására 447 gén felülszabályozódott, míg 304 gén leszabályozódott; ezzel szemben tyrosol kezelés esetén 142 gén transzkripciója nőtt szignifikánsan, míg 108 géné csökkent. Jelentős átfedés

mutatkozott a két kezelés között: 66 gén mutatott közös felülszabályozódást, míg 46 gén leszabályozódott. Érdekes módon több, a DNS replikációhoz kapcsolódó gén kizárólag tyrosol hatására mutatott csökkent transzkripciót, míg a farnesol kifejezetten fokozta a transzmembrán transzportban, a zsírsav anyagcserében, a zsírsav- β -oxidációban és a szulfátasszimilációban részt vevő gének átírását (14. ábra).



14. ábra A farnesol és tyrosol hatásainak transzkriptomikai összehasonlítása

5.3 A farnesol és tyrosol-expozíció hogyan befolyásolja a *Candida auris* sejtek oxidatív stressz folyamatait és fémion-tartalmát.

A farnesol- és tyrosol-expozíció egyaránt jelentős hatást gyakorolt a *C. auris* sejtek intracelluláris fémiontartalmára, azonban a változások mértéke és iránya eltérő volt. A farnesol kezelés hatására az intracelluláris vas-, mangán- és cinktartalom szignifikánsan csökkent a kezeletlen kontrollsejtekhez képest (–24%, –73% és –69%), míg a réztartalom ezzel szemben drámai mértékben, 302%-kal emelkedett, ami arra utal, hogy a farnesol alapvetően átrendezi a sejtek fémion-homeosztázisát (vas: $152,2 \pm 21,1$ mg/kg vs. $116,0 \pm 10,0$ mg/kg; mangán: $67,9 \pm 5,1$ mg/kg vs. $18,6 \pm 1,8$ mg/kg; cink: $787,8 \pm 22,2$ mg/kg vs. $245,8 \pm 34,4$ mg/kg; réz: $274,6 \pm 15,7$ mg/kg vs. $828,8 \pm 106,4$ mg/kg; $p < 0,05$ – $0,001$; lásd 1. táblázat).

Ezzel szemben a tyrosol kezelés mérsékeltebb, de szintén szignifikáns változásokat eredményezett: az intracelluláris vas-, mangán-, cink- és réztartalom 25%, 37%, 34% és 55%-kal csökkent a kontrollhoz viszonyítva (vas: $155,7 \pm 17,9$ mg/kg vs. $114,3 \pm 16,2$ mg/kg;

mangán: $69,3 \pm 4,2$ mg/kg vs. $42,6 \pm 1,14$ mg/kg; cink: $735,4 \pm 18,5$ mg/kg vs. $516,5 \pm 22,1$ mg/kg; réz: $259,9 \pm 16,1$ mg/kg vs. $123,5 \pm 9,8$ mg/kg; $p < 0,05$ – $0,001$; lásd 2. táblázat).

A tyrosol kezelés szignifikánsan fokozta a reaktív oxigénszármazékok termelődését *Candida auris* sejtekben, ami együtt járt a fő antioxidáns enzimek (SOD, kataláz és GPx) aktivitásának, valamint a redukált glutation szintjének emelkedésével, jelezve az oxidatív stressz által kiváltott celluláris védekező válasz aktiválódását (lásd 3. ábra).

Összességében mindkét kezelés jelentősen módosította a sejtek fémion-ellátottságát, ami potenciálisan befolyásolhatja a metabolikus folyamatokat és az oxidatív stresszválaszt.

1. táblázat A farnesol által kiváltott változások a *Candida auris* fémion tartalmában

Fém tartalom/ Kezelés	Átlag $\pm$ SD				
	Száraz sejttömeg (g/l)	Vas (mg/kg)	Mangán (mg/kg)	Cink (mg/kg)	Réz (mg/kg)
Kezeletlen sejtkultúrák	$0,38 \pm 0,08$	$152,2 \pm 21,1$	$67,9 \pm 5,1$	$787,8 \pm 22,2$	$274,6 \pm 15,7$
Farnesollal kezelt sejtkultúrák	$0,09 \pm 0,01^{***}$	$116,0 \pm 10,0^*$	$18,6 \pm 1,8^{***}$	$245,8 \pm 34,4^{***}$	$828,8 \pm 106,4^{***}$

Az adatok három független kísérletből számított átlag $\pm$ szórás értékeit mutatják.

*, **, *** jelölések a szignifikáns különbségeket jelzik ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$), kétirányú ANOVA alapján számítva, a kezeletlen kontrollhoz és a farnesollal kezelt tenyészetekhez viszonyítva.

2. táblázat A tyrosol által kiváltott változások a *Candida auris* fémion-tartalmában

Fém tartalom/ Kezelés	Átlag ± SD				
	Száraz sejttömeg (g/l)	Vas (mg/kg)	Mangán (mg/kg)	Cink (mg/kg)	Réz (mg/kg)
Kezeletlen sejtkultúrák	0,32±0,02	155,7±17,9	69,3±4,2	735,4±18,5	259,9±16,1
Tyrosollal kezelt sejtkultúrák	0,26±0,03 **	114,3±16,2 *	42,6±1,14 **	516,5±22,1 **	123,5±9,8 **

Az adatok három független kísérletből számított átlag ± szórás értékeit mutatják.

*, ** jelölések a szignifikáns különbségeket jelzik ($p < 0,05$ és $p < 0,01$), kétirányú ANOVA alapján számítva, a kezeletlen kontrollhoz és a tyrosollal kezelt tenyészetekhez viszonyítva.

3. táblázat Tyrosol által indukált oxidatív stressz válasz *Candida auris* esetében

Oxidatív stresszhez köthető paraméterek	Kezeletlen sejtkultúrák	Tyrosollal kezelt sejtkultúrák
DCF [nmol DCF (OD ₆₄₀) ⁻¹]	7,1 ± 1,9	16,8 ± 3,9*
SOD [munit (mg protein) ⁻¹]	54,3 ± 6,1	78,1 ± 14,8 *
Kataláz [kat (kg protein) ⁻¹]	0,6 ± 0,2	1,2 ± 0,35 *
GR [mkat (kg protein) ⁻¹]	2,2 ± 0,5	2,8 ± 0,3
GPx [mkat (kg protein) ⁻¹]	0,2 ± 0,02	0,29 ± 0,06 *
GSH [nmol (OD ₆₄₀) ⁻¹]	49,8 ± 5,4	65,1 ± 4,0 *
GSSG [nmol (OD ₆₄₀) ⁻¹]	0,2 ± 0,04	0,26 ± 0,04

Az adatok a három független kísérletből számított átlag ± szórás értékeit mutatják.

* Jelentős eltéréseket tapasztaltunk ($p < 0,05$) a páros Student-féle *t*-próba szerint, a kezeletlen kontrollhoz és a tyrosollal kezelt tenyészetekhez viszonyítva.

6. Diszkusszió

A quorum sensing megzavarására fókuszáló alternatív kezelési stratégiák az utóbbi időben egyre vonzóbb terápiás eszközzé váltak, különösen a nehezen kezelhető, multirezisztens kórokozók ellen, mint például a *C. auris* (Grainha és mtsai. 2018; Fong és mtsai. 2018, Kovács és mtsai. 2020). Korábbi vizsgálatok arról számoltak be, hogy a gombaeredetű quorum sensing molekulák kifejezett gombaellenes hatással bírhatnak, illetve a hagyományos antifungális szerekkel kombinációban erős adjuváns hatást fejthetnek ki különösen szuprafiziológiás koncentrációban (Nagy és mtsai. 2020, Nagy és mtsai. 2020/2, Kovács és mtsai. 2016, Bozó és mtsai. 2016, Katragkou és mtsai. 2015). Nagy és mtsai. (2020) kimutatták, hogy a szuprafiziológiás farnesol-expozíció jelentős mértékben csökkenti a *C. auris* planktonikus sejtjeinek növekedési ütemét, illetve a biofilmek metabolikus aktivitását (Nagy és mtsai. 2020/2). Ezen felül 75 μ M farnesol kezelés szignifikánsan csökkentette a veséből kinőtt élő gombasejtek számát immunszuppresszált szisztémásan fertőzött egérmodellben (Nagy és mtsai. 2020/2).

Az RNS-Seq alapú teljes transzkriptom analízis fontos módszer lehet ezen molekulák által kiváltott antifungális hatás háttérében álló mechanizmusok teljes körű megértéséhez. A *C. albicans* esetében kimutatták, hogy a szuprafiziológiás koncentrációban alkalmazott farnesol több gén transzkripció szintjét is befolyásolja. Cao és mtsai. (2005) beszámoltak arról, hogy farnesol-expozíció hatására nőtt a *TUP1* (morfológiával összefüggő), az *FCR1* (gyógyszerrezisztenciával kapcsolatos), az *FTR2* (vastranszporttal kapcsolatos), valamint a *CHT2* és *CHT3* (kitináz) gének expressziója. Ezzel szemben a *CSH1* (a sejtfelszín hidrofobicitásával összefüggő) gén lefelé szabályozódott farnesol jelenlétében, hasonlóan a *HSP70*, *HSP90* és *SSA2* (hő sokkfehérjéket kódoló), a *PDR16* (gyógyszerrezisztenciával kapcsolatos), továbbá a *CRK1* és *PDE2* (morfológiához kapcsolódó) génekhez (Rodrigues és mtsai. 2020, Cao és mtsai. 2005).

Korábbi vizsgálatok alapján a farnesol dózisfüggő módon indukál reaktív oxigéngyök termelést *C. albicans*-ban (Davis-Hanna és mtsai. 2008; Deveau és mtsai. 2010). Emellett a farnesol befolyásolja a *CAT1*, *SOD1* és *SOD2* gének transzkripcióját, amelyek az oxidatív stresszválaszhoz kapcsolódnak *C. albicans*-ban (Rodrigues és mtsai. 2020). Ezek az eredmények összhangban állnak Nagy és mtsai. (2020) *C. auris*-szal kapcsolatos megfigyeléseivel. Vizsgálatukban több, feltételezhetően oxidatív stresszre reagáló gén (*CAT1*, *GPX1*, *SOD1*, *SOD2* és *SOD6*) felülszabályozódott farnesol-expozíciót követően. Figyelemre méltó, hogy a farnesol fokozta a *HOG1* transzkripcióját is, amely a gombák oxidatív

stresszválaszának kulcseleme, tovább erősítve a farnesol által kiváltott oxidatív stressz szerepét *C. auris*-ban (Dantas és mtsai. 2015). Ezt támasztja alá a DCF szint és a szuperoxid-diszmutáz aktivitás emelkedése is farnesollal kezelt tenyészetekben (Nagy és mtsai. 2020/2).

Friss transzkriptomikai adatok kimutatták, hogy a farnesol-kezelés befolyásolta a vas-homeosztázissal kapcsolatos gének transzkripcióját, valamint a *C. auris* vas-, cink-, mangán- és réztartalmát is. A vasfelvételben szerepet játszó gének alulszabályozódása összefüggést mutatott a farnesolnak kitett sejtekben mért szignifikánsan csökkent vas-szinttel. Hasonlóképpen, a menadion-nátrium-biszulfit által kiváltott oxidatív stressz is befolyásolta a vas-homeosztázis génjeinek transzkripcióját és a *C. albicans* sejtek vastartalmát (Jakab és mtsai. 2021). Feltételezhető, hogy a vas csökkenéséhez kapcsolódó válasz egy általános védekező mechanizmus része, amely a farnesol és a menadion által kiváltott károsodás minimalizálását célozza a kétértékű vasionok által közvetített oxidatív reakciók mérséklésével.

