



Short Communication

Evaluation of proteinase and phospholipase activity of *Candida albicans* strains isolated from the mouth of patients with controlled and uncontrolled diabetes mellitus in Qazvin province

Faezeh Mohammadi^{ID 1*}, Hossein Safasepehr^{ID 2}, Sima Hashemipour^{ID 3},
Monirsadat Mirzadeh^{ID 4}

ABSTRACT

Pathophysiological changes in the mouth of patients with diabetes mellitus (DM) predispose to overgrowth of *Candida albicans*. Various virulence factors such as proteinase and phospholipase production are involved in the process of degradation of the host cell membrane. These enzymes are involved in binding *Candida* species, especially in the hyphae stage, to the target tissue. In this study, the proteinase and phospholipase activity of 51 *C. albicans* strains was evaluated. Overall, the rates of proteolytic and phospholipase activities in controlled and uncontrolled diabetic patients were 90.2% and 72.5%, respectively. No significant difference was observed between proteinase and phospholipase activities in both groups of patients ($P>0.05$), while there was a significant difference between the activity of hydrolytic enzymes with Hemoglobin A1c (HbA1C) and dentures in the uncontrolled diabetic group ($P<0.05$). According to the importance of hydrolytic enzymes activity of *C. albicans* species in diabetic patients, oral health of diabetic patients to control and prevent disease progression in these patients is essential.

Keywords: Diabetes, Oral candidiasis, Phospholipase, Proteinase



Citation: Mohammadi F, Safasepehr H, Hashemipour S, Mirzadeh M. [Evaluation of proteinase and phospholipase activity of *Candida albicans* strains isolated from the mouth of patients with controlled and uncontrolled diabetes mellitus in Qazvin province]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(4): 402-407. [Persian]

DOI: <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.4.108>

Received: February 19, 2021

Accepted: July 17, 2021

¹ Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

² Student Research Committee, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

³ Department of Internal, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

⁴ Metabolic Disease Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Corresponding author: Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Tel: +9828-33336001

Fax: +982833360904

E-mail: faezehmohamadi119@yahoo.com

بررسی میزان فعالیت آنژیم پروتئیناز و فسفولیپاز سویه‌های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از دهان بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس کنترل شده و کنترل نشده

فائزه محمدی^{۱*}, حسین صفاسپهر^۲, سیما هاشمی پور^۳, منیرالسادات میرزاده^۴

چکیده

تفصیرات پاتوفیزیولوژیک در دهان بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس زمینه را برای رشد بیش از حد کاندیدا آلبیکنس فراهم می‌نماید. فاکتورهای ویرولانس مختلفی مانند تولید آنژیم پروتئیناز و فسفولیپاز در فرایند تخریب غشای سلولی میزان دخیل هستند. این آنژیم‌ها در اتصال گونه‌های کاندیدا بهویژه در مرحله هایی به بافت هدف نقش دارند. هدف از این مطالعه ارزیابی میزان توانایی تولید آنژیم‌های هیدرولیتیک توسط سویه‌های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از حفره دهان بیماران دیابتیک می‌باشد. در این مطالعه، فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز ۵۱ سویه کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت؛ به طور کلی میزان فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز سویه‌های کاندیدا آلبیکنس دهانی در بیماران دیابتیک کنترل شده و غیر کنترل شده، به ترتیب $90/0\%$ و $72/5\%$ ارزیابی گردید. تفاوت معنی‌داری بین فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز در هر دو گروه بیماران مشاهده نگردید ($P > 0.05$)؛ در حالی که بین فعالیت آنژیم‌های هیدرولیتیک با میزان هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1C) و دندان مصنوعی در گروه دیابتیک غیرکنترل شده اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$). با توجه به اهمیت فعالیت آنژیم‌های هیدرولیتیک کاندیدا آلبیکنس در بیماران دیابتیک، بهداشت دهان و دندان مبتلایان به دیابت کنترل و جلوگیری از پیشرفت بیماری در این بیماران ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، کاندیدیازیس دهانی، فسفولیپاز، پروتئیناز

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۰: ۱۴۰۲-۱۴۰۷.

دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۰۱ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۶

^۱ بخش انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

^۲ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

^۳ گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

^۴ مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

*نویسنده مسئول: بخش انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

آدرس: قزوین - دانشگاه علوم پزشکی قزوین - دانشکده پزشکی - بخش انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی

تلفن: ۰۲۸-۳۳۳۳۶۰۰۱ - نامبر: ۰۹۰۴-۳۳۳۶۰۹۰۲ - پست الکترونیکی: faezehmohamadi119@yahoo.com

روش تحقیق

در این مطالعه توصیفی تحلیلی ۱۲۸ بیمار مبتلا به دیابت ملیتوس^۳ (DM) نوع دو کنترل شده و کنترل نشده که به کلینیک غدد بزرگسالان دیابت استان قزوین مراجعه نمودند، مورد بررسی قرار گرفت. بیماران در دو گروه مورد مطالعه از نظر جنس و سن همسان سازی شدند. جهت انجام آزمایش مستقیم با KOH ده درصد و آزمایش کشت بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آکار از سطح زبان، کام و لثه ها توسط دو سواب پنهانی استریل نمونه گیری انجام شد. محیط کشت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردیدند. علاوه بر این، تست لوله زایا جهت مشاهده جرم تیوب و نیز تغییر رنگ کلنج توسط محیط کرومومژنیک کروم آکار کاندیدا انجام گردید. جهت بررسی فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز، ابتدا سوسپانسیون مخمری از کلنج تازه طبق نیم مک فارلن د تهیه گردید. از محیط آلبومین سرم گاوی حاوی BSA، Yeast extract، K2HPO₄, NaCl, MgSO₄.7H₂O و گلوکز برای آنزیم پروتئیناز و از محیط کشت حاوی سابورو دکستروز آکار، NaCl, CaCl₂ همراه با زرده تخم مرغ برای بررسی فعالیت فسفولیپاز استفاده شد. پلیت ها به مدت ۴ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید.

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و کمیته اخلاق دانشگاه با کد IR.QUMS.REC.1398.137 انجام شد.

یافته ها

در مطالعه ما، تعداد ۶۳ (۴۹/۲٪) بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ کنترل شده با میانگین سنی 55 ± 12 سال و ۶۵ (۵۰/۸٪) بیمار مبتلا به دیابت کنترل نشده با میانگین سنی 60 ± 11 سال مورد بررسی قرار گرفتند. در این تحقیق، از حفره دهان بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ کنترل شده و کنترل نشده به ترتیب ۱۲ (۲۳/۵٪) و ۵ (۳۹/۷۶٪) جدایه بالینی کاندیدا آلبیکنس با استفاده از تست های فنوتیپی شناسایی گردید. میزان فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز در

مقدمه

دیابت یک بیماری مزمن غده درون ریز می باشد که با سطوح بالای گلوکز خون به دلیل تولید ناکافی انسولین توسط لوزالمعده مشخص می شود. کاهش سرعت جریان برازی، افزایش فعالیت کلائزاز، نقص در عملکرد پلی مورفو نوکلرها و اختلالات عروقی باعث تخریب بافت دهانی و در نتیجه آن کاهش دفاع نسوج در مقابل عوامل عفونی است (۱).

کاندیدیازیس دهانی یکی از شایع ترین عفونت های فرست طلب در بیماران دیابتیک می باشد. تغییرات پاتوفیزیولوژیک در دهان افراد دیابتیک باعث تغییر در فلور دهان و رشد بیشتر گونه های کاندیدا می گردد (۲). در بین گونه های کاندیدا، شیوع کاندیدا آلبیکنس از سایر گونه ها بیشتر بوده و به دلیل قدرت چسبندگی و افزایش تولید فاکتورهای ویرولانس از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. ترشح آنزیم پروتئیناز و فسفولیپاز از جمله فاکتورهای ویرولانس می باشند که از این طریق در فرایند تخریب غشاء های سلولی میزان دخیل هستند (۳).

پروتئیناز ترشحی به عنوان یکی از مهم ترین فاکتورهای ویرولانس کاندیدا آلبیکنس در نظر گرفته شده است که باعث تقویت توانایی ارگانیسم در کلونیزه شدن و نفوذ در بافت های میزان می گردد (۴, ۵).

