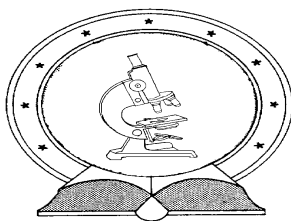


DE TTK



1949

Opportunista patogén élesztőgombák fenotípusos és genetikai diverzitásának vizsgálata

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

KREITH-BOROS ENIKŐ

Témavezető:

Prof. Dr. Pócsi István, tanszékvezető egyetemi tanár

DEBRECENI EGYETEM

Természettudományi Doktori Tanács

Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

Debrecen, 2018

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi Doktori Tanács a **Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola Biológia Doktori Programja** keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2018.

.....
A jelölt: Kreith-Boros Enikő

Tanúsítom, hogy **Kreith-Boros Enikő** doktorjelölt **2013-2016** között a fent megnevezett Doktori Iskola **Biológia Doktori Programjának** keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2018.

.....
A témavezető: Prof. Dr. Pócsi István

Opportunista patogén élesztőgombák fenotípusos és genetikai diverzitásának vizsgálata

Investigation of the phenotypic and genotypic diversity of opportunistic pathogenic fungi

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a Biológia tudományágban

Írta: **Kreith-Boros Enikő** okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem **Juhász-Nagy Pál Doktori Iskolája**
(**Biológia Doktori program** programja) keretében

Témavezető:

Prof. Dr. Pócsi István

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Batta Gyula

tagok: Dr. Gácsér Attila

Dr. Szabó Judit

A doktori szigorlat időpontja: 2017. február 24.

Az értekezés bírálói:

.....

.....

A bírálóbizottság:

elnök:

tagok:

.....

.....

.....

Az értekezés védésének időpontja: Debrecen, 2018.

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke.....	1
2. Bevezetés	3
3. Célkitűzések.....	6
4. Szakirodalmi áttekintés.....	9
4.1. A <i>Candida</i> -fajok és a <i>C. albicans</i> általános jellemzése.....	9
4.2. A <i>Saccharomyces</i> -fajok és a <i>S. cerevisiae</i> általános jellemzése	12
4.3. A <i>C. albicans</i> globális és klinikai diverzitása.....	14
4.4. A <i>S. cerevisiae</i> globális diverzitása.....	19
4.5. A <i>C. albicans</i> és <i>S. cerevisiae</i> fajok virulencia faktorai.....	21
4.6. A <i>C. albicans</i> és a <i>S. cerevisiae</i> fajok által okozott megbetegségek és azok klinikai jelentősége	27
5. Anyagok és Módszerek	34
5.1. Az izolátumok és fenntartásuk	34
5.2. A <i>C. albicans</i> izolátumok virulencia faktorainak vizsgálatára vonatkozó módszerek	40
5.2.1. A <i>C. albicans</i> izolátumok hifázó képességének mérése Spider agaron....	40
5.2.2. A <i>C. albicans</i> izolátumok inert felszínhez történő adhéziójának vizsgálata	41
5.3. A <i>C. albicans</i> és <i>S. cerevisiae</i> izolátumok fenotípusos tulajdonságainak vizsgálatára alkalmazott módszerek	42
5.3.1. Hidrolitikus enzimaktivitások meghatározása	42
5.3.2. Hemolítikus aktivitás meghatározása	42

5.3.3. Magas hőmérsékleten történő szaporodás vizsgálata.....	43
5.3.4. Antifungális szerekkel és oxidatív stresszt okozó szerrel szembeni érzékenység, MIC érték meghatározása	44
5.4. A <i>C. albicans</i> izolátumok ABC genotípusainak meghatározása	45
5.5. Statisztikai analízis a <i>C. albicans</i> klinikai izolátumokra	46
5.5.1. Statisztikai elemzések	47
5.5.2. Az eredmények vizualizálása	49
6. Eredmények.....	52
6.1. A <i>C. albicans</i> és <i>S. cerevisiae</i> izolátumok fenotípusos diverzitásának vizsgálata	52
6.1.1. A <i>C. albicans</i> izolátumok hifázó képességének vizsgálata	52
6.1.2. A <i>C. albicans</i> izolátumok inert felszínhez történő adhéziónak képességének vizsgálata	55
6.1.3. A foszfolipáz aktivitás meghatározása	57
6.1.4. A proteáz aktivitás meghatározása.....	61
6.1.5. Az izolátumok hemolitikus aktivitásának meghatározása	64
6.1.6. Az izolátumok magas hőmérsékleten történő szaporodásának vizsgálata	68
6.1.7. Az antifungális szerekkel és oxidatív stresszt okozó szerrel szembeni érzékenység vizsgálata.....	72
6.2. Az ABC genotípusok megoszlása <i>C. albicans</i> izolátumok esetén.....	78
6.3. Statisztikai elemzések a <i>C. albicans</i> klinikai izolátumokra.....	80
6.3.1. Az izolátumok ABC genotípusai	81
6.3.2. Az izolátumok hifázó képessége	82
6.3.3. Az izolátumok adhéziónak képessége.....	82

6.3.4. Az izolátumok antifungális szerekre és az MSB-re kapott MIC értékei	83
6.3.5. Az izolátumok hidrolitikus enzimaktivitásának értékei	84
6.3.6. Az izolátumok hemolítikus aktivitása	84
6.3.7. Az izolátumok magas hőmérsékleten történő szaporodása	85
6.3.8. A <i>C. albicans</i> izolátumok fenotípusos tulajdonságainak vizualizálása	87
7. Eredmények megbeszélése.....	89
7.1. A <i>C. albicans</i> izolátumok különböző fenotípusos tulajdonságainak jellemzése	89
7.2. A <i>C. albicans</i> izolátumok fenotípusos tulajdonságainak és az ABC genotípusnak az összefüggése a statisztikai analízis alapján.....	90
7.3. A <i>C. albicans</i> genotípusok eloszlásának összefüggése a betegtől függő és azoktól független faktorokkal és ennek jelentősége	91
7.4. A <i>C. albicans</i> izolátumok betegfüggő és betegtől független tulajdonságainak összefüggése a vizsgált fenotípusos paraméterekkel	92
7.5. A <i>S. cerevisiae</i> klinikai izolátumok fenotípusos és virulencia faktorainak jellemzése és megfigyeléseink.....	95
8. Összefoglalás	97
9. Summary.....	100
10. Irodalomjegyzék	103
11. Köszönetnyilvánítás	124
12. Tudományos közlemények jegyzéke	126
13. Függelék.....	128

1. Rövidítések jegyzéke

AGNES	Hierarchikus klaszterezési eljárás („Agglomerative nesting”)
ALS	Agglutininszerű szekvencia („Agglutinin-like sequence”)
AmB	Amphotericin B
BSA	Borjú szérum albumin („Bovine serum albumin”)
CFU	Telepképző egység („Colony forming unit”)
CLSI	„Clinical and Laboratory Standards Institute”
DST	Diploid szekvencia típus („Diploid sequence type”)
EUCAST	„European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing”
EPS	Extracelluláris polimer anyagok („Extracellular polymeric substances”)
Flu	Flukonazol
HI	Hemolítikus index
Hwp1	Hifa sejtfal protein1 („Hyphal wall protein 1”)
MIC	Minimális gátló koncentráció („Minimal inhibitory concentration”)
MLST	„Multilocus sequence typing”
MSB	Menadion-nátrium-biszulfit („Menadione sodium bisulphite”)
MTL	Párosodási típusok („Mating type locus”)
NCCLS	„National Committee for Clinical Laboratory Standards”
OD	Optikai denzitás („Optical density”)

ROS	Reaktív oxigén részecskék („Reactive oxygen species”)
SAP	Szekretált aszpartát proteáz enzimek
SDA	Sabouraud dextróz tápagar („Sabouraud dextrose agar”)
SDB	Sabouraud dextróz tápoldat („Sabouraud dextrose broth”)
PBS	Foszfát puffer („Phosphate buffered saline”)
PCR	Polimeráz láncreakció („Polymerase chain reaction”)
PP	polipropilén
Pz	precipitációs zónahányados
<i>t</i> BOOH	<i>Terc</i> -butil-hidroperoxid
YPD	Élesztőkivonat-pepton-dextróz tápoldat („Yeast Extract Peptone Dextrose”)

2. Bevezetés

A *Candida albicans* (*C. albicans*) a legtöbbet tanulmányozott opportunista humán patogén élesztőgomba. Az ember normál mikrobaflórájának tagjaként jelen van az egészséges szervezetben is, a szájüregben, az emésztőrendszerben és a női nemi szervek nyálkahártyáján. A faj által kiváltott enyhébb felületi fertőzések előfordulhatnak egészséges egyéneknél is, az immunrendszer legyengülésével pedig komolyabb, szerveket vagy az egész szervezetet és vérkeringést érintő fertőzés alakulhat ki (Brown és mtsai. 2012). Az invazív gombás fertőzéseket 80-90%-ban a *Candida* fajok okozzák, ezen belül is a leggyakrabban izolált faj a klinikumban (több mint 50%-ban) a *C. albicans* gomba (Sardi és mtsai. 2013).

A *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) élesztőgomba az ember által a sörgyárásban, borászatban és pékiparban a legrégebb óta alkalmazott mikroba (McGovern és mtsai. 2004, Yáñez és mtsai. 2009). Az *S. cerevisiae* élelmiszerként vagy napjainkban probiotikumként (*S. cerevisiae* 'var. *boulardii*') való fogyasztása jótékony hatással is járhat (Moyad 2007; Ghannoum és mtsai. 2010) ugyanakkor előfordultak már olyan esetek is, ahol gombás fertőzések okozójaként izoláltak *S. cerevisiae*-t (Smith és mtsai. 2002, Enache-Angoulvant 2005).

Tanszékünkön az elmúlt évtizedben *C. albicans* klinikai izolátumokkal számos, különböző megközelítést alkalmazó kutatás látott napvilágot. Ezek egyikében klinikai izolátumok és azok *tBOOH* toleráns mutáns leszármazottainak fenotípusos tulajdonságait és virulencia faktorait hasonlították össze. Megfigyelték, hogy a mutáns utódokban létrehozott

változtatások genetikailag stabilnak bizonyultak, valamint azt, hogy az izolátumok oxidatív stresszt okozó szerrel (*t*BOOH) való folyamatos kezelése a gomba antioxidáns védelmi rendszerének állandó indukálódását eredményezi, amely fokozott oxidatív stressz toleranciát, valamint csökkent hifa képzést és csökkent mértékű virulenciát eredményez (Fekete és mtsai. 2007, 2008). Tanulmányozták a klinikumban széleskörben alkalmazott antifungális szerek hatását a *C. albicans* fenotípusos tulajdonságaira és virulenciájára, valamint egyes antifungális szerek interakcióját is vizsgálták (Gyetzvai és mtsai. 2006 a, b). Kutatócsoportunk érdeklődésének középpontjában állnak továbbá a *C. albicans* morfológiai átalakulása és a gombafertőzés közötti összefüggések feltárásának kutatása és a gomba stresszhez történő adaptációjára irányuló vizsgálatok (Jakab és mtsai. 2014, 2016 a) is.

A *C. albicans* világszerte elterjedt, így egyes földrajzi területeken felmérhető diverzitásával több tanulmány is foglalkozott. A klinikai *C. albicans* izolátumok globális szintű vizsgálatáról elsősorban Odds és munkatársai számoltak be. Genotipizálási módszerekkel illetve antifungális érzékenység vizsgálatok összevetésével tanulmányozták a különböző földrajzi területekről és eltérő anatómiai forrásból (testrész, testtáj) származó *C. albicans* izolátumokat. Megfigyelték, hogy az általuk meghatározott egyes kládokban (a klád genetikailag rokon izolátumok csoportja) különböző földrajzi területről származó és eltérő genotípusú gombák fordulhatnak elő, illetve, hogy hasonló flucitozin toleranciával rendelkező élesztőgombák és AIDS-ben szenvedő betegek szájából származó izolátumok előfordulása egy-egy kládban gyakoribb (Odds és mtsai. 2006, 2007).

Az általánosan biztonságosnak tartott *S. cerevisiae* (U.S. Food and Drug Administration; <https://www.fda.gov/>) élesztőgombáról napjainkban

sem nyilvánvaló, hogy az emberi szervezetben való kolonizációja átmeneti vagy állandó jellegű, és az általa okozott mikózisokat mi váltja ki pontosan (Goldstein és McCusker 2001; Strobe és mtsai. 2015). A *S. cerevisiae* esetleges opportunistá patogénné válásáért felelőssé tehető fenotípusos és genotípusos tulajdonságokat, feltételezhető virulencia faktorokat Anoop és munkatársai (2015) tanulmányozták, akik azt tapasztalták, hogy az említett tulajdonságok gyakran nagyon hasonlóak a nem-klinikai és klinikai *S. cerevisiae* izolátumokat tekintve.

3. Célkitűzések

Az invazív gombás megbetegedések számának növekedése és az előbbieken felsorolt, a két faj diverzitásával foglalkozó tanulmányok nyomán fogalmazódott meg kutatómunkám célkitűzése. Célunk az volt, hogy egy szűk földrajzi területen belül vizsgáljuk meg a klinikai *C. albicans* és *S. cerevisiae* izolátumok fenotípusos tulajdonságait, illetve a *C. albicans* izolátumok ABC genotípusait [három féle genotípus: a 25S riboszomális DNS tandem ismétlődésekben előforduló egyik transzpozábilis intron hiánya (A), jelenléte (B) és részleges jelenléte (C) alapján], képet kapva arról, hogy egy jól behatárolható területen, egy klinikán, mennyire sokfélék az említett élesztők. Célul tűztük ki annak felmérését, hogy milyen geno- és fenotípusos tulajdonságokkal jellemezhetők az egyes, eltérő betegekben és eltérő anatómiai helyeken izolálható élesztők. Az izolátumokat vizsgálatainkban ún. metapopulációként értelmeztük. Az általunk vizsgált gombák egyaránt származhattak külön kládokból vagy alpopulációkból, valamint lehettek a betegek szervezetében kommenzalistaként előforduló mikroflóra részei vagy olyan gombák, amelyeket kórházban vagy máshol szerzett fertőzés következményeként izoláltak. Az egyes mintavételi eseményeket (az izolálást) úgy definiáltuk, mint amelyek megmutatják azokat az izolátumokat, amelyek a beteg adott időpontban (év, hónap) testtájában vagy az egyes anatómiai helyeken (értelmezésünkben: a gomba élettere, niche-e) kellő számban előfordulnak ahhoz, hogy izolálni lehessen azokat. Számunkra a mintavételek időpontja (év, hónap) abból a szempontból volt fontos, hogy megtudjuk: adott időpontban izolálásra került *C. albicans* izolátum fenotípusos tulajdonságai, ABC genotípusai és betegtől függő tulajdonságai (testrész vagy testtáj, a beteg kora, neme, alapbetegségének súlyossága, a

kórházi osztály ahol a mintavétel történt) között van-e szignifikáns összefüggés. Feltételezésünk szerint, ha az év bizonyos időszakában más-más tulajdonságokkal jellemezhető gombák kerülnek izolálásra, az azt jelzi, hogy az adott klinikán felbukkanó élesztők dinamikusan változnak, így két, tetszőleges időszakban vett mintacsoportban akár szignifikáns különbség is lehet valamely tulajdonságot tekintve.

Tanulmányunkban a klinikai *C. albicans* és *S. cerevisiae* izolátumok fenotípusos tulajdonságainak vizsgálataiból indultunk ki. A következő vizsgálatok elvégzését terveztük: a *C. albicans* gomba hifázó képességének felmérésését, mindkét fajnál a gomba inert felszínhez történő adhéziós képességének, a hidrolitikus enzimaktivitásaiknak, hemolitikus aktivitásaiknak mérését, magas hőmérsékleten való szaporodásuknak tesztelését, antifungális szerekkel és egy oxidatív stresszt okozó szerrel szembeni érzékenységének meghatározását. A *C. albicans* izolátumoknak a felsoroltakon kívül további paraméterként az ABC genotípusaik meghatározása szerepelt terveink között.

A következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Adott időpontban (évben, hónapban) izolált és bizonyos fenotípusos tulajdonságokkal rendelkező *C. albicans* gomba előfordulása mutat-e valamiféle anatómiai preferenciát (adott testrészt, vagy testtájat kolonizál-e inkább), illetve észrevehető-e csoportosulásuk a betegfüggő tulajdonságok szerint (beteg kora, neme, alapbetegsége, kórházi osztály ahol az izolálás megtörtént)?
2. A gomba korábbiakban felsorolt, vizsgált fenotípusos tulajdonságai, virulencia faktorai között, illetve a fenotípusos tulajdonságok és a genotípusos jellemző között (ABC genotípus) van-e összefüggés?

3. Az ABC genotípusok csoportosulnak-e az izolálás, ún. beteghez kapcsolt (az anatómiai forrás: testtáj vagy testrész, a beteg kora, neme, alapbetegsége, kórházi osztály ahol az izolálás történt) vagy betegtől független (az izolálás éve, hava) paraméterei szerint?
4. Az *S. cerevisiae* klinikai izolátumok általunk vizsgált fenotípusos tulajdonságai között van-e összefüggés, illetve az izolátumok csoportokba szerveződnek-e az izolálás beteghez kapcsolt vagy betegtől független paraméterei szerint?

4. Szakirodalmi áttekintés

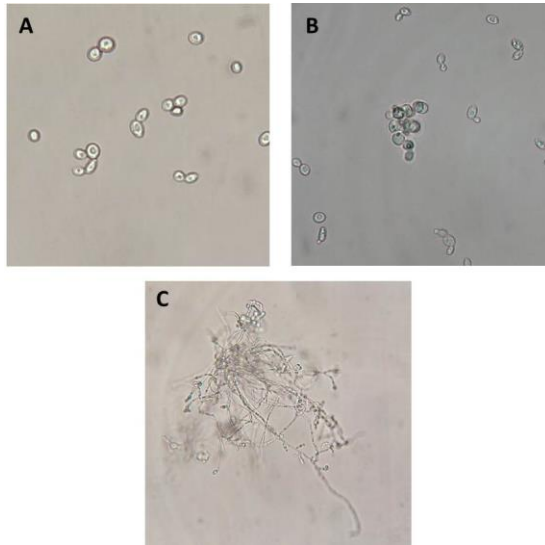
4.1. A *Candida*-fajok és a *C. albicans* általános jellemzése

A *C. albicans* az aszkuszos gombák (Ascomycota) törzsén belül, a Saccharomycetes osztály Saccharomycetales rendjébe, a *Saccharomycetaceae* család *Candida* nemzetségébe tartozó eukarióta mikroorganizmus (Jones és mtsai. 2004, Mayer és mtsai. 2013). A *Candida* nemzetségen belül eddig több mint 17 fajt írtak le opportunistáknak humán gombás fertőzések okozójaként (Pfaller és Diekema 2007), de megjegyzendő, hogy az aszexuális élesztőfajok, így a *Candida* taxonómiája is, jelenleg is változik, ill. revízió alatt áll. A csoport tagjai közül a *C. albicans* a leggyakrabban izolált faj, egyben a legrészletesebben kutatott is. Típus törzse az SC5314 jelű, 8 pár kromoszómából álló diploid genomja 6107 gént tartalmaz és 16 Mb méretű, amely közel 30 %-kal nagyobb, mint az általunk vizsgált *S. cerevisiae* haploid génállománya (<http://www.candidagenome.org/>; <https://cbs.umn.edu/candida-albicans/physical>) (Butler és mtsai. 2009).

A *C. albicans* faj csak aszexuális ill. paraszexuális úton képes reprodukcióra. A paraszexuális ciklus során a diploid sejtek fúziója az eltérő párosodási típust (MTL: „mating type locus”, párosodási típus lókuszt) mutató sejtek összeolvadásával történik meg. A sejtek fúzióját követően mitotikus rekombináció és kromoszómavesztés történhet, meiózis azonban nem (Noble és Johnson 2007; Butler és mtsai. 2009). Egy hat *Candida* faj genomját összehasonlító tanulmányban a párosodási típusok („mating type”) különbözőségéről számoltak be, valamint leírták, hogy a *C. albicans*-ban, még a meiózis hiánya ellenére is, a genom nagyon dinamikus változásokon

mehet keresztül, ami növeli a faj adaptációs képességét (Butler és mtsai. 2009). Alby és munkatársai (2009) leírták, hogy bár a *C. albicans* ivaros szaporodásra képtelen és obligát diploid gombaként tartották nyilván sokáig, a közelmúltban ún. kriptikus párosodási ciklusát felfedezték és részletesen megvizsgálták. A faj heterotallikus (ellentétes párosodási típusok konjugációja) valamint homotallikus (azonos párosodási típusok fúziójával történő) párosodásáról is beszámoltak. Hickman és munkatársai (2013) emellett kimutatták az életképes haploid *C. albicans* gombák előfordulását, amelyekre a diploidokhoz hasonlóan jellemző a morfológiai átalakulás és a párosodási típusok, illetve a párosodásra való képesség is. A haploid *C. albicans* élesztők azonban sosem meiózissal, hanem mitotikus kromoszómavesztéssel (ún. „concerted chromosome loss”: összehangolt kromoszómavesztés) jönnek létre. A jelenlétük hozzájárul a gomba geno- és fenotípusos diverzitásának növeléséhez, elsősorban a recesszív allélek expozíciója által (Hickman és mtsai. 2013).

Morfológiáját tekintve, mivel a dimorf gombák közé soroljuk, három fő megjelenési formáját különíthetjük el: az élesztő alakot valamint a fonalas formák közül a pszeudohifát (álhifa) és a valódi hifát (**1. ábra**), amely alakok között a gomba képes reverzibilisen váltani (Thompson és mtsai. 2011). A három alak megléte jellemző a *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* fajokra, míg a *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* és *C. guilliermondii* fajoknál csak élesztő és pszeudohifa fonalas alak figyelhető meg. A *C. glabrata* pedig csak élesztő formában fordul elő (Moran és mtsai. 2002; Thompson és mtsai. 2011; Lastauskiené és mtsai. 2015).



1. ábra: A *C. albicans* morfológiai alakjai: A) élesztő, B) pszehidifa és C) hifa. (Pfliegler Valter felvétele)

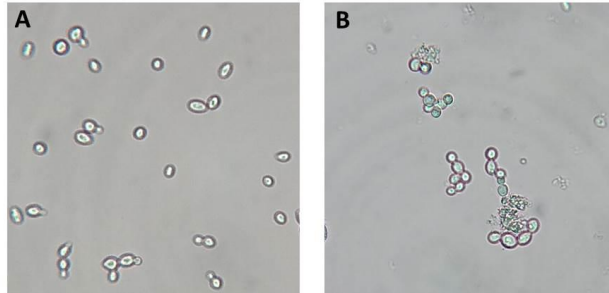
A *C. albicans* egysejtű élesztő alakra enyhén ovális, kerekded sejtalak jellemző, amely 2-6 μm nagyságú bipoláris vagy tengely irányú sarjadzásra képes sejt. A pszehidifa alak megnyúlt, ellipszoid alakú, kb. 3 μm szélességű sarjsejtek láncszerűen összekapcsolódó csoportja, a köztük lévő válaszfalak, az ún. szeptumok közötti befűződésekkkel. A valódi hifa alak a pszehidifánál keskenyebb, kb. 2 μm átmérőjű, szeptumait pórusok tagolják és közöttük befűzések nem figyelhetők meg (Laffey és Butler 2005; Brown és mstai. 2007; Thompson és mstai. 2011). A morfológiai váltás általában extrém körülmények között következik be, pl. savas környezetben, pH 6 alatt illetve 30 °C körül a sejtek élesztő alakban vannak, míg magas hőmérsékleten, kb. 37 °C-on és lúgos kémhatásnál már a hifa sejtalak megjelenését figyelhetjük meg (Brown és mstai. 2007; Mayer és mstai. 2013, Jakab és mstai. 2016a). A *C. albicans*-t tekintve mind az élesztőnek, mind a

fonalas sejtípusoknak (pszeudohifa, hifa) fontos szerepe van a fertőzés folyamatában (4.5. fejezetben bővebben), jelentős előnyhöz juttatják a patogént az infekció különböző szakaszaiban (Saville és mtsai. 2003; Kabir és mtsai. 2012; Mayer és mtsai. 2013).

4.2. A *Saccharomyces*-fajok és a *S. cerevisiae* általános jellemzése

Az *S. cerevisiae* szintén az aszkuszos gombák (Ascomycota) törzsébe tartozó, a *C. albicans*-sal megegyező családba és rendbe tartozó sarjadzó élesztőgombák egy faja. Az általunk vizsgált faj a család leginkább kutatott tagja, amelyet széles körben eukarióta modellszervezetként is alkalmaznak. Az *S. cerevisiae* fajok genomjának mérete közel 12 Mb nagyságú, haploid génállománya 16 kromoszómába szerveződik a legtöbb esetben (NCBI adatbázis: National Center for Biotechnology Information: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>). Az első genomannotációja során 6275 feltételezett gént azonosítottak (Goffeau és mtsai. 1996). Oshiro és munkatársai (2002) elemzéseik alapján további 400 kis méretű proteint kódoló gént találtak az *S. cerevisiae* élesztő genomban. Összességében a referencia genomhoz újabb 62 új gén hozzáadását javasolták (Oshiro és mtsai. 2002). 2016-ban McIlwain és munkatársai 92 olyan új gént találtak, amelyek nem szerepelnek a referencia törzs SC88C genomjában. A *Saccharomyces* genom adatbázisban jelenleg 6604 fehérjét kódoló ORF (nyitott leolvasási keret) van feltüntetve, amelyeknek 78 %-át igazolták, míg 11 % karakterizálatlan és 10 %-uk besorolása még kétséges (<https://www.yeastgenome.org/genomesnapshot>).

Morfológiáját tekintve, a *S. cerevisiae* is képes dimorfizmusra, amely esetükben az élesztő és a pszeudohifa formák (**2. ábra**) közötti váltás képességét jelenti (Casalone és mtsai. 2005).



2. ábra: A *S. cerevisiae* morfológiai alakjai A) élesztő, B) pszeudohifa
(Pfliegler Valter felvétele)

A *Saccharomyces* nemzetség tagjai multilaterális sarjadzással szaporodnak (Kurtzman és Fell 1998), életciklusuk haplo-diplonta, tehát általában haploid vagy diploid kromoszómakészlet jellemző rájuk (Liti és mtsai. 2009; Strobe és mtsai. 2015). A szaporodás folyamán először az anyasejten keletkező sarj vagy ún. bimbó fejlődik. Ebbe a sarjsejtbe vándorol a megduplázódott kromoszóma készlet fele, majd később leválva az anyasejtről, önálló utódsejt keletkezik. A meiospórák az aszkuszokban jönnek létre. Az ivaros szaporodás során az eltérő párosodási típusú („mating type”) haploid sejtek fúziója révén diploid sejt jön létre, amely mitózissal osztódhat tovább. Kedvezőtlen körülmények között meiózissal négy haploid aszkospórából álló aszkuszok jöhetnek létre. Mivel a faj legtöbb vad típusú törzse esetén a haploid sejtek képesek párosodási típus váltására, a párosodás egy törzsön belül is megtörténhet (ún. homotallikus törzsek). A *S. cerevisiae* visszadiploidizálódásra, mitotikus és meiotikus reprodukcióra való képessége

ezen gombák nagy előnyére szolgál genetikai változatosságuk szempontjából (Herskowitz 1988; Liti 2015).

4.3. A *C. albicans* globális és klinikai diverzitása

Az opportunista patogén élesztőgombák patogenezisének, járványtanának és ökológiájának felderítése kapcsán fontos információkkal szolgálhat a gombapopulációk szerkezetének, az izolátumok genetikai és fenotípusos sokféleségének részletes megismerése. Ez leginkább a klinikumban, standard mikrobiológiai mintavételezés során izolált minták tanulmányozásához kötődik a szakirodalomban, egészséges emberek normál *Candida*-flóráját kevés tanulmány vizsgálta. A *C. albicans* izolátumok populációszerkezetével, a faj diverzitásával mélyebben Odds és munkatársai (2006 és 2007), Da Matta és munkatársai (2010), valamint McManus és Coleman (2014) foglalkoztak tanulmányaikban, számos kérdéskört érintve. A faj sokféleségét vizsgáló munkákban a különböző tipizálási módszerek, mint az ún. MLST (“multi locus sequence typing”), a DNS-ujjlenyomat (“fingerprinting”) és az ABC-genotipizálási módszer mélyebb betekintést adtak az egyes kládok földrajzi, vagy anatómiai helyek szerinti megoszlásába (Odds és mtsai 2007, Odds és Jacobsen 2008, McManus és Coleman 2014). A *C. albicans* a mitotikus, klonális reprodukció mellett, bár meiózis nem zajlik le benne, képes paraszexuális életciklusra, ez a folyamat hozzájárul a faj nagyfokú genomplasticitásához (McManus és Coleman 2014; Bennett 2015), a kromoszómavesztések és kromoszomális átrendeződések pedig, jelentős szerepet játszanak a faj mikroevolúciós folyamataiban. A *C. albicans* diverzitását és mikroevolúcióját kutató tanulmányokra építve, illetve új

megközelítések alkalmazásával egyre közelebb kerülhetünk az opportunistá gombákra ható evolúciós erők megértéséhez.

A *C. albicans* faj izolátumainak genotípusos kategorizálására alkalmazott egyik módszer az ABC-genotipizálás, amelyben három típust (A, B ill. C) különböztetünk meg a 25S riboszomális DNS tandem ismétlődésekben előforduló egyik transzpozabilis intron hiánya (A), jelenléte (B) és részleges (csak az ismétlődések egy részét érintő) jelenléte (C) alapján. A genotipizáláshoz egy PCR-alapú amplifikáció és azt követően a kiértékeléshez agaróz gélelektroforézis szükséges (McCullough és mtsai. 1999). Az PCR-termékek mérete alapján elkülönített genotípusokat egy genotipizálási paraméterként adhattuk hozzá a munkám során vizsgált fenotípusos tulajdonságokhoz, virulencia faktorokhoz. Ez lehetővé tette annak tanulmányozását, hogy a genotípusok mutatnak-e valamilyen csoportosulást az izolálás eredete szerint.

Számos kutatási adat került publikálásra eltérő földrajzi helyekről származó, nagyszámú klinikai *Candida* izolátum bevonásával az említett genotípusok előfordulására vonatkozóan, amelyeket a **1. táblázat**ban foglaltam össze. Odds és munkatársai 2007-ben készült tanulmánya napjainkig is a legnagyobb volumenű, globális tanulmány a *Candida*-izolátumok földrajzi sokféleségét illetően, amelyben 1391 izolátum közül 1338 izolátum genotípusát határozták meg (**1. táblázat**), valamint MLST analízisük alapján a vizsgált izolátumok 96,7 %-a a 17 felállított klád egyikébe besorolható volt. Az MLST adatokat használó szoftver segítségével 1005 diploid szekvencia típust (DST: „diploid sequence typing”) különítettek el, amelyből azt is megállapították, hogy a leggyakrabban előforduló és egyben a fő alapító DST a 69. számú volt. A *C. albicans* izolátumok genotípusuk és geográfiai eloszlásuk alapján is nagy változatosságot

mutattak. A kládok közötti gyakori rekombinációs események egy dinamikus változó diverz közösséget tartanak fent (Odds és mtsai. 2007).

Az ABC genotípusokat tekintve a leggyakrabban előforduló genotípus az A genotípus (64%) volt, ami más eredmények szerint is a legelterjedtebbnek mondható (**1. táblázat**ban feltüntetett publikációk, kivéve: Chen és mtsai. 2006). A B genotípus előfordulása ritkább, mint az A genotípusé, de sokkal gyakoribb, mint a C genotípusé. A C genotípus fordul elő a legritkábban. A felsorolt tényeket alátámasztják Odds és munkatársainak korábbi, 2006-ban publikált eredményei, valamint McCullough és mtsai. (1999); Tavanti és mtsai. (2005); Chen és mtsai. (2006); Jacobsen és mtsai. (2008); Da Matta és mtsai. (2010) és Chaves és mtsai. (2012) publikációi is (**1. táblázat**). Néhány tanulmányban, ahol az izolátumok egy-egy országból származtak, a vizsgálatok alkalmával nem találtak C genotípusú izolátumokat (Inci és mtsai. 2012; Sardi és mtsai. 2012; McManus és mtsai. 2012), valamint olyan esetekre is találhatunk példát az irodalomban, amikor C genotípusú izolátumokból több fordult elő, mint az átlagosan gyakoribbnak mondható B genotípusból (Abdulrahim és mtsai. 2013; da Silva-Rocha és mtsai. 2014). Fontos megjegyezni, hogy az utóbb említett genotípus előfordulások megállapítása egy-egy ország különböző klinikáitól gyűjtött kevés mintaszámú izolátum bevonásával történt.

