

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A MICAFUNGIN FARMAKODINÁMIÁJÁNAK
VIZSGÁLATA KLINIKAILAG JELENTŐS
CANDIDA FAJOK ELLEN**

Tóth Zoltán

Témavezető: Dr. Kovács Renátó, PhD



**DEBRECENI
EGYETEM**

DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2022

A micafungin farmakodinámiájának vizsgálata klinikailag jelentős *Candida* fajok ellen

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

Írta: Tóth Zoltán okleveles molekuláris biológus

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

Témavezető: Dr. Kovács Renátó, PhD

Az értekezés bírálói:

Dr. Lekli István, PhD
Dr. Somogyvári Ferenc, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Bácsi Attila, PhD, az MTA doktora
tagok: Dr. Lekli István, PhD
Dr. Somogyvári Ferenc, PhD
Dr. Dóczy Ilona, PhD
Lajszné Dr. Tóth Beáta, PhD

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Sürgősségi és Oxiológiai Tanszék előadóterme
2022. szeptember 15. 11:30

Bevezetés

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

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

Az invazív *Candida* infekciók terápiájára meglehetősen kevés hatóanyaggal rendelkezünk, melyek három csoportba oszthatók, ezek a poliének, az azolok, illetve az echinocandinok. Utóbbi csoport 2000-es évekbeli bevezetéséhez nagy reményeket fűztek, mint biztonságosabb és hatékonyabb, kiemelkedően jó *in vitro* aktivitású antifungális szerek, azonban a hozzájuk kapcsolódó ígéreteket csak részben sikerült beváltaniuk. Bár valóban egy rendkívül biztonságos hatóanyagcsoportról van szó és klinikailag némileg hatékonyabbak, mint a korábbi antifungális gyógyszerek, az invazív *Candida* okozta infekciókban, a candidaemia-hoz kapcsolódó mortalitás továbbra is elfogadhatatlanul magas, bizonyos fajok esetében eléri a 70%-ot a kritikus állapotú betegek körében. Az utóbbi időben mind gyakrabban felmerülő magyarázat a továbbra is magas halálozás hátterében, a nem megfelelő, túl alacsony napi dózisz echinocandin adagolás, illetve az ebből következő PK/PD célkoncentráció el nemérése, mind

a véráramban, mind pedig az egyéb fokális góciókban. Ennek oka többek között az lehet, hogy az adagolási séma összeállítása során az egészséges önkéntesek adataiból indultak ki, azonban ma már tudjuk, hogy a különböző kritikus állapotban lévő betegek körében a farmakokinetikai paraméterek az egyes echinocandinok esetében jelentősen eltérnek, általában az alacsonyabb expozíció irányába. További probléma, hogy az echinocandinok adagolása a bevezetésük óta nem változott. Abban az időszakban amikor a jelenleg használatos dózisokat megállapították, az a farmakometriai megközelítés nem volt elterjedt, mely figyelembe veszi a különböző *Candida* fajok némileg eltérő echinocandin érzékenységet és a különböző betegpopulációkban és anatómiai tájakon tapasztalható farmakokinetikai variabilitást, ma rávilágít az adagolás lehetséges elégtelenségére.

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

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

Célkitűzés

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

Vizsgálataink az alábbi szűkebb témákra terjedtek ki:

- A micafungin *in vitro* aktivitásának vizsgálata pleurális és peritoneális fertőzésekből származó *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* és *Candida kefyr* izolátumok ellen a pleurális és peritoneális folyadékban elérhető MCF koncentrációkon (0,25-2 mg/L) normál RPMI-1640, illetve 10% és 30% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegekben idő-ölés módszerrel
- A micafungin, valamint a két klinikai forgalomban lévő (caspofungin, anidulafungin) és a klinikai kipróbálás alatt álló rezafungin *in vitro* aktivitásának vizsgálata *Candida auris* izolátumok ellen idő-ölés módszerrel klinikailag releváns koncentrációkon (0,25-32 mg/L)

Anyagok és Módszerek

A kísérletekben vizsgált izolátumok

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

A kísérletekben használt antifungális szerek, valamint a humán szérum

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

Az izolátumok micafungin, illetve egyéb echinocandin érzékenységének meghatározása