فسفولیپاز ترشحی نیز به عنوان یکی دیگر از فاکتورهای اصلی بیماری زایی در کاندیدا آلبیکنس مطرح می باشد. این دسته از آنزیم ها با هیدرولیز کردن یک یا چند اتصال استر در گلیسروفسفولیپیدها باعث تخریب غشاء های سلولی شده که در نهایت سبب اتصال قارچ به بافت هدف و انتشار آن در بافت می شوند (۶, ۷).

با توجه به شیوع بیماری دیابت در کشور ما، در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم های فسفولیپاز و پروتئیناز ایزوله های کاندیدا آلبیکنس در حفره دهانی بیماران دیابتیک تیپ دو کنترل شده و کنترل نشده و نیز ارتباط بین فعالیت آن ها با میزان قند خون ناشتا، هموگلوبین گلیکوزیله^۱ (HbA1C) و استفاده از دندان مصنوعی مورد بررسی قرار گرفت.

² Diabetes Mellitus (DM)

¹ Hemoglobin A1c (HbA1c)

۸/۳±۱/۲ و ۶/۶±۰/۷۶ می باشد. نتایج آماری نشان داد که اختلاف معنی داری بین سطوح فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل نشده وجود دارد ($P<0/05$)؛ در حالی که بین سطوح فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل شده اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P>0/05$). در مطالعه ما ۷۵٪ از بیماران دیابتیک کنترل شده و ۷٪ از بیماران دیابتیک کنترل نشده دارای دندان مصنوعی بودند. نتایج آماری نشان داد که اختلاف معنی داری بین فعالیت آنزیم پروتئیناز و استفاده از دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل نشده وجود دارد ($P<0/05$)؛ در حالی که بین فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز با استفاده از دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل شده و نیز بین فعالیت آنزیم فسفولیپاز با دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل نشده اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P>0/05$) (جدول ۱).

سویه کاندیدا آلبیکنس دهانی در هر دو گروه از بیماران مورد بررسی، به ترتیب ۹۰٪ و ۷۲٪ ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که فعالیت هر دو آنزیم مورد بررسی در شرایط آزمایشگاهی در ایزوله های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از دهان بیماران دیابتی کنترل شده بیش از بیماران دیابتی کنترل نشده می باشد؛ علاوه بر این، نتایج آماری نشان داد که اختلاف معنی داری بین فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز سویه های کاندیدا آلبیکنس و نیز میانگین فعالیت هر دو آنزیم سویه ها در هر دو گروه مورد مطالعه مشاهده نگردید ($P>0/05$). در مطالعه ما میانگین قند خون ناشتا در گروه دیابتیک کنترل شده و کنترل نشده به ترتیب $133/58\pm29$ میلی گرم / دسی لیتر و $159/36\pm58$ میلی گرم / دسی لیتر می باشد. بین فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان قند ناشتا در هر دو گروه مطالعه، اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P>0/05$)؛ همچنین میانگین HbA1C در گروه دیابتیک کنترل شده و کنترل نشده به ترتیب

جدول ۱- میانگین فعالیت آنزیم های هیدرولیتیک ایزو له های کاندیدا آلبیکنس در هر دو گروه مورد مطالعه

فعالیت آنزیم های هیدرولیتیک ایزو له های کاندیدا آلبیکنس		بیماران مورد بررسی
آنژیم فسفولیپاز	آنژیم پروتئیناز	
انحراف معیار میانگین	انحراف معیار میانگین	دیابت کنترل شده
$0/76\pm0/18$	$0/7\pm0/23$	$0/76\pm0/21$
		$0/84\pm0/26$
		دیابت کنترل نشده

آنژیم پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان قند ناشتا در هر دو گروه مطالعه، اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. مطالعات نشان می دهند که فیبرونکتین به عنوان یک نشانگر مهم در چسبندگی گونه های کاندیدا به سطح مخاط نقش دارند؛ علاوه بر این دلیل بیان ژن های پروتئیناز و فسفولیپاز می تواند تحت تأثیر غلظت بالای گلوکز براقی و کاهش میزان ترشح براق قرار گیرد (۱۰). نتایج آماری نیز نشان داد که اختلاف معنی داری بین فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل نشده وجود دارد؛ در حالی که بین فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل شده اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. Tanaka و همکاران نشان دادند که سلول های هایف کاندیدا با اتصال به سلول های میزان قادر به استفاده از