Az ABC-genotípus és a gomba fenotípusos tulajdonságainak összevetésére korábban több tanulmány is vállalkozott. Sardi és munkatársai 2012-ben 128 darab, brazil klinikákról, főként cukorbetegtegtől vagy biofilmből származó *C. albicans* izolátumot vontak be kísérleteikbe. A gomba fenotípusok vizsgálatát különböző oxigénellátottság mellett végezték és kísérleteik alapján az A genotípus bizonyult a legvirulensebbnek: pl. csökkent oxigéntenzió esetén az A genotípusú izolátumok nagyobb

extracelluláris foszfolipáz aktivitást mutattak a többi genotípushoz képest (Sardi és mtsai. 2012). Egy másik kutatócsoport invazív candidiázisban szenvedő betegektől származó *Candida*-izolátumokat jellemzett (Inci és mtsai. 2012). Az általuk vizsgált 20 db A és B genotípusú izolátum között nem volt számottevő különbség a fenotípusok tekintetében.

Hazánkban a népesség közel 16%-át érintik komoly gombás megbetegedések, mint a candidiázis és az aszpergillózis, ennek ellenére Magyarországon az opportunista fertőzéseket okozó élesztőgombáknak mind faji, mind geno- és fenotípusos sokféleségét átfogóan még nem kutatták (Sinkó és mtsai. 2015). Dóczy és munkatársai (2012) az egyes élesztőfajok előfordulásával, illetve Fekete és munkatársai (2008), munkacsoportunk korábbi és jelenlegi tagjai, foglalkoztak *Candida*-izolátumok fenotípusos vizsgálatával. Pfeiffer és munkatársai (2015) négy hazai klinikai *C. albicans* izolátum bevonásával végezték el a korábban azonosított haplotípusok mitokondriális DNS analízisét, amely vizsgálatok alapján a *C. albicans* populáció változatosságát igazolták. Az eddigi kutatások a *C. albicans* ABC-genotípusainak hazai előfordulására még nem terjedtek ki.

1. Táblázat: Különböző földrajzi helyekről származó *C. albicans* klinikai izolátumok A, B és C genotípusainak aránya szakirodalmi adatok alapján

Vizsgált izolátumok száma összesen	Az izolátumok földrajzi származása	Genotípusok aránya			Irodalmi források
		A genotípus	B genotípus	C genotípus	
430	Kolumbia, Franciaország, Izrael, Japán, Egyesült Királyság, USA, Zimbabwe	67,2%	19,8%	13%	McCullogh és mtsai. 1999

Vizsgált izolátumok száma összesen	Az izolátumok földrajzi származása	Genotípusok aránya			Irodalmi források
		A genotípus	B genotípus	C genotípus	
415	Belgium, Kanada, Kongói DK, Franciao., Németo., Svájc,Egyesült Királyság, USA	67,7%	23,1%	9,2%	Tavanti és mtsai. 2005
51	Tajvan	43,1%	45,1%	11,8%	Chen és mtsai. 2006
165	Ausztrália, Belgium, Kanada, Kongói DK, Németo., Olaszo.,Spanyolo., Egyesült királyság	55,2%	32,1%	12,7%	Odds és mtsai. 2006
1338	Afrika, Ausztrális, Közép-Amerika, Európa, Kelet- és Délkelet-Ázsia, Közel-Kelet, Észak-Amerika, Óceánia, Dél-Amerika	64%	23%	13%	Odds és mtsai. 2007
192	Egyesült Királyság	82,3%	15,1%	2,6%	Jacobsen és mtsai. 2008
21	Brazília	71,5%	19%	9,5%	Da Matta és mtsai.2010
51	Brazília	49%	35,3%	15,7%	Chaves és mtsai.2012
20	Törökország	95%	5%	0%	Inci és mtsai. 2012
128	Brazília	48,4%	51,6%	0%	Sardi és mtsai. 2012
37	Írország	78,4%	21,6%	0%	McManus és mtsai.2012
59	Írország	64,4%	15,3%	20,3%	Abdulrahim és mtsai. 2013

Vizsgált izolátumok száma összesen	Az izolátumok földrajzi származása	Genotípusok aránya			Irodalmi források
		A genotípus	B genotípus	C genotípus	
76	Brazília	76,3%	4%	19,7%	Da Silva-Rocha és mtsai.2014

4.4. A *S. cerevisiae* globális diverzitása

A *S. cerevisiae* faj diverzitását főként az élelmiszeriparhoz kapcsolódóan ismerjük. Alkalmazásuk és fogyasztásuk évezredek óta széleskörű, mégsem tisztázott még teljesen, hogy ezek az ipari törzsek hogyan szelektálódtak, illetve milyen adaptációs folyamatokon mentek keresztül. A mai ipari törzsek viszonylag kevés *S. cerevisiae* élesztő ősrre vezethetőek vissza, illetve genetikailag és fenotípusos tulajdonságaik alapján is elkülönülnek a vad *S. cerevisiae* törzsektől (Gallone és mtsai. 2016). Dujon és Louis (2017) genomikai összehasonlító tanulmányukban meghatároztak filogenetikailag elkülönült kládokat, illetve egy ún. mozaikos kládot, amelyek recens keresztezések eredményeképpen alakultak ki. A legtöbb *S. cerevisiae*-t magába foglaló klád az ún. European/wine (Európai/bor), amelynek alpopulációi a világ minden boryártással foglalkozó területén megtalálhatóak. Különösen az új-zélandi izolátumokról bizonyították, hogy megjelenésük az emberi bevándorlással hozható összefüggésbe (Gayevskiy és Goddard 2012). További kládok a North American (NA) (észak-amerikai), sake (SA) (szaké), West African (WA) (nyugat-afrikai), Malaysian (MA) (malajziai), amelyeket korábban Liti és munkatársai (2009) is leírtak,

valamint nyolc kládról bizonyították (Wang és mtsai. 2012), hogy Kína területéről radiáltak ki és ma is nagyon különböző kládjai élnek a Távol-Kelet azon részén (Liti 2015). Ezeknek az élesztőknek a kenyérgyártásban, sör- és borgyártásban, fermentációs folyamatokban, illetve a kakaó és kávé előállításban történő felhasználása a jelek szerint megnövelte a fajon belüli kereszteződés jelentőségét (Sicard és Legras 2011; Ludlow és mtsai. 2016). A törzsek és kládok keveredése együtt jár a genetikai diverzitás és a fenotípusos tulajdonságok változatosságának növekedésével (Dujon és Louis 2017).

Közel 7000 éve kapcsolat van a *S. cerevisiae* faj és az ember között, ezért nem meglepő az emberi bélrendszerben kommenzalistaként való megjelenése. Növekvő gyakorisággal azonosítják ezt a fajt invazívként, különösen, de nem kizárólag a *S. cerevisiae* var. *bouardii* tartalmú probiotikumokkal összefüggésben (Perapoch és mtsai. 2000; Enache-Angoulvant és Hennequin 2005; De Llanos és mtsai. 2006). Az opportunistá patogén *Saccharomyces*-eket vizsgálva több kutatócsoport genomikai módszerekkel olyan géneket azonosított, amelyek összefüggésbe hozhatók a faj patogenitásával (Muller és mtsai. 2011, Strobe és mtsai. 2015). A patogén *S. cerevisiae* izolátumok az egyes kládokban egymástól függetlenül jöttek létre, ugyanis több kládból is azonosítottak klinikai izolátumokat (Zhu és mtsai. 2016). Napjainkban egyre több ún. mozaikos törzset találnak, amelyeknek genetikai állományában különböző kládokból származó allélek azonosíthatók (Liti és mtsai. 2009).

Korábban a legtöbb genomikai vizsgálatot haploid génállománnyal rendelkező klinikai izolátumokkal végezték. Zhu és munkatársai (2016) 144 élesztő törzs, közülük 132 klinikai *S. cerevisiae* izolátum teljes genom analízisét végezték el. Azt találták, hogy a vizsgált élesztők 34 %-ának genetikai állományára tri-és tetraploidás (poliploiditás) jellemző, illetve 36

%-uk aneuploid kromoszómaszámmal rendelkezik. Az aneuploiditást a klinikai izolátumoknál általánosan előforduló jelenségként írták le (Hose és mtsai. 2015; Gasch és mtsai. 2016), amely a *S. cerevisiae* élesztő fajok adaptációs folyamataihoz (Thorburn és mtsai. 2013) és genomjának változásához is nagyban hozzájárul (Sunshine és mtsai. 2015).

4.5. A *C. albicans* és *S. cerevisiae* fajok virulencia faktorai

A gombák számára a gazdaszervezetben való túlélés záloga az immunrendszer kikerülése, illetve támadásainak semlegesítése, valamint a folyamatosan változó környezeti körülményekhez való gyors adaptáció. Amikor a gomba a szövetekbe, illetve a véráramba belép, antioxidánsokat kezd termelni (antioxidáns védelmi rendszer), így képes kivédeni és túlélni a gazdaszervezetben a neutrofil granulociták által termelt reaktív nitrogén intermedierek (RNI) (pl. nitrogén-monoxid, NO), illetve reaktív oxigén részecskék (ROS, mint pl. nátrium-hipoklorit, NaOCl, hidrogén-peroxid, H₂O₂) támadásait. Emellett olyan enzimekkel rendelkezik, mint pl. a kataláz ill. a SOD, melyek segítségével képes neutralizálni az említett a ROS és RNI részecskéket (Fradin és mtsai. 2005, Hromatka és mtsai. 2005). Az említett antioxidáns védelmi rendszeren kívül a patogén gombák bizonyos tulajdonságait, amelyek a gombát a fertőzés folyamatában segítik, virulencia faktoroknak nevezzük (Hube 2004; Mayer és mtsai. 2013). A legfontosabb virulencia faktorok közé tartozik: a gomba (élesztő↔hifa) dimorf átalakulásra való képessége, a gombasejtek adhézións képessége és biofilm képzése, hidrolitikus enzimek, mint az aszpartát proteázok és a foszfolipázok termelése és a magas hőmérsékleten való szaporodási képességük is (Hube

2004; Höfs és mtsai. 2016), amelyeket a patogenezis folyamatának rövid áttekintése után a továbbiakban részletezek.

A fertőzés gyakran fontos előfeltétele, hogy a gomba kitapadjon a gazda epitél sejtjeihez, ezt nevezzük adhézióknak. A morfológiai átalakulásokat követően endocitózissal vagy aktív penetrációval megtörténik a szöveti invázió, amikor a gomba bekerül az epitélium belsejébe, ami általában szöveti sérülés következtében valósul meg. A gombasejtek bizonyos felületeken összetapadva biofilmet képeznek, amely növeli a mikrobák ellenálló képességét a szervezet támadásaival és az antimikrobiális kezelésekkel szemben is. A biofilmképzéssel párhuzamosan a patogén gomba elkezd hidrolitikus enzimeinek termelését és a gazdaszervezetből felszabaduló tápanyagokat felveszi. A kedvezőtlen környezeti feltételek különböző stresszválasz útvonalakat indukálnak. A gomba stresszre adott válasza, az éhezés és a savas pH viszonyokhoz történő alkalmazkodás mind hozzájárul a patogenitás folyamatához (Gow és mtsai. 2012; Mayer és mtsai. 2013; Polke és mtsai. 2015).

Az egyik legfőbb virulencia faktor a gomba reverzibilis, élesztő↔hifa morfológiaváltásra való képessége. Az élesztő sejtalak a szervezetbe való bejutást, penetrációt követően a gomba elterjedésében, a vérárammal való szétterjedésben játszik szerepet és a gazdasejtek felszínén történő megtapadásért felelős, elősegítve ezzel a fertőzés súlyosbodását, akár szisztémás fertőzés kialakulását (Saville és mtsai. 2003; Kabir és mtsai. 2012; Mayer és mtsai. 2013). A fonalas hifa alak több módon is szerepet játszik a fertőzés folyamatában: mechanikai erőt kifejtve képes átjutni az epitél sejtek között és lebontó enzimeivel járul hozzá a gazda szöveteinek és sejtjeinek károsításához (aktív penetráció), majd passzív penetrációval pl. hifa-asszociált sejt felszíni fehérjék segítségével tovább segíti a gazdasejtbe

történő behatolást, valamint részt vesz a szervek kolonizációjában (Phan és mtsai 2007; Höfs és mtsai. 2016). Ezen kívül a hifának fontos szerepe van a fagocita sejtekből történő kiszabadulásban is: a *Candida* gombasejtek bekebelezésüket követően képesek hifa képzésére, ami a fagocita sejtek membránjának lízisét okozza. A makrofágokból történő kiszabadulás az exocitózis indukálásával is történhet (Bain és mtsai. 2012). Lo és munkatársai (1997) *in vivo* egérmodellekben történt kísérleteikkel azt is bizonyították, hogy a valódi hifa létrehozására képtelen sejtek csökkent virulenciát mutatnak. Saville és munkatársai (2003) az élesztő és hifa sejttípus közötti váltás szabályozásának lehetőségeit tanulmányozták, ők is megállapították, hogy a hifaképzés indukálásával a virulencia fokozható. A pszeudohifa virulenciában betöltött pontos szerepe vitatott, de Lewis és munkatársai (2012) kutatásaiból tudjuk, hogy a makrofágok és fagocitasejtek a valódi hifákat és pszeudohifákat másként ismerik fel. A pszeudohifák jelenlegi tudásunk szerint hozzájárulnak a biofilm képzéshez és a gazda sejteinek, szöveteinek károsításához (Laffey és Butler 2005). Sellam és Whiteway (2016) is leírja, hogy a *C. albicans* élesztő, pszeudohifa, hifa sejttípusok közötti váltásra való képessége járul hozzá legnagyobb részben ezeknek a gombáknak a gazdaszervezetben való adaptálódási folyamataikhoz és az egyes anatómiai helyeken, ún. niche-ekben való elterjedéséhez.

Az *S. cerevisiae* telepmorfológiáinak tanulmányozásánál szintén megfigyelték, hogy megvan ezeknek az élesztőgombáknak is a dimorfizmusra való képességük. Stressz körülmények között, a gombát nitrogénben vagy glükózból szegény táptalajon tenyésztve, az élesztő és pszeudohifa formák közötti váltás náluk is megtörténik (Lorenz és mtsai. 2000; Casalone és mtsai. 2005). A *S. cerevisiae* fajnál legyengített immunrendszerű egerek szervezetében, 42°C-on pszeudohifa megjelenését

igazolták (McCusker és mtsai. 1994). A pszeudohifa fontos szerepet játszik a *S. cerevisiae* patogenitásában (Enache-Angoulvant és Hennequin 2005).

A patogén gombafajok különböző ún. adhezinek segítségével képesek akár a gazdasejteken, akár élettelen, abiotikus felszíneken, mint a kontakklencsék vagy katéterek felületén megtapadni, majd pedig biofilmet képezve szaporodni. A leginkább kutatott adhezinek az ALS (agglutinin szerű szekvencia) fehérje család tagjai. (Thompson és mtsai. 2011; Wächtler és mtsai. 2012). A biofilmképzés igen összetett, jelátviteli útvonalak és szabályozó mechanizmusok együttes működésének eredményeként megvalósuló folyamat: az élesztő sejtek megtapadása után elkezdődik a kolonizáció és a morfológiaváltást követően egy pszeudohifa és valódi hifa fonalakból álló mikroba pázsit alakul ki az epitél sejtek bazális membránján, majd elkezdődik az extracelluláris polimer anyagok (EPS: „Extracellular polymeric substances”) szintézise, a biofilm érése és rétegeinek folyamatos vastagodása (Nobile és Mitchell 2006). A biofilm felszínéről élesztő sejtek válnak le és szóródhatnak szét, amelyek elkezdhetik a szervezet további nyálkahártya-felszínein történő letapadást, elősegítve az újabb biofilmrétegek kialakulását. A sejtek által termelt EPS-ből álló biofilm réteg védelmet biztosít a gomba számára az immunrendszer támadásaival szemben, valamint az antifungális szerekekkel szembeni ellenálló képességét is fokozza (Fanning és Mitchell 2012; Mathé és Van Dijck 2013; Mayer és mtsai. 2013).

Az ALS fehérjék homológjai a *Saccharomyces* fajok esetén hiányoznak, de hasonló feladattal rendelkeznek a szintén glikozil-foszfatidilinozitol (GPI) horgonyzott glikoproteinekhez tartozó flokkulin család tagjai, amelyek elősegítik az élesztő sejtek biotikus vagy abiotikus felszínhez történő tapadását. A *C. albicans*-szal összehasonlítva a

Saccharomyces fajok kisebb mértékű adhéziós képességgel rendelkeznek (Pérez-Torrado és mtsai. 2012).

A *C. albicans* által termelt és szekretált hidrolitikus enzimek is nagymértékben hozzájárulnak a gomba virulenciájához. Ilyen hidrolitikus enzimek az extracelluláris aszpartát proteázok és a foszfolipázok. Az extracelluláris proteázok, az ún. Sap fehérjék képesek antimikrobiális peptideket és más extracelluláris mátrix fehérjéket, mint pl. a kollagént lebontani, ezért a patogén gomba számára nélkülözhetetlenek a gazda szöveteinek áttöréséhez. A *C. albicans*-ban eddig 10 Sap fehérjét írtak le: a Sap 1-8 enzimek a sejtek közötti állományban választódnak ki, a Sap 9 és 10 pedig a sejtfalhoz kötött, ennek védelmét biztosítják. Kiemelendő a Sap 4 és Sap 6 fehérje, amelyeknek nagy szerepük van a patogén gomba szisztémás elterjedésében is, míg a Sap 1, 2 és 3 fehérjék a nyálkahártyák fertőzésében (Naglik és mtsai. 2003) vesznek részt. A foszfolipázok közül a *C. albicans*-ban a foszfolipáz A, B, C és D enzimesaládokat azonosították, amelyek részt vesznek a gazda sejteinek károsításában a sejtmembrán komponensek degradációjában (Pugh és Cawson 1977; Schaller és mtsai. 2005). Ibrahim és munkatársai (1995) megfigyelték, hogy a kommenzalistaként szerveztünkben élő *C. albicans* izolátumoknak nincs olyan nagymértékű foszfolipáz enzim aktivitásuk, mint patogénné vált társaiknak. HIV-fertőzött betegektől izolált klinikai *C. albicans* és nem-*albicans* fajok hidrolitikus enzim aktivitását vizsgáló tanulmányban leírták, hogy a legnagyobb foszfolipáz aktivitást 90,24 %-ban, illetve a legnagyobb proteáz enzim aktivitást (86 %) a *C. albicans* izolátumok mutatták (Lahkar és mtsai. 2017).

A *S. cerevisiae* élesztőkben is megtalálhatóak az említett hidrolitikus enzimek. Mivel patogén izolátumoknál fokozottabb foszfolipáz és proteáz enzim szekréciót figyeltek meg (nem patogén társaik enzimtermelésével

ellentétben) lehetséges virulencia faktorként tekinthetünk rájuk, amelyek a hozzájárulnak a sejtmembrán-komponensek degradációjához, illetve a hámréteg károsításához, ezzel a kórokozó patogenitásához (Ghannoum 2000; Naglik és mtsai. 2004).

A magas hőmérsékleten történő növekedésre való képesség mind a *Candida*-, mind a *Saccharomyces*-fajok jelentős virulencia faktora. A *C. albicans* izolátumok 42 °C-on történő növekedését a *C. dubliniensis* fajokkal összevetve, azt tapasztalták, hogy bár a *C. dubliniensis* izolátumok kis mértékben képesek a növekedésre, messze alulmaradnak a *C. albicans* izolátumok erőteljes növekedéséhez képest (Chunchanur és mtsai. 2009). Klingberg és munkatársai (2008) *S. cerevisiae* klinikai izolátumok növekedését tanulmányozták és az izolátumok 37 °C feletti növekedési képességéről számoltak be. Az általuk vizsgált klinikai és élelmiszeripari *S. cerevisiae* izolátumok 42 °C-on már nem, 39 °C-on viszont még képesek voltak növekedni, tehát megerősítették, hogy magas hőmérsékleten való növekedési képességüket jelentős virulencia faktorként tarthatjuk számon.

A felsorolt virulencia faktorok bizonyítottan szerepet játszanak a *C. albicans* patogenitásában és az említett tanulmányok alapján feltételezhetjük, hogy a *S. cerevisiae* genotípusában és fenotípusában is folyamatosan olyan változások történnek, amely esetlegesen elősegíthetik patogénné válásukat. A felsorolt tények ráirányítják a figyelmet hazánkban is a *Candida*- és *Saccharomyces*-gombák mélyebb szintű vizsgálatainak fontosságára, mind az élesztő evolúciójának, mind pedig az orvosbiológia és klinikai mikrobiológia szempontjából.

4.6. A *C. albicans* és a *S. cerevisiae* fajok által okozott megbetegedések és azok klinikai jelentősége

Napjainkban egyre több irodalmi adatunk van arról, hogy bizonyos élesztőfajok, mint az opportunista patogén gombaként, a gombafertőzések legfőbb okozójaként számon tartott *C. albicans* vagy a hasznos és biztonságos élesztőfajként nyilvántartott *S. cerevisiae* jelenléte is járhat előnnyel, ugyanakkor mindkét faj esetében előfordulhat, hogy legyengült immunrendszer esetén fertőzést okoznak (Inácio és Daniel 2017). A következőkben az említett két faj által okozott megbetegedéseket és jelentőségüket, valamint a gombafertőzésekre hajlamosító tényezőket összegzem.

Becslések szerint az invazív mikózisok miatt közel 1,3 millió haláleset történik évente világszerte (Brown és mtsai. 2012; Murray és mtsai. 2014). Ezeket a fertőzéseket 10-20 %-ban *Aspergillus*-fajok, de túlnyomó többségben, 80-90 %-ban, *Candida*-fajok okozzák (Delaloye és Calandra 2014). A *Candida*-fajok okozta megbetegedéseket összefoglaló néven candidiázisnak hívjuk. A szisztémás candidiázis mortalitási aránya 60-70 %-ra tehető a 2000-es években is, amely arány kórházi kezeléssel, antifungális terápiával mérsékelten visszaszorítható 30-40 %-ra. A százalékos adatok alátámasztják, hogy a komoly egészségügyi problémát jelentő invazív gombafertőzések kezelésére alkalmazott terápiák nem minden esetben hatékonyak még a diagnózis időben történő felismerése ellenére sem (Eggimann és mtsai. 2003; Brown és mtsai. 2012; Kauffman és mtsai. 2012; Brissaud és mtsai. 2012; Paramythiotou és mtsai. 2014).

A *C. albicans* a normál humán flóra tagjaként jelen van a bőrön, a szájban, az emésztőrendszerben, a női nemi szervek nyálkahártyáján is. Az

immunrendszer legyengülésével ezek a mikroorganizmusok a szervezet tápanyagforrásait kihasználva gyorsan elterjedhetnek a szervezetben. A *Candida*-fajok által okozott betegségek, a gomba elterjedésének mértékétől függően érinthetik csak a nyálkahártya felszíneket, ezek az ún. mukózális, felszíni fertőzések, illetve súlyosabb esetben a gomba egy-egy szervet vagy akár az egész szervezetet is kolonizálja, ilyenkor beszélünk szisztémás infekcióról (Naglik és mtsai. 2003; Low és Rotstein 2011; Brown és mtsai. 2012). Különösen veszélyeztetett kategóriába tartoznak a hosszabb antibiotikumkúrán, szervátültetésen átesett betegek, a hematológiai rendellenességekben szenvedők (pl. neutropéniás betegek), az AIDS-es, illetve a glükokortikoszteroid terápia alatt (Jakab és mtsai. 2016 b), vagy kemoterápiás kezelés alatt álló betegek (Low és Rotstein 2011; Brown és mtsai. 2012;). Hajlamosító tényező lehet még a betegek hosszabb kórházi tartózkodása, mert pl. katéterek, kanülök alkalmazásának következményeként kórházban szerzett (nozokomiális) infekciók, felülfertőzések alakulhatnak ki, tovább súlyosbítva a beteg alapbetegségét. A nagyobb kockázatú csoportba tartoznak az idős emberek és a koraszülöttek is (Perlroth és mtsai. 2007; Pfaller és Diekema 2007; Delaloye és Calandra 2014). A felületi fertőzések közé sorolhatjuk pl. a csecsemőknél gyakran előforduló ún. szájpenészt vagy a fogamzóképes korú nők 70-75 %-át érintő hüvelyfertőzést (vulvovaginitist), vagy a bőr felszínét (a körömszél körüli bőr gennyes gyulladása) érintő ún. paronychiát is (Sobel 2007; López-Martínez 2010). A szájnálkahártyát érintő, orális infekciók pontos számát nehéz megállapítani, nemzeti felmérés pl. nem készült erről az Egyesült Államokban (CDC: „Centers for Diseases Control and Prevention”: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/>). A nyelőcsövet érintő candidázisok aránya nagyon ritka az egészséges felnőttek körében, de a HIV-fertőzött betegek egyharmadát érinti (Thompson és mtsai. 2010). Buchacz és

munkatársai (2016) az Egyesült Államokban és Kanadában 2008 és 2010 között a HIV-fertőzöttek *Candida*-izolátumait vizsgálták és a száj és nyelőcső candidiázist a vezető betegségek közé sorolták az opportunist gombafertőzések listáján (a *Pneumocystis jirovecii* által okozott tüdőgyulladás után). A *Candida*-fajok okozta egy-egy szervet érintő megbetegedések leginkább a szemet érinthetik vagy a közép- és külső fület, valamint az ízületeket megtámadva ízületi gyulladásokat is okozhatnak (Trofa és mtsai. 2008). A szisztémás *Candida*-fertőzések vagy az immunrendszer legyengülése következtében alakulnak ki az emésztőrendszert már eleve kolonizáló *Candida*-fajok elszaporodásával, vagy kórházi kezelés következményeként, sebészeti beavatkozások, korábban említett tényezők pl. katéter használat következtében, a véráramba jutva véráramfertőzést, más néven candidémiát tudnak okozni (Sims és mtsai. 2005). Évente közel 400 ezer candidémiás beteget regisztrálnak világszerte, ez az adat főleg a fejlett országokra vonatkozik (Brown és mtsai. 2012). Pfaller és munkatársai 2011-ben publikált felmérése szerint 2008-ban és 2009-ben Észak-Amerikában majdnem háromszor annyi candidémiás eset fordult elő, mint az Európai országokban, azon belül is Finnországban regisztrálták a legkevesebb esetet. A *C. albicans* faj okozta invazív candidiázisok az 1990-es évektől 2010-ig 65 %-ról 44 %-ra csökkentek világszerte, és egyre jobban emelkedik a nem-*albicans* fajokhoz köthető megbetegedések száma (Yapar 2014). A szisztémás vagy invazív gombafertőzések következményeként igen súlyos betegségek alakulhatnak ki: pl. szívbelhártya-, agyhártya-, hashártya- és csonthártyagyulladás (Pfaller és Diekema 2007; Trofa és mtsai. 2008;).

Hazánkban a gombafertőzések gyakoriságáról csupán néhány összefoglaló tanulmány készült. Sinkó és munkatársai (2015) tanulmánya szerint ma Magyarországon közel 1 millió gombás megbetegedésben

szenvedő ember él. Opportunista patogén gombák okozta véráramfertőzéssel több száz esetet regisztrálnak országunkban is (Sinkó és mtsai. 2015). A korábban már említett igen nagy mortalitási arány miatt (60-70 %) pedig a diagnosztikai és terápiás fejlesztésekre nagy hangsúlyt kell fektetni. A szegedi klinikai osztályokon 1996 és 2009 közötti időszakban végzett felmérésben 231 véráramfertőzést regisztráltak. A vér izolátumokból 216 esetben (93 %-ban) *Candida*-fajokat azonosítottak. A 216 candidémiás beteg leginkább az intenzív osztályokon kezelt 67 gyermek és 55 újszülött körében fordult elő. Elenyésző mennyiségben, 1-2 %-ban *Cryptococcus albidus*, *C. neoformans*, *C. uniguttulatus*, *Pichia burtonii*, *Pseudozyma aphidis*, *Rhodotorula glutinis*, *R. rubra* és *S. cerevisiae* fajok is sikerült azonosítani. Ezeknek a fertőzéseknek a száma az 1996 és 2004 közötti periódusban megfigyeltekhez képest, 2005-ben növekedést mutatott (Dóczi és mtsai. 2012). Pongrácz és munkatársai (2015) a budapesti klinikán 2010 és 2014 között térképezték fel a candidémiás epizódok számát, amelyet úgy definiáltak, hogy egy epizód legalább egy alkalmat jelent, amikor vér izolátumból valamelyik *Candida* fajt azonosították. Ez alapján a candidémia epizódok száma 2010 és 2013 között 1,7 és 3,5 között változott 10 000 betegfelvételre vetítve, míg az epizódok száma 2,66-ra esett vissza 2014-ben. Az általuk, a vér izolátumokból leggyakrabban, 63 %-ban azonosított faj szintén a *C. albicans* volt, illetve más *Candida*-fajok, mint a *C. glabrata* (13 %), *C. parapsilosis* (10,2 %), *C. tropicalis* 9,3 % és a *C. krusei* (3,7 %). 2010-ben a budapesti újszülött osztályon végzett tanulmányban a gombafertőzéses esetek közül 73 %-ban szintén a *C. albicans*-t azonosították kórokozóként (Kristóf és mtsai. 2010).

Az általunk vizsgált másik fajt, a *S. cerevisiae*-t, kommenzalista fajként tartják számon, ám az, hogy a humán mikrobiom átmeneti vagy állandó, természetesen jelenlévő tagja, mai napig is vita tárgyát képezi

(Enache-Angoulvant és mtsai. 2005; Huffnagle és Noverr 2013; Rizzetto és mtsai. 2015). Korábban több kutatócsoport számolt be arról, hogy a szájüregben a *Candida*-fajokon kívül *S. cerevisiae*, *Penicillium*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Hemispora* és *Hormodendrum* fajokhoz tartozó gombákat egyaránt azonosították (Schuster 1999; Salonen és mtsai. 2000; Jabra-Rizk és mtsai. 2001). Aas és munkatársai (2007) 14 HIV fertőzött beteg szájüregének mikroflóráját vizsgálta meg, és 4 betegnél egyértelműen igazolták a *S. cerevisiae* jelenlétét. Ghannoum és munkatársai (2010), akik húsz egészséges ember szájnyálkahártyájának mikroflóra összetételét tanulmányozták, leggyakrabban az azonosított *Candida*-fajok közül a *C. albicans*-t izolálták, majd ezt követően a *Cladosporium*-fajok (4 azonosított faj) fordultak elő legnagyobb számban, ezen kívül azonosítottak még *Aspergillus*-, *Fusarium*-, *Cryptococcus*- és *Penicillium*-fajokat is, valamint sokkal kisebb számban izolálásra került három *Saccharomyces* faj is, amelyek közül a leggyakoribb a *S. cerevisiae* volt. Angebault és munkatársai (2013) 2006 és 2010 között az amerikai Wayampi indiánok bélflóráját vizsgálva azt írták le, hogy míg a *C. albicans* faj gyakoribb előfordulása bizonyos kockázati feltételekhez kötött (legyengült immunrendszer, illetve túlsúlyos háztartások), addig a *C. krusei* és *S. cerevisiae* fajok előfordulása főként élelmiszer eredetű. Ezekben az elszigetelt társadalmakban a *C. albicans*-al szemben, a *S. cerevisiae* domináns jelenlétét tapasztalták.

Moyad (2007) szerint ezek az élesztők nagy ásványi anyag, fehérje és B-vitamin tartalmuknak köszönhetően jó hatással lehetnek az emésztésre, fogyasztásuk előnnyel járhat. A *S. boulardii* ill. *S. cerevisiae* var. *boulardii* névvel forgalmazott probiotikumokkal gyakran találkozhatunk, ma az Európai Unióban recept nélkül kaphatók pl. az Ultralevure ill. Enterol nevű készítmények, amelyeket ajánlanak antibiotikumos kezelés hatására kialakult

hasmenés vagy pl. a *Clostridium difficile* okozta vastagbélgyulladás esetén is (Doron és mtsai. 2008).