Korábbi tanulmányok szerint az emelkedett szabad intracelluláris vasszint elősegíti a reaktív oxigén gyökök képződését, és vasfüggő sejthalált közvetít *S. cerevisiae*-ben (Jakab és mtsai. 2021; Dixon és mtsai. 2014). Hasonló vasfüggő oxidatív stressz- és sejthalál-folyamatokat más gombákban is leírtak. *Candida albicans*-ban például a vas-homeosztázis zavara fokozta a ROS-szintet és csökkentette a sejtek stressztűrését, különösen antioxidáns rendszerek (pl. SOD, kataláz, glutation) kimerülése esetén (Chen és mtsai. 2011). Ez az összefüggés alátámaszthatja a jelen vizsgálatban megfigyelt oxidatív stressz és a megváltozott vasháztartás közötti kapcsolatot. A *CSR1* gén, amely egy, a cink-homeosztázist stabilizáló fő transzkripciós faktort kódol, és cinkfüggő védelmet biztosít a sejtek számára a farnesol-indukálta oxidatív stresszel szemben, csökkent transzkripciója összefüggött a megfigyelt intracelluláris cinkszint csökkenéssel. A cink esszenciális fém az oxidatív stressz elleni védekezésben, mivel szerkezeti alkotóeleme a szuperoxid-diszmutáznak, amely kulcsenzim a szuperoxidok semlegesítésében (Gerwien és mtsai. 2018). A legtöbb fémmel ellentétben a mangán magas koncentrációban inkább antioxidánsként viselkedik, mintsem reaktív oxigén gyökök képződését elősegítő elemként (Gerwien és mtsai. 2018). A farnesol azonban gátolta a *SMF1* gén transzkripcióját, amely az intracelluláris mangánszint fenntartásáért felelős az antioxidáns védekezés érdekében (Gerwien és mtsai. 2018). Ezenkívül a *PMR1* gén, amely $\text{Ca}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$ ATPáz transzporter, és a Golgi ionhomeosztázisában vesz részt transzkripciója szintén gátlódott, ami a gombasejtek virulenciájának csökkenéséhez vezetett (Bates és mtsai. 2005). Ez összhangban áll korábbi eredményeinkkel, amelyek szerint a napi farnesol kezelés szignifikánsan csökkentette a *C. auris* virulenciáját (Nagy és mtsai. 2020). A *CRP1* és *CCC2* alulszabályozódása összefüggött a farnesollal kezelt sejtekben mért jelentősen megnövekedett réztartalommal és a markáns

növekedésgátlással. A réz számos sejtes folyamat szabályozásában vesz részt a patogén gombákban. Túlzott mennyiségben a jelenléte a Fenton-reakción keresztül reaktív oxigén gyökök képződéséhez vezet, valamint károsítja a vas–kén klasztereket, tovább csökkentve a sejtek életképességét (Gerwien és mtsai. 2018; Weissman és mtsai. 2020; Ding és mtsai. 2014; Mackie és mtsai. 2016). A farnesolnak kitett sejtekben emelkedett szabad rézsztint hozzájárulhat a DCF-termeléssel mért fokozott redox-egyensúly-zavarhoz (Gerwien és mtsai. 2018), amelyet a szuperoxid-dizmutáz specifikus aktivitásának növekedése kísért (Gerwien és mtsai. 2018).

Érdemes kiemelni, hogy a farnesol-expozíció több zsírsav- β -oxidációval kapcsolatos gén (*POX1*, *ECII*, *FAT1*, *FAA21*, *POT1*) szignifikáns felülszabályozását eredményezte. A sérült vagy oxidálódott membránlipidek lebontása, valamint a zsírsav-metabolizmus fokozódása hozzájárulhat a membrán lipidösszetételének homeosztázisához és a megfelelő membránfluiditás fenntartásához (Fradin és mtsai. 2003). Jabra-Rizk és mtsai. (2006), valamint Rossignol és mtsai. (2007) kimutatták, hogy a farnesol befolyásolja a membrán permeabilitását non-*albicans* fajokban, például *C. dubliniensis* és a *C. parapsilosis* esetében. A fokozott zsírsav-oxidációs aktivitás magyarázhatja a membránhoz kapcsolódó farnesol-hatást, amely összefüggésbe hozható a korábban megfigyelt antifungális hatással (Nagy és mtsai. 2020/2).

Az antifungális hatás további lehetséges magyarázata az ergoszterol-bioszintézishez kapcsolódó gének transzkripciójának csökkenése, amely megváltoztatja a membrán permeabilitását és fluiditását (Dizova és mtsai. 2018). Dižová és munkatársai kimutatták, hogy 200 μ M farnesol jelenlétében az *ERG20*, *ERG11* és *ERG9* gének transzkripciója csökkent *C. albicans*-ban (Dižová és mtsai. 2018). Az *ERG11* és *ERG9* gének csökkent expressziója várhatóan mérsékli az ergoszterol bioszintézisét, amely a gombasejtmembrán egyik legfontosabb strukturális komponense. Az ergoszterolszint csökkenése megváltoztathatja a membrán fluiditását és permeabilitását, ami fokozhatja egyes antifungális szerek intracelluláris felhalmozódását. Vizsgálatunkban az *ERG6* gén expressziója is csökkent farnesol-expozíciót követően, ami fokozhatja a farnesol passzív diffúzióját a membránon keresztül; emellett a csökkent *Erg6*-szint megerősítheti a *C. auris* sejtek fokozott érzékenységét az oxidatív stresszel szemben (Oliveira és mtsai. 2020; Jensen-Pergakes és mtsai. 1998). Oliveira és mtsai. (2020) kimutatták, hogy az *ERG6* mutáns *Cryptococcus neoformans* csökkent hőtoleranciát és fokozott oxidatív stresszérzékenységet, valamint nagyobb antifungális-érzékenységet mutat, ami magyarázatot adhat az azokkal megfigyelt korábbi szinergista interakcióra (Nagy és mtsai. 2020/2; Oliveira és mtsai. 2020). Továbbá az *ERG6* mutáns *C. neoformans* teljesen avirulens volt gerinctelen állatmodellben, ami magyarázhatja a *C. auris* csökkent virulenciáját napi farnesol-kezelés után (Nagy és mtsai. 2020/2; Oliveira és mtsai. 2020). Az *ERG6* mellett

az INO1 gén is down-regulálódott farnesol expozíció hatására. Ez a gén az inozitol-1-foszfát-szintáz kódozza, amely kulcsenzim az inozitol és a foszfatidil-inozitol szintézisében. Az INO1 gén csökkent transzkripciója mérsékelheti az inozitol- és foszfatidilinozitol-szintézist, ami a membrán lipidösszetételének megváltozásához vezethet. Ez hozzájárulhat a membránfunkciók módosulásához, és elősegítheti az azokkal megfigyelt szinergista hatást. Ennek megfelelően az INO1 csökkent transzkripciója tovább magyarázhatja a farnesol és az azok közötti szinergista hatást *C. auris* esetében (Nagy és mtsai. 2020/2), mivel az INO1 jelentősen felülszabályozott a rezisztens *Candida* izolátumokban (Cao és mtsai. 2005). Az aktív efflux pumpákkal kapcsolatos gének tekintetében a farnesol-expozíció szignifikáns transzkripció növekedést idézett elő a *CDR1*, *CDR4*, *MDR1*, *HOL3* és *YOR1* gének esetében, míg a *SNQ2* transzkripció szintje csökkent. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy ezek a transzporterek szerepet játszanak a *C. auris* gyógyszerrezisztenciájában (Munoz és mtsai. 2018; Kean és mtsai. 2018). Srivastava és Ahmad azt találták, hogy a *CDR1*, *CDR2*, *MDR1*, *MDR2* és *SNQ2* gének jelentősen alulszabályozódtak a farnesol jelenlétében (Srivastava és mtsai. 2020). Fontos megjegyezni, hogy mintegy ezerszeres különbség volt a transzkripció növekedést kiváltó farnesol koncentráció és a vizsgálatunkban alkalmazott dózis között. Eredményeink mindazonáltal alátámasztják azt a hipotézist, hogy alacsonyabb koncentrációban a farnesol potenciális szubsztrátja lehet a felülszabályozott transzportfehérjéknek, lehetővé téve a sejtek számára a védelmet a farnesol által indukált oxidatív stresszel szemben.

Vizsgálataink második részében a tyrosol hatását vizsgáltuk és hasonlítottuk össze a farnesolnál megfigyelt hatásokkal. Két órás expozíciót követően a tyrosol szignifikánsan gátolta a *C. auris* sejtek növekedési ütemét. Hasonló mintázatot korábban *C. parapsilosis* esetében is megfigyeltek, ahol a gátló hatás a riboszóma-bioszintézissel kapcsolatos gének alulszabályozásával állt összefüggésben (Jakab és mtsai. 2019). Érdekes módon 15 mM tyrosol-expozíció *C. auris* esetében nem eredményezett szignifikáns változást a riboszóma-bioszintézis gének transzkripciójában. Ezzel szemben több DNS-replikációhoz kapcsolódó gén alulszabályozódott, ami magyarázatot adhat a megfigyelt növekedésgátlás molekuláris hátterére. Hasonló növekedésgátló hatásról számoltak be Cordeiro és mtsai. (2015) 2,5–5,0 mM koncentrációtartományban más non-*albicans* fajok, például *C. tropicalis* és *C. glabrata* esetében. Adampour és mtsai. (2022) kimutatták, hogy tyrosollal kezelt planktonikus *C. glabrata* sejtekben jelentős károsodás következett be a sejtfalban, sejtmembránban, citoplazmában, sejtmagban és mitokondriumokban. Egyéb gombafajok esetében (*Coccidioides posadasii*, *Histoplasma capsulatum*) a tyrosol csökkentette a sejtmembrán ergoszteroltartalmát,

valamint jelentős permeabilitás fokozódást idézett elő a sejtmembránon (Brilhante és mtsai. 2016). Hasonló gátló hatást figyeltek meg *Sporothrix* fajok esetében is, mind a fonalas, mind az élesztő forma esetében (Brilhante és mtsai. 2020).

