

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ, FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE „GEORGE EMIL PALADE” DIN TÂRGU  
MUREȘ - ȘCOALA DE STUDII DOCTORALE

## Rezumatul tezei de doctorat „Analiza factorilor de patogenitate ai speciilor de *Candida* și interrelația lor cu macroorganismul”

**Doctorand: Ciurea Cristina Nicoleta**

**Conducător de doctorat: Prof. Dr. Man Adrian**

Infecțiile provocate de *Candida* spp. prezintă o importanță crescândă în practica medicală, în special în contextul creșterii numărului de pacienți imunocompromiși și a numărului de manevre medicale invazive. Deși cea mai izolată specie de *Candida* este *Candida albicans*, infecțiile provocate de speciile din grupul non-*albicans* sunt din ce în ce mai frecvente. *Candida* spp. sunt microorganisme oportuniste patogene, motiv pentru care exprimarea caracterelor de virulență condiționează și favorizează apariția și întreținerea infecțiilor. În acest context, prezenta teză de doctorat analizează virulența celei mai frecvent izolate specii de *Candida* (*C. albicans*), dar și a unor specii din grupul non-*albicans* rare, dar cu potențial crescut de a cauza infecții greu de tratat (*Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii* și *Candida auris*).

**Primul studiu** este de natură retrospectivă și analizează prevalența *Candida* spp. în secrețiile de tract respirator inferior, oferind date epidemiologice locale. Studiul s-a desfășurat pe o perioadă de 10 ani și a inclus un număr de 3199 probe de spută și aspirate traheale, 1144 (35,76%) fiind pozitive pentru *Candida* spp. În secrețiile de tract respirator inferior, specia *C. albicans* este cel mai frecvent izolată. *Candida* spp. se izolează cel mai frecvent de la pacienții cu vârsta de peste 60 de ani.

**Al doilea studiu** analizează influența farnesolului și a tyrosolului, molecule de Quorum Sensing (QSMs) folosite în comunicarea inter-microbiană, asupra virulenței *Candida* spp. (rata de creștere, formare de biofilme și expresia genelor *ALS3*, *HSP70* și *SAP2*, implicate în virulența celulelor de *C. albicans*). Atât farnesolul, cât și tyrosolul influențează rata de creștere a *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. auris* și *C. guilliermondii*. Efectele produse asupra celulelor fungice diferă în funcție de specia de *Candida* și de timpul de expunere. Farnesolul are, în general, un efect de inhibiție asupra speciilor de *Candida* studiate, în special în primele 12 ore. După 48 de ore, efectele farnesolului asupra ratei de creștere sistează, probabil datorită unor mecanisme de adaptare încă nestudiate. Dintre cele două QSMs studiate, farnesolul are efecte mai marcate pe rata de creștere a celulelor de *Candida*, comparativ cu tyrosolul. Atât farnesolul, cât și tyrosolul au inhibat rata de creștere a *C. auris* în primele 12 ore. Farnesolul (100 μM) stimulează producerea de biofilme de către *C. albicans*, iar tyrosolul (100 μM) o inhibă. Tyrosolul stimulează producerea de biofilme pentru *C. krusei*. Ambele QSMs au afectat expresia genelor *ALS3*, *HSP70* și *SAP2* pentru *C. albicans*.

**Al treilea studiu** analizează influența glucozei, fructozei, lactozei, glibenclamidului și a metforminului asupra virulenței *Candida* spp. Obiectivele principale constau în determinarea efectelor exercitate de trei surse de carbon (glucoză, fructoză și lactoză) și de metformin și a glibenclamid asupra ratelor de creștere și a abilității de a forma biofilme a 5 specii de *Candida*: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. auris* și *C. guilliermondii*, precum și a efectelor exercitate de acestea asupra expresiei genelor de virulență *ALS3*, *HSP70* și *SAP2* și asupra filamentării *C. albicans*. Sursele nutritive din mediu afectează diferit rata de creștere și formarea de biofilme a speciilor *C. albicans*, *C. krusei*, *C. auris*, *C. guilliermondii* și *C. parapsilosis*, iar influența asupra celulelor planctonice diferă comparativ cu cea asupra celulelor organizate în biofilme. Fructoza (100-400 mg/dl),

glibenclamidul (10-40 ng/dl) și glucoza (50-400 mg/dl) inhibă formarea de biofilme de către *C. albicans*, în timp ce speciile non-albicans sunt nesemnificativ influențate de substanțele studiate. Dintre toate speciile de *Candida* analizate, *C. albicans* a fost cel mai adesea influențat de factorii asociați diabetului zaharat, fapt ce ar putea explica, cel puțin parțial, prevalența crescută a infecțiilor cu *C. albicans* la pacienții diabetici. Genul *Candida* cuprinde un număr mare de specii, iar fiecare specie trebuie studiată individual. Grupul non-albicans este variat și cuprinde specii cu particularități metabolice și de virulență.