Az Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerbiztonsági Felügyelet (U.S. Food and Drug Administration) (<https://www.fda.gov/>) az általánosan biztonságosnak tartott (GRAS: "Generally Regarded as Safe") mikroorganizmusok közé sorolja a *S. cerevisiae*-t. A fokozottan veszélyeztetettek körébe – hasonlóan, mint *Candida*-fertőzés esetén – kisgyermek, idős, transzplantáción átesettek, illetve daganatos betegek tartoznak, valamint a hosszú kórházi kezelés, kanülök, katéterek használata is nagyban növelheti a fertőzés kialakulásának esélyét (Enache-Angoulvant és mtsai. 2005; Pérez-Torrado és mtsai. 2016).

Egy tüdőgyulladásban szenvedő betegben Reiersøl és Hoel (1958) írták le először patogénként a *Saccharomyces* élesztőket. 1976-ban Jensen és Smith arról számolt be, hogy az élőflórás (élő mikroorganizmusokat tartalmazó) vagy nem pasztörizált joghurtok, illetve élesztőporok vagy tabletták nagy mennyiségű fogyasztása akár szisztémás megbetegedéseket is okozhat. A *S. cerevisiae* okozta fertőzések nagy részét immungyenge betegek körében dokumentálták, vagy kórházban szerzett nozokomiális fertőzésekhez voltak köthetők (Debelian és mtsai. 1997). Smith és munkatársai (2002) *S. cerevisiae*-t találtak egy immunokompetens (normál immunválaszra képes) beteg vérében, ez volt az első dokumentált *Saccharomyces*-fungémiás megbetegedés. Munoz és munkatársai (2005) az intenzív osztályokon végzett vizsgálataik alapján leggyakrabban előforduló kockázati tényezőnek a *S. cerevisiae* var. *bouardii*-t tartalmazó probiotikumok szedését írták le és a gombafertőzések kezelése mellett a probiotikumok megvonását javasolták. Klingberg és munkatársai (2008) tanulmánya megerősítette, hogy a *S. cerevisiae* élesztő nagy valószínűséggel katéterek vagy kanülök használatával

jut be az emberi szervezetbe, valamint azt is felvetették – mint De Llanos és mtsai. (2006) és Pérez-Torrado és Querol (2016) –, hogy szájon át is (élelmiszerek pl. péksütemények, probiotikumok) bekerülhet a véráramba.

A *S. cerevisiae*-vel összefüggésbe hozható invazív gombás megbetegedések száma fokozatosan növekvő tendenciát mutat az 1990-es évek óta (Pérez-Torrado és Querol 2016). Ezt az is alátámasztja, hogy 1997 és 2007 között, egy 40 országot magába foglaló, összesen 8717 nem-*Candida* izolátumokat vizsgáló tanulmányban a *Cryptococcus*-fajok után *Saccharomyces*-fajokat azonosítottak a legtöbb esetben (Pfaller és mtsai. 2009).

Összeségében azt láthatjuk, hogy a hazai felmérések a nemzetközi adatokhoz hasonló tendenciát mutatnak elsősorban a *C. albicans*-t tekintve. A gombás megbetegedések száma napjainkban is növekszik, ezért szükség van a gomba tulajdonságainak és virulencia faktorainak mélyebb megismerésére és az ezzel kapcsolatos alap kutatásokra, illetve a kezelések, antifungális terápiák fejlesztésére.

5. Anyagok és Módszerek

5.1. Az izolátumok és fenntartásuk

A Debreceni Egyetem 10 különböző klinikájáról 63 db *C. albicans* izolátum (43 betegből: egy beteghez egy vagy több izolátum is tartozott) állt rendelkezésünkre (DE KK, Orvosi Mikrobiológiai Intézet), melyeket 2013-ban és 2015-ben, különböző korú, nemű betegektől izoláltak. A betegek különféle és eltérő súlyosságú alapbetegségben szenvedtek (**2. táblázat**). A *S. cerevisiae* élesztőgombából a klinikai izolátumok a Debreceni Egyetem klinikáiról származtak, illetve a Szegedi Tudományegyetem klinikái is bevonásra kerültek az izolátumok kis mintaszáma miatt (**3. táblázat**). Összesen 12 *S. cerevisiae* klinikai izolátumot vizsgáltunk (egy beteghez egy izolátum tartozott).

A klinikai izolátumok esetében a fajazonosítás a klinikumban alkalmazott protokoll szerint MALDI-TOF tömegspektrometriás eljárással történt, flexControl 3.0 szoftver segítségével (Brucker Daltonics), a DE Klinikai Mikrobiológiai intézetében.

Az élesztőgombákat a tanszéki törzsgyűjteményben 30 % glicerint tartalmazó Élesztőkivonat-Pepton-Dextróz (YPD) tápoldatban $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on fagyaszttva tartottuk fenn. A kísérletek előtt az izolátumokat a fagyasztásból Sabouraud Dextróz Agar táptalajra (SDA) (2 % w/v glükóz, 1 % w/v mikológiai pepton és 2 % w/v agar; pH 5.6) oltottuk le és 2 napon át szobahőmérsékleten inkubáltuk. Ezt követően a táptalajról átoltott (homogén tenyészetből egy pipettahegynyi), Sabouraud Dextróz tápoldatban (SDB) felszaporított egy éjszakás álló tenyészeteket (5 ml) használtuk a kísérletekhez. A kísérlet napján az élesztősejteket centrifugálással (4000 rpm, 3 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) gyűjtöttük

össze, miközben három alkalommal foszfát pufferrel (PBS) történő mosást végeztünk, végül a kísérlet megkezdéséhez szintén PBS-ben (1 ml) homogenizáltuk a sejt pelletet. Minden kísérletnél az adott módszertől függően állítottuk be a szükséges sejtszámot (Fekete és mtsai. 2007, 2008).

2. táblázat: *A. C. albicans* klinikai izolátumok listája

Betegre vonatkozó adatok						A beteghez tartozó izolátumokra vonatkozó adatok			
Beteg azonosító	Kor	Nem	Alapbetegség	Alapbetegség súlyossága	Profilaxis	Izolátum száma	Mintavétel ideje	Izolátum forrása (testtáj)	Kórházi osztály
1.	2	nő	tüdőgyulladás	2	klindamicin trimetoprim	24781	2013-08	torok	gyermek pulmonológia
2.	65	férfi	tüdőrák	3	nincs	21620	2013-07	torok	tüdőgyógyászat
3.	69	nő	magas vérnyomás	1	nincs	21487	2013-07	torok	belgyógyászat
4.	3 hó	nő	szeepszis	3	nincs	25711	2013-08	torok	gyermek pulmonológia
5.	58	nő	tüdőgyulladás	2	ciprofloxacín , moxifloxacín , klindamicin	21485	2013-07	torok	belgyógyászat
6.	2	férfi	húgyhólyaggyulladás	1	meropenem, vankomicin, amikacin, ciprofloxacín , trimetoprim	28269	2013-09	vizelet	gyermek pulmonológia
7.	62	férfi	prosztata megnagyobbodás	1	nincs	26623	2013-09	vizelet	urológia
8.	67	nő	sztrók	3	nincs	22307	2013-07	vizelet	neurológia
9.	62	férfi	sztrók	3	nincs	27468	2013-09	vizelet	neurológia
10.	77	férfi	sztrók	3	nincs	28556	2013-09	vizelet	neurológia
11.	70	férfi	műtéti sebfertőző és	3	nincs	23878	2013-08	sebészeti minta	sebészet
12.	69	férfi	műtéti sebfertőző és	3	vankomicin , doxiciklin	27386	2013-09	sebészeti minta	sebészet
13.	63	férfi	égés	3	cefalosporin, klindamicin	22747	2013-07	sebészeti minta	bőrgyógyászat
14.	4 hó	férfi	mellkasi seb	3	nalidixsav	24442	2013-08	sebészeti minta	gyermek pulmonológia
15.	74	férfi	hashártyagyulladás	3	nincs	24125	2013-08	sebészeti minta	sebészet
16.	29	nő	hüvelygyulladás	1	nincs	25818	2013-08	méhnyak	szülészeti-nőgyógyászat

Betegre vonatkozó adatok						A beteghez tartozó izolátumokra vonatkozó adatok			
Beteg azonosító	Kor	Nem	Alapbetegség	Alapbetegség súlyossága	Profilaxis	Izolátum száma	Mintavétel ideje	Izolátum forrása (testtáj)	Kórházi osztály
17.	24	nő	hüvelygyulladás	1	nincs	28666	2013-09	méhnyak	szülészeti-nőgyógyászat
18.	26	nő	hüvelygyulladás	1	klotrimazol	26136	2013-09	méhnyak	szülészeti-nőgyógyászat
19.	26	nő	hüvelygyulladás	1	nincs	25089	2013-08	méhnyak	szülészeti-nőgyógyászat
20.	15	nő	hüvelygyulladás	1	nincs	28539	2013-09	méhnyak	szülészeti-nőgyógyászat
21.	59	nő	hashártya - gyulladás	3	nincs	23113	2013-08	seb	sebészet
21.	59	nő	hashártya - gyulladás	3	nincs	23690	2013-08	hasüreg	sebészet
21.	59	nő	hashártya - gyulladás	3	nincs	24345	2013-08	seb	sebészet
21.	59	nő	hashártya - gyulladás	3	nincs	25083	2013-08	ascites	sebészet
22.	31	nő	szklerózis multiplex	3	meropenem , kolisztin, amoxicillin/klavulánsav	21426	2013-07	vizelet	neurologia
22.	31	nő	szklerózis multiplex	3	meropenem , kolisztin, amoxicillin/klavulánsav	21684	2013-07	hüvely	neurologia
22.	31	nő	szklerózis multiplex	3	meropenem , kolisztin, amoxicillin/klavulánsav	21860	2013-07	hüvely	neurologia
22.	31	nő	szklerózis multiplex	3	meropenem , kolisztin, amoxicillin/klavulánsav	22345	2013-07	hüvely	neurologia
22.	31	nő	szklerózis multiplex	3	meropenem , kolisztin, amoxicillin/klavulánsav	22346	2013-07	hörgő	neurologia
23.	1 hó	nő	szepszis	3	nincs	21935	2013-07	vér	szülészeti-nőgyógyászat
23.	1 hó	nő	szepszis	3	nincs	21924	2013-07	seb	szülészeti-nőgyógyászat
23.	1 hó	nő	szepszis	3	nincs	22624	2013-07	seb	szülészeti-nőgyógyászat
24.	67	férfi	szepszis	3	meropenem , flukonazol	26084	2013-09	kanül	belgyógyászat

Betegre vonatkozó adatok						A beteghez tartozó izolátumokra vonatkozó adatok			
Beteg azonosító	Kor	Nem	Alapbetegség	Alapbetegség súlyossága	Profilaxis	Izolátum száma	Mintavétel ideje	Izolátum forrása (testtáj)	Kórházi osztály
24.	67	férfi	szepszis	3	meropenem , flukonazol	26375	2013-09	kanül	belgyógyászat
24.	67	férfi	szepszis	3	meropenem , flukonazol	26537	2013-09	vér	belgyógyászat
25.	75	nő	akut szívbelhártyagyulladás	3	cefuroxim	15110	2015-05	torok	belgyógyászat
26.	37	férfi	arcüreggyulladás	1	nincs	17625	2015-05	torok	fül-orr-gégészlet
27.	81	nő	bélbetegség	2	nincs	19442	2015-06	torok	sebészet
28.	90	férfi	magas vérnyomás	1	nincs	15263	2015-05	torok	belgyógyászat
29.	64	férfi	tüdőtumor	3	nincs	18219	2015-06	torok	tüdőgyógyászat
30.	68	nő	magas vérnyomás	1	nincs	14983	2015-05	hörgő	belgyógyászat
31.	87	férfi	bakteriális tüdőgyulladás	3	nincs	18334	2015-06	hörgő	sebészet
32.	5	nő	szepszis	3	meropenem , klindamicin	21672	2015-07	hörgő	gyermek pulmonológia
33.	81	nő	légső és hörgők betegsége	1	nincs	20500	2015-06	hörgő	tüdőgyógyászat
34.	1 hó	nő	akut hörghurut	3	vankomicin , meropenem , trimetoprim , ampicillin/ szulbaktám	19438	2015-06	hörgő	gyermek pulmonológia
35.	70	férfi	akut hasi gyulladás	3	kolisztin	20438	2015-06	hasüreg	sebészet
36.	58	férfi	nyombélfekély	2	nisztatin	15360	2015-05	hasüreg	sebészet
37.	56	férfi	hasnyálmirigy daganat	3	nincs	15207	2015-05	hasüreg	sebészet
38.	36	férfi	bélbetegség	3	nincs	15745	2015-05	hasüreg	sebészet

Betegre vonatkozó adatok						A beteghez tartozó izolátumokra vonatkozó adatok			
Beteg azonosító	Kor	Nem	Alapbetegség	Alapbetegség súlyossága	Profilaxis	Izolátum száma	Mintavétel ideje	Izolátum forrása (testtáj)	Kórházi osztály
39.	12	nő	szepszis	3	meropenem , flukonazol	15815	2015-05	torok	gyermek pulmonológia
39.	12	nő	szepszis	3	meropenem , flukonazol	16312	2015-05	vizelet	gyermek pulmonológia
39.	12	nő	fekélyes vastagbélgyulladás	2	meropenem , flukonazol	20803	2015-06	seb	gyermek pulmonológia
39.	12	nő	fekélyes vastagbélgyulladás	2	meropenem , flukonazol	21646	2015-07	vér	gyermek pulmonológia
40.	75	nő	ateroszklerotikus szívbetegség	3	nincs	15320	2015-05	kanül	sebészet
40.	75	nő	ateroszklerotikus szívbetegség	3	nincs	15310	2015-05	vér	sebészet
41.	5	férfi	agykamra-tágulat (vízfűtés)	3	cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacín, vancomicin , flukonazol	18685	2015-06	vér	gyermek pulmonológia
41.	5	férfi	agykamra-tágulat (vízfűtés)	3	cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacín, vakomicin, flukonazol	19595	2015-06	vér	gyermek pulmonológia
42.	69	nő	térd ízületi porckopás	1	flukonazol, ciprofloxacín, klindamicin	15130	2015-05	seb	ortopédia
42.	69	nő	térd ízületi porckopás	1	flukonazol, ciprofloxacín, klindamicin	16873	2015-05	seb	ortopédia
42.	69	nő	térd ízületi porckopás	1	flukonazol, ciprofloxacín, klindamicin	14615	2015-05	seb	ortopédia
43.	76	férfi	comb artéria ateroszklerózis	2	amoxicillin/ klavulánsav	15299	2015-05	seb	sebészet

Betegre vonatkozó adatok						A beteghez tartozó izolátumokra vonatkozó adatok			
Beteg azonosító	Kor	Nem	Alapbetegség	Alapbetegség súlyossága	Profilaxis	Izolátum száma	Mintavétel ideje	Izolátum forrása (testtáj)	Kórházi osztály
43.	76	férfi	comb artéria ateroszklerózis	2	amoxicillin/klavulánsav	19113	2015-06	seb	sebészet
43.	76	férfi	epe-kövesség	2	amoxicillin/klavulánsav	20099	2015-06	seb	sebészet

3. táblázat: A *S. cerevisiae* klinikai izolátumok listája

Izolátumok száma	Izolátum származása (klinika)	Izolátumok anatómiai származása	A beteg neme	A beteg kora (év)	A beteg alapbetegsége	Az izolálás dátuma
00001	Szegedi egyetemi klinika	méhnyak	nő	40	veszélyeztetett terhesség	2014-07
00002	Szegedi egyetemi klinika	széklet	nő	62	sokkos állapot	2014-07
00003	Szegedi egyetemi klinika	légső	férfi	90	tüdőgyulladás	2013-11
00004	Szegedi egyetemi klinika	gyomor	férfi	63	szepszis	2014-03
00005	Szegedi egyetemi klinika	torok	férfi	72	szepszis	2014-02
00006	Szegedi egyetemi klinika	széklet	férfi	84	szívburokban lévő nem gyulladásoos folyadék	2014-06
00007	Szegedi egyetemi klinika	gyomor	férfi	71	szepszis	2014-02

Izolátumok száma	Izolátum származása (klinika)	Izolátumok anatómiai származása	A beteg neme	A beteg kora (év)	A beteg alapbetegsége	Az izolálás dátuma
00008	Szegedi egyetemi klinika	méhnyak	nő	34	veszélyeztetett terhesség	2014-07
00009	Szegedi egyetemi klinika	torok	nő	89	combnyaktörés	2013-10
27290	Debreceni Egyetem Klinika	tüdőhörgő	férfi	71	aortabillentyű-szűkület	2015-08
27020	Debreceni Egyetem Klinika	tüdőhörgő	nő	40	szepszis	2015-08
29607	Debreceni Egyetem Klinika	köpet	férfi	61	tüdőrák	2015-09

5.2. A *C. albicans* izolátumok virulencia faktorainak vizsgálatára vonatkozó módszerek

5.2.1. A *C. albicans* izolátumok hifázó képességének mérése Spider agaron

Az egy éjszakán át tenyésztett sejteket steril foszfát pufferben (PBS) háromszor mostuk majd 1 ml pufferben szuszpendáltuk azokat. 1×10^7 sejt/ml szuszpenzióból 5 μ l mennyiséget cseppentettünk Spider tápagar felszínére. Minden izolátum vizsgálatakor három párhuzamos felcseppentést végeztünk. A tenyészetek inkubálása 30 °C-on 10 napig zajlott (Fekete és mtsai. 2007, 2008). A 10. napon meghatároztuk a hifázó növekedés mértékét (Δh),

amelyhez a következő paramétereket használtuk: a telep átmérők (d) és az egyes telepek körüli hifázó növekedést mutató gyűrű szélessége (w). A hifázó növekedés mértékét az 1. formula írja le:

$$\Delta h = (w)/(d+w)*100 \quad (1)$$

5.2.2. A *C. albicans* izolátumok inert felszínhez történő adhéziójának vizsgálata

A *C. albicans* izolátumok adhéziós képességének vizsgálatokor 96 lyukú polipropilén (PP) összetételű mikrotiter lemezt használtunk. A sejtek műanyag felszínhez történő tapadását RPMI 1640, bikarbonátmentes, pH 7 médiumban vizsgáltuk meg. Minden egyes tesztlyukba 5×10^6 sejt/ml sejtszuszpenzióból 100 μ l-t mértünk, majd 3 óra hosszáig 37 °C-os termosztátba helyeztük a lemezt. Az inkubálás után a letapadt sejteket nem megsértve, óvatosan a maradék tápoldatot mosási lépésekkel (PBS-el, 3x) távolítottuk el. A letapadt sejtekre előre elkészített -70 °C-on tárolt XTT-menadion (menadion-nátrium-biszulfid: MSB, 1 μ M mennyiségben) (Ringer-oldatban) oldatból 100 μ l-t mértünk, majd sötétben ismét 1 óra inkubálás következett. A kolorimetriás változás alapján a letapadt sejtek abszorbanciáját mikrotiter lemezolvasó (Bio Tek Instruments EL 340 Bio-kinetics Microplate Reader) segítségével határoztuk meg 490 nm-es hullámhosszon (Ramage és mtsai. 2001).

5.3. A *C. albicans* és *S. cerevisiae* izolátumok fenotípusos tulajdonságainak vizsgálatára alkalmazott módszerek

5.3.1. Hidrolitikus enzimaktivitások meghatározása

Az extracelluláris foszfolipáz enzimaktivitást tojássárgája-tartalmú tápagon (Ibrahim és mtsai. 1995), míg az aszpartát proteáz enzimaktivitásokat BSA (borjú szérum albumin) tartalmú tápagon Price és munkatársainak (1982) leírása szerint határoztuk meg. Mindkét esetben az előtenyésztett, majd 10^7 sejt/ml-re állított szuszpenzióból 5 μ l mennyiséget cseppentettünk az adott táptalaj felszínére. Minden táptalajra egy-egy izolátum szuszpenziójából 3-3 párhuzamos felcseppentés történt (Price és mtsai. 1982). A tenyészeteket 30 °C-on inkubáltuk és a 3. napon méréseket végeztünk. Meghatároztuk a telepek körüli feltisztulás átmérőjéből az ún. precipitációs zónahányados (továbbiakban: Pz érték) értékét, amely a telep átmérő és a telep körüli feltisztulási zóna hányadosa. A Pz értékek 0-1 közötti értékeket vehetnek fel, amelyek fordított arányosságban vannak az enzimaktivitással ($1/Pz$): minél kisebb a Pz érték, annál nagyobb enzimaktivitásra következtethetünk (Kantarcioğlu és Yücel 2002).

5.3.2. Hemolitikus aktivitás meghatározása

A hemolitikus aktivitás meghatározásához birkavért tartalmazó, dextrózban gazdag táptalajon (1 liter tápagar tartalmaz: 15 g agar, 10g pepton, 40g dextróz, 7-8% steril birkavér, pH6) szaporítottuk az izolátumokat. Minden foszfát pufferben elkészített sejt szuszpenzióból 10^7 sejt/ml (5 μ l) mennyiséget cseppentettünk a táptalaj felszínére. Minden

izolátumnál egy–egy táptalajra három párhuzamos felcseppentés történt. A tenyészetek 37 °C-on 3 napig inkubáltuk 5% CO₂ jelenlétében. A hemolítikus index (továbbiakban: HI) kiszámításakor a telep körüli hemolítikus zóna átmérőjének értékét osztottuk a telep átmérőjének értékével (Luo és mtsai. 2001). Az Eredmények fejezetben tárgyalt hemolítikus index csoportokat az izolátumok HI értékeinek teljes intervalluma alapján mi állapítottuk meg: 1,1 és 1,9 értékek között határoztuk meg a *C. albicans* izolátumok HI csoportjait: (1-1,24: kicsi hemolítikus aktivitás; 1,25-1,49: közepes mértékű hemolítikus aktivitás és 1,5-1,99: nagy hemolítikus aktivitás). A *S. cerevisiae* izolátumok HI értékei szűk intervallumban helyezkedtek el, ezért nem határoztunk meg csoportokat (**10., 11. táblázat**).

5.3.3. Magas hőmérsékleten történő szaporodás vizsgálata

A magas hőmérsékleten történő szaporodás vizsgálathoz a *C. albicans* izolátumokat SDA tápagon előinkubáltuk. A sejtszámot úgy állítottuk be, hogy egy-egy tápagarra minden esetben ~30 gombasejt kerüljön (30 CFU). A tenyészeteket 3 napon át inkubáltuk 42°C-on, majd a különálló telepek átmérőit lemértük, majd a mérési adatokat átlagolva meghatároztuk az izolátumok szaporodásának mértékét (Fekete és mtsai. 2008) (**12. táblázat**).

A *S. cerevisiae* izolátumok 40, 41 és 42°C-on történő szaporodásának vizsgálatához De Llanos és munkatársai (2006) által kidolgozott módszerét alkalmaztuk: YPD táptalajra 3-3 párhuzamos felcseppentést végeztünk (10⁴ gombasejt /ml szuszpenzióból 10 µl mennyiséget), majd a telep növekedésének mértékét 3 nap inkubálást követően vizuálisan értékeltük. A következő módon jelöltük (gyenge növekedés: +-, közepes mértékű növekedés: +; erőteljes növekedés: ++) (**13. táblázat**).

5.3.4. Antifungális szerekkel és oxidatív stresszt okozó szerrel szembeni érzékenység, MIC érték meghatározása

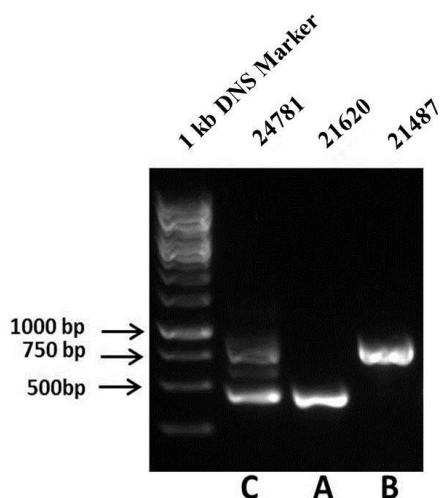
A minimális gátló koncentráció (továbbiakban: MIC) meghatározását két antifungális szert: az amphotericin B-t (AmB) és a flukonazolt (Flu), valamint az MSB, oxidatív stresszt okozó ágenszt alkalmazva végeztük el. Az általunk vizsgált MSB, a korábban már tanszékünkön más *C. albicans* izolátumok érzékenységének tesztelésére használt oxidatív stresszt generáló ágensek közül került kiválasztásra (Fekete és mtsai. 2007). Az MSB szuperoxid anionok (O_2^-) képződését eredményezi és oxidatív stresszt előidézve gátolja a gomba sejtek növekedését (Pócsi és mtsai. 2005). A meghatározáshoz 96 lyukú (PP összetételű) mikrotiter lemezt használtunk. A Flu és AmB szerekkel szembeni érzékenység vizsgálatánál az izolátumok szaporítása bikarbonáttól mentes RPMI-1640 (pH7.0) tápoldatban, míg MSB tolerancia meghatározása SDB tápoldatban történt. Az alkalmazott koncentráció intervallumok: Flu esetén: 0,128-64 $\mu\text{g/ml}$, AmB esetén: 0,007-4 $\mu\text{g/ml}$, míg MSB esetén 0,3-1,3 mM közé estek. Az AmB és Flu szerekkel szembeni érzékenység vizsgálatánál a MIC érték meghatározásához szükséges gomba sejtek koncentrációjának beállítása és az adott referencia törzsek használata az élesztők antifungális szerekkel szembeni érzékenység meghatározásához alkalmazott referencia módszer leírása szerint történt („Clinical and Laboratory Standards Institute”, CLSI 2008, M27-A3 protokoll alapján). Az MSB, oxidatív stresszt okozó szer tesztelésénél végkoncentrációban 10^4 gombasejt /200 μl szuszpenziót mértünk minden tesztlyukba minden vizsgált koncentrációnál. Az izolátumok MIC értékeit 24 órás inkubáció elteltével MSB (ebben a közegben fungicid) és AmB (fungicid) szereknél, annál a koncentrációnál állapítottuk meg, ahol a gomba teljes mértékben elpusztult, (teljes feltisztulás az adott koncentrációnál). Flu-nál (fungisztatikus) ott határoztuk meg a MIC értéket, ahol a gomba

szaporodása és növekedése gátlás alatt volt, vagyis a gomba kontrollhoz képest 50% denzitás csökkenést tapasztaltunk (CLSI 2008, M27-A3 protokoll alapján).

5.4. A *C. albicans* izolátumok ABC genotípusainak meghatározása

Az egyes élesztő izolátumok kolóniáiból Hanna és Xiao (2006) módszerét alkalmazva izoláltunk genomi DNS-t a genotipizálás (McCullough és mtsai. 1999) végrehajtásához. A genotipizáláshoz a CA-INT-L (5'-ATAAGGGAAGTCGGCAAATAGATCCGTAA-3') és CA-INT-R (5'CCTTGGCTGTGGTTTCGCTAGATAGTAGAT-3') primerpárt használtuk (McCullough és mtsai. 1999). A PCR-reakciót TProfessional (Biometra, Göttingen, Germany) készülékkel végeztük, lépései a következők: denaturáció 95 °C-on, 5 percen át, ezt követően 30 cikluson keresztül: 50 másodpercig, 95 °C és 50 másodpercig 59 °C-on történő primerek kapcsolódása, vagyis a primerek kapcsolódása a DNS két szálához, majd a polimerizációs (elongációs) szakasz következett 72 °C-on, 1 percen keresztül. Végül a végső elongációs szakasz ugyancsak 72 °C-on, 10 percig tartott. A PCR terméket 1 %-os agaróz gélben, 90 V feszültségen, 1 órán keresztül futattuk, 1 X TAE pufferben.

A 25S riboszomális DNS ismétlődésekben előforduló egyik transzpozabilis intron hiánya (A: 450 bp), jelenléte (B: 840 bp), részleges jelenléte (C: 450+840 bp) alapján 3 féle genotípust különíthetünk el, amelyeket a **3. ábra** szemléltet. A sáv mintázatok alapján tehát A, B vagy C genotípusú csoportokba soroltuk a vizsgált *C. albicans* izolátumokat (McCullough és mtsai. 1999).



3. ábra: A genotípusok azonosítása
Példaként három törzs agaróz gélelektroforézis után kapott sáv mintázatának bemutatásával

5.5. Statisztikai analízis a *C. albicans* klinikai izolátumokra

Vizsgálataink szempontjából az izolátumokat olyan metapopulációként értelmeztük, amelyek kellő számban jelen vannak az egyes anatómiai helyeken, adott időpontban. Arra voltunk kíváncsiak, hogy az adott időpontban izolálásra került gombák különböznek-e fenotípusos tulajdonságaikban vagy ABC genotípusaikban. Minden anatómiai helyről, testtájról legalább 4-5 izolátum került a gyűjteményünkbe, amelyek vizsgálata minden esetben standard körülmények között zajlott. A *C. albicans* fenotípusos tulajdonságait és ABC genotípusait elemeztük és a statisztikai analízist azért készítettük, hogy megnézzük, hogy a gomba fenotípusos tulajdonságai, ABC genotípusai és annak előfordulása között van-e kapcsolat. Továbbá, hogy megtudjuk, hogy adott időpontban (év, hónap) izolált és

bizonyos fenotípusos tulajdonságokkal rendelkező gomba előfordulása mutat-e niche specializációra utaló jeleket (csoportosulnak-e az izolátumok testrészt, testtáj vagy bármely beteg függő paraméter szerint). Az általunk alkalmazott statisztikai modell figyelembe vette, hogy az egy-egy betegből eredő izolátumok feltehetően nem függetlenek (genetikai hasonlóság).

Megjegyzés: a *S. cerevisiae* izolátumokból a vizsgálataink ideje alatt összesen 12 izolátum gyűlt össze a debreceni és a szegedi egyetemi klinikák bevonásával is, valamint az izolátumok anatómiai eredeteinek eloszlása is egyenlőtlen volt, így a fenotípusos tesztek elvégzésén túl az adatsor nem volt alkalmas a statisztikai analízisek elvégzésére.

5.5.1. Statisztikai elemzések

A statisztikai analízisek R interaktív statisztikai környezetben (3.1.1. verzió) (R Core Team, 2014) valamint lme4 (1.1-109 verzió) (Bates és mtsai. 2014) és ImerTest csomag (2.0-29 verzió) (Kuznetsova és mtsai. 2015) alkalmazásával készültek, amelyeket Prof. Dr. Barta Zoltán (Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék) végzett el.

A fenotípusos tulajdonságok vizsgálatánál az antifungális szerekkel szembeni érzékenység meghatározásán kívül, minden kísérletet háromszor ismételtünk meg. A statisztikai elemzést először a mért nyers értékekkel végeztük el (**Függelék**), amelyek nagyfokú reprodukálhatóságot mutattak, ezért a további analízisekhez a három-három mért érték átlagát használtuk (**4 - 15. táblázat**). A mért változók (a kilenc fenotípusos tulajdonság és az ABC genotípusok) közötti korreláció tesztelése Spearman-féle rangkorrelációval történt. A genotípusok előfordulásának és a betegtől függő és betegtől független tulajdonságok összefüggésének becsléséhez GLMM („Generalized

Linear Mixed Models”), vagyis általánosított lineáris kevert modelleket használtunk. Ebben a modellben az egyes genotípusok előfordulása (igen vagy nem) válaszváltozóként szerepelt, míg a beteg azonosítók random faktorokként voltak hozzáadva (így a modell számolni tudott azzal, hogy 1-1 betegről több izolátum származott). A betegek neme, kora, az alapbetegségük súlyossági szintje (1-3), az izolálás hava és éve, a kórházi osztály ahonnan az izolátum származik, valamint az izolátumok anatómiai eredete (testrész, testtáj) ún. prediktorként funkcionáltak az analízisben. A nem minden szempontból egyenlő megoszlású mintavételezés miatt az összes prediktort tartalmazó binomiális modell nem konvergált, így a nem szignifikáns prediktorok eliminálása nem volt kivitelezhető. Ezért egy alternatív megközelítést választottunk és egymás után sorban adtuk hozzá a null modellhez az egyes prediktorokat, amely eredetileg csak az ún. tengelymetszetet és a random faktorokat tartalmazta. Az új megközelítés segítségével csak szignifikáns hatással rendelkező prediktorokat tartottuk meg. A prediktorok más sorrendben történő hozzáadásával is elvégeztük az elemzéseket, így megbizonyosodhattunk arról, hogy a kapott eredményeink nem a prediktorok hozzáadásának sorrendjétől függenek. A szignifikancia szintek meghatározásához valószínűségi-hányados teszttel (LRT: „likelihood-ratio test”) hasonlítottuk össze a prediktorok nélküli és azokkal együtt elkészített null- és alternatív modelleket.