A csökkent növekedési ütem részben a tyrosol jelenlétében megemelkedett reaktív oxigén gyökök szintjével is magyarázható. Korábbi tanulmányok igazolták, hogy a gombaeredetű quorum sensing molekulák szuprafiziológiás koncentrációban oxidatív stresszt generálnak. Emellett különbségek mutatkoznak a farnesol és a tyrosol oxidatív stresszre gyakorolt hatásai között a különböző *Candida* fajokban (Jakab és mtsai. 2019; Nagy és mtsai. 2020/b). A *C. auris* egyedi stresszrezisztencia-profillal rendelkezik más *Candida* fajokkal összehasonlítva (Day és mtsai. 2018). Jelen vizsgálatban a fokozott oxidatív stressz a kataláz, SOD és GPx aktivitásának emelkedésével járt együtt. Ugyanakkor az antioxidáns védekezéshez kapcsolódó felülszabályozott gének száma lényegesen alacsonyabb volt, mint *C. parapsilosis* esetében a tyrosol kezelést követően (6 vs. 18 gén) (Jakab és mtsai. 2019). Figyelemre méltó, hogy a *SOD4* szignifikánsan alulszabályozódott. Ez a gén kulcsfontosságú a detoxifikációs folyamatokban a *C. albicans*-ban (Dantas és mtsai. 2015; Jakab és mtsai. 2019; Allert és mtsai. 2022). Ez magyarázhatja a napi tyrosol-kezelés mellett *in vivo* megfigyelt csökkent virulenciát (Jakab és mtsai. 2019). Jelen vizsgálatban a *CAT1* gén felülszabályozódott *C. auris*-ban tyrosol-expozíció hatására, hasonlóan *C. parapsilosis*-hoz (Dantas és mtsai. 2015; Jakab és mtsai. 2019). Korábbi tanulmányok alapján erős korreláció figyelhető meg a *CAT1* transzkripció szintje és a hidrogén-peroxiddal szembeni rezisztencia között *C. albicans*-ban farnesol-expozíció után, ami arra utal, hogy a kataláz-indukció az oxidatív stresszel szembeni ellenállás növekedésével jár együtt, és a *CAT1* jó markernek tekinthető az oxidatív stressz-rezisztencia esetén. Valószínűsíthető tehát, hogy a tyrosol által indukált *CAT1* felülszabályozás megelőző mechanizmusok aktiválását jelzi az oxidatív stresszel szemben (Deveau és mtsai. 2010).

Az oxidatív stressz antifungális hatásban betöltött szerepét tovább erősíti az intracelluláris vas, mangán-, réz- és cinktartalom szignifikáns csökkenése, amelyek kulcsszerepet játszanak az oxidatív stresszel szembeni védekezésben. A vaskészletben részt vevő gének (*CFL4*, *FRE9*, *FRE10*, *FTR1*, *FTR2*) down-regulációja csökkent vastartalmat eredményezett, ami a kétértékű vasionok káros hatásainak mérséklését célzó általános védekezési stratégia részét képezheti a farnesol hatáshoz hasonlóan (Dixon és mtsai. 2014). A mangán kulcsfontosságú antioxidáns elem *Candida* fajokban, míg a csökkent cink- és rézsint akadályozza a szuperoxid-dizmutáz megfelelő működését (Ballou és Wilson 2016; Gerwien és mtsai. 2018). Emellett a *Candida* fajok adaptív válaszai nagymértékben függenek a cink- és rézkoncentrációtól, különösen a

kommenzális, környezeti és infekciós állapotok közötti átmenetek során (Ballou és Wilson 2016).

A virulencia szempontjából általánosságban a különböző virulenciafaktorokat kódoló gének markáns down-regulációja volt megfigyelhető. Monteiro és mtsai. (2015) beszámoltak arról, hogy a tyrosol negatívan befolyásolja az adhéziót. Teljes metabolikus aktivitás profil analízis alapján a tyrosol-kezelés 22–51%-os csökkenést eredményezett *C. albicans* esetében (Monteiro és mtsai. 2015). Meglepő módon jelen vizsgálatban az adhézióban szerepet játszó gének (*ALS4*, *ALS9*, *IFF4*) szignifikánsan felülszabályozódtak. *C. albicans*-ban az *IFF4* *in vitro* és *in vivo* adhézióban vesz részt; transzkripciós vizsgálatok alapján expressziója a biofilm-képződés késői szakaszában fokozódik (Fox és mtsai. 2015). Az *Iff4Δ* null mutáns sejtek csökkent adhéziót mutatnak a biofilm kialakulás korai fázisában (Kempf és mtsai. 2009; Kean és mtsai. 2018). A tyrosol kulcsszerepet játszik a *C. albicans* morfogenezisében és biofilm-képződésében; szerepe azonban *C. auris* biofilm képzésében még tisztázásra vár (Alem és mtsai. 2006). Ebben a vizsgálatban a tyrosol-kezelés csak kisebb változásokat eredményezett a biofilmhez kapcsolódó gének expressziójában, és az eredmények alapján inkább a biofilm későbbi eseményeit befolyásolhatja. A biofilmképződést elősegítő *RBT1* gén transzkripciója emelkedett tyrosol-expozíció hatására; ugyanakkor regulátorának, a *BCR1* transzkripciós faktornak az ortológia szignifikánsan down-regulálódott, ami eltért a *C. parapsilosis*-ban megfigyelt válaszreakciótól (Ding és mtsai. 2007; Jakab és mtsai. 2019). További jelentős különbség volt, hogy az *NRG1* (a hifafejlődés represszora) down-regulálódott, ami serkentheti a filamentózus elemek kialakulását. Ez együtt járt az *ALS4* (GPI-horgonyzott adhezin) felülszabályozásával, amely pszeudohifákat mutató *C. auris* sejtekben fokozott expressziót mutat (Yue és mtsai. 2018).

Az RNS-Seq analízis kimutatta, hogy két fő zsírsav-bioszintézishez kapcsolódó gén (*FAS1*, *FAS2*) down-regulálódott; ezek csökkent patogenitással és virulenciával hozhatók összefüggésbe (Begum és mtsai., 2022). Korábbi vizsgálatunkban a tyrosol-kezelés csökkentette a delta12-zsírsav-deszaturázt (*FAD2*) és az omega-3 zsírsav-deszaturázt (*FAD3*) kódoló gének expresszióját *C. parapsilosis*-ban, ami a faj általános fitneszének csökkenését eredményezte (Jakab és mtsai. 2019). Mindezek alapján a tyrosol általános, zsírsav anyagcserét befolyásoló hatással rendelkezhet, amely potenciálisan kihasználható új, ezen metabolikus útvonalat célzó antifungális stratégiák fejlesztésében (DeJarnette és mtsai. 2021).

A disszertáció alapjául szolgáló kísérletes munka az első olyan átfogó vizsgálat, amely a *C. auris* transzkripciós profiljának globális változásait elemezte quorum sensing molekulák - farnesol és tyrosol - expozícióját követően, és ezáltal új betekintést nyújtott a vegyületek antifungális hatásmechanizmusába. A transzkripciós válaszok elemzése rámutatott, hogy

mindkét molekula jelentősen fokozza az oxidatív stresszválaszt szuprafiziológiás koncentrációban alkalmazva, amely együtt jár bizonyos intracelluláris mikroelemek (különösen vas, cink és mangán) koncentrációjának csökkenésével, valamint a sejtes redox-egyensúly felborulásával. Emellett jelentős változások figyelhetők meg a zsírsav-anyagcsere (különösen a β -oxidáció), az ergoszterol- és zsírsav-bioszintézis, a nukleinsav-szintézis, az adhézió, valamint a gyógyszer-efflux pumpák transzkripciója terén is. Ezek az eredmények együttesen magyarázatot adhatnak a megfigyelt növekedésgátló és virulenciacsökkentő hatásokra, és rávilágítanak arra, hogy a quorum sensing molekulák komplex, több támadásponton ható mechanizmusokon keresztül fejtik ki antifungális aktivitásukat. A feltárt molekuláris összefüggések nemcsak a *C. auris* stresszadaptációjának és patogenitásának mélyebb megértéséhez járulnak hozzá, hanem megalapozhatják új, innovatív terápiás stratégiák kidolgozását is ennek a multirezisztens kórokozónak a hatékonyabb kezelésére.

7. Új megállapítások

- A farnesol szignifikánsan gátolta a *C. auris* növekedését, amely rövid expozíciós idő után is kimutatható volt, és a gombasejtek metabolikus aktivitásának csökkenésével járt.
- A transzkriptomikai elemzés alapján a farnesol kezelés csökkentette a biofilmképződéshez, morfogenezishez és virulenciához kapcsolódó gének transzkripcióját, ami a patogenitás mérséklődésére utal.
- A farnesol jelentős oxidatív stresszválaszt indukált *C. auris*-ban, amelyet antioxidáns enzimekhez és stresszadaptációhoz kapcsolódó gének fokozott transzkripciója és az antioxidáns enzimek aktivitásának növekedése kísért
- A farnesol expozíció jelentősen módosította a *C. auris* intracelluláris fémion homeosztázisát, amely a vas, mangán és cinktartalom csökkenésével, valamint a rézkoncentráció növekedésével járt.
- A tyrosol szintén gátolta a *C. auris* növekedését, azonban hatása elsősorban a sejtciklushoz és a DNS-replikációhoz kapcsolódó gének transzkripciójának csökkenésével függött össze.
- A quorum sensing molekulák hatására jelentős változások figyelhetők meg a lipidanyagcserében: A farnesol fokozta a zsírsav β -oxidációhoz kapcsolódó gének transzkripcióját, míg a tyrosol csökkentette a zsírsav bioszintézishez köthető gének transzkripcióját, ami a sejtmembrán szerkezetének és működésének átrendeződésére utal.

8. Összefoglalás

A *Candida auris* az elmúlt évtized egyik legjelentősebb multirezisztens opportunistagombakórokozója, amely világszerte súlyos nozokomiális járványok kialakulásáért felelős. Kiemelkedő klinikai jelentőségét multidrog-rezisztenciája, környezeti perzisztenciája, biofilmképző képessége, valamint magas mortalitási aránnyal járó invazív fertőzései adják. A jelenlegi terápiás lehetőségek korlátozottak, ezért sürgető igény mutatkozik új, alternatív antifungális stratégiák feltárására. A quorum sensing molekulák – különösen a farnesol és a tyrosol – az utóbbi években ígéretes, virulenciát befolyásoló és potenciálisan antifungális hatású vegyületekként kerültek a kutatások fókuszába.

Jelen munka célja a *C. auris* farnesol- és tyrosol-expozíciót követő globális géntranszkripciós változásainak vizsgálata volt. Eredményeink alapján mind a farnesol, mind a tyrosol jelentős mértékben fokozta az oxidatív stresszválaszt, amit az antioxidáns enzimek (például kataláz, szuperoxid-diszmutáz, glutation-peroxidáz) aktivitásának növekedése, valamint több oxidatív stresszhez kapcsolódó gén felülszabályozása kísért. Ez együtt járt a redox-homeosztázis felborulásával és bizonyos intracelluláris mikroelemek – különösen a vas, cink és mangán – koncentrációjának csökkenésével, ami hozzájárulhat a sejtek sérülékenységének növekedéséhez. Jelentős változások voltak megfigyelhetők a lipidanyagcserében is. A farnesol-expozíció fokozta a β -oxidációhoz kapcsolódó gének expresszióját, míg mindkét molekula befolyásolta az ergosterol- és zsírsav-bioszintézishez kötődő útvonalakat. Ezek a változások a sejtmembrán összetételének és fluiditásának módosulásához vezethetnek, ami részben magyarázatot adhat a megfigyelt növekedésgátló hatásra és az antifungális szerekkel szembeni érzékenység változására. Emellett tyrosol-kezelést követően a DNS-replikációval és nukleinsav-szintézissel összefüggő gének down-regulációja volt észlelhető, ami molekuláris magyarázatot szolgáltat a csökkent proliferációs képességre.