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

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

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

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

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

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

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

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

Az adatok statisztikai kiértékelése

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

Eredmények

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

A kísérletekben használt izolátumok micafungin érzékenységének meghatározása

A MCF érzékenységhatározás során a MCF MIC értékek normál RPMI-1640 tápközegben a QC (quality control) törzsek esetén minden esetben a nemzetközileg elfogadott tartományba estek (CLSI 2008). A klinikai törzsek a jelenleg elfogadott határértékek alapján érzékenynek bizonyultak MCF-ra. A *C. kefyr* izolátumok esetén nincs jelenleg elfogadott fajspecifikus határérték, azonban az izolátumok MIC értéke alacsonyabb volt, mint a faj esetében közölt ECOFF (Epidemiological Cut-Off Value) értékek ($\leq 0,12$ mg/L).

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

Az 50%-os csíraszámcsökkenéshez szükséges idő a különböző micafungin koncentrációk esetében az egyes vizsgált tápközegben a különböző Candida izolátumok ellen az idő-ölés kísérletek során valamint, az ölési ráta értékek alakulása az egyes vizsgált Candida fajok klinikai izolátumainak esetében

A kísérletek során a MCF aktivitása legfeljebb fungisztikus volt (nem volt 99.9%-os CFU (Colony Forming Unit) csökkenés) a vizsgált *C. albicans*, *C. tropicalis* és *C. parapsilosis* izolátumok ellen minden vizsgált tápközegben és koncentráción, ezért csak a T50 értékek kerülnek bemutatásra (2. táblázat). A szérummentes RPMI-1640 tápközegben a *C. albicans* izolátumok esetében az 50%-os csíraszámcsökkenés rövid idő bekövetkezett. Tíz százalék humán szérum jelenlétében a MCF aktivitása jelentősen csökkent a *C. albicans* izolátumok ellen a 20261-es izolátum kivételével. A 30% szérumot tartalmazó tápközegben az ATCC 10231-es törzs ellen csak a 2 mg/L-es MCF koncentráció volt hatékony, ellentétben a klinikai izolátumokkal, melyek esetében 30% szérum jelenlétében a 0,5-2 mg/L-es koncentrációtartományon tapasztaltunk legalább 50%-os CFU csökkenést. A klinikai *C.*

albicans izolátumok ellen az említett koncentrációtartományon az aktivitás koncentrációfüggetlen módon alakult.

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

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

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

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

A *C. kefyr* izolátumok ellen a MCF szérummentes tápközegben szintén gyors fungicid aktivitást mutatott. 10% szérum jelenlétében azonban a 31709-es *C. kefyr* izolátum ellen a MCF már csak ≥ 1 mg/L-es koncentráción volt fungicid hatású, a 38001-es izolátum ellen pedig csak 2 mg/L jelenlétében. A 30% szérummal kiegészített tápközegben a *C. kefyr* izolátumok ellen csak az 1 és a 2 mg/L-es koncentrációk okoztak csíraszámcsökkenést, és csak a 2 mg/L-es

koncentráción volt fungicid hatás tapasztalható a 31709-es és a 38001-es izolátumok ellen. A 24700-as izolátum esetében a MCF aktivitása jelentősen elmaradt a másik két klinikai izolátumhoz képest, mivel csak a 2 mg/L-es koncentráción tapasztaltunk gyenge fungisztatikus aktivitást.

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

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

A kísérletekben használt C. auris izolátumok echinocandin érzékenysége meghatározása

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

Az 50%-os csíraszámcsökkenéshez szükséges idő a vizsgált C. auris izolátumok esetében, valamint az ölési ráta értékek alakulása

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

A Dél-ázsiai klád esetében az átlagos ölési ráta értékek koncentrációfüggő módon alakultak 0,25 és 32 mg/L között az ANF, RZF és MCF esetében RPMI-1640 tápközegben, azonban a vizsgált izolátumok mindegyike ellen csak a RZF (4-32 mg/L) és az ANF (16-32

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

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

A Dél-afrikai izolátumok kifejezetten ellenállónak bizonyultak az echinocandinok hatására RPMI-1640 tápközegben. Bár a szaporodás üteme jelentősen csökkent minden vizsgált echinocandin koncentráción, jelentős CFU csökkenést nem tapasztaltunk még 256-1024 x MIC koncentrációk mellett sem. A legmagasabb aktivitást (0,4 log CFU csökkenés) a 185-ös izolátum ellen mutatta az ANF 1 mg/L-es koncentráción. Szérum jelenlétében némileg jobb ölü aktivitást figyeltünk meg, azonban csak a RZF expozíció eredményezett pozitív k értékeket mindhárom izolátum ellen, mégpedig a 8-32 mg/L-es koncentrációtartományon (átlagos k értékek 0,07-0,09 1/h).