Kevert hatású linearizált modellt alkalmaztunk (LMM: „Linear mixed-effects model”), hogy következtetni tudjunk a mintavételi körülmények és az ABC genotípusok, valamint a fenotípusos tulajdonságok és a gomba előfordulása közötti kapcsolatra. Ezekben a modellekben az egyes fenotípusos változók külön-külön válaszváltozóként, míg a beteg azonosítók random faktorként voltak rögzítve (így szintén számításba vettük azt, hogy egy-egy betegről több izolátum is származik). A prediktorok

ezeknél a modelleknél is a betegek neme, kora, alapbetegségük súlyossági szintje (1-3), az izolálás éve és hava, kórházi osztály ahol az izolálás történt és az izolátumok anatómiai eredete voltak, valamint a genotípusok is a prediktorok közé tartoztak. A nem szignifikáns prediktorokat az ún. backward eliminációval távolítottuk el a modelltől. Az eliminálást addig folytattuk, míg a bevont prediktorok közül valamennyi szignifikáns nem lett. A nem szignifikáns változók eliminálása után létrejött minimál modell már csak a szignifikáns hatással rendelkező prediktorokat tartalmazta. A következtetéseink a minimál modell alapján vontuk le. A statisztikailag szignifikáns értékeket a Satterthwaite-megközelítés szabadsági fokainak alapján határoztuk meg. A reziduálisok normál eloszlások biztosítása érdekében a válaszváltozók közül néhányat transzformáltunk: a hifa növekedés analíziséhez négyzetes gyökér-transzformációt használtunk, és logaritmikus transzformációt az adhéziós képesség elemzéséhez. Annak ellenőrzésére, hogy az adataink a lineáris modell feltételeinek megfelelnek-e, vizuálisan is megvizsgáltuk a diagnosztikai ábrákat (box plot: doboz diagram). A transzformálások után nem találtunk komoly eltéréseket a normális eloszlás, illetve a homoszkedasztikus eloszlás között.

5.5.2. Az eredmények vizualizálása

Klaszteranalízis segítségével összehasonlítottuk a fenotípusos tulajdonságokat, amelyeket egy ún. AGNES („Agglomerative Nesting”) dendrogramon ábrázoltunk. Annak érdekében, hogy megtudjuk az izolátumok fenotípusos tulajdonságaik szerint csoportosulnak-e, egy ún. hő térképet („heat map”) és mellé egy dendrogramot hoztunk létre. A vizuális ábrázolás elkészítésének folyamatát a továbbiakban ismertetem.

A klaszteranalízis olyan dimenziócsökkentő eljárás, amelynek segítségével adattömböket tudunk homogén csoportokba osztályozni. Ezek az osztályok a klaszterek. A klaszterek adatai valamilyen dimenzió szerint hasonlítanak, illetve különböznek egymástól. A klaszterelemzés algoritmusai hierarchikus és nem hierarchikus lehet, amelyek közül mi a hierarchikus klaszterezést alkalmaztuk, amely az új klasztereket mindig az előzőleg kialakított klaszterek alapján keresi meg, ellentétben a nem hierarchikus módszerrel, amely egyszerre határozná meg az összes klasztert. A hierarchikus klaszterezésen belül az összevonáson („Agglomerative”) alapuló módszer minden egyes elemet külön-külön klaszternek tekint, majd összekapcsolja őket egy nagyobb klaszterbe, ami végül az összes elemet tartalmazó egyetlen klaszter eredményez. Az összehasonlító klaszteranalízis eredménye egy dendrogram (fa) formájában kapott összeillesztés: AGNES („Agglomerative Nesting”) dendrogram (**13. ábra**). Azok a tulajdonságok, amelyek közös ágból indulnak, hasonlítanak egymáshoz és minél feljebb van az adott tulajdonságok találkozási pontja, úgy azok egyre kevésbé hasonlóak egymáshoz.

Az izolátumok fenotípusos diverzitásának ábrázolása céljából egy ún. hő térkép, („heat map”) (<http://heatmapper.ca/>) (**14. ábra**) hoztunk létre (Babicki és mtsai. 2016). A mérések eredményeként kapott 3-3 nyers számadatot (**Függelék**) vettünk alapul. A számértékeket először normalizáltuk, amellyel a középértékkel és szórással megadott adatokból standardizált értéket kaptuk meg, vagyis a Z értéket ($z=(y-min)/(max-min)$). A kapott adatsor segítségével elkészítettük a fenotípusos tulajdonságokra vonatkozó hő térkép (<http://heatmapper.ca/>). Euklidészi távolságot (két pont távolsága a pontok különbségének négyzetének gyökével egyezik meg) és az összevonáson alapuló klaszteranalízis fajtái közül az átlagos láncmódszert állítottuk be, ami két klaszter távolságát az összes elem páronkénti

távolságának átlaga alapján határozza meg (a pár egyik eleme az egyik, másik eleme a másik klaszterbe tartozik). A hőtérekép mellé Ward-féle módszert alkalmazva, – hasonló módon a fenotípusos tulajdonságokra vonatkozó – dendrogramot készítettünk (<http://wessa.net/>)(Wessa P. Free Statistics Software version 1.1.23-r7; 2017). Ez a módszer két klaszter középpontjának közelségét méri és azokat a klasztereket vonja össze, amelyeknél a legkisebb lesz a belső szórásnégyzet növekedése. A fenotípusos tulajdonságokra vonatkozó dendrogram és hőtérekép mellé az izolátumok azonosítószámát, eredetét (tetsrész, izolátum anatómiai helye) és a klinikát, ahonnan az izolátum származik illetve az adott izolátum genotípusát tüntettük fel (**14. ábra**).

6. Eredmények

6.1. A *C. albicans* és *S. cerevisiae* izolátumok fenotípusos diverzitásának vizsgálata

A 63 klinikai *C. albicans* izolátum állt rendelkezésünkre és 12 *S. cerevisiae* klinikai izolátum, amelyeknek fenotípusos tulajdonságait, virulencia faktorait vizsgáltuk meg. Az alábbi fejezetekben részletesen tárgyaljuk a kapott eredményeket: a *C. albicans* izolátumok hifázó képességének, inert felszínhez történő adhéziójának vizsgálatára kapott eredményeket, valamint a *C. albicans* és a *S. cerevisiae* izolátumok hidrolitikus enzimaktivitás, hemolitikus aktivitás, magas hőmérsékleten való szaporodás és az antifungális szerekkel és MSB-vel szembeni érzékenység meghatározására kapott eredményeket (**4 - 16. táblázat, 4 - 12. ábra** melyekből a mért nyers értékek a **Függelékben** láthatók). Bemutatjuk a *C. albicans* izolátumok ABC genotípusait és ezeknél az izolátumoknál az eredményeinken alapuló statisztikai elemzést. A *S. cerevisiae* izolátumok csekély elemszáma miatt statisztikai analízisre nem volt alkalmas az adatsor, így ezeknél az izolátumoknál az említett kísérletek eredményeit tárgyalja a disszertáció.

6.1.1. A *C. albicans* izolátumok hifázó képességének vizsgálata

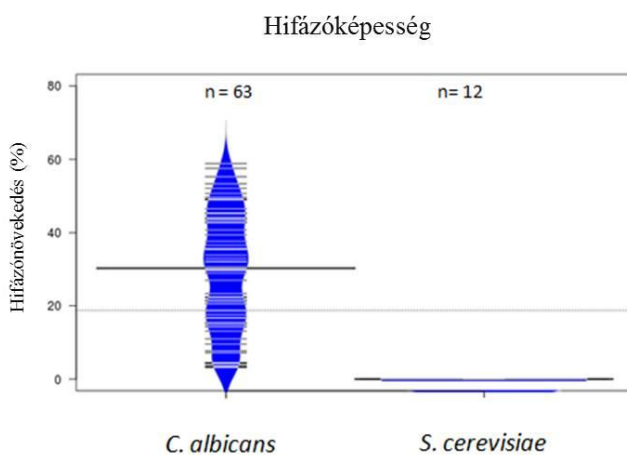
A hifázó képesség vizsgálatakor a hifázó növekedést mutató gyűrű szélességét mértük meg (1. formula). A hifázó gyűrű szélességét százalékban kifejezve adtuk meg a 100 %, vagyis a hifázó növekedéssel együtt vett teljes telep méretéhez képest.

A *C. albicans* izolátumok hifázó növekedésének mértéke 10 % és 50 % között volt a teljes telep (100 %) átmérőjéhez képest (**4. táblázat, 4. ábra**). A 63 *C. albicans* izolátumból 9 igen kismértékű, 10 % alatti hifázó növekedést mutatott, 18 izolátum pedig kimagaslóan nagymértékben hifázott, 40 %-ot meghaladó fonalas növekedést produkált 10 nap elteltével Spider agaron. Az izolátumok többségének 10 és 40 % közé esett a hifázó növekedésének mértéke. A kísérlet a *S. cerevisiae* izolátumokra nem volt adaptálható.

4. táblázat: A *C. albicans* izolátumok hifázó képessége

Beteg azonosító	Izolátum száma	Hifázó növekedés (%)	Beteg azonosító	Izolátum száma	Hifázó növekedés (%)
1.	24781	30,020	24.	26084	35,450
2.	21620	18,667	24.	26375	37,640
3.	21487	14,180	24.	26537	32,940
4.	25711	30,603	25.	15110	17,536
5.	21485	57,543	26.	17625	33,834
6.	28269	45,093	27.	19442	52,089
7.	26623	16,665	28.	15263	45,383
8.	22307	22,277	29.	18219	49,671
9.	27468	21,290	30.	14983	46,529
10.	28556	15,250	31.	18334	4,520
11.	23878	21,550	32.	21672	23,290
12.	27386	26,997	33.	20500	48,871
13.	22747	49,073	34.	19438	32,157
14.	24442	7,217	35.	20438	30,266
15.	24125	10,961	36.	15360	58,867
16.	25818	4,230	37.	15207	50,716
17.	28666	13,107	38.	15745	39,335
18.	26136	18,790	39.	15815	15,490
19.	25089	28,930	39.	16312	3,099

Beteg azonosító	Izolátum száma	Hifázó növekedés (%)	Beteg azonosító	Izolátum száma	Hifázó növekedés (%)
20.	28539	29,673	39.	20803	9,552
21.	23113	3,358	39.	21646	7,719
21.	23690	4,530	40.	15320	29,931
21.	24345	14,706	40.	15310	36,541
21.	25083	3,635	41.	18685	53,372
22.	21426	40,685	41.	19595	55,277
22.	21684	42,963	42.	15130	35,636
22.	21860	42,603	42.	16873	43,898
22.	22345	43,570	42.	14615	31,992
22.	22346	44,065	43.	15299	35,490
23.	21935	16,783	43.	19113	49,180
23.	21924	22,450	43.	20099	35,576
23.	22624	20,620			



4. ábra: A *C. albicans* izolátumok hifázó növekedésének grafikus szemléltetése

6.1.2. A *C. albicans* izolátumok inert felszínhez történő adhéziós képességének vizsgálata

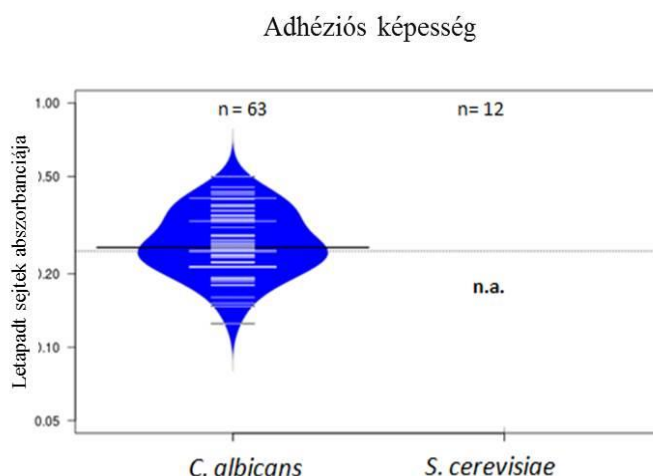
A *C. albicans* élesztőgomba sejtek adhéziós képessége fontos virulencia faktor. Ez a képesség teszi lehetővé az élesztő sejtek egymáshoz, illetve különböző felszínekhez (pl. nyálkahártya, epitél sejtek, a nem lebomló: inert, műanyag) történő tapadásukat, majd ezt követően az antifungális terápiának is sok esetben ellenálló, biofilm képzését (Panagoda és mtsai. 2001). A *C. albicans* gombák inert felszínhez történő adhéziós képességének vizsgálatakor 0,125-0,501 közé eső abszorbancia értékeket mértünk, tehát négyszeres különbség figyelhető meg az izolátumok adhéziós képességét tekintve (**5. táblázat, 5. ábra**).

A *S. cerevisiae* izolátumoknál, előzetes eredmények alapján az adhézió vizsgálatára kidolgozott módszer nem volt reprodukálható és nagyon alacsony abszorbancia értékeket mutatott, így eltekintettünk a módszer alkalmazásától ezeknél az izolátumoknál.

5. táblázat: A *C. albicans* izolátumok inert felszínhez történő adhéziójának vizsgálatára kapott eredmények

Beteg azonosító	Izolátum száma	Adhéziós képesség (abszorbancia)	Beteg azonosító	Izolátum száma	Adhéziós képesség (abszorbancia)
1.	24781	0,212	24.	26084	0,260
2.	21620	0,160	24.	26375	0,191
3.	21487	0,151	24.	26537	0,237
4.	25711	0,224	25.	15110	0,375
5.	21485	0,236	26.	17625	0,240
6.	28269	0,213	27.	19442	0,408
7.	26623	0,179	28.	15263	0,186
8.	22307	0,221	29.	18219	0,408

Beteg azonosító	Izolátum száma	Adhéziós képesség (abszorbancia)	Beteg azonosító	Izolátum száma	Adhéziós képesség (abszorbancia)
9.	27468	0,147	30.	14983	0,254
10.	28556	0,267	31.	18334	0,379
11.	23878	0,435	32.	21672	0,362
12.	27386	0,212	33.	20500	0,328
13.	22747	0,125	34.	19438	0,288
14.	24442	0,274	35.	20438	0,501
15.	24125	0,214	36.	15360	0,404
16.	25818	0,384	37.	15207	0,420
17.	28666	0,452	38.	15745	0,248
18.	26136	0,189	39.	15815	0,325
19.	25089	0,190	39.	16312	0,428
20.	28539	0,180	39.	20803	0,332
21.	23113	0,346	39.	21646	0,363
21.	23690	0,223	40.	15320	0,214
21.	24345	0,193	40.	15310	0,249
21.	25083	0,249	41.	18685	0,342
22.	21426	0,348	41.	19595	0,268
22.	21684	0,284	42.	15130	0,246
22.	21860	0,286	42.	16873	0,246
22.	22345	0,256	42.	14615	0,275
22.	22346	0,213	43.	15299	0,251
23.	21935	0,335	43.	19113	0,262
23.	21924	0,233	43.	20099	0,328
23.	22624	0,309			



5. ábra: Az izolátumok adhéziós képességének grafikus szemléltetése
(A *S. cerevisiae* izolátumokra nincs adat (n.a.) a kísérlet nem volt reprodukálható ezeknél az izolátumoknál)

6.1.3. A foszfolipáz aktivitás meghatározása

A *C. albicans* izolátumok extracelluláris foszfolipáz enzimtermeléséből számolt (Pz értékek: 0,516-0,817) értékek egészen széles skálán helyezkedtek el. A Pz értékek csoportosítását Kantarcioğlu és Yücel (2002) alapján végeztük el (Isd. 5.3.1-es fejezet). Nem volt olyan izolátum, amely nagyon kicsi foszfolipáz aktivitást (1/Pz) mutatott (0,9-1 közötti Pz érték). Két izolátum a nagy Pz értékű (0,8-0,89) csoportba tartozott, vagyis a foszfolipáz aktivitása kicsi volt. Az izolátumok többségénél (30 izolátum) kis Pz értéket (0,7-0,79), illetve (31 izolátum) nagyon kicsi Pz értéket (0,7>) mértünk, vagyis a vizsgált izolátumaink több mint 90 %-ának nagy, ill. nagyon nagy volt a foszfolipáz enzimaktivitása (**6. táblázat, 6. ábra**).

A *S. cerevisiae* izolátumok közül a 27020. számú debreceni izolátum a tojássárgáját tartalmazó táptalajon nem szaporodott, így enzimaktivitása sem

volt mérhető. Foszfolipáz aktivitásukat tekintve négy izolátumnak volt nagy Pz értéke (0,8-0,89) vagyis kismértékű enzimaktivitása. Három izolátumnak volt kis Pz értéke (0,7-0,79), vagyis nagy foszfolipáz aktivitása. Nagyon kicsi Pz értéke (0,7>), így nagyon nagy enzimaktivitása négy *S. cerevisiae* izolátumnak volt (**7. táblázat, 6. ábra**).

6. táblázat: A *C. albicans* izolátumok foszfolipáz enzimtermeléséből számolt Pz értékek

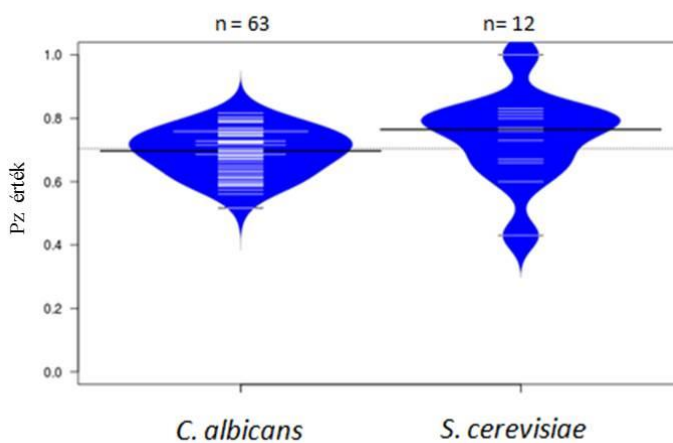
Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Foszfolipáz aktivitás (Pz érték)
<i>C. albicans</i>	1.	24781	0,516
<i>C. albicans</i>	2.	21620	0,743
<i>C. albicans</i>	3.	21487	0,640
<i>C. albicans</i>	4.	25711	0,722
<i>C. albicans</i>	5.	21485	0,725
<i>C. albicans</i>	6.	28269	0,759
<i>C. albicans</i>	7.	26623	0,585
<i>C. albicans</i>	8.	22307	0,574
<i>C. albicans</i>	9.	27468	0,614
<i>C. albicans</i>	10.	28556	0,727
<i>C. albicans</i>	11.	23878	0,697
<i>C. albicans</i>	12.	27386	0,593
<i>C. albicans</i>	13.	22747	0,765
<i>C. albicans</i>	14.	24442	0,755
<i>C. albicans</i>	15.	24125	0,793
<i>C. albicans</i>	16.	25818	0,788
<i>C. albicans</i>	17.	28666	0,792
<i>C. albicans</i>	18.	26136	0,799
<i>C. albicans</i>	19.	25089	0,759
<i>C. albicans</i>	20.	28539	0,730
<i>C. albicans</i>	21.	23113	0,759
<i>C. albicans</i>		23690	0,745
<i>C. albicans</i>		24345	0,716
<i>C. albicans</i>		25083	0,694
<i>C. albicans</i>	22.	21426	0,600
<i>C. albicans</i>		21684	0,686

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Foszfolipáz aktivitás (Pz érték)
<i>C. albicans</i>	22.	21860	0,596
<i>C. albicans</i>		22345	0,590
<i>C. albicans</i>		22346	0,633
<i>C. albicans</i>	23.	21935	0,693
<i>C. albicans</i>		21924	0,630
<i>C. albicans</i>		22624	0,561
<i>C. albicans</i>	24.	26084	0,684
<i>C. albicans</i>		26375	0,654
<i>C. albicans</i>		26537	0,671
<i>C. albicans</i>	25.	15110	0,723
<i>C. albicans</i>	26.	17625	0,615
<i>C. albicans</i>	27.	19442	0,805
<i>C. albicans</i>	28.	15263	0,686
<i>C. albicans</i>	29.	18219	0,749
<i>C. albicans</i>	30.	14983	0,622
<i>C. albicans</i>	31.	18334	0,787
<i>C. albicans</i>	32.	21672	0,817
<i>C. albicans</i>	33.	20500	0,757
<i>C. albicans</i>	34.	19438	0,663
<i>C. albicans</i>	35.	20438	0,766
<i>C. albicans</i>	36.	15360	0,612
<i>C. albicans</i>	37.	15207	0,724
<i>C. albicans</i>	38.	15745	0,673
<i>C. albicans</i>	39.	15815	0,646
<i>C. albicans</i>		16312	0,685
<i>C. albicans</i>		20803	0,672
<i>C. albicans</i>		21646	0,728
<i>C. albicans</i>	40.	15320	0,728
<i>C. albicans</i>		15310	0,682
<i>C. albicans</i>	41.	18685	0,606
<i>C. albicans</i>		19595	0,587
<i>C. albicans</i>	42.	15130	0,703
<i>C. albicans</i>	42.	16873	0,679
<i>C. albicans</i>		14615	0,716
<i>C. albicans</i>	43.	15299	0,750
<i>C. albicans</i>	43.	19113	0,771
<i>C. albicans</i>		20099	0,705

7. táblázat: A *S. cerevisiae* izolátumok foszfolipáz enzimtermeléséből számolt Pz értékek

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Foszfolipáz aktivitás (Pz érték)
<i>S.cerevisiae</i>	44.	00001	0,76
<i>S.cerevisiae</i>	45.	00002	0,43
<i>S.cerevisiae</i>	46.	00003	0,60
<i>S.cerevisiae</i>	47.	00004	0,66
<i>S.cerevisiae</i>	48.	00005	0,67
<i>S.cerevisiae</i>	49.	00006	0,82
<i>S.cerevisiae</i>	50.	00007	0,81
<i>S.cerevisiae</i>	51.	00008	0,77
<i>S.cerevisiae</i>	52.	00009	0,83
<i>S.cerevisiae</i>	53.	27290	0,73
<i>S.cerevisiae</i>	54.	27020	nem nőtt
<i>S.cerevisiae</i>	55.	29607	0,80

Foszfolipáz Pz értékek



6. ábra: Az izolátumok foszfolipáz Pz értékeinek grafikus szemléltetése.

6.1.4. A proteáz aktivitás meghatározása

A *C. albicans* izolátumok proteáz enzimaktivitásából számolt Pz értékek szintén változatosak voltak (Pz értékek: 0,41-0,847). A Pz értékek csoportosítását úgy, mint a foszfolipáz aktivitás mérésénél, Kantarcioğlu és Yücel (2002) alapján végeztük el (lsd. 5.3.1-es fejezet). A nagyon kicsi Pz értékű (0,7>) kategóriába 52 izolátum, míg a kicsi Pz értékű (0,7-0,79) csoportba 8 izolátum tartozott, vagyis 60 izolátumnak nagy volt a proteáz enzimaktivitása (1/Pz) és csupán három izolátum mutatott nagy Pz értéket (0,8-0,89), vagyis kis aktivitást. Nem volt olyan élesztőgomba, amely a nagyon nagy Pz értékkel jellemezhető csoportba (0,9-1) tartozott (**8. táblázat, 7. ábra**).

A *S. cerevisiae* élesztők proteáz aktivitását vizsgálva, mind a 12 izolátum Pz értékei 0,4 és 0,62 közé estek, vagyis Pz értékük kisebb volt, mint 0,7, így nagy proteáz aktivitással voltak jellemezhetők (**9. táblázat, 7. ábra**).

8. táblázat: A *C. albicans* izolátumok proteáz enzimtermeléséből számolt Pz értékek

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Proteáz aktivitás (Pz érték)
<i>C. albicans</i>	1.	24781	0,500
<i>C. albicans</i>	2.	21620	0,669
<i>C. albicans</i>	3.	21487	0,453
<i>C. albicans</i>	4.	25711	0,512
<i>C. albicans</i>	5.	21485	0,606
<i>C. albicans</i>	6.	28269	0,562
<i>C. albicans</i>	7.	26623	0,575

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Proteáz aktivitás (Pz érték)
<i>C. albicans</i>	8.	22307	0,476
<i>C. albicans</i>	9.	27468	0,514
<i>C. albicans</i>	10.	28556	0,603
<i>C. albicans</i>	11.	23878	0,505
<i>C. albicans</i>	12.	27386	0,650
<i>C. albicans</i>	13.	22747	0,657
<i>C. albicans</i>	14.	24442	0,463
<i>C. albicans</i>	15.	24125	0,428
<i>C. albicans</i>	16.	25818	0,695
<i>C. albicans</i>	17.	28666	0,618
<i>C. albicans</i>	18.	26136	0,422
<i>C. albicans</i>	19.	25089	0,617
<i>C. albicans</i>	20.	28539	0,517
<i>C. albicans</i>	21.	23113	0,532
<i>C. albicans</i>		23690	0,519
<i>C. albicans</i>		24345	0,543
<i>C. albicans</i>		25083	0,481
<i>C. albicans</i>	22.	21426	0,437
<i>C. albicans</i>		21684	0,438
<i>C. albicans</i>		21860	0,479
<i>C. albicans</i>		22345	0,410
<i>C. albicans</i>		22346	0,483
<i>C. albicans</i>	23.	21935	0,493
<i>C. albicans</i>		21924	0,501
<i>C. albicans</i>		22624	0,470
<i>C. albicans</i>	24.	26084	0,501
<i>C. albicans</i>		26375	0,450
<i>C. albicans</i>		26537	0,588
<i>C. albicans</i>	25.	15110	0,715
<i>C. albicans</i>	26.	17625	0,436
<i>C. albicans</i>	27.	19442	0,737
<i>C. albicans</i>	28.	15263	0,557
<i>C. albicans</i>	29.	18219	0,634
<i>C. albicans</i>	30.	14983	0,586
<i>C. albicans</i>	31.	18334	0,780
<i>C. albicans</i>	32.	21672	0,847
<i>C. albicans</i>	33.	20500	0,664

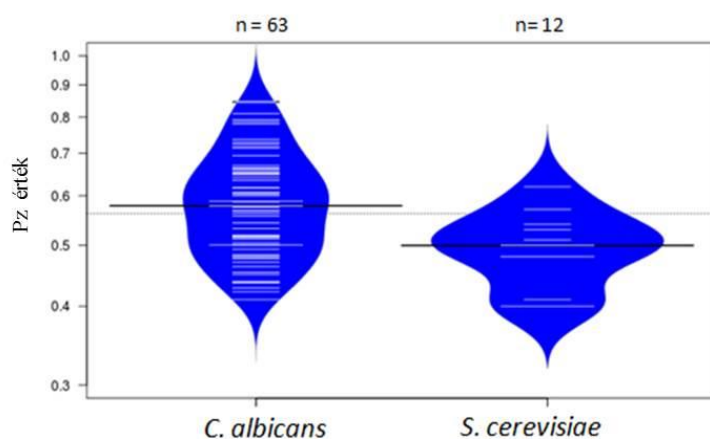
Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Proteáz aktivitás (Pz érték)
<i>C. albicans</i>	34.	19438	0,810
<i>C. albicans</i>	35.	20438	0,653
<i>C. albicans</i>	36.	15360	0,588
<i>C. albicans</i>	37.	15207	0,578
<i>C. albicans</i>	38.	15745	0,518
<i>C. albicans</i>	39.	15815	0,607
<i>C. albicans</i>		16312	0,568
<i>C. albicans</i>		20803	0,600
<i>C. albicans</i>		21646	0,578
<i>C. albicans</i>	40.	15320	0,641
<i>C. albicans</i>		15310	0,567
<i>C. albicans</i>	41.	18685	0,785
<i>C. albicans</i>		19595	0,792
<i>C. albicans</i>	42.	15130	0,844
<i>C. albicans</i>		16873	0,648
<i>C. albicans</i>	42.	14615	0,729
<i>C. albicans</i>	43.	15299	0,661
<i>C. albicans</i>		19113	0,716
<i>C. albicans</i>		20099	0,724

9. táblázat: Az *S. cerevisiae* izolátumok proteáz enzimtermeléséből számolt Pz értékek

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Proteáz aktivitás (Pz érték)
<i>S.cerevisiae</i>	44.	00001	0,40
<i>S.cerevisiae</i>	45.	00002	0,48
<i>S.cerevisiae</i>	46.	00003	0,53
<i>S.cerevisiae</i>	47.	00004	0,57
<i>S.cerevisiae</i>	48.	00005	0,62
<i>S.cerevisiae</i>	49.	00006	0,50
<i>S.cerevisiae</i>	50	00007	0,54

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Proteáz aktivitás (Pz érték)
<i>S.cerevisiae</i>	51.	00008	0,48
<i>S.cerevisiae</i>	52	00009	0,51
<i>S.cerevisiae</i>	53.	27290	0,50
<i>S.cerevisiae</i>	54.	27020	0,41
<i>S.cerevisiae</i>	55.	29607	0,40

Proteáz Pz értékek



7. ábra: Az izolátumok foszfolipáz Pz értékeinek grafikus szemléltetése.

6.1.5. Az izolátumok hemolítikus aktivitásának meghatározása

A hemolítikus képesség tanulmányozásában ún. hemolítikus index értékeket határoztunk meg, amely index egy ún. hemolítikus zóna (melyet a vörösvértestek lízise, illetve a hemoglobin szétesése okozhat) és a telepátmérő hányadosa, a számított érték növekedése tehát az aktivitás emelkedését jelzi.

Minden általunk vizsgált izolátum képes volt 1-2 nap után α -hemolízisre, vagyis a hemoglobin oxidációjára, nem teljes bontására, amelyet a véres agaron az egyes telepek körüli zöld színű zónaként látunk. Még egy nap inkubálást követően, tehát 3 nap után minden izolátum β -hemolízist váltott ki, vagyis a hemoglobin teljes mértékben lebontásra került. A β -hemolítikus zónát a telep körüli agar színű feltisztulásként ismerhetjük fel.

A hemolítikus indexek értékei 1,1 és 1,9 között mozogtak a *C. albicans* izolátumok esetében, illetve 1,76 és 2,38 közé estek az *S. cerevisiae* izolátumoknál (**10. és 11. táblázat, 8. ábra**). A *C. albicans* izolátumok közül 10-nek viszonylag kicsi hemolítikus aktivitása (1-1,24) (továbbiakban hemolítikus index: HI) volt, 14 izolátum tartozott a nagy HI értékkel (1,5-1,99) rendelkező csoportba, míg az élesztők túlnyomó többségének (39 izolátum) HI értéke 1,25 és 1,49 közé esett (**10. táblázat, 8. ábra**). A *S. cerevisiae* izolátumok közül pedig négy izolátum hemolítikus aktivitása 1,76-2 közötti értéket vett fel, a maradék nyolc izolátum, vagyis az élesztők többségének 2 és 2,38 közé esett a HI értéke (**11. táblázat, 8. ábra**). Az izolátumok csoportosítását tapasztalati skálát alkalmazva mi határoztuk meg (bővebben: Anyagok és Módszerek c. fejezetben).

