

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^{1*}, Hossein Safasepehr², Sima Hashemipour³,
Monirsadat Mirzadeh⁴

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 آنزیم 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، منیر السادات میرزاده^۴

چکیده

تغییرات پاتوفیزیولوژیک در دهان بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس زمینه را برای رشد بیش از حد کاندیدا آلبیکنس فراهم می‌نماید. فاکتورهای ویروالاس مختلفی مانند تولید آنزیم پروتئیناز و فسفولیپاز در فرایند تخریب غشای سلولی میزبان دخیل هستند. این آنزیم‌ها در اتصال گونه‌های کاندیدا به‌ویژه در مرحله هایف به بافت هدف نقش دارند. هدف از این مطالعه ارزیابی میزان توانایی تولید آنزیم‌های 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 ۹۰/۲٪ و ۷۲/۵٪ ارزیابی گردید. تفاوت معنی‌داری بین فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز در هر دو گروه بیماران مشاهده نگردید ($P > 0.05$)؛ در حالی که بین فعالیت آنزیم‌های 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 آنزیم‌های هیدرولیتیک کاندیدا آلبیکنس در بیماران دیابتیک، بهداشت دهان و دندان مبتلایان به دیابت جهت 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؛ ۲۸(۴): ۴۰۲-۴۰۷.

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 نمایر: ۰۲۸-۳۳۳۶۰۹۰۴ پست الکترونیکی: faezehmohamadi119@yahoo.com

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 بزاقی، افزایش فعالیت کلاژناز، نقص در عملکرد پلی مورفونوکلیترها و اختلالات عروقی باعث تخریب بافت دهانی و در نتیجه آن کاهش دفاع نسوج در مقابل عوامل عفونی است (۱).

کاندیدایزیس دهانی یکی از شایع ترین عفونت های فرصت 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 آلیکس از سایر گونه ها بیشتر بوده و به دلیل قدرت چسبندگی و افزایش تولید فاکتورهای ویروالانس از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. ترشح آنزیم پروتئیناز و فسفولیپاز از جمله فاکتورهای ویروالانس می باشند که از این طریق در فرایند تخریب غشای سلولی میزبان دخیل هستند (۳).

پروتئیناز ترشعی به عنوان یکی از مهم ترین فاکتورهای ویروالانس کاندیدا آلیکس در نظر گرفته شده است که باعث تقویت توانایی ارگانسیم در کلونیزه شدن و نفوذ در بافت های میزبان می گردد (۴).

فسفولیپاز ترشعی نیز به عنوان یکی دیگر از فاکتورهای اصلی بیماری زایی در کاندیدا آلیکس 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 آلیکس 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 (HbA1c) و استفاده از دندان مصنوعی مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق

در این مطالعه توصیفی تحلیلی ۱۲۸ بیمار مبتلا به دیابت ملیتوس^۲ (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 آگار از سطح زبان، کام و لثه ها توسط دو سواب پنبه ای 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 کلنی توسط محیط کروموژنیک کروم آگار کاندیدا انجام گردید. جهت بررسی فعالیت آنزیم های پروتئیناز و فسفولیپاز، ابتدا سوسپانسیون مخمری از کلنی تازه طبق نیم مک فارلند 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 آگار، 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 ۵۶±۱۲ سال و ۶۵ (۵۰/۸٪) بیمار مبتلا به دیابت کنترل نشده با میانگین سنی ۶۰±۱۱ 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 ۳۹ (۷۶/۵٪) جدایه بالینی کاندیدا آلیکس با استفاده از تست های فنوتیپی شناسایی گردید. میزان فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز در ۵۱

² Diabetes Mellitus (DM)¹ Hemoglobin A1c (HbA1c)

سویه کاندیدا آلبیکس دهانی در هر دو گروه از بیماران مورد بررسی، به ترتیب ۹۰/۲٪ و ۷۲/۵٪ ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که فعالیت هر دو آنزیم مورد بررسی در شرایط آزمایشگاهی در ایزوله‌های کاندیدا آلبیکس جدا شده از دهان بیماران دیابتی کنترل شده بیش از بیماران دیابتی کنترل نشده می‌باشد؛ علاوه بر این، نتایج آماری نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین فعالیت پروتئیناز و فسفولیپاز سویه‌های کاندیدا آلبیکس و نیز میانگین فعالیت هر دو آنزیم سویه‌ها 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 $133/58 \pm 29$ میلی‌گرم/دسی‌لیتر و $159/36 \pm 58$ میلی‌گرم/دسی‌لیتر می‌باشد. بین فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان قند ناشتا در هر دو گروه مطالعه، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$)؛ همچنین میانگین HbA1C در گروه دیابتیک کنترل شده و کنترل نشده به ترتیب

$6/6 \pm 0.76$ و $8/3 \pm 1.12$ می‌باشد. نتایج آماری نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین سطوح فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل نشده وجود دارد ($P < 0.05$)؛ در حالی که بین سطوح فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل شده و $66/7$ ٪ از بیماران دیابتیک کنترل نشده دارای دندان مصنوعی بودند. نتایج آماری نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنزیم پروتئیناز و استفاده از دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل نشده وجود دارد ($P < 0.05$)؛ در حالی که بین فعالیت آنزیم‌های 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 معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک ایزوله‌های کاندیدا آلبیکس در هر دو گروه مورد مطالعه

فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک ایزوله‌های کاندیدا آلبیکس		بیماران مورد بررسی
آنزیم فسفولیپاز	آنزیم پروتئیناز	
انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
0.76 ± 0.18	0.7 ± 0.23	دیابت کنترل شده
0.76 ± 0.21	0.64 ± 0.26	دیابت کنترل نشده

بحث

کاندیدایزیس دهانی یکی از شایع‌ترین عفونت‌های فرصت‌طلب در بیماران دیابتیک می‌باشد. علت اصلی کاندیدیازیس، کاندیدا آلبیکس است (۸). در مطالعه ما، فراوانی کاندیدا آلبیکس جدا شده از حفره دهانی بیماران دیابتیک کنترل شده و کنترل نشده، $39/8$ ٪ گزارش گردید. یافته‌های ما نشان داد که سویه‌های کاندیدا آلبیکس 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 می‌باشد. آنزیم پروتئیناز می‌تواند با تخریب پروتئین‌ها و نیز تقویت رشد هایف کاذب سلول‌های مخمری، مستقیماً باعث آسیب به سلول‌های میزبان شده و میزان چسبندگی را افزایش دهد (۹). یافته‌های ما نشان داد که بین فعالیت

آنزیم پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان قند ناشتا در هر دو گروه مطالعه، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. مطالعات نشان می‌دهند که فیبرونکتین به‌عنوان یک نشانگر مهم در چسبندگی گونه‌های کاندیدا به سطح مخاط نقش دارند؛ علاوه بر این دلیل بیان ژن‌های پروتئیناز و فسفولیپاز می‌تواند تحت تأثیر غلظت بالای گلوکز بزاقی و کاهش میزان ترشح بزاق قرار گیرد (۱۰). نتایج آماری نیز نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل نشده وجود دارد؛ در حالی که بین فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز و فسفولیپاز با میزان HbA1C در گروه دیابتیک کنترل شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. Tanaka و همکاران نشان دادند که سلول‌های هایف کاندیدا با اتصال به سلول‌های میزبان قادر به استفاده از

نتیجه گیری

افزایش میزان عفونت های کاندیدایی در دهه های اخیر با افزایش جهانی مقاومت قارچی به ضدقارچ ها همراه بوده است. برای بهبود استراتژی های درمانی موجود، بایستی به نقش آنزیم های خارج سلولی به عنوان فاکتورهای بیماری زایی توجه نمود. نتایج حاکی از ارتباط معنی دار بین فعالیت پروتئولیتیک سویه های کاندیدا با میزان HbA1C و استفاده از دندان مصنوعی می باشد. این نتایج نشان می دهد 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 عفونت های فرصت طلب کاندیدایی جلوگیری شود. چنین اقداماتی مطمئناً کیفیت زندگی بیماران را اعتلا خواهد بخشید.

تقدیر و تشکر

این مقاله منتج از پایان نامه پزشکی با شماره ۱۵۱۲ مصوب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین می باشد. نویسندگان مراتب تشکر و قدر دانی خود را اعلام می نمایند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

هموگلوبین در مقایسه با سلول مخمر می باشد؛ لذا این موضوع نشان می دهد که سویه های کاندیدا قادرند خود را با تغییرات فیزیولوژی محیط سازگار نمایند (۱۱). Rajendran و همکاران نشان دادند که ارتباط معنی داری بین فعالیت پروتئیناز و همولایزین و سطح HbA1C وجود دارد (۱۲). در مطالعه ما، نیز اختلاف معنی داری بین فعالیت آنزیم پروتئیناز و استفاده از دندان مصنوعی در گروه دیابتیک کنترل نشده مشاهده گردید؛ در حالی که بین فعالیت آنزیم های 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 معنی داری مشاهده نگردید. مطالعات نشان می دهند که در بیماران با دندان مصنوعی ممکن است pH زیر پروتئین های دندان کاهش یابد که این شرایط برای تولید پروتئیناز و فسفولیپاز بسیار مطلوب می باشد. پروتئین های دندان رزین آکریلیک، مکان های مطلوبی برای کلونیزاسیون باکتری و مخمرها می باشد؛ با این حال، عواملی از جمله بهداشت نامناسب پروتز و کیفیت پروتز ممکن است به التهاب مخاط دهان کمک نماید (۱۳). وجود ارتباط بین فعالیت پروتئیناز و دندان مصنوعی در بیماران می تواند نشان دهنده اهمیت فعالیت این آنزیم در پاتوژنز کاندیدا باشد. مطالعات نشان می دهند که سویه های کاندیدا جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی چسبندگی زیادی به سلول های اپیتلیال بوکال دارند. فاکتور چسبندگی یک عامل ویروالانس در مخمر کاندیدا محسوب می شود (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, Sharifynia 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- Nasrollahi Omran 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)