

lek. Marta Dąbrowska

**Tytuł rozprawy: Analiza lekooporności i wrażliwości na wybrane związki pochodzenia naturalnego drożdżaków z rodzaju *Candida*.**

**Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych  
w zakresie medycyny**

Promotor: dr hab. n. med. Monika Sienkiewicz

**Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej,**

**Uniwersytet Medyczny w Łodzi**

Łódź, 2023

## Streszczenie

Drożdżaki z rodzaju *Candida* są najczęstszą przyczyną zakażeń grzybiczych na całym świecie. Patogeneza kandydozy zależy od czynników wirulencji drożdżaków, które umożliwiają kolonizację i inwazję tkanek oraz unikanie odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Tworzenie biofilmu powoduje problemy w terapii i zwiększa oporność na leki przeciwgrzybicze. Analiza literatury naukowej z ostatnich kilkunastu lat wskazuje na rosnącą oporność na leki przeciwgrzybicze izolatów klinicznych z rodzaju *Candida*. Choć nie jest to zjawisko tak powszechne i nasilone, jak w przypadku patogenów bakteryjnych, to jednak widoczny jest również wzrost oporności drożdżaków na leki i biocydy w miarę ich stosowania. U osób z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym kandydoza jest zwykle miejscową infekcją skóry, paznokci lub błon śluzowych, w tym jamy ustnej, gardła, przełyku i zewnętrznych narządów płciowych – pochwy czy penisa. W następstwie zaburzeń mikrobiomu spowodowanych wieloma czynnikami, w tym głównie chorobami przewlekłymi, jak np. cukrzyca, AIDS, choroby autoimmunologiczne, zaburzenia hormonalne, a także związane z wszelkiego rodzaju urazami, dochodzi do nadmiernego rozwoju tych drożdżaków procesów patologicznych związanych z ich aktywnością. Niemalą rolę odgrywają one w zakażeniach szpitalnych. Rosnąca oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe zmusza naukowców do badania alternatywnych środków mogących mieć zastosowanie w eradykacji patogennych drożdżaków z rodzaju *Candida* zarówno z powierzchni skóry, czy błon śluzowych, jak i ze środowiska, jak np. placówki opieki medycznej, by przeciwdziałać rozprzestrzenianiu się tych drobnoustrojów.

Celem pracy była analiza lekooporności i wrażliwości na wybrane związki pochodzenia naturalnego drożdżaków z rodzaju *Candida*.

W badaniach oceniano działanie przeciwgrzybicze wybranych składników olejków eterycznych - *trans*-anetolu i eugenolu samodzielnie i w połączeniu z wybranymi lekami przeciwdrobnoustrojowymi wobec *C. albicans* pochodzących z zakażeń pochwy, a także *trans*-anetolu, eugenolu, karwakrolu, tymolu i mentolu, samodzielnie oraz w połączeniu z dichlorowodorkiem oktenidyny wobec *C. albicans* i *C. parapsilosis* pochodzących z zakażeń skóry pacjentów leczonych z powodu powierzchownej kandydozy.

Eugenol z mikonazolem wykazywał działanie synergistyczne wobec badanych izolatów klinicznych pochodzących z zakażeń pochwy. Synergiczny i addytywny efekt dla poszczególnych izolatów stwierdzono dla eugenolu z ekonazolem. Badane izolaty kliniczne

*C. albicans* pochodzące z zakażeń pochwy charakteryzowały się zmniejszoną wrażliwością na ekonazol. Działanie addytywne stwierdzono również w połączenie *trans*-anetol – mikonazol. Przeprowadzanie analizy widm w podczerwieni z transformacją Fouriera nie wykazało silnych zależności między synergistycznym lub addytywnym działaniem zastosowanych kombinacji a ilościowymi i jakościowymi różnicami w ugrupowaniach chemicznych komórek