10. táblázat: A *C. albicans* izolátumok hemolítikus index (HI) értékei

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Hemolítikus index (HI)
<i>C. albicans</i>	1.	24781	1,500
<i>C. albicans</i>	2.	21620	1,278
<i>C. albicans</i>	3.	21487	1,288
<i>C. albicans</i>	4.	25711	1,291
<i>C. albicans</i>	5.	21485	1,279

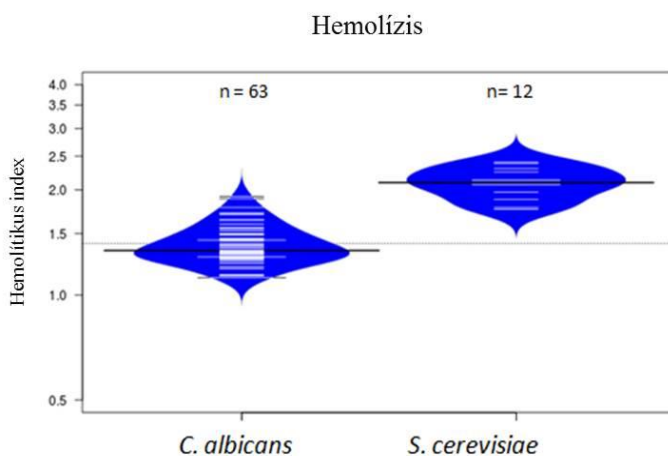
Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Hemolítikus index (HI)
<i>C. albicans</i>	6.	28269	1,707
<i>C. albicans</i>	7.	26623	1,528
<i>C. albicans</i>	8.	22307	1,780
<i>C. albicans</i>	9.	27468	1,439
<i>C. albicans</i>	10.	28556	1,347
<i>C. albicans</i>	11.	23878	1,428
<i>C. albicans</i>	12.	27386	1,292
<i>C. albicans</i>	13.	22747	1,321
<i>C. albicans</i>	14.	24442	1,334
<i>C. albicans</i>	15.	24125	1,308
<i>C. albicans</i>	16.	25818	1,915
<i>C. albicans</i>	17.	28666	1,327
<i>C. albicans</i>	18.	26136	1,322
<i>C. albicans</i>	19.	25089	1,437
<i>C. albicans</i>	20.	28539	1,285
<i>C. albicans</i>	21.	23113	1,454
<i>C. albicans</i>		23690	1,392
<i>C. albicans</i>		24345	1,341
<i>C. albicans</i>		25083	1,433
<i>C. albicans</i>	22.	21426	1,545
<i>C. albicans</i>		21684	1,643
<i>C. albicans</i>		21860	1,562
<i>C. albicans</i>		22345	1,493
<i>C. albicans</i>		22346	1,494
<i>C. albicans</i>	23.	21935	1,641
<i>C. albicans</i>		21924	1,305
<i>C. albicans</i>		22624	1,139
<i>C. albicans</i>	24.	26084	1,406
<i>C. albicans</i>		26375	1,287
<i>C. albicans</i>		26537	1,377
<i>C. albicans</i>	25.	15110	1,259
<i>C. albicans</i>	26.	17625	1,556
<i>C. albicans</i>	27.	19442	1,233
<i>C. albicans</i>	28.	15263	1,365
<i>C. albicans</i>	29.	18219	1,437
<i>C. albicans</i>	30.	14983	1,640
<i>C. albicans</i>	31.	18334	1,440

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Hemolítikus index (HI)
<i>C. albicans</i>	32.	21672	1,273
<i>C. albicans</i>	33.	20500	1,144
<i>C. albicans</i>	34.	19438	1,256
<i>C. albicans</i>	35.	20438	1,285
<i>C. albicans</i>	36.	15360	1,190
<i>C. albicans</i>	37.	15207	1,267
<i>C. albicans</i>	38.	15745	1,207
<i>C. albicans</i>	39.	15815	1,237
<i>C. albicans</i>	39.	16312	1,387
<i>C. albicans</i>		20803	1,320
<i>C. albicans</i>		21646	1,595
<i>C. albicans</i>	40.	15320	1,703
<i>C. albicans</i>		15310	1,717
<i>C. albicans</i>	41.	18685	1,886
<i>C. albicans</i>		19595	1,486
<i>C. albicans</i>	42.	15130	1,313
<i>C. albicans</i>		16873	1,191
<i>C. albicans</i>		14615	1,286
<i>C. albicans</i>	43.	15299	1,121
<i>C. albicans</i>		19113	1,136
<i>C. albicans</i>		20099	1,121

11. táblázat: A *S. cerevisiae* izolátumok hemolítikus index (HI) értékei

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Hemolítikus index (HI)
<i>S.cerevisiae</i>	44.	00001	1,78
<i>S.cerevisiae</i>	45.	00002	2,25
<i>S.cerevisiae</i>	46.	00003	2,40
<i>S.cerevisiae</i>	47.	00004	2,30
<i>S.cerevisiae</i>	48.	00005	2,38
<i>S.cerevisiae</i>	49.	00006	1,97

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Hemolítikus index (HI)
<i>S.cerevisiae</i>	50.	00007	1,88
<i>S.cerevisiae</i>	51.	00008	2,07
<i>S.cerevisiae</i>	52.	00009	2,13
<i>S.cerevisiae</i>	53.	27290	1,76
<i>S.cerevisiae</i>	54.	27020	2,13
<i>S.cerevisiae</i>	55.	29607	2,07



8. ábra: Az izolátumok hemolítikus indexeinek grafikus szemléltetése.

6.1.6. Az izolátumok magas hőmérsékleten történő szaporodásának vizsgálata

A *C. albicans* izolátumok 42 °C-on történő szaporodásának vizsgálatakor egy izolátum kivételével minden izolátum telepeinek átmérői jól mérhetőek voltak. A telep átmérők ezen a hőmérsékleten 1,9-6,7 mm közötti értékeket mutattak 62 izolátumnál, míg egy izolátum (14615.) alig látható telepátmérőinek átlaga csak 0,9 mm volt (**12. táblázat, 9. ábra**).

A *S. cerevisiae* izolátumok szaporodását 40,41 és 42 °C-on figyeltük meg. 40 °C-on mind a 12 *S. cerevisiae* izolátum képes volt szaporodni: öt izolátum jól látható, erőteljes (+) növekedést mutatott, míg hét izolátumnál gyengébb mértékű (+-) növekedést tapasztaltunk. 41 és 42 °C-os hőmérsékleten inkubálva, – ellentétben a *C. albicans* izolátumokkal – már egyik *S. cerevisiae* sem volt képes szaporodni (**13. táblázat, 9. ábra**).

12. táblázat: A *C. albicans* izolátumok magas hőmérsékleten történő szaporodásának vizsgálatára kapott eredmények

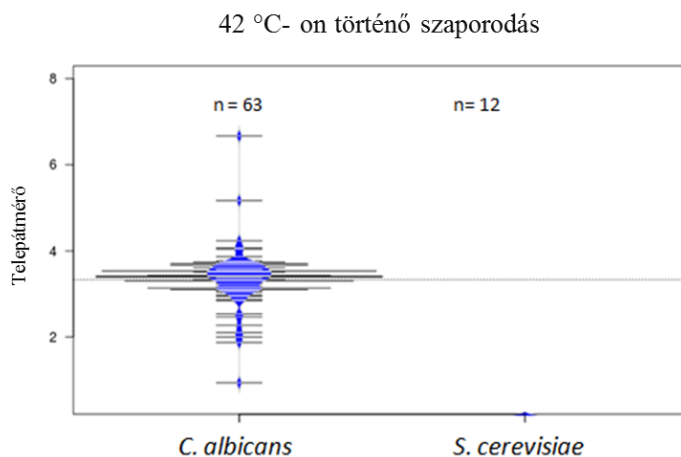
Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Növekedés 42°C-on (telepátmérők kerekített átlag értékei (mm)) 3. nap
<i>C. albicans</i>	1.	24781	3,1
<i>C. albicans</i>	2.	21620	3,6
<i>C. albicans</i>	3.	21487	3,1
<i>C. albicans</i>	4.	25711	3,8
<i>C. albicans</i>	5.	21485	3,3
<i>C. albicans</i>	6.	28269	3,5
<i>C. albicans</i>	7.	26623	3,5
<i>C. albicans</i>	8.	22307	3,5
<i>C. albicans</i>	9.	27468	3,4
<i>C. albicans</i>	10.	28556	3,4
<i>C. albicans</i>	11.	23878	3,7
<i>C. albicans</i>	12.	27386	3,3
<i>C. albicans</i>	13.	22747	2,9
<i>C. albicans</i>	14.	24442	3,4
<i>C. albicans</i>	15.	24125	3,1
<i>C. albicans</i>	16.	25818	2,9
<i>C. albicans</i>	17.	28666	3,1
<i>C. albicans</i>	18.	26136	3,1
<i>C. albicans</i>	19.	25089	3,2
<i>C. albicans</i>	20.	28539	3,7

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Növekedés 42°C-on (telepátmérők kerekített átlag értékei (mm)) 3. nap
<i>C. albicans</i>	21.	23113	3,3
<i>C. albicans</i>		23690	3,6
<i>C. albicans</i>		24345	3,2
<i>C. albicans</i>		25083	3,1
<i>C. albicans</i>	22.	21426	4,0
<i>C. albicans</i>		21684	3,4
<i>C. albicans</i>		21860	3,4
<i>C. albicans</i>		22345	3,5
<i>C. albicans</i>		22346	3,5
<i>C. albicans</i>	23.	21935	3,9
<i>C. albicans</i>		21924	3,3
<i>C. albicans</i>		22624	3,7
<i>C. albicans</i>	24.	26084	3,4
<i>C. albicans</i>		26375	3,5
<i>C. albicans</i>		26537	3,7
<i>C. albicans</i>	25.	15110	3,3
<i>C. albicans</i>	26.	17625	3,4
<i>C. albicans</i>	27.	19442	5,2
<i>C. albicans</i>	28.	15263	1,9
<i>C. albicans</i>	29.	18219	3,4
<i>C. albicans</i>	30.	14983	3,3
<i>C. albicans</i>	31.	18334	6,7
<i>C. albicans</i>	32.	21672	3,7
<i>C. albicans</i>	33.	20500	3,7
<i>C. albicans</i>	34.	19438	4,2
<i>C. albicans</i>	35.	20438	2,5
<i>C. albicans</i>	36.	15360	3,5
<i>C. albicans</i>	37.	15207	4,0
<i>C. albicans</i>	38.	15745	3,7
<i>C. albicans</i>	39.	15815	3,3
<i>C. albicans</i>		16312	3,0
<i>C. albicans</i>		20803	3,5
<i>C. albicans</i>		21646	3,0
<i>C. albicans</i>	40.	15320	3,6
<i>C. albicans</i>		15310	3,7

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Növekedés 42°C-on (telepátmérők kerekített átlag értékei (mm)) 3. nap
<i>C. albicans</i>	41.	18685	3,1
<i>C. albicans</i>		19595	2,9
<i>C. albicans</i>	42.	15130	2,1
<i>C. albicans</i>		16873	2,0
<i>C. albicans</i>		14615	0,9
<i>C. albicans</i>	43.	15299	2,5
<i>C. albicans</i>		19113	2,8
<i>C. albicans</i>		20099	2,3

13. táblázat: A *S. cerevisiae* izolátumok magas hőmérsékleten történő szaporodásának vizsgálatára kapott eredmények

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Növekedés 41 és 42 °C-on 3. nap	Növekedés 40 °C-on 3. nap
<i>S.cerevisiae</i>	44.	00001	-	+
<i>S.cerevisiae</i>	45.	00002	-	+-
<i>S.cerevisiae</i>	46.	00003	-	+-
<i>S.cerevisiae</i>	47.	00004	-	+-
<i>S.cerevisiae</i>	48.	00005	-	+-
<i>S.cerevisiae</i>	49.	00006	-	+
<i>S.cerevisiae</i>	50.	00007	-	+
<i>S.cerevisiae</i>	51.	00008	-	+-
<i>S.cerevisiae</i>	52.	00009	-	+-
<i>S.cerevisiae</i>	53.	27290	-	+
<i>S.cerevisiae</i>	54.	27020	-	+-
<i>S.cerevisiae</i>	55.	29607	-	+



9. ábra: Az izolátumok 42 °C-on történő szaporodásának grafikus szemléltetése
(A *S. cerevisiae* izolátumok nem voltak képesek szaporodásra 42 °C-on).

6.1.7. Az antifungális szerekkel és oxidatív stresszt okozó szerrel szembeni érzékenység vizsgálata

A klinikumban a gombás fertőzések kezelésére leggyakrabban alkalmazott antifungális szerek közül kísérleteinkben a Flu és az AmB került kiválasztásra, valamint egy oxidatív stresszt okozó szer, az MSB. Az AmB egy fungicid hatású szer, melynek hatására a gomba teljes mértékben elpusztul, tehát az a koncentráció jelenti ez esetben a MIC értéket, ahol mivel szaporodás nem történik, a tápoldat tiszta marad, nem láthatunk zavarosodást. Hasonlóan az AmB-hez, az MSB-nél is fungicid hatást tapasztaltunk, vagyis bizonyos koncentrációnál teljesen tiszta volt a tápoldat, a gomba nem tudott szaporodni: ezeknél a koncentráció értékeknél határoztuk meg a MIC értékeket. A Flu fungisztatikus szer, amely a gombákat szaporodásukban gátolja, de nem pusztítja el, tehát a meghatározott MIC értékeket annál a koncentrációnál határozzuk meg, ahol a gomba kontrollhoz képest (100 %), 50 % denzitás csökkenést tapasztaltunk.

A MIC meghatározásokat a CLSI által megadott koncentráció intervallumokat használva és határértékeket figyelembe véve vizuális megfigyeléssel határoztuk meg (CLSI, 2008). Az antifungális szerek vizsgálatánál egyik *C. albicans* izolátum esetében sem tapasztaltunk a klinikai kritériumok szerint rezisztenciát az adott szerrel szemben. Azoknak a betegeknek az izolátumainál (24; 39; 41; 42; számú betegek) sem volt megfigyelhető csökkent érzékenység, akiket korábban Flu-lal kezeltek (**2. táblázat**). Flu esetén a *C. albicans* izolátumok MIC értéke 0,125 és 2 µg/ml között változott, míg AmB-vel szembeni érzékenységük, az a koncentráció ahol már az élesztő gomba teljes mértékben elpusztul 0,063 µg/ml és 1 µg/ml közé esett (**14. táblázat, 10. és 11. ábra**).

A 12 *S. cerevisiae* izolátum antifungális szerekkel szembeni érzékenysége mind a két antifungális szert, mind pedig az oxidatív stresszt okozó szert tekintve hasonló mértékű volt. Az AmB esetén minden *S. cerevisiae* élesztő 0,25 µg/ml vagy 0,5 µg/ml koncentrációig tolerálta az AmB-t. Az egyik debreceni izolátum (27290.) tolerálta a legkevesbé (0,06 µg/ml) ezt az fungicid szert és egy debreceni izolátum pedig nem volt képes szaporodásra (27020.). Az előbb említett 27020. izolátum egyik antifungális, illetve oxidatív stresszt okozó szer jelenlétében sem tudott szaporodni. A Flu-t a klinikai izolátumok többsége 2 µg/ml koncentrációig tolerálta, egy izolátum 0,5 µg/ml, két izolátum pedig 1 µg/ml koncentráció jelenlétében mutatott a gomba kontrollhoz képest 50%-os növekedést, ennek a fungisztatikus szernek a jelenlétében. Az egyik szegedi izolátum (00008) MIC értéke volt a legnagyobb: 4 µg/ml (**15. táblázat, 10. és 11. ábra**).

Az MSB-vel szemben is meghatároztuk 0,6 és 1,3 mM koncentrációk között az izolátumok MIC értékét. A *C. albicans* izolátumok MSB toleranciája 0,7 és 1,3 mM között volt, de egy izolátum (24125.) már a

legkisebb, 0,6 mM koncentrációnál sem tolerálta az MSB-t. A *S. cerevisiae* izolátumok MSB-re meghatározott MIC értéke, – a szaporodásra jelen körülmények között nem képes 27020. izolátumon kívül – 11 izolátum esetén egy szűk intervallumba esett: 0,4 mM és 0,7 mM között változott. Két izolátum MIC értéke 0,4 mM, négy izolátumnak 0,5 mM, két izolátumnak 0,6 mM és három izolátumnak 0,7 mM volt (**14. és 15. táblázat, 12. ábra**).

14. táblázat: A *C. albicans* izolátumok antifungális szerekre és MSB-re meghatározott MIC értékei

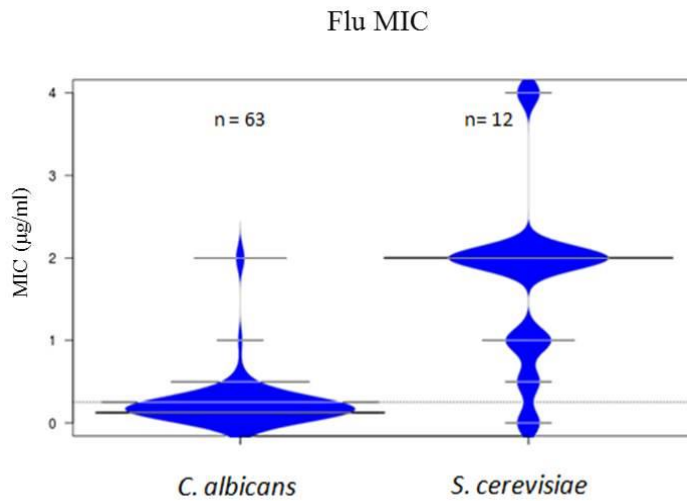
Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Flu MIC (µg/ml)	AmB MIC (µg/ml)	MSB MIC (mM)
<i>C. albicans</i>	1.	24781	0,125	0,500	0,900
<i>C. albicans</i>	2.	21620	0,250	0,500	0,900
<i>C. albicans</i>	3.	21487	0,125	0,125	1,300
<i>C. albicans</i>	4.	25711	0,125	0,250	0,800
<i>C. albicans</i>	5.	21485	0,125	0,500	1,200
<i>C. albicans</i>	6.	28269	0,250	0,500	0,900
<i>C. albicans</i>	7.	26623	0,250	1,000	1,000
<i>C. albicans</i>	8.	22307	0,250	0,500	1,000
<i>C. albicans</i>	9.	27468	0,250	0,500	1,200
<i>C. albicans</i>	10.	28556	0,125	1,000	1,200
<i>C. albicans</i>	11.	23878	0,250	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	12.	27386	0,125	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	13.	22747	0,125	0,125	1,100
<i>C. albicans</i>	14.	24442	0,500	0,500	0,800
<i>C. albicans</i>	15.	24125	0,125	0,500	0,600
<i>C. albicans</i>	16.	25818	0,250	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	17.	28666	0,125	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	18.	26136	0,125	0,500	0,700
<i>C. albicans</i>	19.	25089	0,250	0,500	0,700
<i>C. albicans</i>	20.	28539	0,125	0,063	0,800

Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Flu MIC (µg/ml)	AmB MIC (µg/ml)	MSB MIC (mM)
<i>C. albicans</i>	21.	23113	0,250	0,250	0,900
<i>C. albicans</i>		23690	1,000	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>		24345	0,125	1,000	1,000
<i>C. albicans</i>		25083	0,250	0,250	0,700
<i>C. albicans</i>	22.	21426	0,250	1,000	0,700
<i>C. albicans</i>		21684	0,500	0,500	0,700
<i>C. albicans</i>		21860	0,125	0,500	0,700
<i>C. albicans</i>		22345	0,125	0,125	0,800
<i>C. albicans</i>		22346	0,250	0,250	0,900
<i>C. albicans</i>	23.	21935	0,125	0,250	0,700
<i>C. albicans</i>		21924	0,125	0,250	0,800
<i>C. albicans</i>		22624	0,250	0,500	0,800
<i>C. albicans</i>	24.	26084	0,125	0,500	0,800
<i>C. albicans</i>		26375	0,250	0,250	1,000
<i>C. albicans</i>		26537	0,125	0,250	1,200
<i>C. albicans</i>	25.	15110	0,125	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	26.	17625	0,125	0,250	1,100
<i>C. albicans</i>	27.	19442	2,000	0,500	1,200
<i>C. albicans</i>	28.	15263	0,125	0,500	0,900
<i>C. albicans</i>	29.	18219	0,125	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	30.	14983	0,125	0,500	1,000
<i>C. albicans</i>	31.	18334	0,250	0,500	1,200
<i>C. albicans</i>	32.	21672	2,000	0,250	1,300
<i>C. albicans</i>	33.	20500	0,250	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	34.	19438	0,125	0,500	1,200
<i>C. albicans</i>	35.	20438	0,125	0,500	1,200
<i>C. albicans</i>	36.	15360	0,125	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	37.	15207	0,125	0,500	1,200
<i>C. albicans</i>	38.	15745	0,500	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>	39.	15815	0,125	0,500	0,900
<i>C. albicans</i>		16312	0,125	0,500	1,300
<i>C. albicans</i>		20803	0,125	0,500	1,100
<i>C. albicans</i>		21646	0,250	0,500	1,100
<i>C. albicans</i>	40.	15320	0,125	0,250	1,200
<i>C. albicans</i>		15310	0,250	0,250	1,100

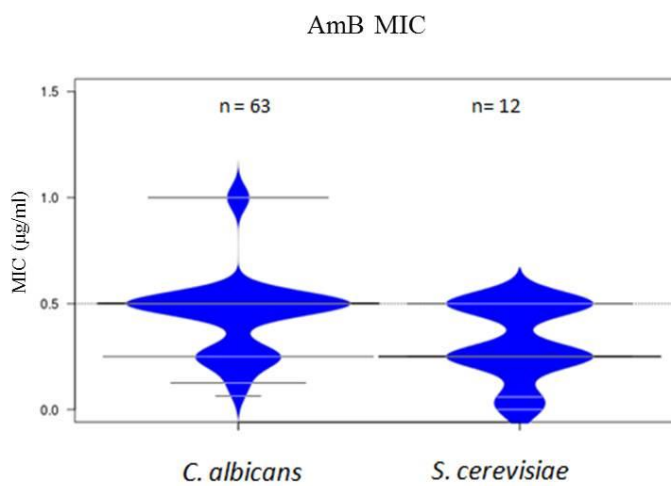
Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Flu MIC (µg/ml)	AmB MIC (µg/ml)	MSB MIC (mM)
<i>C. albicans</i>	41.	18685	0,125	0,500	1,100
<i>C. albicans</i>		19595	0,125	0,500	0,900
<i>C. albicans</i>	42.	15130	0,250	0,500	1,000
<i>C. albicans</i>		16873	0,250	0,500	1,000
<i>C. albicans</i>		14615	0,250	0,250	0,900
<i>C. albicans</i>	43.	15299	0,125	0,250	0,900
<i>C. albicans</i>		19113	0,125	0,250	1,000
<i>C. albicans</i>		20099	0,125	0,500	1,000

15. táblázat: A *S. cerevisiae* izolátumok antifungális szerekre és MSB-re meghatározott MIC értékei

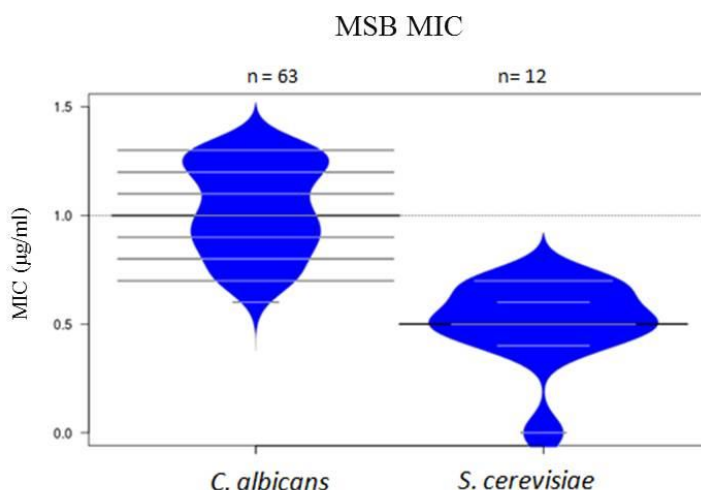
Faj	Beteg azonosító	Izolátum száma	Flu MIC (µg/ml)	AmB MIC (µg/ml)	MSB MIC (mM)
<i>S.cerevisiae</i>	44.	00001	1	0,5	0,7
<i>S.cerevisiae</i>	45.	00002	2	0,5	0,5
<i>S.cerevisiae</i>	46.	00003	2	0,5	0,5
<i>S.cerevisiae</i>	47.	00004	2	0,25	0,5
<i>S.cerevisiae</i>	48.	00005	2	0,5	0,4
<i>S.cerevisiae</i>	49.	00006	2	0,5	0,7
<i>S.cerevisiae</i>	50.	00007	1	0,25	0,6
<i>S.cerevisiae</i>	51.	00008	4	0,25	0,7
<i>S.cerevisiae</i>	52.	00009	2	0,25	0,6
<i>S.cerevisiae</i>	53.	27290	2	0,06	0,5
<i>S.cerevisiae</i>	54.	27020	nem nőtt	nem nőtt	nem nőtt
<i>S.cerevisiae</i>	55.	29607	0,50	0,25	0,40



10. ábra: Az izolátumok Flu MIC értékeinek grafikus szemléltetése.



11. ábra: Az izolátumok AmB MIC értékeinek grafikus szemléltetése.



12. ábra: Az izolátumok MSB MIC értékeinek grafikus szemléltetése.

6.2. Az ABC genotípusok megoszlása *C. albicans* izolátumok esetén

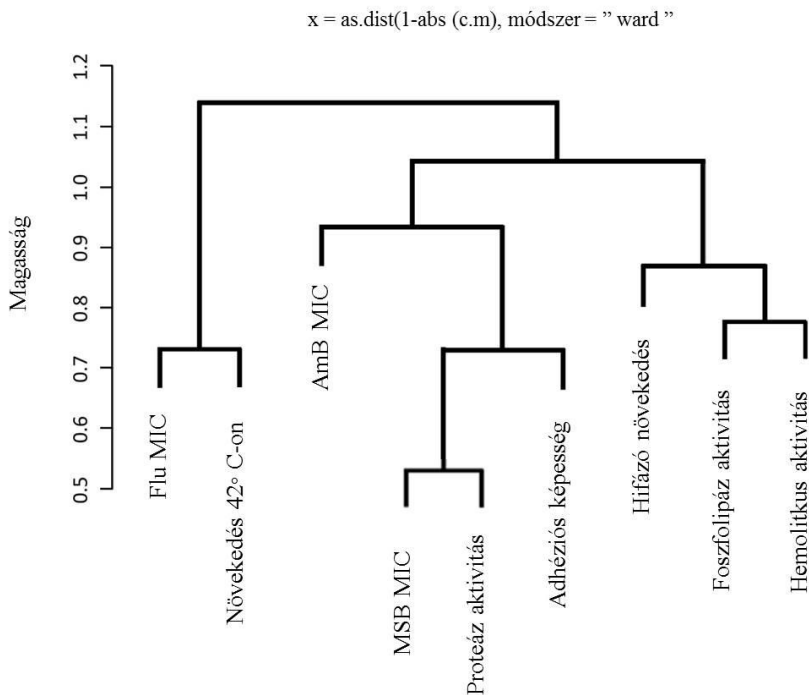
Az izolátumok számottevő többsége B genotípusú volt (28 izolátum: 18 nőtől és 10 férfitől származott, ez a szám az izolátumok 44,4 %-át jelenti). Az izolátumok 39,7 %-a, tehát 25 izolátum, A genotípusú volt (11 nőtől, 14 izolátum férfi betegről származott). Az izolátumok csupán 15,9 %-a volt C genotípusú, amely 10 izolátumot foglal magába (8 nőtől, míg 2 férfi betegről származott). Az egy betegről származó izolátumok genotípusának eloszlását megfigyelve láthatjuk, hogy egy-egy adott betegről származó minden izolátum egyféle genotípusú. Ez alól vizsgálataink során egy beteg izolátumai tértek el, ez a 21. számú beteg, akinél egyaránt találtunk A, B és C genotípusú *C. albicans* izolátumokat, amelyek sebből és a hasüregből származtak (**16. táblázat**).

16. táblázat: A *C. albicans* izolátumok ABC genotípusai

Beteg azonosító	Izolátum száma	ABC genotípusok	Beteg azonosító	Izolátum száma	ABC genotípusok
1.	24781	C	24.	26084	B
2.	21620	A	24.	26375	B
3.	21487	B	24.	26537	B
4.	25711	A	25.	15110	A
5.	21485	A	26.	17625	C
6.	28269	A	27.	19442	A
7.	26623	B	28.	15263	A
8.	22307	B	29.	18219	A
9.	27468	B	30.	14983	C
10.	28556	A	31.	18334	A
11.	23878	A	32.	21672	B
12.	27386	C	33.	20500	C
13.	22747	A	34.	19438	B
14.	24442	B	35.	20438	A
15.	24125	A	36.	15360	A
16.	25818	A	37.	15207	B
17.	28666	A	38.	15745	B
18.	26136	A	39.	15815	C
19.	25089	B	39.	16312	C
20.	28539	B	39.	20803	C
21.	23113	B	39.	21646	C
21.	23690	C	40.	15320	B
21.	24345	A	40.	15310	B
21.	25083	B	41.	18685	B
22.	21426	B	41.	19595	B
22.	21684	B	42.	15130	A
22.	21860	B	42.	16873	A
22.	22345	B	42.	14615	A
22.	22346	B	43.	15299	A
23.	21935	B	43.	19113	A
23.	21924	B	43.	20099	A
23.	22624	B			

6.3. Statisztikai elemzések a *C. albicans* klinikai izolátumokra

A statisztikai analízisek elkészítéséhez rendelkezésünkre álltak a betegtől függő paraméterek, vagyis az izolátum anatómiai forrása (testrész, testtáj), a kórházi osztály, ahonnan az adott izolátum származott, a beteg kora és neme, valamint a beteg alapbetegsége és betegségének súlyossági foka (1,2 vagy 3) és az ABC genotípusok és a betegtől független paraméterek, amelyek az izolálás időpontját jelentik (év és hó). Az elemzéseket a fenotípusos tulajdonságok összehasonlításával kezdtük, klaszteranalízis segítségével. Az ennek eredményeként generált (hierarchikus klaszterezést alkalmazó) AGNES („Agglomerative Nesting”) dendrogram (**13. ábra**) egyes ágain az általunk vizsgált fenotípusos tulajdonságok láthatók. A dendrogram egyes ágain bizonyos tulajdonságok különböző magasságokban egy-egy ágként kapcsolódnak össze. Az egyes ágak összekapcsolódásának magassága jelzi az adott tulajdonságok közötti hasonlóság mértékét. Minél magasabban van az összekapcsolódás helye, annál kisebb mértékű a hasonlóság az egyes tulajdonságok között. A vizsgált fenotípusos tulajdonságok között az elemzés alapján nem szignifikáns, gyenge korreláció áll fenn (**13. ábra**), ezért a továbbiakban az analízist úgy folytattuk, hogy a kilenc fenotípusos paramétert és az ABC genotípusokat egyesével vetettük össze a betegfüggő és betegtől független tényezőkkel, amelyek közötti szignifikáns összefüggéseket külön-külön mutatom be (**17. táblázat**).



13. ábra: A hierarchikus klaszterezési eljárással készült AGNES dendrogram, amelyen a kilenc fenotípusos tulajdonságot láthatjuk

6.3.1. Az izolátumok ABC genotípusai

A statisztikai elemzés azt mutatta, hogy azoktól a páciensektől, akiknek az alapbetegségük mérsékelten súlyos volt, túlnyomó többségben A genotípusú élesztőgombákat izoláltak (LRT: $\chi^2_1 = 5,233$, $p = 0,022$), míg a súlyos betegségben szenvedő páciens-től leginkább B genotípusúakat (LRT: $\chi^2_1 = 6,946$, $p = 0,008$). Az analízis azt is kimutatta, hogy a nőktől származó izolátumok között kisebb mértékű az A genotípus előfordulása (LRT: $\chi^2_1 = 4,475$, $p=0,034$). Az is megfigyelhető volt, hogy minél idősebb az adott beteg annál gyakrabban találoztunk A genotípussal (LRT: $\chi^2_1 = 9,269$, $p=0,002$), és minél fiatalabb beteg izolátumát vizsgáltuk, annál gyakrabban találoztunk B

genotípusú *C. albicans*-al (LRT: $\chi^2_1 = 6,381$, $p=0,009$). A C genotípus előfordulása egyik betegfüggő vagy betegtől független tulajdonsággal sem mutatott összefüggést (**17. táblázat**).

6.3.2. Az izolátumok hifázó képessége

Méréseink alapján a hifázó képesség csökkenést mutatott a beteg korának előrehaladtával, tehát a fiatalabb betegektől származó izolátumok csökkent, míg az idősebb betegektől származók nagyobb hifázó képességet mutattak ($F_{1;30,9}=8,759$, $p=0,006$). Azt tapasztaltuk továbbá, hogy minél súlyosabb a beteg alapbetegsége, annál nagyobb az adott élesztőgomba hifázó képessége ($F_{1;49,6}=5,081$, $p=0,029$) és szintén nagyobb hifázó képesség volt látható azoknál az izolátumoknál, amelyek 2015-ből származtak ($F_{1;31,1}=6,695$, $p= 0,015$). A különböző kórházi osztályokról származó izolátumok hifázó képessége között nem volt szignifikáns eltérés, csupán trendeket állapíthattunk meg ($F_{6;30,6}=2,122$, $p=0,079$) (**17. táblázat**).