A Dél-amerikai klád esetében az Izraelből származó invazív izolátumok és a kolumbiai kórházi környezeti izolátumok eltérő módon reagáltak az echinocandin expozícióra. A szérummentes RPMI-1640 tápközegben az izraeli izolátumok viselkedése nagyon hasonló volt

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

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

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

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

Megbeszélés

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

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

Eredményeink alapján már a 10% humán szérum is jelentősen befolyásolta a MCF ölü aktivitását a vizsgált fajok ellen, mely alól csak a *C. albicans* klinikai izolátumok jelentettek kivételt. Esetükben minden vizsgált MCF koncentráción (0,25-2 mg/L) jelentős csíraszámcsökkenést tapasztaltunk, bár 30% szérumban 0,25 mg/L MCF koncentráción az ölés hatékonysága szignifikánsan ($p < 0,05$) elmaradt a 10% szérumot tartalmazó tápközegezh képest. A recens epidemiológiai adatok alapján a *Candida* fajok okozta empyema thoracis esetek több, mint 35-48%-ban non-*albicans* faj a kórokozó, illetve IAC-os esetek majd feléért is ezek felelnek. A vizsgált non-*albicans* fajok ellen a klinikailag releváns 1 mg/L-es MCF koncentráción 30% szérumban azonban elégtelen ölü aktivitást tapasztaltunk, mely felveti a jelenleg alkalmazott MCF adagolás elégtelenségét non-*albicans* fajok okozta pleurális és

peritoneális *Candida* infekciók kezelésében. Az RPMI-1640 tápközegekben tapasztalt alacsony MIC értékek, valamint a jelentős ölü aktivitás, ellentétben a szérumban jelenlétében tapasztalttal megerősítik azon eredményeket, melyek alapján a szérumban tápközegekben az echinocandinok, így a MCF aktivitása is jelentősen túlbecsült és nem biztos, hogy releváns az *in vivo* tapasztalható aktivitás szempontjából, főleg *non-albicans* fajok ellen.

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

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

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

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

Összefoglalás

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

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



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

Jelölt: Tóth Zoltán

Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

MTMT azonosító: 10062962

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Kovács, R. L., **Tóth, Z.**, Locke, J. B., Forgács, L., Kardos, G., Nagy, F., Borman, A. M., Majoros, L.: Comparison of In Vitro Killing Activity of Rezafungin, Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin against Four Candida auris Clades in RPMI-1640 in the Absence and Presence of Human Serum.
Microorganisms. 9 (4), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9040863>
IF: 4.128 (2020)
2. **Tóth, Z.**, Kardos, T., Kovács, R. L., Kardos, G., Nagy, F., Prépost, E., Barta, Z., Takács, I., Majoros, L.: Comparison of Killing Activity of Micafungin Against Six Candida Species Isolated from Peritoneal and Pleural Cavities in RPMI-1640, 10 and 30% Serum.
Mycopathologia. 183 (6), 905-912, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-018-0302-5>
IF: 2.278