Számos, adhézióban és biofilmképződésben szerepet játszó gén transzkripciója módosult, ami arra utal, hogy a quorum sensing molekulák komplex módon befolyásolják a *C. auris* patogenitását. Bizonyos virulenciafaktorok csökkent expressziója összhangban áll a korábban leírt *in vivo* virulenciacsökkenéssel. Összességében eredményeink azt mutatják, hogy a farnesol és a tyrosol több támadásponton, egymással összefüggő molekuláris mechanizmusokon keresztül fejtik ki hatásukat *C. auris*-ban. Az oxidatív stressz indukciója, a mikroelem-homeosztázis megváltozása, a lipid- és nukleinsav-anyagcsere módosulása, valamint a virulenciával kapcsolatos gének szabályozása együttesen járulhat hozzá az antifungális és virulenciacsökkentő hatásokhoz.

9. Summary

Candida auris has emerged over the past decade as one of the most significant multidrug-resistant opportunistic fungal pathogens, responsible for severe nosocomial outbreaks worldwide. Its outstanding clinical relevance is attributed to its multidrug resistance, environmental persistence, biofilm-forming capacity, and invasive infections associated with high mortality rates. Current therapeutic options remain limited; therefore, there is an urgent need to explore novel and alternative antifungal strategies. In recent years, quorum sensing molecules—particularly farnesol and tyrosol—have gained increasing attention as promising virulence-modulating compounds with potential antifungal activity.

The aim of the present study was to investigate the global changes in gene transcription in *C. auris* following exposure to farnesol and tyrosol. Our results demonstrated that both molecules significantly enhanced the oxidative stress response, as evidenced by increased activities of antioxidant enzymes (such as catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase) and the upregulation of several oxidative stress-related genes. This was accompanied by a disruption of redox homeostasis and a decrease in the intracellular concentrations of certain microelements—particularly iron, zinc, and manganese—which may contribute to increased cellular vulnerability. Significant alterations were also observed in lipid metabolism. Farnesol exposure upregulated genes associated with β -oxidation, while both molecules affected pathways related to ergosterol and fatty acid biosynthesis. These changes may lead to modifications in cell membrane composition and fluidity, potentially explaining the observed growth inhibition and altered susceptibility to antifungal agents. In addition, tyrosol treatment resulted in the downregulation of genes involved in DNA replication and nucleic acid synthesis, providing a molecular explanation for the reduced proliferative capacity.

The transcription of genes involved in adhesion and biofilm formation was also modulated, suggesting that quorum sensing molecules influence *C. auris* pathogenicity in a complex manner. The reduced expression of certain virulence factors is consistent with previously reported in vivo decreases in virulence. Overall, our findings indicate that farnesol and tyrosol exert their effects in *C. auris* through multiple interconnected molecular mechanisms. The induction of oxidative stress, alterations in microelement homeostasis, modulation of lipid and nucleic acid metabolism, and regulation of virulence-associated genes collectively contribute to their antifungal and virulence-attenuating effects.

10. Irodalomjegyzék

1. **Abe, M., Katano, H., Nagi, M., Higashi, Y., Sato, Y., Kikuchi, K., Hasegawa, H., & Miyazaki, Y. (2020).** Potency of gastrointestinal colonization and virulence of *Candida auris* in a murine endogenous candidiasis. *PloS one*, 15(12), e0243223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243223>
2. **Alem, M. A., Oteef, M. D., Flowers, T. H., & Douglas, L. J. (2006).** Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development. *Eukaryotic cell*, 5(10), 1770–1779. <https://doi.org/10.1128/EC.00219-06>
3. **Arastehfar, A., Gabaldón, T., Garcia-Rubio, R., Jenks, J. D., Hoenigl, M., Salzer, H. J. F., Ilkit, M., Lass-Flörl, C., & Perlin, D. S. (2020).** Drug-Resistant Fungi: An Emerging Challenge Threatening Our Limited Antifungal Armamentarium. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(12), 877. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120877>
4. **Araújo, D., Henriques, M., & Silva, S. (2017).** Portrait of *Candida* Species Biofilm Regulatory Network Genes. *Trends in microbiology*, 25(1), 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.004>
5. **Arias, L. S., Delbem, A. C., Fernandes, R. A., Barbosa, D. B., & Monteiro, D. R. (2016).** Activity of tyrosol against single and mixed-species oral biofilms. *Journal of applied microbiology*, 120(5), 1240–1249. <https://doi.org/10.1111/jam.13070>
6. **Ballou, E. R., & Wilson, D. (2016).** The roles of zinc and copper sensing in fungal pathogenesis. *Current opinion in microbiology*, 32, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.05.013>
7. **Bigagli, E., Cinci, L., Paccosi, S., Parenti, A., D'Ambrosio, M., & Luceri, C. (2017).** Nutritionally relevant concentrations of resveratrol and hydroxytyrosol mitigate oxidative burst of human granulocytes and monocytes and the production of pro-inflammatory mediators in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *International immunopharmacology*, 43, 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.12.012>
8. **Bozó, A., Domán, M., Majoros, L., Kardos, G., Varga, I., & Kovács, R. (2016).** The in vitro and in vivo efficacy of fluconazole in combination with farnesol against *Candida albicans* isolates using a murine vulvovaginitis model. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 54(11), 753–760. <https://doi.org/10.1007/s12275-016-6298-y>
9. **Bravo Ruiz, G., Ross, Z. K., Holmes, E., Schelenz, S., Gow, N. A. R., & Lorenz, A. (2019).** Rapid and extensive karyotype diversification in haploid clinical *Candida auris*

isolates. *Current genetics*, 65(5), 1217–1228. <https://doi.org/10.1007/s00294-019-00976-w>

10. **Brilhante**, R. S. N., Pereira, V. S., Nobre, A. F. D., Oliveira, J. S., Fernandes, M. R., Costa, A. D. C., Rodrigues, A. M., Camargo, Z. P., Pereira-Neto, W. A., Sidrim, J. J. C., & Rocha, M. F. G. (2020). Exogenous fungal quorum sensing molecules inhibit planktonic cell growth and modulate filamentation and biofilm formation in the *Sporothrix schenckii* complex. *Biofouling*, 36(8), 909–921. <https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1828373>
11. **Bugli**, F., Massaro, F., Buonocore, F., Saraceni, P. R., Borocci, S., Ceccacci, F., Bombelli, C., Di Vito, M., Marchitello, R., Mariotti, M., Torelli, R., Sanguinetti, M., & Porcelli, F. (2022). Design and Characterization of Myristoylated and Non-Myristoylated Peptides Effective against *Candida* spp. Clinical Isolates. *International journal of molecular sciences*, 23(4), 2164. <https://doi.org/10.3390/ijms23042164>
12. **Cao**, Y. Y., Cao, Y. B., Xu, Z., Ying, K., Li, Y., Xie, Y., Zhu, Z. Y., Chen, W. S., & Jiang, Y. Y. (2005). cDNA microarray analysis of differential gene expression in *Candida albicans* biofilm exposed to farnesol. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(2), 584–589. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.584-589.2005>
13. **Carvajal**, S. K., Alvarado, M., Rodríguez, Y. M., Parra-Giraldo, C. M., Varón, C., Morales-López, S. E., Rodríguez, J. Y., Gómez, B. L., & Escandón, P. (2021). Pathogenicity Assessment of Colombian Strains of *Candida auris* in the *Galleria mellonella* Invertebrate Model. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(6), 401. <https://doi.org/10.3390/jof7060401>
14. **Casadevall**, A., Kontoyiannis, D. P., & Robert, V. (2021). Environmental *Candida auris* and the Global Warming Emergence Hypothesis. *mBio*, 12(2), e00360-21. <https://doi.org/10.1128/mBio.00360-21>
15. **Castanheira**, M., Messer, S. A., Rhomberg, P. R., & Pfaller, M. A. (2016). Antifungal susceptibility patterns of a global collection of fungal isolates: results of the SENTRY Antifungal Surveillance Program (2013). *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 85(2), 200–204. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.02.009>
16. **Chakrabarti**, A., Patel, A. K., Soman, R., & Todi, S. (2023). Overcoming clinical challenges in the management of invasive fungal infections in low- and middle-income countries (LMIC). *Expert review of anti-infective therapy*, 21(10), 1057–1070. <https://doi.org/10.1080/14787210.2023.2257895>

17. **Chen, S.**, Xia, J., Li, C., Zuo, L., & Wei, X. (2018). The possible molecular mechanisms of farnesol on the antifungal resistance of *C. albicans* biofilms: the regulation of CYR1 and PDE2. *BMC microbiology*, 18(1), 203. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1344-z>
18. **Chen, C.**, Pande, K., French, S. D., Tuch, B. B., & Noble, S. M. (2011). An iron homeostasis regulatory circuit with reciprocal roles in *Candida albicans* commensalism and pathogenesis. *Cell Host & Microbe*, 10(2), 118–135. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.07.005>
19. **Chen, H.**, Fujita, M., Feng, Q., Clardy, J., & Fink, G. R. (2004). Tyrosol is a quorum sensing molecule in *Candida albicans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(14), 5048–5052. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401416101>
20. **Chow, N. A.**, Muñoz, J. F., Gade, L., Berkow, E. L., Li, X., Welsh, R. M., Forsberg, K., Lockhart, S. R., Adam, R., Alanio, A., Alastruey-Izquierdo, A., Althawadi, S., Araúz, A. B., Ben-Ami, R., Bharat, A., Calvo, B., Desnos-Ollivier, M., Escandón, P., Gardam, D., Gunturu, R., ... Cuomo, C. A. (2020). Tracing the Evolutionary History and Global Expansion of *Candida auris* Using Population Genomic Analyses. *mBio*, 11(2), e03364 <https://doi.org/10.1128/mBio.03364-19>
21. **Cordeiro, R.deA.**, Teixeira, C. E., Brilhante, R. S., Castelo-Branco, D. S., Alencar, L. P., de Oliveira, J. S., Monteiro, A. J., Bandeira, T. J., Sidrim, J. J., Moreira, J. L., & Rocha, M. F. (2015). Exogenous tyrosol inhibits planktonic cells and biofilms of *Candida* species and enhances their susceptibility to antifungals. *FEMS yeast research*, 15(4), fov012. <https://doi.org/10.1093/femsyr/fov012>
22. **Costa, A. F.**, da Silva, J. T., Martins, J. A., Rocha, V. L., & Amaral, A. C. (2025). Chitosan nanoparticles encapsulating farnesol show potent antifungal activity against *Candida albicans* biofilms. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 56(2), 905–912. <https://doi.org/10.1007/s42770-025-01624-x>
23. **de Hoog, S.**, Walsh, T. J., Ahmed, S. A., Alastruey-Izquierdo, A., Alexander, B. D., Arendrup, M. C., Babady, E., Bai, F.-Y., Balada-Llasat, J.-M., Borman, A., Chowdhary, A., Clark, A., Colgrove, R. C., Cornely, O. A., Dingle, T. C., Dufresne, P. J., Fuller, J., Gangneux, J.-P., Gibas, C., Glasgow, H., ... Zhang, S. X. (2023). A conceptual framework for nomenclatural stability and validity of medically important fungi: a proposed global consensus guideline for fungal name changes supported by ABP, ASM, CLSI, ECMM, ESCMID-EFISG, EUCAST-AFST, FDLC, IDSA, ISHAM, MMSA,

and MSGERC. *Journal of clinical microbiology*, 61(11), e0087323. <https://doi.org/10.1128/jcm.00873-23>