6.3.3. Az izolátumok adhéziós képessége

A lineáris kevert modell eredményei alapján a *C. albicans* izolátumok adhéziós képességét tesztelve egyetlen szignifikáns kapcsolatot tapasztaltunk. A 2015-ből származó élesztőgombák adhéziós képessége nagyobb volt ($F_{1;34,9}=13,419$, $p=0,001$), mint a két évvel korábbi (2013-ban izolált) izolátumoknak (**17. táblázat**).

6.3.4. Az izolátumok antifungális szerekre és az MSB-re kapott MIC értékei

Az élesztőgombák Flu toleranciája és a betegtől független faktorok (izolálás éve, hava) között szignifikáns kapcsolatot tapasztaltunk. A 2015-ből származó izolátumok jobban tolerálták ezt a fungisztikus szert, mint a 2013-ból származók ($F_{1,53,5}=8,268, p=0,006$). Tendenciát figyeltünk meg a május és június hónapokban gyűjtött izolátumoknál, amelyek kevésbé tolerálták a Flu-t ($F_{4,44,6}=2,341, p=0,069$), mint a nyár későbbi időszakából származók. A fungicid, AmB-re meghatározott MIC értékek esetén is voltak szignifikáns összefüggések. Minél súlyosabb volt egy páciens alapbetegsége, a tőle származó izolátum vagy izolátumok annál jobban tolerálták az AmB-t ($F_{1,56}=4,810, p=0,032$), vagyis annál nagyobb koncentrációnál volt ezeknek az izolátumoknak a MIC értéke. A statisztikai analízis szintén kimutatta, hogy a B genotípusú izolátumok összességében már kisebb AmB koncentrációnál elpusztulnak (kisebb a MIC értékekük), tehát kevésbé tolerálják az AmB-t ($F_{2,56}=5,865, p=0,005$). Fontos megjegyezni, hogy az előző megállapítások ellenére, az általunk vizsgált izolátumok nem mutattak rezisztenciát sem a Flu-val (2 $\mu\text{g/ml}$ fölött rezisztensnek tekintjük a *C. albicans* izolátumokat), sem az AmB-vel (1 $\mu\text{g/ml}$ fölött rezisztensnek tekintjük a *C. albicans* izolátumokat) szemben (**17. táblázat**) (EUCAST: „European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing”, 2013).

Az MSB-vel szembeni érzékenység vizsgálatánál szintén nagyobb MIC értékeket kaptunk a 2015-ből származó izolátumok esetén ($F_{1,35,6}=6,196, p=0,018$). A betegek korának előrehaladtával tendenciális növekedést figyeltünk meg a MIC értékekben ($F_{1,36,1}=3,351, p=0,075$), tehát az idősebb betegektől származó izolátumok jobban tolerálták az MSB-t, a fiatalabb betegek izolátumainál átlagosan kisebb MSB MIC értékeket kaptunk (**17. táblázat**).

6.3.5. Az izolátumok hidrolitikus enzimaktivitásának értékei

A kevert modell eredményei alapján megállapítottuk, hogy nagyobb foszfolipáz aktivitást (1/Pz) mutattak azok az izolátumok, amelyek B vagy C genotípussal rendelkeztek, mint azok, amelyek A genotípusúak voltak ($F_{2,29}=9,089$, $p=0,001$). Ugyancsak nagyobb foszfolipáz aktivitás volt megfigyelhető a 2013-ban izolált élesztőknél, mint amelyeket 2015-ben izoláltak ($F_{1,44,6}=12,281$, $p=0,001$), továbbá a júliusban, augusztusban és szeptemberben izolált élesztők esetén kisebb foszfolipáz aktivitás tapasztaltunk, mint a májusban vett mintáknál ($F_{4;34,3}=3,871$, $p=0,011$). A nőktől származó élesztőgombák foszfolipáz aktivitása kisebb volt, mint a férfiaké, ám nem szignifikáns mértékben ($F_{1;19,2}=3,094$, $p=0,094$), csak trendet állapítottunk meg. A vizsgált élesztők közül, csak úgy, mint a foszfatáz aktivitásnál, a 2013-ban vett izolátumok nagyobb proteáz enzimaktivitást mutattak ($F_{1;36,2}=25,307$, $p=0,001$), mint a 2 évvel később vizsgált minták (**17. táblázat**).

6.3.6. Az izolátumok hemolitikus aktivitása

Az izolátumok hemolitikus aktivitását tekintve a szeptemberben vett izolátumoknak kisebb volt a HI értékük, mint a többi mintavételi hónapban (május, június, július, ill. augusztus) ($F_{4;24,8}=3,544$, $p=0,020$) gyűjtött izolátumoknak. Szignifikáns eltérés volt a különböző anatómiai helyekről (testrésztől, testtájtól) származó izolátumok hemolitikus aktivitása között is ($F_{9;39,3}=6,005$, $p<0,001$): a vérből, kanülről, vizeletből és hüvelyből származó

élesztőgombák nagyobb, míg a sebből pl. műtéti sebfertőzésből származó izolátumok kisebb hemolitikus aktivitást mutattak (**17. táblázat**).

6.3.7. Az izolátumok magas hőmérsékleten történő szaporodása

A kevert hatású lineáris modell alapján az izolátumok magas hőmérsékleten való szaporodása nem mutatott szignifikáns összefüggéseket. Ez a fenotípusos tulajdonság nem mutatott jelentős összefüggést a betegtől független faktorokkal, tehát az izolálás időpontjával (év, hó), vagyis adott fenotípusú gomba (jelenleg adott hőmérsékleten növekedni képes *C. albicans* izolátum) nem kifejezetten bizonyos időpontokban kerül izolálásra. A betegfüggő paraméterekkel összevetve sem találtunk szignifikáns összefüggéseket, tehát sem a beteg kora, vagy neme, alapbetegségének súlyossága, sem a kórházi osztály, ahonnan az izolátum származik, sem anatómiai eredet (testrész, testtáj) szerint nem csoportosultak az adott hőmérsékleten szaporodni képes izolátumok (**17. táblázat**).

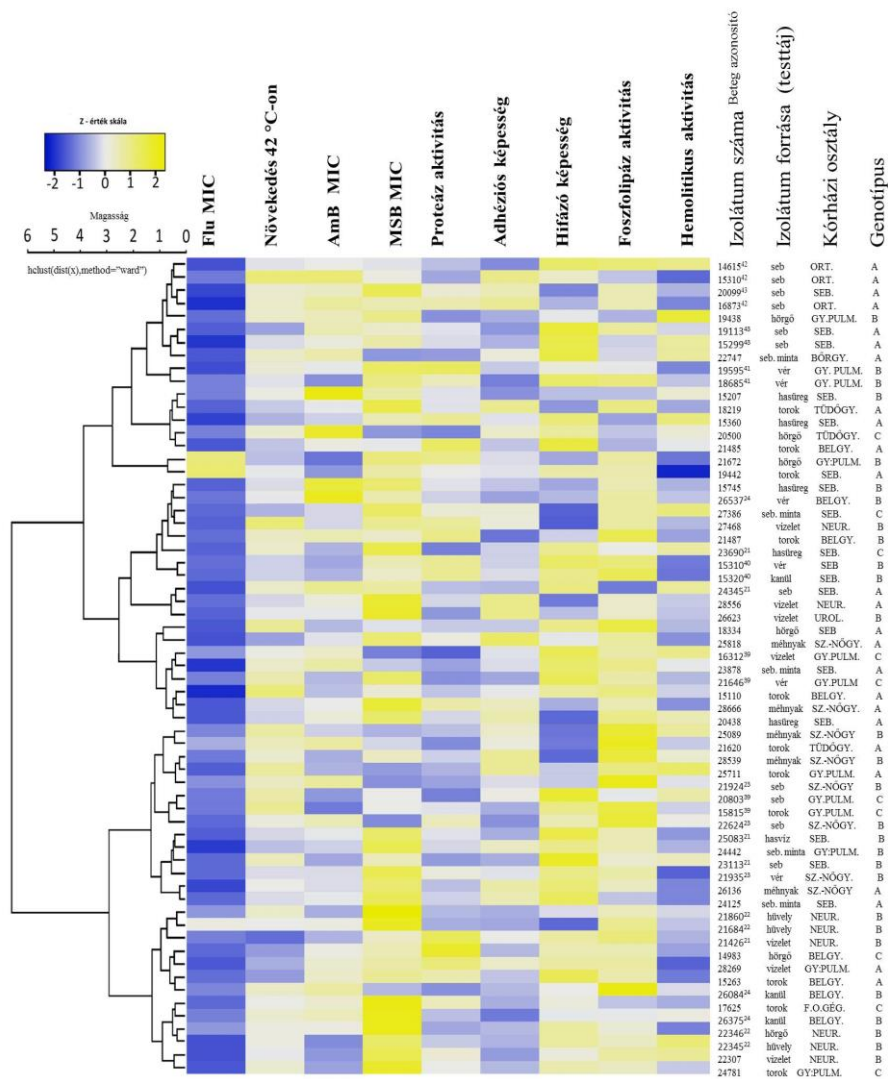
17. táblázat: A betegtől függő tulajdonságoknak és a *C. albicans* vizsgált fenotípusos paramétereinek és genotípusainak szignifikáns összefüggései

	A	B	C	Hifázó növekedés	Adhézió	Proteáz aktivitás	Foszfolipáz aktivitás	Hemolízis	AmB MIC	Flu MIC	MSB MIC	Növekedés 42° C-on
	Genotípus											
Beteg kora	* ↗ korral	** ↘ korral	-	** ↘ korral	-	-	-	-	-	-	* ↗ korral	-
Alapbetegség súlyossága	* ↘ súlyossággal	* ↗ súlyossággal	-	* ↘ súlyossággal	-	-	-	-	* ↗ súlyossággal	-	-	-
Beteg neme	** nő < férfi	-	-	-	-	-	* nő < férfi	-	-	-	-	-
Mintavétel éve	-	-	-	* 2013 < 2015	*** 2013 < 2015	*** 2013 > 2015	** 2013 > 2015	-	-	** 2013 < 2015	* 2013 < 2015	-
Mintavétel hava	-	-	-	-	-	-	*	*	-	*	-	-
Kórházi osztály	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-
Izolátum anatómiai forrása	-	-	-	-	-	-	-	****	-	-	-	-
A genotípus				-	-	-	-	-	-	-	-	-
B genotípus				-	-	-	** ↗	-	** ↗	-	-	-
C genotípus				-	-	-	*** ↗	-	-	-	-	-

(●: $p < 0,1$; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)

6.3.8. A *C. albicans* izolátumok fenotípusos tulajdonságainak vizualizálása

A kilenc vizsgált tulajdonság mért nyers értékeinek (**Függelék**) normalizálásával, majd azután az átlag értékek meghatározásával, az Anyagok és Módszerek c. rész 4.5.2. fejezetében leírtak szerint elkészítettük egy ún. hőterképet („heat map”) (**14. ábra**), valamint egy hozzá tartozó fenotípusos tulajdonságokra vonatkozó dendrogramot vizuális ábrázolás céljából. A **14. ábrán** látható, hogy a 63 *C. albicans* izolátum három fő kládba csoportosul, viszont nem figyelhető meg semmiféle klasztereződés az izolálás körülményei (az izolátum anatómiai forrása, a kórházi osztály, ahonnan az adott izolátum származik és az ABC genotípusok) szerint. Emellett ugyancsak megfigyelhető a fenotípusos tulajdonságaikban különböző, változatos *C. albicans* izolátumok előfordulása.



14. ábra: Hőterkép.

A fenotípusos tulajdonságok vizualizálása az izolátum számának, felső indexben a beteg azonosítójának, az izolátum forrásának (testrész vagy testtáj), a kórházi osztálynak ahol az izolálás történt és az ABC genotípusaiknak a feltüntetésével

7. Eredmények megbeszélése

7.1. A *C. albicans* izolátumok különböző fenotípusos tulajdonságainak jellemzése

A hierarchikus klaszterezés eredményeként kapott AGNES dendrogram megmutatta, hogy az egyes fenotípusos tulajdonságok között, nem szignifikáns, gyenge összefüggés van (**13. ábra**), de az egyes fenotípusos tulajdonságok eredményei alapján összeállított dendrogram és hozzácsatolt ún. hő térképen látható, hogy az egyes fenotípusos tulajdonságok külön-külön változatos értékeket mutatnak (**14. ábra**). A fenotípusos tulajdonságok alapján összeállított dendrogrammon az izolátumok három fő klaszterbe voltak besorolhatóak (**14. ábra**). Minden klaszter tartalmazott különböző anatómiai helyről (testrész, testtáj) származó és különböző genotípusú izolátumokat. Láthatunk olyan klasztereket, amelyek egy-egy betegtől származó izolátumokat tartalmaznak (40; 41; 42; 43. beteg) és olyanokat is ahol egy-egy beteg izolátumai külön klaszterbe tartoznak (21; 22; 23; 24; 39. beteg). Az egyes fenotípusos tulajdonságok változatosak voltak, minden kísérletnél az eredmények széles skálán mozogtak (**4 - 16. táblázatok, 4 - 12. ábra, 14. ábra, Függelék**), legfőképpen az adhéziónak és a hifázó képesség vizsgálatának eredményeként kapott értékeknél, legkevésbé pedig a 42°C-on történő növekedésnél figyelhetjük meg ezt. A két antifungális szerrel szembeni érzékenység vizsgálatánál a *C. albicans* izolátumok MIC értékei széles intervallumba estek, de sem a Flu-val (2 µg/ml fölötti MIC-érték rezisztensnek tekinthető), sem az AmB-vel szemben (1 µg/ml fölötti MIC érték rezisztensnek tekinthető) nem voltak rezisztensek (EUCAST, 2013). Az oxidatív stresszt okozó szer, a *C. albicans*

izolátumok MSB-vel szembeni érzékenyégére kapott MIC érték között maximum kétszeres különbség volt tapasztalható.

7.2. A *C. albicans* izolátumok fenotípusos tulajdonságainak és az ABC genotípusnak az összefüggése a statisztikai analízis alapján

A hierarchikus klaszteranalízis után tehát megállapítottuk, hogy az egyes izolátumok kilenc-kilenc fenotípusos tulajdonságainak értékei között nincs szignifikáns összefüggés (**13. ábra**). A genotípusokkal – hasonlóan Sardi és mtsai. (2012) és Inci és mtsai. (2012) kutatási eredményeihez – csak néhány fenotípusos tulajdonság mutat szignifikáns összefüggést (A B és C genotípusú izolátumok nagyobb foszfolipáz aktivitást mutattak, mint az A genotípusúak, illetve a B genotípusú gombák kevésbé tolerálták az AmB-t). A felsorolt tényekből nem következtethetünk általánosan fenálló összefüggésre annak tekintetében, hogy az egyes izolátumok fenotípusos tulajdonságai, virulencia faktorai milyen mértékűek és nem jellemző egyik ABC-genotípus csoportra sem, hogy kizárólag adott fenotípusos tulajdonságai vannak (pl.: nem minden B genotípusú izolátum tolerálja kevésbé az AmB antifungális szert).

7.3. A *C. albicans* genotípusok eloszlásának összefüggése a betegtől függő és azoktól független faktorokkal és ennek jelentősége

Az ABC genotípusokat tekintve, szisztémás gombafertőzéseknel az esetek túlnyomó többségében egy-egy beteg szervezetét egyféle genotípusú élesztők kolonizálják. Chaves és munkatársai (2012) azt állapították meg, hogy azokban a betegekben, akik *Candida*-fertőzésben, de nem candidémiában szenvedtek, különböző genotípusú izolátumok voltak kimutathatók, míg az előrehaladott stádiumban lévő candidémiában szenvedő betegek izolátumai azonos genotípussal rendelkeztek. Ez összhangban van a mi megfigyeléseinkkel: azok a betegek, akik szisztémás fertőzésben szenvedtek, az általános kolonizációs mintát követik azzal, hogy a tőlük származó izolátumok is egyféle genotípusúak. Az általunk vizsgált, több izolátummal rendelkező 9 beteg közül kettő betegnek csak A genotípusú, 5 betegnél csak B genotípusú és meglepő módon egy betegnél – nagyon ritka előfordulásának ellenére – csak C genotípusú izolátumokat azonosítottunk. Vizsgálatainkban egy olyan beteg volt, akinél eltérő genotípusú izolátumokat találtunk, amely izolátum esetünkben sem candidémiás betegtől származott (Isd. 6.2. fejezet és **16. táblázat**). Néhány esetben a statisztikai analízis szignifikáns korrelációt mutatott az egyes genotípusok és a beteg neme, kora és az alapbetegségek súlyossága között (Isd. 6.3.1. fejezet). A nőktől kevesebb A genotípusú *C. albicans* gomba került izolálásra, továbbá a súlyos alapbetegségben szenvedő betegek körében több B genotípusú, míg a mérsékelten súlyos betegek körében több A genotípusú izolátumot találtunk. Az idősebb betegektől gyakrabban került a gyűjteményünkbe A genotípusú izolátum és a fiatalabb betegektől leginkább B genotípusú. A statisztikai elemzés azt is megmutatta, hogy a B és C genotípusú izolátumoknak nagyobb

a foszfolipáz aktivitásuk, mint az A genotípusúaknak és a B genotípusú izolátumok kevésbé tolerálják az AmB szert. Az előbbieken felsoroltak ellenére niche specializációra, csoportokba rendeződésre utaló szignifikáns összefüggést nem találtunk, vagyis a *C. albicans* izolátumok sem betegtől független paraméterek szerint (izolálás éve, hava), sem anatómia eredet (testrész vagy testtáj), sem más betegfüggő tulajdonság szerint sem mutatnak egyértelmű preferenciát, ahol meghatározóan több A, B vagy C genotípusú izolátumot találhatunk.

McCullough és mtsai. (1999); Tavanti és mtsai. (2005), valamint Takakura és mtsai. (2008) eredményeivel egyezően, mi is kijelenthetjük, hogy az ABC genotípusok nem csoportosulnak sem a betegtől függő (az anatómiai forrás: testtáj vagy testrész, a beteg kora, neme, alapbetegsége, kórházi osztály ahonnan az izolátum származik) sem a betegtől független (az izolálás éve, hava) paraméterek szerint sem, mindhárom genotípus előfordulhat bárhol az emberi szervezetben. Fontos megjegyeznünk, hogy az ABC genotípusokat elemzéseinkben nem genetikai rokonság felderítse céljából használtuk, csupán genotípusos jellemzőként adtuk hozzá a kilenc vizsgált tulajdonsághoz.

7.4. A *C. albicans* izolátumok betegfüggő és betegtől független tulajdonságainak összefüggése a vizsgált fenotípusos paraméterekkel

A nagyszámú izolátum és a többféle tulajdonság vizsgálata lehetővé tette, hogy – standard mintavételezési és kísérleti körülmények között – tanulmányozzuk, van-e korreláció a fenotípusos tulajdonságok és a betegtől függő és azoktól független paraméterek között. A fenotípusos tulajdonságokat

meghatározó genetikai tulajdonságokat nem vizsgáltuk. A fenotípusok talált összefüggései az izolálás körülményeivel arra utalnak, hogy adott időpontban, adott betegtípusban, stb. bizonyos fenotípusú *C. albicans* gombák izolálhatók ritkábban vagy gyakrabban. Az e mögött meghúzódó genetikai és fiziológiai okok későbbi kutatások tárgyát képezhetik.

A fenotípusos tulajdonságokat és az izolálás körülményeit összevetve több összefüggés is kimutatható volt. A betegtől független faktorokkal, vagyis az évvel és /vagy a hónappal, amikor az adott *C. albicans* élesztő izolálásra került hét fenotípusos tulajdonság mutatott összefüggést. Az izolátumok hifázó- és adhéziós képessége kisebb mértékű volt 2013-ban, mint két évvel később, illetve a 2015-ben izolálásra került gombák jobban tolerálták Flu és MSB szereket, mint a 2013-ban mintavételezettek. A Flu érzékenység vizsgálatánál a MIC-értékek az izolálás havával is szignifikáns kapcsolatot mutattak. Az izolátumok hidrolitikus enzimtermeléséből számolt Pz értékei a 2013-ban izolált élesztőknél kisebbek voltak, tehát ebben az évben nagyobb foszfolipáz-, illetve proteáz enzimaktivitású (1/Pz) *C. albicans* gombák kerültek izolálásra. A foszfolipáz aktivitás és a mintavételi hónap között is szignifikáns összefüggés volt megfigyelhető. Az izolátumok hemolitikus aktivitásának értékei a gyűjtési évvel nem, csak a mintavételi hónappal mutattak szignifikáns kapcsolatot. Az említett hét fenotípusos tulajdonság közül három tulajdonság csak betegtől független paraméterrel (izolálás éve, hava) mutatott összefüggést: sem az adhéziós képesség, sem a proteáz aktivitás, sem a Flu-val szembeni érzékenység nem volt kapcsolatba hozható betegfüggő paraméterekkel. A hemolitikus aktivitásra és az AmB érzékenység vizsgálatára kapott értékek csak betegfüggő tulajdonságokkal korreláltak: a hemolitikus aktivitás értékek szignifikáns kapcsolatot mutattak egyes testtájakkal vagy testrészekkel ahonnan az adott izolátum származott, az AmB érzékenység pedig összefüggésben volt a páciensek

alapbetegségének súlyosságával. Egy tulajdonság, a magas hőmérsékleten való szaporodás nem mutatott szignifikanciát sem betegfüggő sem attól független tulajdonsággal. Három tulajdonság volt szignifikáns összefüggésben, mind betegtől függő, mind attól független paraméterekkel: a hifázó képességben szignifikáns különbségek voltak 2013-ban és 2015-ben (2013-ban kisebb hifázó képességű izolátumok kerültek mintavételezésre), a nem súlyos betegségben szenvedő és /vagy fiatalabb betegtől kisebb hifázó képességgel rendelkező izolátumok kerültek gyűjteményünkbe. A foszfolipáz aktivitás az izolálás időpontján (év és hónap is) kívül a beteg nemével is kapcsolatot mutatott: a nőktől vett izolátumok foszfolipáz aktivitása (1/Pz) kisebb volt, mint a férfiaktól származó izolátumoké. A harmadik fenotípusos tulajdonság pedig az izolátumok MSB toleranciája, amely az izolálás időpontján kívül a beteg korával mutatott korrelációt, az idősebb betegektől származó izolátumok jobban tolerálták az MSB-t. A statisztikai elemzés alapján tehát a fenotípusos tulajdonságok betegtől független paraméterekkel (izolálás éve, hava) több esetben mutattak összefüggést, mint a betegfüggő tulajdonságokkal (izolálás anatómiai helye, beteg kora, neme és alapbetegsége, kórházi osztály, ahonnan az izolátum származik és ABC genotípusok). A felsorolt szignifikáns összefüggések ellenére, nem figyelhetünk meg niche specializációt, vagyis egyik fenotípusos tulajdonság vagy beteg függő vagy attól független tulajdonság szerint sem csoportosulnak jelentősen a *C. albicans* izolátumok. Az eltérő hónapokban és években izolált *C. albicans* izolátumok különböző fenotípusa, a *C. albicans* metapopuláció dinamikus, állandóan változó természetét mutatja a vizsgált betegek különböző testtájaiban.

Odds és munkatársainak (2006; 2007) tanulmányai számos földrajzi területről és anatómiai forrásból (testrésztől, testtájtól) származó *C. albicans* izolátumot vontak be vizsgálataikba, azok genetikai rokonságának

figyelembevételével. Megfigyelték, hogy egy-egy kládon belül különböző geno- és fenotípusú törzsek is előfordulhatnak. Kutatásunkban egy jól behatárolható, szűk földrajzi területen (egy város klinikai osztályai), a genetikai rokonság figyelembevétele nélkül (az ABC genotípusokat egyszerű három változós paraméterként használva) hasonlóan, a *C. albicans* metapopuláció dinamikus és diverz populációjának jelenlétét igazoltuk.

7.5. A *S. cerevisiae* klinikai izolátumok fenotípusos és virulencia faktorainak jellemzése és megfigyeléseink

A *S. cerevisiae* izolátumok antifungális érzékenysége: az AmB-t kevésbé tolerálták ezek az izolátumok a *C. albicans*-szal összevetve, a Flu toleranciánál viszont egyes *S. cerevisiae* izolátumok nagyobb toleranciát mutattak. Az MSB érzékenyég vizsgálatának eredményeként kapott MIC értékek szűkebb intervallumba estek, mint a *C. albicans* izolátumoknál. A *S. cerevisiae* és a *C. albicans* izolátumok többsége egyaránt nagy foszfolipáz-, illetve proteáz aktivitással volt jellemzhető. A két faj hemolitikus aktivitásait összehasonlítva a *C. albicans* izolátumok HI értékei szélesebb intervallumon belül mozogtak, de volt néhány *S. cerevisiae* izolátum, amelyeknek egyes *C. albicans* izolátumoktól nagyobb volt a hemolitikus aktivitásuk. Végül a magas hőmérsékleten történő szaporodásnál úgy tapasztaltuk, hogy míg a *C. albicans* izolátumoknak megvan a képességük ahhoz, hogy 42 °C-on képesek legyenek szaporodni, a *S. cerevisiae* élesztők csak maximum 40 °C-on képesek erre. Összeségében nem vonhatunk le messzemenő következtetést a *S. cerevisiae* klinikai izolátumokról az izolátumok kevés elemszáma miatt és a statisztikai elemzés hiányában, de az mindenképpen látható, hogy a fenotípusos tulajdonságaik vizsgálatára kapott értékek nem egyformák,

hanem változatosak. Továbbá, több alkalommal is kaptunk olyan értékeket a *S. cerevisiae* izolátumok virulencia faktoraira, amelyek nagymértékben hasonlítanak a bizonyítottan opportunistá patogén *C. albicans* tulajdonságaira kapott értékekhez.

8. Összefoglalás

Munkánk során a Debreceni Egyetem klinikáiról, különböző korú és nemű, eltérő alapbetegségekben szenvedő betegektől származó 63 *C. albicans* klinikai izolátum és a Szegedi Tudomány Egyetem bevonásával 12 *S. cerevisiae* izolátum fenotípusos tulajdonságait vizsgáltuk meg. A *C. albicans* izolátumok kilenc fenotípusos tulajdonságát, illetve virulencia faktorait: a hifázó növekedést, az adhézións képességet, a hidrolitikus enzimaktivitásokat, a hemolitikus enzimaktivitásokat, a magas hőmérsékleten történő szaporodást, két antifungális szerrel és egy oxidatív stresszt okozó szerrel szembeni érzékenységet, valamint ABC genotípusaikat határoztuk meg. A *S. cerevisiae* izolátumoknál pedig dolgozatomban a hidrolitikus enzimaktivitások, a hemolitikus aktivitások, a magas hőmérsékleten történő szaporodás, két antifungális-, és egy oxidatív stresszt okozó szerrel szembeni érzékenységükre vonatkozó eredményeket tárgyaltuk. Az említett kísérletek után a *C. albicans* izolátumokra statisztikai analízist végeztünk.

Új tudományos eredmények felsorolása:

1. A *C. albicans* gomba fenotípusos tulajdonságai a betegtől független tulajdonságokkal (az izolálás éve és hava) több esetben mutattak összefüggést, mint a betegfüggő tulajdonságokkal (az izolátum anatómiai eredete, beteg kora, neme, alapbetegsége, kórházi osztály ahol az izolálás történt), illetve az ABC genotípusokkal. Általában nem kolonizálnak az egyes fenotípusos jellemzőjű *C. albicans* izolátumok nagyobb eséllyel egy-egy testrészt vagy testtájat.
2. A gomba korábbiakban felsorolt, egyes fenotípusos tulajdonságai között nincs szignifikáns összefüggés, vagyis a gomba egy-egy

fenotípusos tulajdonságának vagy virulencia faktorának mért értéke nem korrelál más tulajdonságok mért értékével.

3. Az ABC genotípusok nem mutattak anatómiai specializációt és előfordulásuk csak néhány betegfüggő paraméterrel korrelált. Az ABC genotípusok csak néhány fenotípusos tulajdonsággal (foszfolipáz aktivitás, AmB tolerancia) vannak szignifikáns összefüggésben.
4. A *S. cerevisiae* klinikai izolátumok általunk vizsgált fenotípusos tulajdonságaira kapott értékek különböznek egymástól és változatosak, amiből viszonylag dinamikus és diverz populációjuk meglétére következtethetünk az emberi szervezetben.

A kísérleteink ideje alatt, még a Szegedi Tudományegyetem klinikájának bevonásával is kevés *S. cerevisiae* izolátum gyűlt össze, ezért ez az adatsor nem volt alkalmas a statisztikai analízis elvégzésére. Ugyanakkor ezek az eredmények egy, a klinikai és élelmiszeripari illetve probiotikumokból származó törzspárok geno- és fenotípusos tulajdonságait összehasonlító tanulmányunkban publikálásra kerültek. Ebben a tanulmányban a klinikai és nem-klinikai *S. cerevisiae* izolátumok vizsgálatánál azt tapasztaltuk, hogy az élelmiszeripari vagy probiotikumokból származó törzsek a szervezetbe bekerülve mikroevolúciós változásokon mennek keresztül és geno-, és fenotípusos tulajdonságaik folyamatos adaptációs nyomásnak vannak kitéve. Az általunk vizsgált klinikai *S. cerevisiae* izolátumok genetikai vizsgálataink alapján visszavezethetőek voltak élelmiszeripari vagy probiotikumokból származó őseikre, amelyeket párokba állítottunk. Az élelmiszeripari/probiotikum-, és klinikai izolátum párok patogenitását lárva modellt alkalmazva teszteltük és néhány esetben az élelmiszeripari törzsek nagyobb patogenitást mutattak, mint klinikai izolátum

párjaik, amiből arra következtettünk, hogy az élelmiszeripari *S. cerevisiae* gombák mikroevolúciós változások révén néhány esetben kommenzalistaként tudnak adaptálódni.

Az általunk alkalmazott újszerű megközelítés hozzájárulhat az opportunistá patogén gombák vagy esetlegesen patogénné alakuló gombák tulajdonságainak átfogó vizsgálatához. A jövőben érdemes lenne az általunk vizsgált izolátumok tulajdonságait összevetni más városokból, akár más országokból vagy kontinensről származó klinikai izolátumok tulajdonságaival és így megfigyelni tágabb geográfiai eloszlásban is ezeknek a gomba populációknak a diverzitását, nagyfokú változatosságát. Továbbá evolúciós megközelítéssel, niche specializációt szem előtt tartva érdekes lenne megfigyelni, hogy milyen más paraméterek vagy tulajdonságok alapján csoportosulhatnak, alakíthatnak ki klasztereket ezek a fajok. Végül, mivel napjainkban egyre nagyobb százalékban fordulnak elő a nem-*albicans* fajok is, mint súlyos invazív gombás fertőzések okozói, égető fontosságú ezeknek a fajoknak és más kommenzalistaként élő, esetlegesen patogénné válni képes fajok mélyebb szintű és több szempontból való tanulmányozása.

9. Summary

In our study, we collected 63 clinical *C. albicans* isolates from the University Clinics of Debrecen and 12 clinical *S. cerevisiae* isolates from the University Clinics of Debrecen and Szeged and we investigated their phenotypic features. These isolates originated from patients with different age and gender, whom were diagnosed with various underlying diseases. The *C. albicans* isolates were screened for nine different phenotypic features, virulence factors: hyphal growth, adhesion to plastic surface, hydrolytic enzyme productions, hemolytic activity, growth at high temperature, susceptibility to two antifungal and one oxidative stress agents and the ABC genotypes. The *S. cerevisiae* isolates were tested in my work for their hydrolytic enzyme productions, their hemolytic activity, their growth at high temperature and for their tolerance of two antifungal and one oxidative stress agents. Following the aforementioned experiments, we performed a statistical analysis for *C. albicans* isolates.

List of novel scientific results:

1. *C. albicans* phenotypic features more often show correlations with the patient-independent factors (the year and month of the isolation), than with patient-dependent properties (anatomical source of the isolates, patient age and sex, patients' underlying disease and disease severity, clinical care unit of isolation and ABC genotypes). Generally these isolates do not colonize certain organs or body parts with greater chance.
2. The different phenotypic features of the fungi did not show any significant relationships with each other, the values obtained for

measurements on the yeasts' given phenotypic features and virulence factors did not correlate.