További közlemények

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





4. Pető, Á., Kósa, D., Haimhoffer, Á., Nemes, D., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vecsernyés, M., Váradi, J., Fenyvesi, F., Frum, A., Gligor, F. G., Vicaș, L. G., Marian, E., Jurca, T., Pallag, A., Muresan, M., **Tóth, Z.**, Bácskay, I.: Topical Dosage Formulation of Lyophilized *Philadelphus coronarius* L. Leaf and Flower: antimicrobial, Antioxidant and Anti-Inflammatory Assessment of the Plant. *Molecules*. 27 (9), 1-18, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27092652>
IF: 4.411 (2020)
5. Nagy, F., **Tóth, Z.**, Nyikos, F., Forgács, L., Jakab, Á., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: In vitro and in vivo interaction of caspofungin with isavuconazole against *Candida auris* planktonic cells and biofilms. *Med. Mycol.* 59 (10), 1015-1023, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myab032>
IF: 4.076 (2020)
6. Balázs, B., Nagy József, B., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Károlyi, S., Turcsányi, I., Bistyák, A., Kálmán, A., Sárközi, R., Kardos, G.: Occurrence of *Escherichia coli* producing extended spectrum [béta]-lactamases in food-producing animals. *Acta Vet. Hung.* 69 (3), 1-5, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2021.00036>
IF: 0.955 (2020)
7. Kovács, R. L., Nagy, F., **Tóth, Z.**, Forgács, L., Tóth, L., Váradi, G., Tóth, G. K., Vadászi, K., Borman, A. M., Majoros, L., Galgóczy, L.: The Neosartorya fischeri Antifungal Protein 2 (NFAP2): a New Potential Weapon against Multidrug-Resistant *Candida auris* Biofilms. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2), 1-14, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22020771>
IF: 5.923 (2020)
8. Balázs, B., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Kovács, R. L., Tóth, H., Nagy József, B., Tóth, Á., Szarka, K., Majoros, L., Kardos, G.: The Role of Uniform Meropenem Usage in *Acinetobacter baumannii* Clone Replacement. *Antibiotics*. 10 (2), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10020127>
IF: 4.639 (2020)
9. Jakab, Á., Balla, N., Ragyák, Á., Nagy, F., Kovács, F., Sajtos, Z., **Tóth, Z.**, Borman, A. M., Pócsi, I., Baranyai, E., Majoros, L., Kovács, R. L.: Transcriptional profiling of the *Candida auris* response to exogenous farnesol exposure. *mSphere*. 6 (5), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00710-21>
IF: 4.389 (2020)





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





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





22. Kovács, R. L., Nagy, F., **Tóth, Z.**, Bozó, A., Balázs, B., Majoros, L.: Synergistic effect of nikkomycin Z with caspofungin and micafungin against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* biofilms.
Lett. Appl. Microbiol. 69 (4), 271-278, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/lam.13204>
IF: 2.173
23. Nagy, F., Bozó, A., **Tóth, Z.**, Daróczy, L., Majoros, L., Kovács, R. L.: In vitro antifungal susceptibility patterns of planktonic and sessile *Candida kefyr* clinical isolates.
Med. Mycol. 56 (4), 493-500, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myx062>
IF: 2.851
24. Kardos, T., Kovács, R. L., Kardos, G., Varga, I., Bozó, A., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Majoros, L.: Poor in vivo efficacy of caspofungin, micafungin and amphotericin B against wild-type *Candida krusei* clinical isolates does not correlate with in vitro susceptibility results.
J. Chemother. 30 (4), 233-239, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/1120009X.2018.1487150>
IF: 1.599
25. Kovács, R. L., **Tóth, Z.**, Nagy, F., Daróczy, L., Bozó, A., Majoros, L.: Activity of exogenous tyrosol in combination with caspofungin and micafungin against *Candida parapsilosis* sessile cells.
J. Appl. Microbiol. 122 (6), 1529-1536, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.13452>
IF: 2.16
26. Kovács, R. L., Saleh, Q., Bozó, A., **Tóth, Z.**, Gesztelyi, R., Kardos, T., Kardos, G., Takács, I., Majoros, L.: Killing Activity of Micafungin Against *Candida albicans*, *C. dubliniensis* and *Candida africana* in the Presence of Human Serum.
Mycopathologia. 182 (11-12), 979-987, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-017-0178-9>
IF: 1.476
27. Kardos, T., Saleh, Q., Kovács, R. L., Gesztelyi, R., Kardos, G., Bozó, A., **Tóth, Z.**, Majoros, L.: Postantifungal effect of micafungin against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida africana* in the presence and absence of serum.
New Microbiol. 40 (4), 286-288, 2017.
IF: 1.412





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

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 105,364

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

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

Debrecen, 2022.04.28.