- 24. de Jong, A. W.,** Francisco, E. C., de Almeida, J. N., Jr, Brandão, I. B., Pereira, F. M., Dias, P. H. P., de Miranda Costa, M. M., de Souza Jordão, R. T., Vu, D., Colombo, A. L., & Hagen, F. (2021). Nanopore Genome Sequencing and Variant Analysis of the Susceptible *Candida auris* Strain L1537/2020, Salvador, Brazil. *Mycopathologia*, 186(6), 883–887. <https://doi.org/10.1007/s11046-021-00593-7>
- 25. de Oliveira Santos, G. C.,** Vasconcelos, C. C., Lopes, A. J. O., de Sousa Cartágenes, M. D. S., Filho, A. K. D. B., do Nascimento, F. R. F., Ramos, R. M., Pires, E. R. R. B., de Andrade, M. S., Rocha, F. M. G., & de Andrade Monteiro, C. (2018). *Candida* Infections and Therapeutic Strategies: Mechanisms of Action for Traditional and Alternative Agents. *Frontiers in microbiology*, 9, 1351. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01351>
- 26. de Barros, P. P.,** Rossoni, R. D., de Souza, C. M., Scorzoni, L., Fenley, J. C., & Junqueira, J. C. (2020). *Candida* Biofilms: An Update on Developmental Mechanisms and Therapeutic Challenges. *Mycopathologia*, 185(3), 415–424. <https://doi.org/10.1007/s11046-020-00445-w>
- 27. De Oliveira, D. M. P.,** Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical microbiology reviews*, 33(3), e00181-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00181-19>
- 28. DeJarnette, C.,** Meyer, C. J., Jenner, A. R., Butts, A., Peters, T., Cheramie, M. N., Phelps, G. A., Vita, N. A., Loudon-Hossler, V. C., Lee, R. E., & Palmer, G. E. (2021). Identification of Inhibitors of Fungal Fatty Acid Biosynthesis. *ACS infectious diseases*, 7(12), 3210–3223. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.1c00404>
- 29. Denning D. W.** (2024). Global incidence and mortality of severe fungal disease. *The Lancet. Infectious diseases*, 24(7), e428–e438. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00692-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00692-8)
- 30. Deveau, A.,** Piispanen, A. E., Jackson, A. A., & Hogan, D. A. (2010). Farnesol induces hydrogen peroxide resistance in *Candida albicans* yeast by inhibiting the Ras-cyclic AMP signaling pathway. *Eukaryotic cell*, 9(4), 569–577. <https://doi.org/10.1128/EC.00321-09>

31. **Dižová, S., Černáková, L., & Bujdáková, H. (2018).** The impact of farnesol in combination with fluconazole on *Candida albicans* biofilm: regulation of ERG20, ERG9, and ERG11 genes. *Folia microbiologica*, 63(3), 363–371. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0574-z>
32. **Ding, C., Festa, R. A., Sun, T. S., & Wang, Z. Y. (2014).** Iron and copper as virulence modulators in human fungal pathogens. *Molecular microbiology*, 93(1), 10–23. <https://doi.org/10.1111/mmi.12653>
33. **Du, H., Bing, J., Hu, T., Ennis, C. L., Nobile, C. J., & Huang, G. (2020).** *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. *PLoS pathogens*, 16(10), e1008921. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008921>
34. **Fernandes, L., Ribeiro, R., Henriques, M., & Rodrigues, M. E. (2022).** *Candida auris*, a singular emergent pathogenic yeast: its resistance and new therapeutic alternatives. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 41(12), 1371–1385. <https://doi.org/10.1007/s10096-022-04497-2>
35. **Fisher, M. C., & Denning, D. W. (2023).** The WHO fungal priority pathogens list as a game-changer. *Nature reviews. Microbiology*, 21(4), 211–212. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00861-x>
36. **Fourie, R., Kuloyo, O. O., Mochochoko, B. M., Albertyn, J., & Pohl, C. H. (2018).** Iron at the Centre of *Candida albicans* Interactions. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 185. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00185>
37. **Fox, E. P., Bui, C. K., Nett, J. E., Hartooni, N., Mui, M. C., Andes, D. R., Nobile, C. J., & Johnson, A. D. (2015).** An expanded regulatory network temporally controls *Candida albicans* biofilm formation. *Molecular microbiology*, 96(6), 1226–1239. <https://doi.org/10.1111/mmi.13002>
38. **Fradin, C., & Hube, B. (2003).** Tissue infection and site-specific gene expression in *Candida albicans*. *Advances in applied microbiology*, 53, 271–290. [https://doi.org/10.1016/s0065-2164\(03\)53008-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(03)53008-8)
39. **Friedman, D. Z. P., & Schwartz, I. S. (2019).** Emerging Fungal Infections: New Patients, New Patterns, and New Pathogens. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 5(3), 67. <https://doi.org/10.3390/jof5030067>
40. **Gerwien, F., Skrahina, V., Kasper, L., Hube, B., & Brunke, S. (2018).** Metals in fungal virulence. *FEMS microbiology reviews*, 42(1), fux050. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux050>

41. **Ghannoum**, M., Arendrup, M. C., Chaturvedi, V. P., Lockhart, S. R., McCormick, T. S., Chaturvedi, S., Berkow, E. L., Juneja, D., Tarai, B., Azie, N., Angulo, D., & Walsh, T. J. (2020). Ibrexafungerp: A Novel Oral Triterpenoid Antifungal in Development for the Treatment of *Candida auris* Infections. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(9), 539. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090539>
42. **Giacobbe**, D. R., Asperges, E., Cortegiani, A., Grecchi, C., Rebuffi, C., Zuccaro, V., Scudeller, L., Bassetti, M., & FUNDICU investigators (2022). Performance of existing clinical scores and laboratory tests for the diagnosis of invasive candidiasis in critically ill, nonneutropenic, adult patients: A systematic review with qualitative evidence synthesis. *Mycoses*, 65(12), 1073–1111. <https://doi.org/10.1111/myc.13515>
43. **Grainha**, T. R. R., Jorge, P. A. D. S., Pérez-Pérez, M., Pérez Rodríguez, G., Pereira, M. O. B. O., & Lourenço, A. M. G. (2018). Exploring anti-quorum sensing and anti-virulence based strategies to fight *Candida albicans* infections: an in silico approach. *FEMS yeast research*, 18(3), 10.1093/femsyr/foy022. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foy022>
44. **Guo**, W., Huang, Q., Liu, H., Hou, S., Niu, S., Jiang, Y., Bao, X., Shen, Y., & Fang, X. (2019). Rational Engineering of Chorismate-Related Pathways in *Saccharomyces cerevisiae* for Improving Tyrosol Production. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 152. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00152>
45. **Hawksworth**, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology spectrum*, 5(4), 10.1128/microbiolspec.funk-0052-2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016>
46. **Helleberg**, M., Jørgensen, K. M., Hare, R. K., Datcu, R., Chowdhary, A., & Arendrup, M. C. (2020). Rezafungin *In Vitro* Activity against Contemporary Nordic Clinical *Candida* Isolates and *Candida auris* Determined by the EUCAST Reference Method. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(4), e02438-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.02438-19>
47. **Hoenigl**, M., Salmanton-García, J., Egger, M., Gangneux, J. P., Bicanic, T., Arikan-Akdagli, S., Alastruey-Izquierdo, A., Klimko, N., Barac, A., Özenci, V., Meijer, E. F. J., Khanna, N., Bassetti, M., Rautemaa-Richardson, R., Lagrou, K., Adam, K. M., Akalin, E. H., Akova, M., Arsic Arsenijevic, V., Aujayeb, A., ... ECMM Candida III Study Group (2023). Guideline adherence and survival of patients with candidaemia in Europe: results from the ECMM Candida III multinational European observational

- cohort study. *The Lancet. Infectious diseases*, 23(6), 751–761. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00872-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00872-6)
48. **Hoenigl, M.**, Sprute, R., Egger, M., Arastehfar, A., Cornely, O. A., Krause, R., Lass-Flörl, C., Prattes, J., Spec, A., Thompson, G. R., 3rd, Wiederhold, N., & Jenks, J. D. (2021). The Antifungal Pipeline: Fosmanogepix, Ibrexafungerp, Olorofim, Opelconazole, and Rezafungin. *Drugs*, 81(15), 1703–1729. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01611-0>
 49. **Hornby, J. M.**, Kebaara, B. W., & Nickerson, K. W. (2003). Farnesol biosynthesis in *Candida albicans*: cellular response to sterol inhibition by zaragozic acid B. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(7), 2366–2369. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.7.2366-2369.2003>
 50. **Horton, M. V.**, & Nett, J. E. (2020). *Candida auris* infection and biofilm formation: going beyond the surface. *Current clinical microbiology reports*, 7(3), 51–56. <https://doi.org/10.1007/s40588-020-00143-7>
 51. **Höfs, S.**, Mogavero, S., & Hube, B. (2016). Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. *Journal of Microbiology*, 54(3), 149-69. doi: 10.1007/s12275-016-5514-0.
 52. **Jabra-Rizk, M. A.**, Shirtliff, M., James, C., & Meiller, T. (2006). Effect of farnesol on *Candida dubliniensis* biofilm formation and fluconazole resistance. *FEMS yeast research*, 6(7), 1063–1073. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00121.x>
 53. **Jakab, Á.**, Tóth, Z., Nagy, F., Nemes, D., Bácskay, I., Kardos, G., Emri, T., Pócsi, I., Majoros, L., & Kovács, R. (2019). Physiological and Transcriptional Responses of *Candida parapsilosis* to Exogenous Tyrosol. *Applied and environmental microbiology*, 85(20), e01388-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01388-19>
 54. **Jakab, Á.**, Emri, T., Csillag, K., Szabó, A., Nagy, F., Baranyai, E., Sajtos, Z., Géczi, D., Antal, K., Kovács, R., Szabó, K., Dombrádi, V., & Pócsi, I. (2021). The Negative Effect of Protein Phosphatase Z1 Deletion on the Oxidative Stress Tolerance of *Candida albicans* Is Synergistic with Betamethasone Exposure. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(7), 540. <https://doi.org/10.3390/jof7070540>
 55. **Jakab, Á.**, Emri, T., Sipos, L., Kiss, Á., Kovács, R., Dombrádi, V., Kemény-Beke, Á., Balla, J., Majoros, L., & Pócsi, I. (2015). Betamethasone augments the antifungal effect of menadione--towards a novel anti-*Candida albicans* combination therapy. *Journal of basic microbiology*, 55(8), 973–981. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400903>