3. ABC genotypes of *C. albicans* do not show anatomical specialization and their occurrence is only correlated with a few patient-dependent factors. Different genotypes showed significant correlations with only a few phenotypic features (e.g. phospholipase activity, AmB tolerance).
4. The values of investigated phenotypic features of *S. cerevisiae* isolates are variable, indicating their relatively dynamic and diverse populations in the human body.

During our experiments, even after getting the University Clinics of Szeged involved, too few *S. cerevisiae* isolates were collected, therefore their data was not suitable for performing statistical analysis. On the other hand, their results were published by us in a geno- and phenotypic comparative study of clinical and commercial food/probiotic strain pairs. In this study investigating the clinical and non-clinical *S. cerevisiae* strains and isolates, we found that food- and probiotic-derived strains go through microevolutionary changes after the colonization of the hosts, and their geno- and phenotypic features are subjected to adaptive pressures. The examined clinical *S. cerevisiae* isolates could be traced back to food and probiotic ancestors based on their genetic features. The pathogenicity of these industrial/probiotic-, and clinical isolates counterparts were tested using the *Galleria* larva model, and in some cases the commercial strains showed higher pathogenicity than their clinical counterparts, thus we concluded that the commercial *S. cerevisiae* fungi go through microevolutionary changes that in some cases result in commensalist adaptations.

Our novel approach can contribute to a comprehensive study of opportunistic pathogenic fungi, or fungi that might be evolving into potential pathogens. In the future, it would be worth to compare the different features of isolates from distinct cities, even other countries or continents and observe their diversity in a wider geographical setting. In addition, with an evolutionary approach and focussing on niche specialization, it would be interesting to study which parameters and properties play important role in the clustering of different isolates of these species. Finally, due to the increasing occurrence of non-*albicans* species causing invasive fungal diseases, it is of high importance to study these fungi living in us as commensals or becoming pathogenic from different aspects and with a deeper insight.

10. Irodalomjegyzék

- Aas, J. A., Barbuto, S. M., Alpagot, T., Olsen, I., Dewhirst, F. E., Paster, B. J. (2007). Subgingival plaque microbiota in HIV positive patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 34 (3), 189-195.
- Abdulrahim, M. H., McManus, B. A., Flint, S. R., Coleman, D. C. (2013). Genotyping *Candida albicans* from *Candida leukoplakia* and non-*Candida* leukoplakia shows no enrichment of multilocus sequence typing clades but enrichment of ABC genotype C in *Candida leukoplakia*. *PloS One*, 8 (9), e73738.
- Alby, K., Schaefer, D., Bennett, R. J. (2009). Homothallic and heterothallic mating in the opportunistic pathogen *Candida albicans*. *Nature*, 460 (7257), 890-893.
- Angebault, C., Djossou, F., Abélanet, S., Permal, E., Ben Soltana, M., Diancourt, L., Bouchier, C., Woerther, P.L., Catzefliz, F., Andremont, A., d'Enfert, C., Bougnuox M.E. (2013). *Candida albicans* is not always the preferential yeast colonizing humans: a study in Wayampi Amerindians. *The Journal of Infectious Diseases*, 208 (10), 1705-1716.
- Anoop, V., Rotaru, S., Shwed, P. S., Tayabali, A. F., Arvanitakis, G. (2015). Review of current methods for characterizing virulence and pathogenicity potential of industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains towards humans. *FEMS Yeast Research*, 15 (6).
- Babicki S, Arndt D, Marcu A, Liang Y, Grant JR, Maciejewski A, Wishart DS. Heatmapper: web-enabled heat mapping for all. *Nucleic Acids Res* (2016) ;44 (W1):W147–53.
- Bain, J. M., Lewis, L. E., Okai, B., Quinn, J., Gow, N. A., Erwig, L. P. (2012). Non-lytic expulsion/exocytosis of *Candida albicans* from macrophages. *Fungal Genetics and Biology*, 49 (9), 677-678.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B.M., Walker, S.C. (2014). Fitting Linear

- Mixed-Effects Models using lme4. *J Stat Softw*; 67(1):1–48.
- Bennett, R. J. (2015). The parasexual lifestyle of *Candida albicans*. *Current Opinion in Microbiology*, 28, 10-17.
- Brissaud, O., Guichoux, J., Harambat, J., Tandonnet, O., Zaoutis, T. (2012). Invasive fungal disease in PICU: epidemiology and risk factors. *Annals of Intensive Care*, 2 (1), 6
- Brown, A. J. P., Argimon, S., Gow, N. A. R. (2007). Signal transduction and morphogenesis in *Candida albicans*. *Biology of the Fungal Cell* (pp. 167-194). Springer Berlin Heidelberg.
- Brown, G. D., Denning, D. W., Gow, N. A., Levitz, S. M., Netea, M. G., White, T. C. (2012). Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med* 4: 165rv13.
- Buchacz, K., Lau, B., Jing, Y., Bosch, R., Abraham, A. G., Gill, M. J., Silverberg M.J., Goedert, J.J., Sterling, T.R., Althoff, K.N., Martin, J. N., Burkholder, G., Gandhi, N., Samji, H., Patel, P., Rachlis, A., Thorne, J.E., Napravnik, S., Henry, K, Mayor, A., Gebo, K, Gange, S.J., Moore, R.D., Brooks, J.T., North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD) of IeDEA (2016). Incidence of AIDS-defining opportunistic infections in a multicohort analysis of HIV-infected persons in the United States and Canada, 2000-2010. *The Journal of Infectious Diseases*, 214 (6), 862-872.
- Butler, G., Rasmussen, M. D., Lin, M. F., Santos, M. A., Sakthikumar, S., Munro, C. A., Rheinbay, E., Grabherr, M., Forche, A., Reedy, J. L., Agrafioti, I., Arnaud, M. B., Bates, S., Brown, A. J. P., Brunke, S., Costanzo, C., Fitzpatrick, D. A., de Groot, P. W. J., Harris D., Hoyer, L. L., Hube, B., Klis, F. M., Kodira, C., Lennard, N., Logue, M. E., Martin, R., Neiman, A. M.,¹⁵ Nikolaou, E., Quail, M. A., Quinn, J., Santos, M. C., Schmitzberger, F. F.,⁹ Sherlock, G., Shah, P.,

- Silverstein, K., Skrzypek, M. S., Soll, D., Staggs, R., Stansfield, I., Stumpf, M. P. H., Sudbery, P. E., Thyagarajan, S., Zeng, Q., Berman, J., Berriman, M., Heitman, J., Gow, N. A. R., Lorenz, M. C., Birren, B. W., Kellis, M., Cuomo, C. A., Agrafioti, I. (2009). Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature*, 459 (7247), 657-662.
- Casalone, E., Barberio, C., Cappellini, L., Polsinelli, M. (2005). Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* natural populations for pseudohyphal growth and colony morphology. *Research in Microbiology*, 156 (2), 191-200.
- Chaves, G. M., Santos, F. P., Colombo, A. L. (2012). The persistence of multifocal colonisation by a single ABC genotype of *Candida albicans* may predict the transition from commensalism to infection. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 107 (2), 198–204. <http://doi.org/S0074-02762012000200008> [pii]
- Chen, K. W., Chen, Y. C., Lo, H. J., Odds, F. C., Wang, T. H., Lin, C. Y., Li, S. Y. (2006). Multilocus sequence typing for analyses of clonality of *Candida albicans* strains in Taiwan. *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (6), 2172-2178.
- Chunchanur, S. K., Nadgir, S. D., Halesh, L. H., Patil, B. S., Kausar, Y., Chandrasekhar, M. R. (2009). Detection and antifungal susceptibility testing of oral *Candida dubliniensis* from human immunodeficiency virus-infected patients. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 52 (4), 501.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2008). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 3rd ed. M27-A3. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Da Matta, D. A., Melo, A. S., Guimarães, T., Frade, J. P., Lott, T. J., Colombo, A. L. (2010). Multilocus sequence typing of sequential *Candida albicans* isolates from patients with persistent or recurrent fungemia. *Medical Mycology*, 48 (5), 757-762.
- Da Silva-Rocha, W. P., de Brito Lemos, V. L., Svidizisnki, T. I. E., Milan, E. P., Chaves, G. M. (2014). *Candida* species distribution, genotyping and virulence factors of *Candida albicans* isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients of two geographic regions of Brazil. *BMC Oral Health*, 14 (1), 20.
- Debelian, G. J., Olsen, I., Tronstad, L. (1997). Observation of *Saccharomyces cerevisiae* in blood of patient undergoing root canal treatment. *International Endodontic Journal*, 30 (5), 313-317.
- Delaloye, J., Calandra, T. (2014). Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*, 5 (1), 161-169.
- De Llanos, R., Querol, A., Pemán, J., Gobernado, M., Fernández-Espinar, M. T. (2006). Food and probiotic strains from the *Saccharomyces cerevisiae* species as a possible origin of human systemic infections. *International Journal of Food Microbiology*, 110 (3), 286-290. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.023>
- Doron, S. I., Hibberd, P. L., Gorbach, S. L. (2008). Probiotics for prevention of antibiotic-associated diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42, S58-S63.
- Dóczy, I., Pető, Z., Fodor, E., Bereczki, L., Nagy, E., Hajdú, E. (2012). Evaluation of fungaemia infections in a Hungarian university hospital between 1996 and 2009. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 59 (1), 29-41.
- Dujon, B. A., Louis, E. J. (2017). Genome Diversity and Evolution in the Budding Yeasts (Saccharomycotina). *Genetics*, 206 (2), 717-750.

- Eggimann, P., Garbino, J., Pittet, D. (2003). Management of *Candida* species infections in critically ill patients. *The Lancet Infectious Diseases*, 3 (12), 772.
- Enache-Angoulvant, A., Hennequin, C. (2005). Invasive *Saccharomyces* infection: a comprehensive review. *Clinical Infectious Diseases*, 41 (11), 1559-1568.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2013). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. *EUCAST, Basel, Switzerland: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints*.
- Fanning, S., Mitchell, A. P. (2012). Fungal biofilms. *PLoS Pathogens*, 8 (4), e1002585.
- Fekete, A., Emri, T., Gyetvai, Á., Gazdag, Z., Pesti, M., Varga, Z., Balla, J., Cserhádi, C., Emödy, L., Pócsi, I. (2007). Development of oxidative stress tolerance resulted in reduced ability to undergo morphologic transitions and decreased pathogenicity in a t-butylhydroperoxide-tolerant mutant of *Candida albicans*. *FEMS Yeast Research*, 7 (6), 834–847. <http://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2007.00244.x>
- Fekete, A., Pócsi, I., Emri, T., Gyetvai, Á., Gazdag, Z., Pesti, M., Karányi Z., Majoros, L., Gergely, L., Pócsi, I. (2008). Physiological and morphological characterization of tert-butylhydroperoxide tolerant *Candida albicans* mutants. *Journal of Basic Microbiology*, 48 (6), 480–487. <http://doi.org/10.1002/jobm.200800114>
- Fradin, C., De Groot, P., MacCallum, D., Schaller, M., Klis, F., Odds, F. C., Hube, B. (2005). Granulocytes govern the transcriptional response, morphology and proliferation of *Candida albicans* in human blood. *Molecular Microbiology*, 56 (2), 397-415.
- Gallone, B., Steensels, J., Prahl, T., Soriaga, L., Saels, V., Herrera-Malaver,

- B., Merlevede, A., Roncoroni, M., Voordeckers, K., Miraglia, L., Teiling, C., Steffy, B., Taylor, M., Schwartz, A., Richardson, T., White, C., Baele, G., Maere, S., Verstrepen, K.J. (2016). Domestication and divergence of *Saccharomyces cerevisiae* beer yeasts. *Cell*, 166 (6), 1397-1410.
- Gasch, A. P., Hose, J., Newton, M. A., Sardi, M., Yong, M., Wang, Z. (2016). Further support for aneuploidy tolerance in wild yeast and effects of dosage compensation on gene copy-number evolution. *Elife*, 5, e14409.
- Gayevskiy, V., Goddard, M. R. (2012). Geographic delineations of yeast communities and populations associated with vines and wines in New Zealand. *The ISME Journal*, 6 (7), 1281.
- Ghannoum, M. A. (2000). Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical microbiology reviews*, 13 (1), 122-143.
- Ghannoum, M. A., Jurevic, R. J., Mukherjee, P. K., Cui, F., Sikaroodi, M., Naqvi, A., Gillevet, P. M. (2010). Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathogens*, 6 (1), e1000713.
- Goffeau, A., Barrell, B. G., Bussey, H., Davis, R. W., Dujon, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J.D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E. J., Mewes, H. W., Murakami, Y., Philippsen, P., Tettelin, H., Oliver, S. G. (1996). Life with 6000 genes. *Science*, 274 (5287), 546-567.
- Goldstein, A. L., McCusker, J. H. (2001). Development of *Saccharomyces cerevisiae* as a model pathogen: a system for the genetic identification of gene products required for survival in the mammalian host environment. *Genetics*, 159 (2), 499-513.
- Gow, N. A., Van De Veerdonk, F. L., Brown, A. J., Netea, M. G. (2012). *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nature Reviews Microbiology*, 10 (2), 112.

- Gyetzvai, Á., Emri, T., Takács, K., Dergez, T., Fekete, A., Pesti, M., Pócsi, I., Lenkey, B. (2006)/a. Lovastatin possesses a fungistatic effect against *Candida albicans*, but does not trigger apoptosis in this opportunistic human pathogen. *FEMS Yeast Research*, 6 (8), 1140-1148.
- Gyetzvai, A., Emri, T., Fekete, A., Varga, Z., Gazdag, Z., Pesti, M., Belágyi, J., Emödy, L., Pócsi, I., Lenkey, B. (2006)/b. High-dose methylprednisolone influences the physiology and virulence of *Candida albicans* ambiguously and enhances the candidacidal activity of the polyene antibiotic amphotericin B and the superoxide-generating agent menadione. *FEMS Yeast Research*, 7 (2), 265-275.
- Hanna, M., Xiao, W. (2006). Isolation of nucleic acids. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 313, 15–20. <http://doi.org/10.1385/1-59259-958-3:015>
- Herskowitz, I. (1988). Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Reviews*, 52 (4), 536
- Hickman, M. A., Zeng, G., Forche, A., Hirakawa, M. P., Abbey, D., Harrison, B. D., Wang, Y. M., Su, C.H., Bennett, R.J., Wang, Y., Berman, J. (2013). The 'obligate diploid' *Candida albicans* forms mating-competent haploids. *Nature*, 494 (7435), 55-59.
- Hose, J., Yong, C. M., Sardi, M., Wang, Z., Newton, M. A., Gasch, A. P. (2015). Dosage compensation can buffer copy-number variation in wild yeast. *Elife*, 4, e05462.
- 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), 149–169. <http://doi.org/10.1007/s12275-016-5514-0>

- Hube, B. (2004). From commensal to pathogen: stage- and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. *Current Opinion in Microbiology*, 7 (4), 336-341.
- Huffnagle, G. B., Noverr, M. C. (2013). The emerging world of the fungal microbiome. *Trends in Microbiology*, 21 (7), 334-341
- Hromatka, B. S., Noble, S. M., Johnson, A. D. (2005). Transcriptional response of *Candida albicans* to nitric oxide and the role of the YHB1 gene in nitrosative stress and virulence. *Molecular Biology of the Cell*, 16 (10), 4814-4826.
- Ibrahim, A. S., Mirbod, F., Filler, S. G., Banno, Y., Cole, G. T., Kitajima, Y., Edwards, J.E.Jr., Nozawa, Y., Ghannoum, M. A. (1995). Evidence implicating phospholipase as a virulence factor of *Candida albicans*. *Infection and immunity*, 63 (5), 1993-1998.
- Inácio, J., Daniel, H. M. (2017). Commensalism: the case of the human zymbiome. In *Yeasts in Natural Ecosystems: Ecology* (pp. 211-228). Springer, Cham.
- Inci, M., Atalay, M. A., Koç, A. N., Yula, E., Evirgen, Ö., Durmaz, S., Demir, G. (2012). Investigating virulence factors of clinical *Candida* isolates in relation to atmospheric conditions and genotype. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42 (SUPPL.2), 1476-1483. <http://doi.org/10.3906/sag-1204-119>
- Jabra-Rizk, M. A., Ferreira, S. M. S., Sabet, M., Falkler, W. A., Merz, W. G., Meiller, T. F. (2001). Recovery of *Candida dubliniensis* and other yeasts from human immunodeficiency virus-associated periodontal lesions. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (12), 4520-4522.
- Jacobsen, M. D., Duncan, A. D., Bain, J., Johnson, E. M., Naglik, J. R., Shaw, D. J., Odds, F. C. (2008). Mixed *Candida albicans* strain

- populations in colonized and infected mucosal tissues. *FEMS Yeast Research*, 8 (8), 1334-1338.
- Jakab, Á., Antal, K., Kiss, Á., Emri, T., Pócsi, I. (2014). Increased oxidative stress tolerance results in general stress tolerance in *Candida albicans* independently of stress-elicited morphological transitions. *Folia Microbiologica*, 59 (4), 333-340.
- Jakab, Á., Antal, K., Emri, T., Boczonádi, I., Imre, A., Gebri, E., Majoros, L., Pfliegler, V.P., Szarka, M., Balla, G., Balla, J., Pócsi, I. (2016)/a. Effects of hemin, CO₂, and pH on the branching of *Candida albicans* filamentous forms. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 63 (4), 387-403.
- Jakab, Á., Mogavero, S., Förster, T. M., Pekmezovic, M., Jablonowski, N., Dombrádi, V., Pócsi, I., Hube, B. (2016)/b. Effects of the glucocorticoid betamethasone on the interaction of *Candida albicans* with human epithelial cells. *Microbiology*, 162 (12), 2116-2125.
- Jensen, D. P., Smith, D. L. (1976). Fever of unknown origin secondary to brewer's yeast ingestion. *Archives of Internal Medicine*, 136 (3), 332-333.
- Jones, T., Federspiel, N. A., Chibana, H., Dungan, J., Kalman, S., Magee, B. B., Newport, G., Thorstenson, Y. R., Agabian, N., Magee, P. T., Davis, R. W., Scherer S. (2004). The diploid genome sequence of *Candida albicans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (19), 7329-7334.
- Kabir, M. A., Hussain, M. A., & Ahmad, Z. (2012). *Candida albicans*: a model organism for studying fungal pathogens. *ISRN Microbiology*, 2012.
- Kantarcioğlu, A. S., Yücel, A. (2002). Phospholipase and protease activities in clinical *Candida* isolates with reference to the sources of

- strains. *Mycoses*, 45 (5-6), 160-165.
- Kauffman, C. A., Marr, K. A., Thorner, A. R. (2012). Treatment of candidemia and invasive candidiasis in adults. *UpToDate*, Waltham, MA.
- Klingberg, T. D., Lesnik, U., Arneborg, N., Raspor, P., Jespersen, L. (2008). Comparison of *Saccharomyces cerevisiae* strains of clinical and nonclinical origin by molecular typing and determination of putative virulence traits. *FEMS Yeast Research*, 8 (4), 631-640.
- Kristóf, K., Janik, L., Komka, K., Harmath, Á., Hajdú, J., Nobilis, A., Rozgonyi, F., Nagy, K., Rigó, J., Szabó, D. (2010). Clinical microbiology of neonatal candidiasis in Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 57 (4), 407-417.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W. (1998). Definition, classification and nomenclature of the yeasts. *The Yeasts (Fourth Edition)* (pp. 3-5).
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B., Christensen, R. H. B. (2015). lmerTest: Tests in Linear Mixed Effects Models. *R package version 2.0-29*.
- Laffey, S. F., Butler, G. (2005). Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. *Microbiology*, 151 (4), 1073-1081.
- Lahkar, V., Saikia, L., Patgiri, S. J., Nath, R., Das, P. P. (2017). Estimation of biofilm, proteinase & phospholipase production of the *Candida* species isolated from the oropharyngeal samples in HIV-infected patients. *The Indian Journal of Medical Research*, 145 (5), 635.
- Lastauskienė, E., Čepulytė, J., Girkontaitė, I., Zinkevičienė, A. (2015). Phenotypic switching of *Candida guilliermondii* is associated with pseudohyphae formation and antifungal resistance. *Mycopathologia*, 179 (3-4), 205-211.
- Lewis, L. E., Bain, J. M., Lowes, C., Gillespie, C., Rudkin, F. M., Gow, N. A., Erwig, L. P. (2012). Stage specific assessment of *Candida albicans*

- phagocytosis by macrophages identifies cell wall composition and morphogenesis as key determinants. *PLoS Pathogens*, 8 (3), e1002578.
- Liti, G., Carter, D. M., Moses, A. M., Warringer, J., Parts, L., James, S. A., Davey, R.P., Roberts, I.N., Burt, A., Koufopanou, V., Tsai, I.J., Bergman, C.M., Bensasson, D., O'Kelly, M.J., van Oudenaarden, A., Barton, D.B., Bailes, E., Nguyen, A.N., Jones, M., Quail, M.A., Goodhead, I., Sims, S., Smith, F., Blomberg, A., Durbin, R., Louis, E.J. (2009). Population genomics of domestic and wild yeasts. *Nature*, 458 (7236), 337-341.
- Liti, G. (2015). The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae*. *eLife*, 4, e05835. <http://doi.org/10.7554/eLife.05835>
- Lo, H. J., Köhler, J. R., DiDomenico, B., Loebenberg, D., Cacciapuoti, A., Fink, G. R. (1997). Nonfilamentous *C. albicans* mutants are avirulent. *Cell*, 90 (5), 939-949.
- Lorenz, M. C., Cutler, N. S., Heitman, J. (2000). Characterization of alcohol-induced filamentous growth in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Biology of the Cell*, 11 (1), 183-199.
- Low, C. Y., Rotstein, C. (2011). Emerging fungal infections in immunocompromised patients. *F1000 Medicine Reports*, 3.
- López-Martínez, R. (2010). Candidosis, a new challenge. *Clinics in Dermatology*, 28 (2), 178-184.
- Ludlow, C. L., Cromie, G. A., Garmendia-Torres, C., Sirr, A., Hays, M., Field, C., Jeffery, E.W., Fay, J.C., Dudley, A. M. (2016). Independent origins of yeast associated with coffee and cacao fermentation. *Current Biology*, 26 (7), 965-971.
- Luo, G., Samaranyake, L. P., Yau, J. Y. Y. (2001). *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (8), 2971–2974. <http://doi.org/10.1128/JCM.39.8.2971->

2974.2001

- Mayer, F. L., Wilson, D., Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4 (2), 119-128.
- Mathé, L., Van Dijck, P. (2013). Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms. *Current Genetics*, 59 (4), 251-264.
- McCullough, M. J., Clemons, K. V, David, A., Stevens, D. A. (1999). Molecular and Phenotypic Characterization of Genotypic *Candida albicans* Subgroups and comparison with *Candida dubliniensis* and *Candida stellatoidea*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37 (2), 417–421.
- McCusker, J. H., Clemons, K. V., Stevens, D. A., Davis, R. W. (1994). *Saccharomyces cerevisiae* virulence phenotype as determined with CD-1 mice is associated with the ability to grow at 42 degrees C and form pseudohyphae. *Infection and Immunity*, 62 (12), 5447-5455.
- McGovern, P. E., Zhang, J., Tang, J., Zhang, Z., Hall, G. R., Moreau, R. A., Nunez, A., Butrym, E. D., Richards, M. P., Wang, C. S., Cheng, G., Zhao, Z., Wang, C. (2004). Fermented beverages of pre-and proto-historic China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (51), 17593-17598.
- McIlwain, S. J., Peris, D., Sardi, M., Moskvina, O. V., Zhan, F., Myers, K. S., Riley, N.M., Buzzell, A., Parreiras, L.S., Ong, I. M., Landick, R., Coon, J.J., Gasch, A. P., Sato, T.K., Hittinger, C.T. (2016). Genome sequence and analysis of a stress-tolerant, wild-derived strain of *Saccharomyces cerevisiae* used in biofuels research. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6 (6), 1757-1766.
- McManus, B. A., Maguire, R., Cashin, P. J., Claffey, N., Flint, S., Abdulrahim, M. H., Coleman, D. C. (2012). Enrichment of multilocus sequence typing clade 1 with oral *Candida albicans* isolates in patients

- with untreated periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 50 (10), 3335-3344.
- McManus, B. A., Coleman, D. C. (2014). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 166-178.
- Moran, G. P., Sullivan, D. J., Coleman, D. C. (2002). Emergence of non-*Candida albicans* *Candida* species as pathogens. *Candida and Candidiasis*. ASM Press, Washington, DC, 37-53.
- Moyad, M. A. (2007). Brewer's/baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and preventive medicine: part I. *Urologic Nursing*, 27 (6), 560.
- Muller, L. A., Lucas, J. E., Georgianna, D. R., McCusker, J. H. (2011). Genome-wide association analysis of clinical vs. nonclinical origin provides insights into *Saccharomyces cerevisiae* pathogenesis. *Molecular Ecology*, 20 (19), 4085-4097.
- Munoz, P., Bouza, E., Cuenca-Estrella, M., Eiros, J. M., Pérez, M. J., Sánchez-Somolinos, M., Tincón, C., Hortal, J., Peláez, T. (2005). *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clinical Infectious Diseases*, 40 (11), 1625-1634.
- Murray, C. J., Ortblad, K. F., Guinovart, C., Lim, S. S., Wolock, T. M., Roberts, D. A., ... & Wang, H. (2014). Global, regional, and national incidence and mortality for HIV, tuberculosis, and malaria during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, 384 (9947), 1005-1070. doi: 10.1016/S0140-6736 (14) 60844-8.
- Naglik, J. R., Challacombe, S. J., Hube, B. (2003). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67 (3), 400-428.

- Naglik, J., Albrecht, A., Bader, O., Hube, B. (2004). *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, 6 (10), 915-926.
- Nobile, C. J., Mitchell, A. P. (2006). Genetics and genomics of *Candida albicans* biofilm formation. *Cellular microbiology*, 8 (9), 1382-1391.
- Noble, S. M., Johnson, A. D. (2007). Genetics of *Candida albicans*, a diploid human fungal pathogen. *Annu. Rev. Genet.*, 41, 193-211.
- Odds, F. C., Davidson, A. D., Jacobsen, M. D., Tavanti, A., Whyte, J. A., Kibbler, C. C., Ellis, D.H., Maiden, M. C., Shaw, D. J., Bain, J. M., Gow, N. A. (2006). *Candida albicans* strain maintenance, replacement, and microvariation demonstrated by multilocus sequence typing. *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (10), 3647-3658.
- Odds, F. C., Bougnoux, M. E., Shaw, D. J., Bain, J. M., Davidson, A. D., Diogo, D., Jacobsen M.D., Lecomte M., Li, S.Y., Tavanti, A., Maiden, M. C., Gow, N.A., d'Enfert, C. (2007). Molecular phylogenetics of *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*, 6 (6), 1041-1052.
- Odds, F. C., Jacobsen, M. D. (2008). Multilocus sequence typing of pathogenic *Candida* species. *Eukaryotic Cell*, 7 (7), 1075-1084.
- Oshiro, G., Wodicka, L. M., Washburn, M. P., Yates, J. R., Lockhart, D. J., Winzeler, E. A. (2002). Parallel identification of new genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genome Research*, 12 (8), 1210-1220.
- Panagoda, G. J., Ellepola, A. N. B., Samaranayake, L. P. (2001). Adhesion of *Candida parapsilosis* to epithelial and acrylic surfaces correlates with cell surface hydrophobicity. *Mycoses*, 44 (1-2), 29-35.
- Paramythiotou, E., Frantzeskaki, F., Flevari, A., Armaganidis, A., Dimopoulos, G. (2014). Invasive fungal infections in the ICU: how to approach, how to treat. *Molecules*, 19 (1), 1085-1119.

- Perapoch, J., Planes, A. M., Querol, A., López, V., Martínez-Bendayán, I., Tormo, R., Fernández, F., Peguero, G., Salcedo, S. (2000). Fungemia with *Saccharomyces cerevisiae* in two newborns, only one of whom had been treated with ultra-levura. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 19 (6), 468-470.
- Perlroth, J., Choi, B., Spellberg, B. (2007). Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Medical Mycology*, 45 (4), 321-346.
- Pérez-Torrado, R., Llopis, S., Jespersen, L., Fernández-Espinar, T., Querol, A. (2012). Clinical *Saccharomyces cerevisiae* isolates cannot cross the epithelial barrier in vitro. *International Journal of Food Microbiology*, 157 (1), 59-64.
- Pérez-Torrado, R., Querol, A. (2016). Opportunistic strains of *Saccharomyces cerevisiae*: a potential risk sold in food products. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1522.
- Pfaller, M. A., Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20 (1), 133-163.
- Pfaller, M. A., Diekema, D. J., Gibbs, D. L., Newell, V. A., Bijie, H., Dzierzanowska, D., Klimko, N. N., Letscher-Bru, V., Lisalova, M., Muehlethaler, K., Rennison, C., Zaidi, M., Global Antifungal Surveillance Group (2009). Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: 10.5-year analysis of susceptibilities of noncandidal yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 47 (1), 117-123.
- Pfaller, M. A., Messer, S. A., Moet, G. J., Jones, R. N., Castanheira, M. (2011). *Candida* bloodstream infections: comparison of species

- distribution and resistance to echinocandin and azole antifungal agents in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008–2009). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38 (1), 65-69.
- Pfeiffer, I., Farkas, Z., Kucsera, J., Chandrasekaran, M., Kadaikunnan, S., Alharbi, N. S., Vágvölgyi, C. (2016). Characterisation of mitochondrial haplotypes occurred in a *Candida albicans* population. *Acta Biologica Hungarica*, 67 (1), 112-120.
- Phan, Q. T., Myers, C. L., Fu, Y., Sheppard, D. C., Yeaman, M. R., Welch, W. H., Ibrahim, A. S., Edwards, J. E. Jr., Filler, S. G. (2007). Als3 is a *Candida albicans* invasin that binds to cadherins and induces endocytosis by host cells. *PLoS Biology*, 5 (3), e64.
- Pócsi, I., Miskei, M., Karányi, Z., Emri, T., Ayoubi, P., Pusztahelyi, T., Balla, Gy., Prade, R. A. (2005). Comparison of gene expression signatures of diamide, H₂O₂ and menadione exposed *Aspergillus nidulans* cultures—linking genome-wide transcriptional changes to cellular physiology. *Bmc Genomics*, 6 (1), 182.
- Polke, M., Hube, B., Jacobsen, I. D. (2015). *Candida* survival strategies. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 91, pp. 139-235). Academic Press.
- Pongrácz, J., Juhász, E., Iván, M., Kristóf, K. (2015). Significance of yeasts in bloodstream infection: Epidemiology and predisposing factors of Candidaemia in adult patients at a university hospital (2010–2014). *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 62 (3), 317-329.
- Price, M. F., Wilkinson, I. D., Gentry, L. O. (1982). Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 20 (1), 7–14.

- Pugh, D., Cawson, R. A. (1977). The cytochemical localization of phospholipase in *Candida albicans* infecting the chick chorio-allantoic membrane. *Sabouraudia*, 15 (1), 29-35.
- R Core Team. R (2014). A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: *R Foundation for Statistical Computing*
- Ramage, G., Walle, K. V., Wickes, B. L., López-Ribot, J. L. (2001). Biofilm formation by *Candida dubliniensis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (9), 3234–3240. <http://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3234>.
- Reiersöl, S., Hoel, J. (1958). *Saccharomyces carlsbergensis*, possibly a pathogenic. *APMIS*, 44 (3), 313-318.
- Rizzetto, L., De Filippo, C., Cavalieri, D. (2015). Mycobiota: micro-eukaryotes inhabiting our body as commensals or opportunistic pathogens. *Fungal Genomics & Biology*, 5 (1), 1-9.
- Salonen, J. H., Richardson, M. D., Gallacher, K., Issakainen, J., Helenius, H., Lehtonen, O. P., Nikoskelainen, J. (2000). Fungal colonization of haematological patients receiving cytotoxic chemotherapy: emergence of azole-resistant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Hospital Infection*, 45 (4), 293-301
- Sardi, J. C. O., Duque, C., Höfling, J. F., Gonçalves, R. B. (2012). Genetic and phenotypic evaluation of *Candida albicans* strains isolated from subgingival biofilm of diabetic patients with chronic periodontitis. *Medical Mycology*, 50 (5), 467–75. <http://doi.org/10.3109/13693786.2011.633233>
- Sardi, J. C. O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M., Giannini, M. M. (2013). *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62 (1), 10-24.
- Saville, S. P., Lazzell, A. L., Monteagudo, C., Lopez-Ribot, J. L. (2003).