**Al patrulea studiu** analizează influența directă a unei citokine pro-inflamatorii (IL-6) asupra virulenței *Candida* spp. În timpul interacțiunii agent microbian-gazdă, citokinele pot acționa asupra celulelor de *Candida*, influențând rata de creștere, formarea de biofilme și expresia unor gene de virulență, dependent de particularitățile structurale și fiziologice ale speciei. Mai mult decât atât, IL-6 poate acționa ca un factor de stres, inducând supraexpresia genei *HSP70* la specia *C. albicans*.

**Studiile cinci și șase** se focusează pe identificarea efectelor antifungice și/sau de modulare a virulenței a unor substanțe cu potențial terapeutic sau de adjuvanți în terapie. Studiul cinci constă în determinarea efectelor antifungice și a influențelor asupra virulenței *Candida* spp. a nanoparticulelor de argint (AgNPs) sintetizate cu ajutorul extractelor de *Fagus sylvatica* L și *Picea abies* L și azotat, respectiv nitrat. Studiul șase analizează efectele antifungice și de modulare a virulenței *Candida* spp. a uleiurilor esențiale (UE) de scorțișoară, cuișoare, malaleuca, busuioc, oregano și cimbru. Pentru stabilirea efectului antifungic s-a utilizat metoda microdiluțiilor, iar pentru identificarea unui posibil rol adjuvant în terapie, s-au determinat efectele sinergice ale celor patru AgNPs și a celor șase UE incluse în studiu cu fluconazolul. De asemenea, s-au studiat efectele AgNPs și UE asupra ratei de creștere și asupra formării de biofilme de către *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. auris* și *C. guilliermondii*, precum și efectele AgNPs asupra expresiei genelor de virulență *ALS3*, *HSP70* și *SAP2* și asupra filamentării *C. albicans*.

Toate AgNPs studiate au prezentat CMI 50% și CMI 100% împotriva celor cinci specii de *Candida* incluse în studiu. AgNP Nit SBE (nanoparticule de arginit biosintetizate cu extract din scoarță de *Picea abies* L cu azotat) au prezentat valori mai mici ale CMI-urilor, comparativ cu Ag Ac SBE (nanoparticule de arginit biosintetizate cu extract din scoarță de *Picea abies* L cu acetat). De asemenea, toate AgNP studiate au prezentat activitate antifungică sinergică cu fluconazolul, împotriva *C. parapsilosis* și *C. guilliermondii*. AgNP Ac BBE (nanoparticule de arginit biosintetizate cu extract din scoarță de *Fagus sylvatica* L cu acetat), AgNP Nit BBE (nanoparticule de arginit biosintetizate cu extract din scoarță de *Fagus sylvatica* L cu azotat), AgNP Ac SBE și AgNP Ac SBE inhibă, în principal, producerea de biofilme a speciilor *C. albicans* și *C. auris* și stimulează producerea de biofilme pentru *C. parapsilosis*. Producerea de biofilme de către *C. guilliermondii* este inhibată de AgNP Ac SBE și AgNP Ac SBE. Rezultatele obținute evidențiază perspectivele utilizării nanotehnologiei pentru prevenirea, sau chiar tratarea infecțiilor, iar AgNPs au pe lângă efecte antifungice, și abilitatea de a influența virulența *Candida* spp.

UE, atât în forma micelară, cât și în cea apoasă, au activitate antifungică împotriva *Candida* spp. și modulează gradul de virulență al acestora. UE de scorțișoară, cuișoare și cimbru au prezentat efecte importante de inhibiție a ratei de creștere, a formării de biofilme și au afectat expresia genelor de virulență și rata de filamentare la *C. albicans*. Efectele antifungice ale UE de scorțișoară și cuișoare se pot datora concentrațiilor crescute de compuși hidrosolubili precum cinamaldhehida și eugenolul, compuși cu potențială utilizare în scop terapeutic. Compușii chimici conținuți de UE reprezintă substanțe cu utilitate promițătoare în tratamentul sau prevenția infecțiilor provocate de *Candida* spp. Cu toate acestea, mai multe studii sunt necesare pentru identificarea mecanismelor moleculare care conduc la apariția efectelor antifungice observate.