56. **Jensen-Pergakes, K. L., Kennedy, M. A., Lees, N. D., Barbuch, R., Koegel, C., & Bard, M. (1998).** Sequencing, disruption, and characterization of the *Candida albicans* sterol methyltransferase (ERG6) gene: drug susceptibility studies in *erg6* mutants. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(5), 1160–1167. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.5.1160>
57. **Kamli, M. R., Srivastava, V., Hajrah, N. H., Sabir, J. S. M., Hakeem, K. R., Ahmad, A., & Malik, M. A. (2021).** Facile Bio-Fabrication of Ag-Cu-Co Trimetallic Nanoparticles and Its Fungicidal Activity against *Candida auris*. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(1), 62. <https://doi.org/10.3390/jof7010062>
58. **Katragkou, A., McCarthy, M., Alexander, E. L., Antachopoulos, C., Meletiadis, J., Jabra-Rizk, M. A., Petratis, V., Roilides, E., & Walsh, T. J. (2015).** In vitro interactions between farnesol and fluconazole, amphotericin B or micafungin against *Candida albicans* biofilms. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 70(2), 470–478. <https://doi.org/10.1093/jac/dku374>
59. **Kean, R., Delaney, C., Sherry, L., Borman, A., Johnson, E. M., Richardson, M. D., Rautemaa-Richardson, R., Williams, C., & Ramage, G. (2018).** Transcriptome Assembly and Profiling of *Candida auris* Reveals Novel Insights into Biofilm-Mediated Resistance. *mSphere*, 3(4), e00334-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00334-18>
60. **Kovács, R., & Majoros, L. (2020).** Fungal Quorum sensing Molecules: A Review of Their Antifungal Effect against *Candida* Biofilms. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 6(3), 99. <https://doi.org/10.3390/jof6030099>
61. **Kovács, R., Bozó, A., Gesztelyi, R., Domán, M., Kardos, G., Nagy, F., Tóth, Z., & Majoros, L. (2016).** Effect of caspofungin and micafungin in combination with farnesol against *Candida parapsilosis* biofilms. *International journal of antimicrobial agents*, 47(4), 304–310. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.01.007>
62. **Lass-Flörl, C., Kanj, S. S., Govender, N. P., Thompson, G. R., 3rd, Ostrosky-Zeichner, L., & Govrins, M. A. (2024).** Invasive candidiasis. *Nature reviews. Disease primers*, 10(1), 20. <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00503-3>
63. **Li, X., Chen, Z., Wu, Y., Yan, Y., Sun, X., & Yuan, Q. (2018).** Establishing an Artificial Pathway for Efficient Biosynthesis of Hydroxytyrosol. *ACS synthetic biology*, 7(2), 647–654. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00385>

64. Li, D., She, X., & Calderone, R. (2020). The antifungal pipeline: the need is established. Are there new compounds?. *FEMS yeast research*, 20(4), foaa023. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foaa023>
65. Liao, Z., Qiu, F., Zeng, J., Gu, L., Wang, B., Lan, X., & Chen, M. (2018). A Novel UDP-Glycosyltransferase of *Rhodiola crenulata* Converts Tyrosol to Specifically Produce Icariside D2. *BioMed research international*, 2018, 7970590. <https://doi.org/10.1155/2018/7970590>
66. Lindsay, A. K., Deveau, A., Piispanen, A. E., & Hogan, D. A. (2012). Farnesol and cyclic AMP signaling effects on the hypha-to-yeast transition in *Candida albicans*. *Eukaryotic cell*, 11(10), 1219–1225. <https://doi.org/10.1128/EC.00144-12>
67. Lockhart, S. R., Chowdhary, A., & Gold, J. A. W. (2023). The rapid emergence of antifungal-resistant human-pathogenic fungi. *Nature reviews. Microbiology*, 21(12), 818–832. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00960-9>
68. Lu, Y., Su, C., Unoje, O., & Liu, H. (2014). Quorum sensing controls hyphal initiation in *Candida albicans* through Ubr1-mediated protein degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(5), 1975–1980. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318690111>
69. Lyman, M., Forsberg, K., Sexton, D. J., Chow, N. A., Lockhart, S. R., Jackson, B. R., & Chiller, T. (2023). Worsening Spread of *Candida auris* in the United States, 2019 to 2021. *Annals of internal medicine*, 176(4), 489–495. <https://doi.org/10.7326/M22-3469>
70. Mackie, J., Szabo, E. K., Urgast, D. S., Ballou, E. R., Childers, D. S., MacCallum, D. M., Feldmann, J., & Brown, A. J. (2016). Host-Imposed Copper Poisoning Impacts Fungal Micronutrient Acquisition during Systemic *Candida albicans* Infections. *PloS one*, 11(6), e0158683. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158683>
71. Massey, J., Zarnowski, R., & Andes, D. (2023). Role of the extracellular matrix in *Candida* biofilm antifungal resistance. *FEMS microbiology reviews*, 47(6), fuad059. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad059>
72. Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119–128. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
73. Mazi P. B., Olsen, M. A., Stwalley, D., Rauseo, A. M., Ayres, C., Powderly, W. G., & Spec, A. (2022). Attributable Mortality of *Candida* Bloodstream Infections in the Modern Era: A Propensity Score Analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 75(6), 1031–1036. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac004>

74. **Mehmood**, A., Liu, G., Wang, X., Meng, G., Wang, C., & Liu, Y. (2019). Fungal Quorum sensing Molecules and Inhibitors with Potential Antifungal Activity: A Review. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(10), 1950. <https://doi.org/10.3390/molecules24101950>
75. **Mionić** Ebersold, M., Petrović, M., Fong, W. K., Bonvin, D., Hofmann, H., & Milošević, I. (2018). Hexosomes with Undecylenic Acid Efficient against *Candida albicans*. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 8(2), 91. <https://doi.org/10.3390/nano8020091>
76. **Monteiro**, D. R., Arias, L. S., Fernandes, R. A., Deszo da Silva, L. F., de Castilho, M. O. V. F., da Rosa, T. O., Vieira, A. P. M., Straioto, F. G., Barbosa, D. B., & Delbem, A. C. B. (2017). Antifungal activity of tyrosol and farnesol used in combination against *Candida* species in the planktonic state or forming biofilms. *Journal of applied microbiology*, 123(2), 392–400. <https://doi.org/10.1111/jam.13513>
77. **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. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07779-6>
78. **Nagy**, F., Tóth, Z., Daróczi, L., Székely, A., Borman, A. M., Majoros, L., & Kovács, R. (2020). Farnesol increases the activity of echinocandins against *Candida auris* biofilms. *Medical mycology*, 58(3), 404–407. <https://doi.org/10.1093/mmy/myz057>
79. **Nagy**, F., Vitális, E., Jakab, Á., Borman, A. M., Forgács, L., Tóth, Z., Majoros, L., & Kovács, R. (2020). *In vitro* and *in vivo* Effect of Exogenous Farnesol Exposure Against *Candida auris*. *Frontiers in microbiology*, 11, 957. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00957>
80. **Pappas**, P. G., Lionakis, M. S., Arendrup, M. C., Ostrosky-Zeichner, L., & Kullberg, B. J. (2018). Invasive candidiasis. *Nature reviews. Disease primers*, 4, 18026. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26>
81. **Parente-Rocha**, J. A., Bailão, A. M., Amaral, A. C., Taborda, C. P., Paccez, J. D., Borges, C. L., & Pereira, M. (2017). Antifungal Resistance, Metabolic Routes as Drug Targets, and New Antifungal Agents: An Overview about Endemic Dimorphic Fungi. *Mediators of inflammation*, 2017, 9870679. <https://doi.org/10.1155/2017/9870679>

82. **Pendleton, K. M., Huffnagle, G. B., & Dickson, R. P.** (2017). The significance of Candida in the human respiratory tract: our evolving understanding. *Pathogens and disease*, 75(3), ftx029. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx029>
83. **Pfaller, M. A., Carvalhaes, C. G., Smith, C. J., Diekema, D. J., & Castanheira, M.** (2020). Bacterial and fungal pathogens isolated from patients with bloodstream infection: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2012-2017). *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 97(2), 115016. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115016>
84. **Polke, M., Leonhardt, I., Kurzai, O., & Jacobsen, I. D.** (2018). Farnesol signalling in Candida albicans - more than just communication. *Critical reviews in microbiology*, 44(2), 230–243. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1337711>
85. **Ramage, G., Martínez, J. P., & López-Ribot, J. L.** (2006). Candida biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS yeast research*, 6(7), 979–986. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00117.x>
86. **Ramage, G., Rajendran, R., Sherry, L., & Williams, C.** (2012). Fungal biofilm resistance. *International journal of microbiology*, 2012, 528521. <https://doi.org/10.1155/2012/528521>
87. **Rather, I. A., Sabir, J. S. M., Asseri, A. H., & Ali, S.** (2022). Antifungal Activity of Human Cathelicidin LL-37, a Membrane Disrupting Peptide, by Triggering Oxidative Stress and Cell Cycle Arrest in Candida auris. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 8(2), 204. <https://doi.org/10.3390/jof8020204>
88. **Rhodes, J., & Fisher, M. C.** (2019). Global epidemiology of emerging Candida auris. *Current opinion in microbiology*, 52, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.05.008>
89. **Rodrigues, C. F., & Černáková, L.** (2020). Farnesol and Tyrosol: Secondary Metabolites with a Crucial quorum sensing Role in Candida Biofilm Development. *Genes*, 11(4), 444. <https://doi.org/10.3390/genes11040444>
90. **Rossignol, T., Logue, M. E., Reynolds, K., Grenon, M., Lowndes, N. F., & Butler, G.** (2007). Transcriptional response of Candida parapsilosis following exposure to farnesol. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(7), 2304–2312. <https://doi.org/10.1128/AAC.01438-06>
91. **Ruiz-Gaitán A., Moret, A. M., Tacias-Pitarch, M., Aleixandre-López, A. I., Martínez-Morel, H., Calabuig, E., Salavert-Lletí, M., Ramírez, P., López-Hontangas, J. L., Hagen,**

- F., Meis, J. F., Mollar-Maseres, J., & Pemán, J. (2018). An outbreak due to *Candida auris* with prolonged colonisation and candidaemia in a tertiary care European hospital. *Mycoses*, 61(7), 498–505. <https://doi.org/10.1111/myc.12781>
92. Sabino, R., Veríssimo, C., Pereira, Á. A., & Antunes, F. (2020). *Candida auris*, an Agent of Hospital-Associated Outbreaks: Which Challenging Issues Do We Need to Have in Mind?. *Microorganisms*, 8(2), 181. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020181>
93. Semreen, M. H., Soliman, S. S. M., Saeed, B. Q., Alqarihi, A., Uppuluri, P., & Ibrahim, A. S. (2019). Metabolic Profiling of *Candida auris*, a Newly-Emerging Multi-Drug Resistant *Candida* Species, by GC-MS. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(3), 399. <https://doi.org/10.3390/molecules24030399>
94. Shastri, P. S., Shankarnarayan, S. A., Oberoi, J., Rudramurthy, S. M., Wattal, C., & Chakrabarti, A. (2020). *Candida auris* candidaemia in an intensive care unit - Prospective observational study to evaluate epidemiology, risk factors, and outcome. *Journal of critical care*, 57, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.01.004>
95. 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. <https://doi.org/10.3201/eid2302.161320>
96. Shuping, L., Mpembe, R., Mhlanga, M., Naicker, S. D., Maphanga, T. G., Tsotetsi, E., Wadula, J., Velaphi, S., Nakwa, F., Chibabhai, V., Mahabeer, P., Moncho, M., Prentice, E., Bamford, C., Reddy, K., Maluleka, C., Mawela, D., Modise, M., Govender, N. P., & for GERMS-SA (2021). Epidemiology of Culture-confirmed Candidemia Among Hospitalized Children in South Africa, 2012-2017. *The Pediatric infectious disease journal*, 40(8), 730–737. <https://doi.org/10.1097/INF.00000000000003151>
97. Silva, I., Miranda, I. M., & Costa-de-Oliveira, S. (2024). Potential Environmental Reservoirs of *Candida auris*: A Systematic Review. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 10(5), 336. <https://doi.org/10.3390/jof10050336>
98. Song, N., Xia, H., Xie, Y., Guo, S., Zhou, R., Shangguan, L., Zhuang, K., Zhang, H., An, F., Zheng, X., Yao, L., Yang, S., Chen, X., & Dai, J. (2024). Semi-rational design and modification of phosphoketolase to improve the yield of tyrosol in *Saccharomyces cerevisiae*. *Synthetic and systems biotechnology*, 10(1), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2024.11.007>