- Engineered Control of Cell Morphology In Vivo Reveals Distinct Roles for Yeast and Filamentous Forms of *Candida albicans* during Infection. *Eukaryotic Cell*, 2 (5), 1053–60. <http://doi.org/10.1128/EC.2.5.1053>
- Sellam, A., Whiteway, M. (2016). Recent advances on *Candida albicans* biology and virulence. *F1000Research*, 5.
- Schaller, M., Borelli, C., Korting, H. C., Hube, B. (2005). Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 48 (6), 365-377.
- Schuster, G. S. (1999). Oral flora and pathogenic organisms. *Infectious Disease Clinics*, 13 (4), 757-774.
- Sicard, D., Legras, J. L. (2011). Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Comptes Rendus Biologies*, 334 (3), 229-236.
- Sims, C. R., Ostrosky-Zeichner, L., Rex, J. H. (2005). Invasive candidiasis in immunocompromised hospitalized patients. *Archives of Medical Research*, 36 (6), 660-671.
- Sinkó, J., Sulyok, M., Denning, D. W. (2015). Burden of serious fungal diseases in Hungary. *Mycoses*, 58 (S5), 29-33.
- Smith, D., Metzgar, D., Wills, C., Fierer, J. (2002). Fatal *Saccharomyces cerevisiae* aortic graft infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 40 (7), 2691-2692.
- Sobel, J. D. (2007). Vulvovaginal candidosis. *The Lancet*, 369 (9577), 1961-1971.
- Strope, P. K., Skelly, D. A., Kozmin, S. G., Mahadevan, G., Stone, E. A., Magwene, P. M., Dietrich, F.S., McCusker, J. H. (2015). The 100-genomes strains, an *S. cerevisiae* resource that illuminates its natural phenotypic and genotypic variation and emergence as an opportunistic pathogen. *Genome Research*, 25 (5), 762-774.

- Sunshine, A. B., Payen, C., Ong, G. T., Liachko, I., Tan, K. M., Dunham, M. J. (2015). The fitness consequences of aneuploidy are driven by condition-dependent gene effects. *PLoS Biology*, *13* (5), e1002155.
- Takakura, S., Ichiyama, S., Bain, J. M., Davidson, A. D., Jacobsen, M. D., Shaw, D. J., Gow, N.A., Odds, F. C. (2008). Comparison of *Candida albicans* strain types among isolates from three countries. *International Journal of Medical Microbiology*, *298* (7-8), 663–668. <http://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.11.002>
- Tavanti, A., Davidson, A. D., Fordyce, M. J., Gow, N. A. R., Maiden, M. C. J., Odds, F. C. (2005). Population structure and properties of *Candida albicans*, as determined by Multilocus Sequence Typing. *Journal of Clinical Microbiology*, *43* (11), 5601–5613. <http://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5601>
- Thompson, G. R., Patel, P. K., Kirkpatrick, W. R., Westbrook, S. D., Berg, D., Erlandsen, J., Redding, S.W., Patterson, T. F. (2010). Oropharyngeal candidiasis in the era of antiretroviral therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, *109* (4), 488-495.
- Thompson, D. S., Carlisle, P. L., Kadosh, D. (2011). Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. *Eukaryotic Cell*, *10* (9), 1173-1182.
- Thorburn, R. R., Gonzalez, C., Brar, G. A., Christen, S., Carlile, T. M., Ingolia, N. T., Sauer, U., Weissman, J.S., Amon, A. (2013). Aneuploid yeast strains exhibit defects in cell growth and passage through START. *Molecular Biology of the Cell*, *24* (9), 1274-1289.
- Trofa, D., Gácsér, A., Nosanchuk, J. D. (2008). *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, *21* (4), 606-625.

- Wächtler, B., Citiulo, F., Jablonowski, N., Förster, S., Dalle, F., Schaller, M., Wilson, D. Hube, B. (2012). *Candida albicans*-epithelial interactions: dissecting the roles of active penetration, induced endocytosis and host factors on the infection process. *PLoS One*, 7 (5), e36952.
- Wang, Q. M., Liu, W. Q., Liti, G., Wang, S. A., Bai, F. Y. (2012). Surprisingly diverged populations of *Saccharomyces cerevisiae* in natural environments remote from human activity. *Molecular Ecology*, 21 (22), 5404-5417.
- Wessa P. (2017) Histogram (v1. 0.15) in Free Statistics Software, Office for Research Development and Education, *version 1.1.23-r7*.
- Yáñez, A., Murciano, C., Llopis, S., Fernández-Espinar, T., Gil, M. L., Gozalbo, D. (2009). In vivo and in vitro studies on virulence and host responses to *Saccharomyces cerevisiae* clinical and non-clinical isolates. *Open Mycol J*, 3, 37-47.
- Yapar, N. (2014). Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 10, 95
- Zhu, Y. O., Sherlock, G., Petrov, D. A. (2016). Whole genome analysis of 132 clinical *Saccharomyces cerevisiae* strains reveals extensive ploidy variation. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6 (8), 2421-2434.

Egyéb internetes források:

<http://www.candidagenome.org/>

<https://www.yeastgenome.org>

<https://www.fda.gov/>

<http://shiny.chemgrid.org/boxplotr/>

<http://heatmapper.ca/>

<http://wessa.net/>

11. Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet kifejezni Prof. Dr. Pócsi István Témavezetőmnek és egyben a DE-TTK Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék vezetőjének, hogy lehetővé tette Doktori munkám elvégzését a Tanszéken, valamint tapasztalatait megosztotta és hasznos tanácsaival mindvégig támogatta kutatásomat.

Szeretném megköszönni Dr. Pfliegler Valter Péter Témavezetőm lelkiismeretes munkáját, és önzetlen segítségét valamint, hogy szaktudását átadva végigkísért ezen az úton.

Köszönöm, hogy Dr. Majoros László és Dr. Kovács Renátó (DE-KK-ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet) a klinikai *C. albicans* izolátumokat és *S. cerevisiae* izolátumokat rendelkezésünkre bocsájtotta a szükséges információkkal és az antifungális szerek érzékenységének vizsgálatához nyújtott segítségüket, valamint Dr. Urbán Editnek (Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Mikrobiológia Diagnosztikai Intézet) a szegedi *S. cerevisiae* klinikai izolátumokért és Zsuga Imre szakdolgozónak, aki a *S. cerevisiae* izolátumok vizsgálatában segítségünkre volt, valamint Tóth Judit szakdolgozómnak a *C. albicans* izolátumok előkísérleteiben való segítségéért.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Barta Zoltánnak (DE-TTK Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék) a *C. albicans* izolátumok vizsgálataira kapott eredmények statisztikai analiziséért és együttműködő, segítőkész munkájáért.

Köszönöm a Tanszék minden dolgozójának, különösen Dr. Jakab Ágnesnek a kísérletek kivitelezésében nyújtott segítségét, valamint Vassné

Orosz Erzsébetnek, Király Anitának és Tóth Gábor Lászlóné asszisztensnek, hogy munkámat kellemes környezetben, barátok közt végezhettem.

Végül hálásan köszönöm férjemnek és családom többi tagjainak, barátaimnak, hogy mindvégig bíztattak és támogattak.

12. Tudományos közlemények jegyzéke

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények:

Boros, E., Pfliegler, W. P., Kovács, R., Jakab, Á., Majoros, L., Barta, Z., Pócsi, I. (2017). *Candida albicans* isolates from a single hospital show low phenotypical specialization. *Journal of Basic Microbiology*, 57 (11), 910-921.

Pfliegler, W. P., **Boros, E.**, Pázmándi, K., Jakab, Á., Zsuga, I., Kovács, R., Urbán, E., Antunovics, Zs., Bácsi, A., Sipiczki, M., Majoros, L., Pócsi, I. (2017). Commercial strain derived clinical *Saccharomyces cerevisiae* can evolve new phenotypes without higher pathogenicity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61 (11), 1601099.

Az értekezés témkörében elhangzott előadások vagy poszterek:

Boros E., Pócsi, I. (2014) A *Candida albicans* növekedésének, hifázóképességének és antimikotikumokkal szembeni érzékenységének meghatározása. *Hatvani István Szakkolégium 2014. évi Tavaszi Tudományos Hallgatói Konferencia*, Debrecen

Boros E., Pócsi, I. (2014) *Candida albicans* klinikai izolátumok élettani tulajdonságainak, virulencia faktorainak, antifungális és oxidatív szerekllel szembeni érzékenységének vizsgálata. *Hatvani István Szakkolégium 2014. évi Őszi Tudományos Hallgatói Konferencia*, Debrecen

Boros E., Pfliegler W. P., Kovács, R., Jakab, Á., Majoros, L., Barta, Z., Emri, T., Pócsi, I. (2017) *Candida albicans* izolátumok egy magyar klinikán: Dinamikus és diverz közösség.” *Candida albicans* isolates from a single Hungarian clinic: a diverse and dynamic community”. *VI. Magyar Mikológiai Konferencia*, Szeged

Egyéb, nem az értekezés témakörében készült tudományos közlemény és poszter:

Márkus, B., Szabó, K., Pfliegler, W. P., Petrényi, K., **Boros, E.**, Pócsi, I., Tózsér, J., Csósz, É., Dombrádi, V. (2017). Proteomic analysis of protein phosphatase Z1 from *Candida albicans*. *EMBO Conference on Europhosphatases*, Párizs, Franciaország.

Márkus, B., Szabó, K., Pfliegler, W. P., Petrényi, K., **Boros, E.**, Pócsi, I., Tózsér, J., Csósz, É., Dombrádi, V. (2017). Proteomic analysis of protein phosphatase Z1 from *Candida albicans*. *PLoS One*, 12 (8), e0183176.

13. Függelék

Izolátumok és páciensek adatai, az izolátumok tulajdonságainak 3-3 mérési adatával.

	3.	3.	3.	2.	2.	2.	1.	1.	Beteg az. Izolátum sz.
3.	21487	21487	21487	21620	21620	21620	24781	24781	1.
2013-07-17	2013-07-17	2013-07-17	2013-07-18	2013-07-18	2013-07-18	2013-07-18	2013-08-21	2013-08-21	Izolátum sz.
torok	torok	torok	torok	torok	torok	torok	torok	torok	Mintav. idő
i bel int	i bel int	i bel int	tüdőgyógyászat int	tüdőgyógyászat int	tüdőgyógyászat int	tüdőgyógyászat int	gyermek pulmonológia	gyermek pulmonológia	Izolátum f. (testfáj)
3	3	3	2	2	2	2	1	1	Kórházi oszt.
nő	nő	nő	férfi	férfi	férfi	férfi	nő	nő	Kórh. o. csop.
1944-05-13	1944-05-13	1944-05-13	1948-09-07	1948-09-07	1948-09-07	1948-09-07	2011-10-13	2011-10-13	Nem
25267	25267	25267	23690	23690	23690	23690	678	678	Születési d.
magas vérny	magas vérny	magas vérny	tüdőrák	tüdőrák	tüdőrák	tüdőrák	pneumonia	pneumonia	Kor (napok)
1	1	1	3	3	3	3	2	2	Alapbetegs.
nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	clyndamycin, sumetrolim	clyndamycin, sumetrolim	Alapb. súly.
0,125	0,125	0,125	0,25	0,25	0,25	0,25	0,125	0,125	Profilaxis
0,125	0,125	0,125	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Flu
1,3	1,3	1,3	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	AmB
13,95	16,7	11,89	16,85	18,75	18,75	20,4	35,08	28,57	MSB
0,666	0,629	0,625	0,736	0,790	0,790	0,7	0,482	0,555	hifázás
0,45	0,447	0,461	0,615	0,642	0,642	0,75	0,515	0,514	Foszfol. akt.
0,125	0,199	0,13	0,172	0,143	0,143	0,166	0,248	0,195	Proteáz akt.
3,3	3,1	3	3,8	3,6	3,6	3,4	3,4	3,1	Adhézió
1,264	1,275	1,325	1,293	1,282	1,282	1,258	1,445	1,558	42° C szap.
B	B	B	A	A	A	A	C	C	hemol. (HI)
									ABC gen.

10.		9.	9.	8.	8.	8.	7.	7.
28556	27468	27468	22307	22307	22307	22307	26623	26623
2013-09-25	2013-09-16	2013-09-16	2013-07-25	2013-07-25	2013-07-25	2013-07-25	2013-09-09	2013-09-09
vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet
rehab tsz kko	idegklinik	idegklinik	idegsebészet int	idegsebészet int	idegsebészet int	idegsebészet int	urologia	urologia
neurologia	stroke osztály	stroke osztály	fekvő	fekvő	fekvő	fekvő		
6	6	6	6	6	6	6	7	7
férfi	férfi	férfi	nő	nő	nő	nő	férfi	férfi
1936-08-25	1951-09-13	1951-09-13	1946-10-24	1946-10-24	1946-10-24	1946-10-24	1951-01-10	1951-01-10
28155	22649	22649	24381	24381	24381	24381	22888	22888
agyvértés	agyvértés	agyvértés	agyvértés	agyvértés	agyvértés	agyvértés	proszti megnagy	proszti megnagy
3	3	3	3	3	3	3	1	1
volt bakteriuma, nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem
jelzők a zátolat-ban								
animálr. kezelést								
0,125	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1
1,2	1,2	1,2	1	1	1	1	1	1
14,03	21,29	17,58	22,28	22,28	22,28	26,83	16,66	12,5
0,704	0,588	0,653	0,565	0,565	0,565	0,56	0,6071	0,576
0,606	0,5	0,5	0,487	0,487	0,475	0,465	0,5625	0,562
0,274	0,168	0,133	0,202	0,202	0,203	0,257	0,162	0,153
3,4	3,6	3,4	3,7	3,7	3,5	3,4	3,7	3,5
1,319	1,435	1,425	1,89	1,89	1,747	1,703	1,706	1,428
A	B	B	B	B	B	B	B	B

20.	20.	19.	19.	19.	18.	18.	17.	17.
28539	28539	25089	25089	25089	26136	26136	28666	28666
2013-09-24	2013-08-24	2013-08-24	2013-08-24	2013-08-24	2013-09-03	2013-09-03	2013-09-25	2013-09-25
cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat	cervix szüléset- nőgyógyászat
4	4	4	4	4	4	4	4	4
nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő
1998-08-04	1987-10-14	1987-10-14	1987-10-14	1987-10-14	1987-08-05	1987-08-05	1989-02-22	1989-02-22
5530	9446	9446	9446	9446	9526	9526	8981	8981
vulvovaginitis	vulvovaginitis	vulvovaginitis	vulvovaginitis	vulvovaginitis	vulvovaginitis	vulvovaginitis	vulvovaginitis	vulvovaginitis
1	1	1	1	1	1	1	1	1
nem	nem	nem	nem	clotrimazole	clotrimazole	clotrimazole	nem	nem
0,125	0,25	0,25	0,25	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
0,062	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	1,3	1,3
32,99	25,26	28,93	29,95	27,91	17,93	18,18	12	15
0,729	0,756	0,736	0,761	0,777	0,866	0,75	0,724	0,827
0,512	0,526	0,642	0,620	0,586	0,404	0,45	0,655	0,6
0,183	0,181	0,205	0,175	0,189	0,174	0,218	0,501	0,376
3,7	3,5	3,5	3,2	3	3,1	2,9	3,3	3,1
1,239	1,32	1,45	1,438	1,422	1,336	1,289	1,301	1,365
B	B	B	B	B	A	A	A	A

22.	22.	22.	22.	22.	22.	22.	22.	22.	22.	21.	21.
21860	21684	21684	21684	21426	21426	21426	21426	21426	25083	25083	25083
2013-07-22	2013-07-18	2013-07-18	2013-07-18	2013-07-17	2013-07-17	2013-07-17	2013-07-17	2013-07-17	2013-08-23	2013-08-23	2013-08-23
hüvely	hüvely	hüvely	hüvely	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	ascites	ascites	ascites
idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	idegsébszét int fekvő	sebészeti intézet	sebészeti intézet	sebészeti intézet
6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	5
nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő
1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1954-05-05	1954-05-05	1954-05-05
11200	11196	11196	11196	11195	11195	11195	11195	11195	21660	21660	21660
multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	peritonitis	peritonitis	peritonitis
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	nem	nem	nem
0,125	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1	1	1	0,25	0,25	0,25
0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
39,98	42,96	44,07	41,86	40,685	40	41,37	41,37	41,37	5,66	3,63	1,61
0,547	0,7	0,7	0,657	0,622	0,595	0,583	0,583	0,583	0,648649	0,684	0,75
0,5	0,441	0,421	0,45	0,428	0,440	0,440	0,440	0,440	0,487179	0,475	0,48
0,289	0,286	0,318	0,247	0,362	0,324	0,357	0,357	0,357	0,224	0,267	0,257
3,3	3,6	3,4	3,3	4,3	4,1	3,8	3,8	3,8	3,3	3,2	2,8
1,601	1,6	1,652	1,675	1,553	1,542	1,538	1,538	1,538	1,4	1,429	1,469
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

23.	23.	22.	22.	22.	22.	22.	22.	22.	22.
21935	21935	22346	22346	22345	22345	21860	21860	21860	21860
2013-07-22	2013-07-22	2013-07-25	2013-07-25	2013-07-25	2013-07-25	2013-07-22	2013-07-22	2013-07-22	2013-07-22
hemokultúra	hemokultúra	bronchus	bronchus	hüvely	hüvely	hüvely	hüvely	hüvely	hüvely
szülészet	szülészet	idegsebészet int fekvő	idegsebészet int fekvő	idegsebészet int fekvő	idegsebészet int fekvő	idegsebészet int fekvő	idegsebészet int fekvő	idegsebészet int fekvő	idegsebészet int fekvő
4	4	6	6	6	6	6	6	6	6
nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő
2013-06-24	2013-06-24	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22	1982-11-22
28	28	11203	11203	11203	11203	11200	11200	11200	11200
sepsis	sepsis	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog	multiplex agytályog
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
nem	nem	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin	meropenem, colistin, augmentin
0,125	0,125	0,25	0,25	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
0,25	0,25	0,25	0,25	0,125	0,125	0,5	0,5	0,5	0,5
0,7	0,7	0,9	0,9	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7
13,72	22,91	44,06	45,71	43,57	44,83	47,2	47,2	40,63	40,63
0,677	0,696	0,631	0,636	0,595	0,595	0,65	0,65	0,590	0,590
0,5	0,486	0,5	0,45	0,410	0,4	0,47	0,47	0,459	0,459
0,295	0,398	0,18	0,241	0,227	0,217	0,286	0,286	0,282	0,282
3,9	3,6	3,7	3,4	3,7	3,5	3,4	3,5	3,4	3,4
1,736	1,487	1,560	1,402	1,460	1,5	1,508	1,508	1,576	1,576
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

24.	24.	23.	23.	23.	23.	23.	23.	23.
26084	26084	22624	22624	21924	21924	21924	21924	21935
2013-09-03	2013-09-03	2013-07-29	2013-07-29	2013-07-29	2013-07-22	2013-07-22	2013-07-22	2013-07-22
kanül	kanül	seb	seb	seb	seb	seb	seb	hemokultúra
i bel int	i bel int	szülészet	szülészet	szülészet	szülészet	szülészet	szülészet	szülészet
3	3	4	4	4	4	4	4	4
férfi	férfi	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő
1946-08-13	1946-08-13	2013-06-24	2013-06-24	2013-06-24	2013-06-24	2013-06-24	2013-06-24	2013-06-24
24493	24493	35	35	35	28	28	28	28
sepsis	sepsis	sepsis	sepsis	sepsis	sepsis	sepsis	sepsis	sepsis
3	3	3	3	3	3	3	3	3
meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem
0,125	0,125	0,25	0,25	0,25	0,125	0,125	0,125	0,125
0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25
0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7
33,84	34,79	20,62	20,83	20,41	22,45	22,68	22,22	13,72
0,709	0,683	0,595	0,523	0,565	0,631	0,583	0,675	0,705
0,5	0,473	0,461	0,486	0,461	0,512	0,461	0,528	0,493
0,228	0,24	0,346	0,259	0,321	0,272	0,219	0,209	0,313
3,6	3,4	3,9	3,7	3,6	3,5	3,3	3,2	4,1
1,436	1,387	1,146	1,136	1,131	1,303	1,275	1,336	1,698
B	B	B	B	B	B	B	B	B

29.	18219	15263	15263	28.	28.	27.	27.	27.	26.	26.
torok	torok	torok	torok	I. Bel.Nephrologia	I. Bel.Nephrologia	torok	torok	torok	torok	torok
Tüdőgyógyászat Onkológia Kúra Oszt.	Tüdőgyógyászat Onkológia Kúra Oszt.						Sebészeti Intézet közp. Int. Oszt.	Sebészeti Intézet közp. Int. Oszt.	Fül-O-G Fül- orr-gége szf/a	Fül-O-G Fül- orr-gége szf/a
2	2	3	3	3	3	5	5	5	10	10
férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	nő	nő	nő	férfi	férfi
18884	18884	9350	9350	9350	9350	12529	12529	12529	28619	28619
23274	23274	32780	32780	32780	32780	29640	29640	29640	13532	13532
tüdő daganat	tüdő daganat	magas vérmnyomás	magas vérmnyomás	magas vérmnyomás	magas vérmnyomás	bélbetegség	bélbetegség	bélbetegség	sinusitis	sinusitis
3	3	1	1	1	1	2	2	2	1	1
nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem
0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	2	2	2	0,125	0,125
0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25
1,3	1,3	0,9	0,9	0,9	0,9	1,2	1,2	1,2	1,1	1,1
52,63	49,18	53,22	38,09	38,09	44,82	54,90	54,90	45	35,29	29,365
0,810	0,714	0,666	0,714	0,676	0,837	0,777	0,777	0,8	0,657	0,576
0,6	0,634	0,580	0,540	0,548	0,708	0,782	0,782	0,72	0,439	0,45
0,396	0,428	0,146	0,217	0,195	0,435	0,392	0,392	0,396	0,276	0,257
3,4	3,3	2,1	1,8	1,7	5,5	5,1	5,1	4,9	3,6	3,5
1,441	1,460	1,315	1,339	1,439	1,198	1,237	1,237	1,264	1,582	1,558
A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	C

32.	32.	31.	31.	30.	30.	29.
21672	21672	18334	18334	14983	14983	18219
42190	42190	42158	42158	42128	42128	42158
bronchus	bronchus	bronchus	bronchus	bronchus	bronchus	torok
Gyermek intenzív fekvő osztály	Gyermek intenzív fekvő osztály	Szívseb. Intenzív os	Szívseb. Intenzív os	I. Bel intenzív fekvő osztály	I. Bel intenzív fekvő osztály	Tüdőgyógyászat Onkológia Kúria Oszt.
1	1	5	5	3	3	2
nő	nő	férfi	férfi	nő	nő	férfi
40225	40225	10361	10361	17307	17307	18884
1965	1965	31797	31797	24821	24821	23274
septicaemia	septicaemia	bakteriális pneumonia	bakteriális pneumonia	magas vérmennyiség	magas vérmennyiség	tüdő daganat
3	3	3	3	1	1	3
meropenem, clindamycin	meropenem, clindamycin	nem	nem	nem	nem	nem
2	2	0,25	0,25	0,125	0,125	0,125
0,25	0,25	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
1,3	1,3	1,2	1,2	1	1	1,3
21,49	25,92	5,43	5,154	44,64	45,73	47,2
0,862	0,821	0,714	0,857	0,613	0,636	0,722
0,846	0,846	0,816	0,764	0,573	0,603	0,666
0,377	0,358	0,376	0,334	0,351	0,217	0,401
4	3,8	7,1	6,6	3,5	3,3	3,4
1,275	1,276	1,465	1,437	1,639	1,607	1,408
B	B	A	A	C	C	A

39.	15815	15745	15745	15745	15207	15207	15207	36.	36.
42135	42135	42135	42135	42135	42130	42130	42130	15360	42131
torok	torok	hasüregi	hasüregi	hasüregi	hasüregi	hasüregi	hasüregi	hasüregi	hasüregi
Gyermek Csacsamóés Gyem. (gasztr)	GyermekCsacsamóés Gyem. (gasztr)	Sebészeti Intézet közp.int. Okzt.	Sebészeti Intézet közp.int. Okzt.	Sebészeti Intézet közp.int. Okzt.	Sebészeti Intézet közp.int. Okzt.	Sebészeti Intézet közp.int. Okzt.	Sebészeti Intézet közp.int. Okzt.	Seb.Int.ált.seb. Es vesetr. Fekv	Seb.Int.ált.seb. Es vesetr. Fekv
1	1	5	5	5	5	5	5	5	5
nő	nő	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi
37756	37756	29105	29105	21831	21831	21831	21159	21159	21159
4379	4379	13030	13030	20299	20299	20299	20972	20972	20972
septicaemia	septicaemia	bélbetegség	bélbetegség	hasnyálmirigy daganat	hasnyálmirigy daganat	hasnyálmirigy daganat	nyombélfekély	nyombélfekély	nyombélfekély
3	3	3	3	3	3	3	2	2	2
meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	nem	nem	nem	nem	nem	nystatin	nystatin	nystatin
0,125	0,125	0,5	0,5	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,9	0,9	1,3	1,3	1,2	1,2	1,2	1,3	1,3	1,3
20,83	12	35,33	41,53	48,12	48,12	47,96	57,142	59,45	59,45
0,631	0,675	0,704	0,657	0,833	0,833	0,631	0,625	0,619	0,619
0,622	0,581	0,545	0,478	0,580	0,580	0,580	0,596	0,566	0,566
0,319	0,334	0,269	0,228	0,545	0,545	0,366	0,456	0,415	0,415
3,3	3	4	3,7	4,2	4,2	4	3,7	3,6	3,6
1,232	1,253	1,225	1,204	1,270	1,270	1,265	1,204	1,171	1,171
C	C	B	B	B	B	B	A	A	A

39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.	39.
21646	21646	20803	20803	20803	20803	16312	16312	16312	16312	16312	16312	15815	15815
42190	42190	42181	42181	42181	42181	42141	42141	42141	42141	42141	42141	42135	42135
hemokultura	hemokultura	seb	seb	seb	seb	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	vizelet	torok	torok
Cscesemő és Gyerm.	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (utóegy)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)	Gyermek Cscesemő és Gyerm. (gasztr)
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő	nő
37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756	37756
4434	4434	4425	4425	4425	4425	4385	4385	4385	4385	4385	4385	4379	4379
colitis ulcerosa	colitis ulcerosa	colitis ulcerosa	colitis ulcerosa	colitis ulcerosa	colitis ulcerosa	septicaemia	septicaemia	septicaemia	septicaemia	septicaemia	septicaemia	septicaemia	septicaemia
2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3
meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole	meropenem, fluconazole
0,25	0,25	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	0,9	0,9
11,34	5	10,18	9,30	9,16	9,16	4,90	4,90	4,90	2,22	2,17	2,17	13,63	13,63
0,756	0,69	0,675	0,645	0,6944	0,6944	0,710	0,710	0,694	0,694	0,65	0,65	0,631	0,631
0,603	0,551	0,615	0,581	0,603	0,603	0,551	0,551	0,548	0,548	0,603	0,603	0,615	0,615
0,354	0,381	0,33	0,33	0,335	0,335	0,412	0,412	0,43	0,43	0,442	0,442	0,321	0,321
3,2	2,9	3,7	3,6	3,3	3,3	3,2	3,2	3	3	2,9	2,9	3,6	3,6
1,637	1,539	1,341	1,320	1,297	1,297	1,394	1,394	1,352	1,352	1,413	1,413	1,226	1,226
C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

41.	41.	41.	41.	40.	40.	40.	40.	40.	40.
19595	18685	18685	18685	15310	15310	15310	15320	15320	15320
42170	42163	42163	42163	42130	42130	42130	42130	42130	42130
hemokultura	hemokultura	hemokultura	hemokultura	hemokultura	hemokultura	hemokultura	kanül	kanül	kanül
Gyermek intenzív fekvő osztály	Gyermek intenzív fekvő osztály	Gyermek intenzív fekvő osztály	Gyermek intenzív fekvő osztály	Szívseb. Intenzív	Szívseb. Intenzív	Szívseb. Intenzív	Szívseb. Intenzív	Szívseb. Intenzív	Szívseb. Intenzív
1	1	1	1	5	5	5	5	5	5
férfi	férfi	férfi	férfi	nő	nő	nő	nő	nő	nő
40393	40393	40393	40393	14843	14843	14843	14843	14843	14843
1777	1770	1770	1770	27287	27287	27287	27287	27287	27287
hydrocephalus	hydrocephalus	hydrocephalus	hydrocephalus	atheroscleroticus s szívbetegség	atheroscleroticus s szívbetegség	atheroscleroticus s szívbetegség	atheroscleroticus s szívbetegség	atheroscleroticus s szívbetegség	atheroscleroticus s szívbetegség
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacil, vancomicin, fluconazole	cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacil, vancomicin, fluconazole	cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacil, vancomicin, fluconazole	cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacil, vancomicin, fluconazole	nem	nem	nem	nem	nem	nem
0,125	0,125	0,125	0,125	0,25	0,25	0,25	0,125	0,125	0,125
0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
0,9	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,2	1,2
59,85	42,02	58,08	60	33,33	40,17	36,11	31,57	25,45	32,75
0,595	0,636	0,622	0,56	0,735	0,684	0,625	0,727	0,771	0,684
0,772	0,772	0,75	0,833	0,578	0,551	0,568	0,615	0,653	0,653
0,268	0,4	0,315	0,312	0,238	0,246	0,263	0,227	0,214	0,201
2,6	3,3	3,1	2,9	3,9	3,6	3,5	3,7	3,7	3,4
1,261	1,75	2	1,909	1,708	1,683	1,758	1,713	1,704	1,692
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

43.	43.	43.	43.	43.	43.	43.	43.	43.	43.	42.
20099	20099	19113	19113	19113	19113	15299	15299	15299	15299	14615
42175	42175	42165	42165	42165	42165	42130	42130	42130	42130	42125
seb	seb	seb	seb	seb	seb	seb	seb	seb	seb	seb
Sebészeti Intézet közp. int. oszt.	Sebészeti Intézet közp. int. oszt.	Sebészeti Intézet közp. int. oszt.	Sebészeti Intézet közp. int. oszt.	Sebészeti Intézet közp. int. oszt.	Sebészeti Intézet közp. int. oszt.	Seb. Int.érsébszeti fekvo osztaly	Seb. Int.érsébszeti fekvo osztaly	Seb. Int.érsébszeti fekvo osztaly	Seb. Int.érsébszeti fekvo osztaly	Ortopédia Rehabilitáció
5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	9
férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	férfi	nő
14347	14347	14347	14347	14347	14347	14347	14347	14347	14347	17095
27828	27828	27818	27818	27818	27818	27783	27783	27783	27783	25030
epehólyag kövesség	epehólyag kövesség	végtagi ütőerek atherosclerosis	végtagi ütőerek atherosclerosis	végtagi ütőerek atherosclerosis	végtagi ütőerek atherosclerosis	végtagi ütőerek atherosclerosis	végtagi ütőerek atherosclerosis	végtagi ütőerek atherosclerosis	végtagi ütőerek atherosclerosis	térdizületi arthrosis
2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
augmentin	augmentin	augmentin	augmentin	augmentin	augmentin	augmentin	augmentin	augmentin	augmentin	fluconazole, ciprofloxacih, clindamycin
0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,25
0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
1	1	1	1	1	1	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
33,33	40,74	47,05	54,68	45,79	45,79	24,13	42,85	39,47	39,47	33,33
0,740	0,696	0,774	0,721	0,818	0,818	0,736	0,777	0,736	0,736	0,738
0,729	0,733	0,714	0,760	0,673	0,673	0,66	0,693	0,629	0,629	0,73
0,343	0,311	0,264	0,255	0,266	0,266	0,262	0,247	0,245	0,245	0,266
2,5	2,3	3	2,9	2,6	2,6	2,8	2,5	2,3	2,3	1,1
1,108	1,144	1,163	1,101	1,142	1,142	1,131	1,126	1,102	1,102	1,230
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A