بحث

کاندیدیازیس دهانی یکی از شایع ترین عفونت های فرست طلب در بیماران دیابتیک می باشد. علت اصلی کاندیدیازیس، کاندیدا آلبیکنس است (۸). در مطالعه ما، فراوانی کاندیدا آلبیکنس جدا شده از حفره دهانی بیماران دیابتیک کنترل شده و کنترل نشده، $39/8\%$ گزارش گردید. یافته های ما نشان داد که سویه های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از حفره دهانی بیماران دیابتیک کنترل شده، دارای فعالیت پروتئولیتیک ($91/7\%$) و فسفولیپاز ($83/3\%$) بالاتری نسبت به مبتلایان دیابتیک کنترل نشده می باشد. آنزیم پروتئیناز می تواند با تخریب پروتئین ها و نیز تقویت رشد هایف کاذب سلول های مخمری، مستقیماً باعث آسیب به سلول های میزان شده و میزان چسبندگی را افزایش دهد (۹). یافته های ما نشان داد که بین فعالیت

نتیجه‌گیری

افزایش میزان عفونت‌های کاندیدایی در دهه‌های اخیر با افزایش جهانی مقاومت قارچی به خدقارچ‌ها همراه بوده است. برای بهبود استراتژی‌های درمانی موجود، بایستی به نقش آنزیم‌های خارج سلولی به عنوان فاکتورهای بیماری‌زاوی توجه نمود. نتایج حاکی از ارتباط معنی‌دار بین فعالیت پروتئولیتیک سویه‌های کاندیدا با میزان HbA1C و استفاده از دندان مصنوعی می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که بایستی کنترل میزان قند بیماران دیابتیک و نیز بهداشت دهان و دندان مبتلایان به دیابت بیشتر مورد توجه قرار گیرد تا از ابتلاء به عفونت‌های فرصت‌طلب کاندیدایی جلوگیری شود. چنین اقداماتی مطمئناً کیفیت زندگی بیماران را اعتلا خواهد بخشید.

تقدیر و تشکر

این مقاله منتج از پایان‌نامه پزشکی با شماره ۱۵۱۲ مصوب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین می‌باشد. نویسنده‌گان مراتب تشکر و قدر دانی خود را اعلام می‌نمایند.

تضاد منافع

نویسنده‌گان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

هموگلوبین در مقایسه با سلول مخمر می‌باشند؛ لذا این موضوع نشان می‌دهد که سویه‌های کاندیدا قادرند خود را با تغییرات فیزیولوژی محیط سازگار نمایند (۱۱). Rajendran و همکاران نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین فعالیت پروتئیناز و همولایزین و سطح HbA1C وجود دارد (۱۲). در مطالعه‌ما، نیز اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنزیم پروتئیناز و استفاده از دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل نشده مشاهده گردید؛ در حالی که بین فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک و استفاده از دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل شده و نیز بین فعالیت آنزیم فسفولیپاز با دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل نشده اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. مطالعات نشان می‌دهند که در بیماران با دندان مصنوعی ممکن است pH زیر پروتئزهای دندان کاهش یابد که این شرایط برای تولید پروتئیناز و فسفولیپاز بسیار مطلوب می‌باشد. پروتئزهای دندانی رزین آکریلیک، مکان‌های مطلوبی برای کلونیزاسیون باکتری و مخمرها می‌باشد؛ با این حال، عواملی از جمله بهداشت نامناسب پروتئز و کیفیت پروتئز ممکن است به التهاب مخاط دهان کمک نماید (۱۳). وجود ارتباط بین فعالیت پروتئیناز و دندان مصنوعی در بیماران می‌تواند نشان دهنده اهمیت فعالیت این آنزیم در پاتوژنر کاندیدا باشد. مطالعات نشان می‌دهند که سویه‌های کاندیدا جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی چسبندگی زیادی به سلول‌های اپیتلیال بوکال دارند. فاکتور چسبندگی یک عامل ویروننس در مخمر کاندیدا محسوب می‌شود (۱۴).