*C. albicans*, zależność ta pozostaje kwestią do wyjaśnienia. Podsumowując można stwierdzić, że mikonazol i ekonazol w połączeniach z eugenolem mogą być dobrym kandydatem jako składnik preparatów przeciw *Candida* spp. natomiast badane izolaty kliniczne *C. albicans* i *C. parapsilosis* pochodzące z zakażeń skóry były odporne na flukonazol i worykonazol. Badania wykazały, że *trans*-anetol i eugenol wzmagają aktywność dichlorowodoru oktenidyny wobec badanych szczepów wzorcowych i izolatów klinicznych drożdżaków *C. albicans* i *C. parapsilosis*. Wykazano również, że kombinacje tych związków wpływają na tempo zabijania komórek drożdży i zwiększają przepuszczalność błony komórkowej drożdżaków, a tym samym odpowiadają za ich destabilizację. Właściwości efektywnych połączeń dichlorowodorek oktenidyny - *trans*-anetol i dichlorowodorek oktenidyny - eugenol mogłyby zostać wykorzystane w preparatach stosowanych do eradykacji drożdżaków w nawracających zakażeniach skóry. Konieczne jest poszerzenie badań o większą liczbę izolatów klinicznych oraz przyjrzenie się, jaki jest związek między działaniem synergistycznym i addytywnym połączeń składnik olejku eterycznego – lek przeciwgrzybiczy lub składnik olejku eterycznego – dichlorowodorek oktenidyny i ilościowymi i jakościowymi różnicami w ugrupowaniach chemicznych komórek drożdżaków z rodzaju *Candida*.

## Summary

*Candida* spp. yeasts are the most common cause of fungal infections worldwide. The pathogenesis of candidiasis depends on the virulence factors of yeast which allow colonization and invasion of the tissues, as well as enabling avoidance of the host immune responses. Biofilm formation causes problems in therapy and increases resistance to antifungal drugs. The analysis of the scientific literature published over the last several years indicates the growing resistance to antifungal drugs of *Candida* genus clinical isolates. Although this problem is not as common and severe as in the case of bacterial pathogens, there is also an increase of resistance among yeasts to drugs with their use. In immunocompetent people, candidiasis is usually a localized infection of the skin, nails, or mucous membranes, including the mouth, throat, esophagus, and external genitalia such as the vagina or penis. As a result of microbiome disorders caused by many factors, mainly chronic diseases such as diabetes, AIDS, autoimmune diseases, hormonal disorders, as well as related to all kinds of injuries, these yeasts overgrow and pathological processes related to their activity occur. They play a significant role in nosocomial infections. The growing resistance to antimicrobial agents forces scientists to study alternative agents that may be used in the eradication of pathogenic yeasts of the *Candida* genus, both from the surface of the skin or mucous membranes, as well as from the environment, such as medical care facilities, to prevent the spread of these microorganisms.

The aim of the study was to analyze the drug resistance and sensitivity to selected compounds of natural origin of yeasts of the *Candida* genus.

The antifungal effects of selected components of essential oils - *trans*-anethole and eugenol alone and in combination with selected antimicrobial drugs against *C. albicans* from vaginal infections, as well as *trans*-anethole, eugenol, carvacrol, thymol and menthol, alone and in combination with octenidine dihydrochloride against *C. albicans* and *C. parapsilosis* derived from skin infections of patients treated for superficial candidiasis.

Eugenol with miconazole showed a synergistic effect on the tested clinical isolates come from vaginal infections. Clinical isolates of *C. albicans* tested from vaginal infections showed reduced susceptibility to econazole. A synergistic and additive effect for individual isolates was found for eugenol with econazole. An additive effect was also found in the *trans*-anethole-miconazole combination. Analysis of Fourier transform infrared spectra did not show strong relationships between the synergistic or additive effects of the combinations used

and the quantitative and qualitative differences in chemical moieties of *C. albicans* cells, this relationship remains to be clarified. It can be concluded that miconazole and econazole in combination with eugenol may be a good candidate as an ingredient of preparations against *Candida* spp. The tested clinical isolates of *C. albicans* and *C. parapsilosis* were resistant to fluconazole and voriconazole. Results of investigations showed that trans-anethole and eugenol enhance the activity of octenidine dihydrochloride against the tested reference strains and clinical isolates of *C. albicans* and *C. parapsilosis*. It has also been shown that combinations of these compounds affect the rate of killing yeast cells and increase the permeability of the yeast cell membrane, and thus are responsible for their destabilization. The properties of effective combinations of octenidine dihydrochloride - *trans*-anethole and octenidine dihydrochloride - eugenol could be used in preparations used to eradicate candidiasis in recurrent skin infections. It is necessary to extend the research with a larger number of clinical isolates and to look at the relationship between the synergistic and additive effects of essential oil component combinations with antifungal drug or octenidine dihydrochloride and quantitative and qualitative differences in the chemical groups of *Candida* yeast cells.