99. **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), e02055-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.02055-18>
100. **Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021).** *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(2), 79. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>
101. **Vila, T., Kong, E. F., Ibrahim, A., Piepenbrink, K., Shetty, A. C., McCracken, C., Bruno, V., & Jabra-Rizk, M. A. (2019).** *Candida albicans* quorum sensing molecule farnesol modulates staphyloxanthin production and activates the thiol-based oxidative-stress response in *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 10(1), 625–642. <https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1635418>
102. **World Health Organization (WHO) (2022, October).** WHO releases first-ever list of health-threatening fungi Retrieved from <https://www.who.int/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi>
103. **Wiederhold N. P. (2017).** Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. *Infection and drug resistance*, 10, 249–259. <https://doi.org/10.2147/IDR.S124918>
104. **Wongsuk T., Pumeesat, P., & Luplertlop, N. (2016).** Fungal quorum sensing molecules: Role in fungal morphogenesis and pathogenicity. *Journal of basic microbiology*, 56(5), 440–447. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500759>
105. **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), 188. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0187>

11. Tárgyszavak- Keywords

11.1 Magyar tárgyszavak

Candida auris

Quorum- sensing

Quorum- sensing molekulák

Farnesol

Tyrosol

oxidatív stressz

RNS-seq

RT-qPCR

11.2 English keywords

Candida auris

Quorum sensing

Quorum.sensing molecules

Farnesol

Tyrosol

Oxidative stress

RNS-seq

RT-qPCR

12. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni őszinte köszönetemet mindazoknak, akik támogatásukkal, szakmai tanácsaikkal és biztatásukkal hozzájárultak disszertációm elkészítéséhez.

Elsősorban hálával tartozom témavezetőmnek, Dr. Kovács Renátónak, aki szakmai útmutatásával, értékes észrevételeivel és folyamatos támogatásával hozzájárult ahhoz, hogy a dolgozatom a lehető legjobb formában elkészüljön.

Köszönetemet szeretném kifejezni Prof. Dr. Kónya József intézetigazgatónak, aki lehetővé tette számomra, hogy az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben végezhessem PhD tanulmányaimat.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Majoros Lászlónak, a mikológiai laboratórium vezetőjének iránymutatásáért és szakmai javaslataiért.

Szeretném kifejezni hálámat Dr. Jakab Ágnesnek szakmai támogatásáért és értékes tanácsaiért. Útmutatása és építő észrevételei nagyban hozzájárultak a kutatás sikeres megvalósításához.

Köszönettel tartozom Ragyák Ágotának és Sajtos Zsófinak, akikkel közösen végeztük a *C. auris* sejtek ICP-OES méréseit. Nagyra értékelem a szakmai segítségüket és az együttműködésüket a kutatás során.

Köszönetemet szeretném még kifejezni Andrew M. Borman-nak, aki rendelkezésünkre bocsátotta a törzsgyűjteményünkben megtalálható *Candida auris* izolátumokat.

Köszönettel tartozom az Orvosi Mikrobiológiai Intézet valamennyi dolgozójának a támogatásukért, segítségükért és a kutatásom során nyújtott együttműködésükért.

Köszönetemet szeretném kifejezni az Innovációs és Technológiai Minisztérium Új Nemzeti Kiválósági Programjának (ÚNKP-23-3), a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap forrásaiból nyújtott támogatásért, amely lehetővé tette a kutatómunka elvégzését.

Végezetül hálás köszönettel tartozom családomnak és barátaimnak a türelmükért és a folyamatos biztatásukért. Támogatásuk és szeretetük nélkülözhetetlen háttérrel biztosított a munkám befejezéséhez.

13. Függelék

13.1 Mellékletek

1. melléklet: Az farnesol-os RT-PCR vizsgálat során használt primerek. Az endogén kontrollként alkalmazott gént aláhúzással jelöltük.

Gének	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
<u>ACT1</u> (B9J08_000486)	CTTGTTCCCAGGTATTGC	CTCGTCGTATTCTTGCTTG
ADH1 (B9J08_004331)	CTCGCTGCTCCCATCTTG	TCGTCACCACCGTCAATG
CAT1 (B9J08_002298)	GTGCCTACGGTGTCTTTG	TTGGATGGGTCTCTGATG
CDR1 (B9J08_000164)	TTGGAGATGGGTGCTTAC	GCTGAAGGTTGATGGATG
MDR1 (B9J08_003981)	CGACCAAGACCAACCACATTC	CGTATCCGAACACAAAAAGCG
PFK1 (B9J08_004309)	CGCCTACTCTTCTTTGGAC	ACGGTGGTGTCTCTCTTC
RBT1 (B9J08_001458)	AGGTAACGGTGGCAAAGGTG	AAGGCAGCAGCAAGCAAAG
HGT2 (B9J08_002251)	TACCTCCCCAGAACCATC	AATAGTGCCCCAAAAGTCC
POT1 (B9J08_001484)	CCCTTCCTCCAAACAGTC	AATACCAGCAGCCAAACAG
NRG1 (B9J08_005429)	GTGCCTTATCAGAACATTGC	GCCCAGTGTAGTGAACAGAC
PCD11 (B9J08_002231)	TGTTTGTCGGTGATGGTTC	TGGCTGGATGTCGTTGTAG
FTR1 (B9J08_002108)	ACGGTTCTGTCCTTTCCTAC	CTTCTTGCCCTTGATATGG
INO1 (B9J08_002762)	TTCCTTGTTGACGCTGGTATC	CGACATCCTTTCCTTCTTG
ERG1 (B9J08_000261)	GCATTGTACTCGTTATTCGC	ACCCTTCTCGCAGTAGTTG
CCP1 (B9J08_002366)	ACTGGGTGCCTATGTTCGTAAG	GTTTCATCATCCTGGTATTGCC

2. melléklet: A tyrosol-os RT-PCR vizsgálat során használt primerek. Az endogén kontrollként alkalmazott géneket aláhúzással jelöltük.

Gének	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
<u>ACT1</u> (B9J08_000486)	CTTGTTCCCAGGTATTGC	CTCGTCGTATTCTTGCTTG
SOD4 (B9J08_001292)	TTACCACGGCTACGAAAAGG	GCACCACCACAGACAAGTTG
CIP1 (B9J08_003024)	GTTGGTGTGGATGAAAGC	AATCGTGCCTGAGTTGAC
CAT1 (B9J08_002298)	GTGCCTACGGTGTCTTTG	TTGGATGGGTCTCTGATG
HSP21 (B9J08_003627)	GCTTGCTGGAAGAAACACC	GACCGCCTTGTCAAAACC
LIP5 (B9J08_004173)	GTTGGTGCTGCTTTCTCC	AATGCTCACGGTTTCCTC
NRG1 (B9J08_005429)	GTGCCTTATCAGAACATTGC	GCCCAGTGTAGTGAACAGAC
HYR1 (B9J08_004098)	GGATTGGCTGCTTCTGTC	CCTTCGTTGTTCACTTTGC
RBT1 (B9J08_001458)	AGGTAACGGTGGCAAAGGTG	AAGGCAGCAGCAAGCAAAG
CDR1 (B9J08_000164)	TTGGAGATGGGTGCTTAC	GCTGAAGGTTGATGGATG
FTR1 (B9J08_002108)	ACGGTCTGTCTTTTCCTAC	CTTCTTGCCCTTGATATGG
PDC11 (B9J08_002231)	TGTTTGTTCGGTGATGGTTC	TGGCTGGATGTCGTTGTAG
ERG1 (B9J08_000261)	GCATTGTACTCGTTATTCGC	ACCCTTCTCGCAGTAGTTG
PFK1 (B9J08_004309)	CGCCTACTCTTCTTTGGAC	ACGGTGGTGTCTTCTTTTC
ADH1 (B9J08_004331)	CTCGCTGCTCCCATCTTG	TCGTCACCACCGTCAATG
FAS1 (B9J08_001296)	GAGCAAGGTATGGGTATGGAC	GGAGAAAGGAAGGTGTAGGAAG
FAS2 (B9J08_002420)	CGTCCACATCCCTCATTG	TCCTTAGCGTCGTTATCGG

3. melléklet: Kiválasztott *Candida auris* gének transzkripciók változásai farnesol kezelés hatására. A táblázat tartalmazza a vizsgált géneket, azok csoportját, valamint az RT-qPCR és RNS-Seq eredményeket. A táblázatban pirossal kiemelt értékek a felülszabályozott géneket, míg a kék értékek az alulszabályozott géneket jelölik. A Pearson-féle korrelációs együttható az RT-qPCR és az RNS-Seq adatok között: 0,95, ami erős pozitív korrelációra utal.