منابع:

- 1- Berbudi A, Rahmadika N, Tjahjadi AI, Ruslami R. Type 2 diabetes and its impact on the immune system. Curr Diabetes Rev. 2020;16(5):442. DOI: [10.2174/1573399815666191024085838](https://doi.org/10.2174/1573399815666191024085838)
- 2- Belazi MA, Galli-Tsinopoulou A, Drakoulakos D, Fleva A, Papanayiotou PH. Salivary alterations in insulin-dependent diabetes mellitus. Int J Paediatr Dent. 1998; 8(1): 29-33. DOI: [10.1046/j.1365-263x.1998.00057.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-263x.1998.00057.x)
- 3- Mohammadi F, Ghasemi Z, Familsatarian B, Salehi E, Sharifinia S, Barikani A, et al. Relationship between antifungal susceptibility profile and virulence factors in *Candida albicans* isolated from nail specimens. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2020; 53 : e20190214. DOI: [10.1590/0037-8682-0214-2019](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0214-2019)
- 4- Rapala-Kozik M, Bochenska O, Zajac D, Karkowska-Kuleta J, Gogol M, Zawrotniak M, et al. Extracellular proteinases of *Candida* species pathogenic yeasts. Mol Oral Microbiol. 2018; 33(2): 113-24. DOI: [10.1111/omi.12206](https://doi.org/10.1111/omi.12206)

- 5- NasrollahiOmran A, Keyhanian S. Measurement of Proteinase Enzyme Produced in Candida Species Isolated from Oral Candidiasis in Cancer Patients Receiving Chemotherapy at the Hospitals of Tonekabon and Ramsar, Iran. Navid No. 2017; 20(63): 9-19. DOI: [10.22038/NNJ.2018.16954.1063](https://doi.org/10.22038/NNJ.2018.16954.1063)
- 6- Sharma Y, Chumber SK, Kaur M. Studying the prevalence, species distribution, and detection of in vitro production of phospholipase from Candida isolated from cases of invasive candidiasis. J Glob Infect Dis. 2017; 9(11): 8-11. DOI: [10.4103/0974-777X.199995](https://doi.org/10.4103/0974-777X.199995)
- 7- Azarhoosh K, Nasrollahi Omran A. Evaluation of Extracellular Enzyme Activities in Candida albicans Isolated From Patients with Diabetes Mellitus. J Clin Res Paramed Sci. 2017; 6(2): e81292. [Link](#)
- 8- Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, Nishimoto AT, Barker KS, Rogers PD. Azole antifungal resistance in Candida albicans and emerging non-albicans Candida species. Front Microbiol. 2017; 7: 2173. DOI: [10.3389/fmicb.2016.02173](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173)
- 9- Naglik JR, Rodgers CA, Shirlaw PJ, Dobbie JL, Fernandes-Naglik LL, Greenspan D, et al. Differential expression of Candida albicans secreted aspartyl proteinase and phospholipase B genes in humans correlates with active oral and vaginal infections. J Infect Dis. 2003; 188(3): 469-79. DOI: [10.1086/376536](https://doi.org/10.1086/376536)
- 10- Sundstrom P. Adhesion in Candida spp. Cell Microbiol. 2002; 4(8): 461-9. DOI: [10.1046/j.1462-5822.2002.00206.x](https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2002.00206.x)
- 11- Tsang C, Chu F, Leung W, Jin L, Samaranayake L, Siu S. Phospholipase, proteinase and haemolytic activities of Candida albicans isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. J Med Microbiol. 2007; 56(10): 1393-8. DOI: [10.1099/jmm.0.47303-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.47303-0)
- 12- Rajendran R, Robertson DP, Hodge PJ, Lappin DF, Ramage G. Hydrolytic enzyme production is associated with Candida albicans biofilm formation from patients with type 1 diabetes. Mycopathologia. 2010; 170(4): 229-35. DOI: [10.1007/s11046-010-9319-0](https://doi.org/10.1007/s11046-010-9319-0)
- 13- Yarborough A, Cooper L, Duqum I, Mendonça G, McGraw K, Stoner L. Evidence regarding the treatment of denture stomatitis. J Prosthodont. 2016; 25(4): 288-301. DOI: [10.1111/jopr.12454](https://doi.org/10.1111/jopr.12454)
- 14- Wellmer A, Bernhardt H. Adherence on buccal epithelial cells and germ tube formation in the continuous flow culture of clinical Candida albicans isolates. Mycoses. 1997; 40(9-10): 363-8. DOI: [10.1111/j.1439-0507.1997.tb00251.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1997.tb00251.x)