Gén azonosítója	Gén neve	Leírás	Farnesollal		
			kezelt vs. kezeletlen kontroll		
			RT-qPCR ($\Delta\Delta C_P$; átlag $\pm$	RNS-Seq (FC; átlag)	
B9J08_002298	<i>CAT1</i>	Kataláz; oxidatív stressz-, neutrofil- és peroxidáz rezisztencia; virulenciafaktor; szabályozza: vas, ciklopirox, flukonazol, szénforrás, pH, Rim101, Ssn6, Hog1, Hap43, Sfu1, Sef1, farnesol, általános stresszválasz;	0,93	$\pm 0,26$	1,5995841
B9J08_001458	<i>RBT1</i>	Hwp1-hez hasonló sejtfalféhrje; virulenciához szükséges; prediktált glikoziláció; flukonazol és Tup1 által represszált; farnesol, α -faktor, szérum, hifás növekedés és lúgos pH indukálja; Rfg1 és Rim101 által szabályozott.	-0,68	$\pm 0,21$	-2,8771276
B9J08_005429	<i>NRG1</i>	Transzkripció faktor/represszor; szabályozza a klamidospóra-képződést, a hifagén-indukciót, a virulenciát és a stresszválasz-gének expresszióját; Tup1-függő és -független szabályozás; flow-modell biofilmben indukált	-2,74	$\pm 0,31$	-3,6490498
B9J08_003981	<i>MDR1</i>	Plazmamembrán-lokalizált MDR/MFS multidrog efflux pumpa; preferált szubsztátja a metotrexát; túlermelése gyógyszerrezisztens klinikai izolátumokban flukonazolrezisztenciát okoz; fiatal biofilmben represszált	4,23	$\pm 0,48$	6,2504807
B9J08_000164	<i>CDR1</i>	Az ABC szupercsaládba tartozó multidrogtranszporter; foszfolipideket szállít intracellulárisból extracelluláris irányba; β -ösztradiol, progeszteron, kortikoszteroidok és koleszterin indukálják	1,03	$\pm 0,23$	1,5790383
B9J08_002251	<i>HGT2</i>	Feltételezett MFS glükóztranszporter; a <i>Candida albicans</i> 20 tagú glükóztranszporter-családjának tagja; 12 valószínű membránátvitelő szegmens; 2% glükózt tartalmazó gazdag médiumban expresszálódik	3,13	$\pm 0,24$	5,159658
B9J08_002108	<i>FTR1</i>	Magas affinitású vas-permeáz; szükséges egér virulenciához és alacsony vas koncentrációjú növekedéshez; szabályozza: vas, amfotericin B, kasztopofungin, ciklopirox, Hog1p, Sef1p, Sfu1p, Hap43p; kiegészíti a <i>S. cerevisiae</i> Ftr1 vastranszportját; Hap43p által represszált.	-1,79	$\pm 0,18$	-4,0177274
B9J08_004309	<i>PFK1</i>	Foszfofruktokináz α -alegység; aktiválja: fruktóz-2,6-biszfoszfát, AMP; gátolja: ATP; hifás indukciókor aktivitása csökken; fagocitózis alatt represszált; flukonazol és flow-modell biofilm indukálja	-1,42	$\pm 0,86$	-1,3981122
B9J08_002231	<i>PCD12</i>	Feltételezett piruvát-dekarboxiláz; gomba-specifikus (nincs emberi vagy egér homológ).	-2,98	$\pm 0,26$	-3,9550416
B9J08_004331	<i>ADH1</i>	Alkohol-dehidrogenáz; etanolt acetaldehiddé oxidál; élesztősejt felszínén lokalizált; immunogén emberben és egérben; kiegészíti a <i>S. cerevisiae</i> adh1 adh2 adh3 mutáns; flukonazol és farnesol indukálja	-0,67	$\pm 0,41$	-1,582604
B9J08_002762	<i>INO1</i>	Inozitol-1-foszfát-szintáz; emberben antigén; farnesol vagy kasztopofungin represszája biofilmben; inositol/kolin szabályozó elem a gén 5'-regiójában	-2,95	$\pm 0,65$	-9,487931
B9J08_001484	<i>POT1</i>	Feltételezett peroxisomális 3-oxoacil-CoA tioláz; transzkriptumát Nrg1 és Mig1 szabályozza; farnesol indukálja; Hap43 represszája.	1,7	$\pm 0,57$	3,7926216
B9J08_000261	<i>ERG1</i>	Szkvalén-epoxidáz; szkvalén 2,3(S)-oxidoszskvaléné epoxidálása; ergoszterol-bioszintézis; allylamin típusú antifungális gyógyszer célpontja; NADH redukáló kofaktor (de <i>S. cerevisiae</i> Erg1 NADPH-t használ)	-0,86	$\pm 0,55$	-1,7247248

4. melléklet: Kiválasztott *Candida auris* gének transzkripciósz változásai tyrosol kezelés hatására. A táblázat tartalmazza a vizsgált géneket, azok csoportját, valamint az RT-qPCR és RNS-Seq eredményeket. A táblázatban pirossal kiemelt értékek a felülszabályozott géneket, míg a kék értékek az alulszabályozott géneket jelölik. A Pearson-féle korrelációs együttható az RT-qPCR és az RNS-Seq adatok között: 0,95, ami erős pozitív korrelációra utal.

Gén azonosítója	Gén neve	Leírás	tyrosollal		
			kezelt vs. kezeletlen kontroll		
			RT-qPCR		RNS-Seq (FC; átlag)
			(ΔΔCP; átlag ± szórás)		
B9J08_004098	<i>HYR1</i>	GPI-hoz kötött hifás sejtfalfehérje	1,65	±0,12	2,88
B9J08_004176	<i>LIP4</i>	Elválasztott lipáz	1,35	±0,06	1,99
B9J08_001458	<i>RBT1</i>	Hwp1-hez hasonló sejtfalfehérje	2,02	±0,31	2,76
B9J08_005429	<i>NRG1</i>	Transzkripciósz faktor/represszor	-1,34	±0,77	-1,65
B9J08_003627	<i>HSP21</i>	Kis hőshock-fehérje	1,24	±0,54	5,03
B9J08_004309	<i>PFK1</i>	Foszfofruktokináz α-alegység	-1,52	±0,94	-1,20
B9J08_002231	<i>PDC11</i>	Piruvát-dekarboxiláz	0,61	±0,37	1,18
B9J08_004331	<i>ADH1</i>	Alkohol-dehidrogenáz	0,41	±0,33	1,19
B9J08_000261	<i>ERG1</i>	Szqualén-epoxidáz	-0,45	±0,37	-1,08
B9J08_002420	<i>FAS2</i>	Zsírsv-szintáz α-alegység	-0,87	±0,31	-1,67
B9J08_001296	<i>FAS1</i>	Zsírsv-szintáz β-alegység	-0,98	±0,56	-1,56
B9J08_002298	<i>CAT1</i>	Kataláz	0,94	±0,07	1,50
B9J08_001292	<i>SOD4</i>	Cu-tartalmú szuperoxid-dizmutáz	-1,57	±0,39	-3,99
B9J08_000164	<i>CDR1</i>	ABC szupercsaládba tartozó multidrogtanszporter	0,84	±0,74	1,12
B9J08_003024	<i>CIP1</i>	Feltételezett oxidoreduktáz	1,55	±0,27	2,49
B9J08_002108	<i>FTR1</i>	Magas affinitású vas-permeáz	-1,44	±0,14	-2,13

13.2 A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/108/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Balla Noémi

Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Balla, N.**, Jakab, Á., Kovács, F., Ragyák, Á., Tóth, Z., Balázs, D., Forgács, L., Bozó, A., Al Refai, F., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: Total transcriptome analysis of *Candida auris* planktonic cells exposed to tyrosol.
AMB Express. 13 (1), 1-10, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-023-01586-z>
IF: 3.5
2. Jakab, Á., **Balla, N.**, Ragyák, Á., Nagy, F., Kovács, F., Sajtos, Z., Tóth, Z., Borman, A. M., Pócsi, I., Baranyai, E., Majoros, L., Kovács, R. L.: Transcriptional profiling of the *Candida auris* response to exogenous farnesol exposure.
mSphere. 6 (5), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00710-21>
IF: 5.029

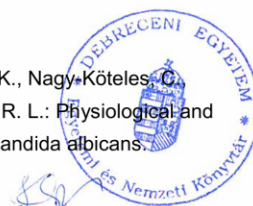
További közlemények

3. Kovács, F., Jakab, Á., **Balla, N.**, Tóth, Z., Balázs, D., Forgács, L., Harmath, A., Bozó, A., Ragyák, Á., Majoros, L., Kovács, R. L.: A comprehensive analysis of the effect of quorum-sensing molecule 3-oxo-C12-homoserine lactone on *Candida auris* and *Candida albicans*.
Biofilm. 9, 1-12, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biofilm.2025.100259>
IF: 4.9 (2024)
4. **Balla, N.**, Kovács, F., Tóth, Z., Harmath, A., Bozó, A., Majoros, L., Kovács, R. L., Jakab, Á.: Isolate Specific Transcriptome Changes Exerted by Isavuconazole Treatment in *Candida auris*.
Mycopathologia. 190 (1), 1-11, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-024-00919-1>
IF: 2.9 (2024)





5. Jakab, Á., Kovács, F., **Balla, N.**, Nagy-Köteles, C., Ragyák, Á., Nagy, F., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: Comparative transcriptional analysis of *Candida auris* biofilms following farnesol and tyrosol treatment.
Microbiol. Spectr. 12 (4), 1-12, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.02278-23>
IF: 3.8
6. Kovács, F., **Balla, N.**, Bozó, A., Harmath, A., Jakab, Á., Tóth, Z., Nagy, F., Majoros, L., Kovács, R. L.: Epidemiology, clinical characteristics, outcome and biofilm forming properties in candidaemia: a single-centre retrospective 4-year analysis from Hungary.
Mycoses. 67 (4), 1-12, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/myc.13727>
IF: 3.1
7. Balázs, D., Tóth, Z., Locke, J. B., Borman, A. M., Forgács, L., **Balla, N.**, Kovács, F., Kovács, R. L., Amano, C., Baran, T. I., Majoros, L.: In Vivo Efficacy of Rezafungin, Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin against Four *Candida auris* Clades in a Neutropenic Mouse Bloodstream Infection Model.
J. Fungi. 10 (9), 1-14, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jof10090617>
IF: 4
8. Demeter, F., Török, P., Kiss, A., Kovásznai-Oláh, R., Máthéné Szigeti, Z., Baksa, V., Kovács, F., **Balla, N.**, Fenyvesi, F., Váradi, J., Borbás, A., Herczeg, M.: First Synthesis of DBU-Conjugated Cationic Carbohydrate Derivatives and Investigation of Their Antibacterial and Antifungal Activity.
Int. J. Mol. Sci. 24 (4), 1-20, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24043550>
IF: 4.9
9. Kovács, R. L., Erdélyi, L. J., Fenyvesi, F., **Balla, N.**, Kovács, F., Vámosi, G., Klusóczki, Á., Gyöngyösi, A., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Váradi, J.: Concentration-Dependent Antibacterial Activity of Chitosan on *Lactobacillus plantarum*.
Pharmaceutics. 15 (1), 1-11, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics15010018>
IF: 5.4
10. Jakab, Á., Kovács, F., **Balla, N.**, Tóth, Z., Ragyák, Á., Sajtos, Z., Csillag, K., Nagy-Köteles, C., Nemes, D., Bácskay, I., Pócsi, I., Majoros, L., Kovács, Á. T., Kovács, R. L.: Physiological and transcriptional profiling of surfactin exerted antifungal effect against *Candida albicans*.
Biomed. Pharmacother. 152, 1-10, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113220>
IF: 7.5





11. **Balla, N.**, Kovács, F., Balázs, B., Borman, A. M., Bozó, A., Jakab, Á., Tóth, Z., Kobaissi, O., Majoros, L., Kovács, R. L.: Synergistic Interaction of Caspofungin Combined with Posaconazole against FKS Wild-Type and Mutant *Candida auris* Planktonic Cells and Biofilms.
Antibiotics-Basel. 11 (11), 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics11111601>
IF: 4.8
12. Nagy, L., Rauch, B., **Balla, N.**, Ujlaki, G., Kis, G., Omar, A. R., Kristóf, E., Sipos, A., Antal, M., Tóth, A., Debreceni, T., Horváth, A., Maros, T. M., Csizmadia, P., Szeráfin, T., Bai, P.: Olaparib induces browning of in vitro cultures of human primary white adipocytes.
Biochem. Pharmacol. 167, 76-85, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2019.06.022>
IF: 4.96

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 54,789

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
8,529**

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

Debrecen, 2026.03.10.

