

Sağlıklı ve İmmün Sistemi Baskılanmış BALB/c Farelerde Deneysel Oral Kandidiyaz

Experimental Oral Candidiasis in Healthy and Immunocompromised BALB/c Mice

Meral KARAMAN¹, Müge KIRAY², Vahide BAYRAKAL³, H. Alper BAĞRIYANIK², Osman YILMAZ¹, İ. Hakkı BAHAR³

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Multidisipliner Laboratuvarları, İzmir.

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Multidisipliner Laboratuvarları, İzmir, Turkey.

² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Turkey.

³ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

³ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 27.09.2010 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 21.12.2010

ÖZET

Oral kandidiyaz insanlarda en sık görülen *Candida* enfeksiyonu olup, etken olarak sıklıkla *C. albicans* sorumlu tutulmaktadır. *Candida* enfeksiyonlarının gelişiminde etkene ait çeşitli virülans faktörlerinin yanı sıra konağın immün yanıtı da önemli rol oynamaktadır. Sağlıklı bireylerde oral kavitede *Candida* kolonizasyon oranı %25-30 iken, immünsüpresif kişilerde bu oran daha yüksektir. Çalışmamızda sağlıklı ve deneysel olarak immün sistemi baskılanmış farelerde, *C. albicans* ile oral kandidiyaz modeli oluşturularak, gruplar arasında *Candida* kolonizasyon oranlarının ve dil ve özefagus dokularında gelişen histopatolojik değişikliklerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya alınan 21 adet BALB/c türü fare; kontrol grubu (Grup 1; n= 7), sağlıklı grup (Grup 2; n= 7) ve immün sistemi baskılanmış grup (Grup 3; n= 7) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Grup 3'teki farelerde immünsüpresyon, subkütan prednizolon enjeksiyonu ile sağlanmıştır. Grup 2 ve 3'te deneysel oral kandidiyaz oluşturulması için, asit proteinaz ve fosfolipaz enzim aktivitesi negatif, biyofilm üretmeyen, flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlı *C. albicans* suşunun emdirildiği eküvyonlar; Grup 1'de ise *C. albicans* yerine serum fizyolojik emdirilmiş eküvyonlar kullanılmıştır. Oral kandidiyaz modelinin dördüncü gününde farelerin dorsal dil yüzeyinden alınan sürtüntü örneklerinin kantitatif ekimi sonucunda Grup 1'de üreme görülmezken, Grup 3'te saptanan koloni sayısı Grup 2'ye göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p= 0.002). Farelerden alınan dil ve özefagus dokuları hematoksilen-eozin ve PAS (periodic acid schiff) ile boyanarak enflamatuvar yanıt, apse oluşumu, vasküler konjesyon, vazodilatasyon, maya ve hif varlığı açısından değerlendirilmiştir. Özefagus dokusundaki enflamasyon dikkate alındığında; Grup 3 ile Grup 1 arasında anlamlı bir fark saptanmıştır.

İletişim (Correspondence): Dr. Meral Karaman, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Multidisipliner Laboratuvarları, İzmir, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 232 412 4653, **E-posta (E-mail):** meral.karaman@deu.edu.tr

nırken ($p= 0.023$), Grup 3 ile Grup 2 arasında fark gözlenmemiştir ($p= 0.107$). Dil dokusunda oluşan enfeksiyon ise Grup 2 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p= 0.317$), bu iki grubun kontrol grubuna göre farkı anlamlı (sırasıyla; $p= 0.00$ ve $p= 0.002$) bulunmuştur. Benzer olarak dil ve özefagus dokularındaki konjesyon da Grup 2 ve 3'te kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermiş; ancak Grup 2 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, *C.albicans*'ın neden olduğu oral kandidiyaz tablosunda, konağın immün durumunun yanı sıra etkene ait virülans faktörlerinin etkisinin de ele alındığı kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği ve deneysel hayvan modellerinin bu konuda yol gösterici olacağı düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *Candida albicans*; oral kandidiyaz; hayvan modeli; immün sistem.

ABSTRACT

Oral candidiasis which is the most common type of *Candida* infections affecting humans, is most frequently caused by *C.albicans*. Immune response of the host, as well as a variety of virulence factors of the causative agent, play important roles in the development of *Candida* infections. The colonization rate of *Candida* in the oral cavity of healthy individuals, is between 25-30%, however, this rate is reported to be increased in immunosuppressive subjects. In our study, we established an oral candidiasis model with *C.albicans* in healthy and experimentally immunocompromised mice and aimed to compare *Candida* colonization rates and histopathological changes occurred in the tongue and esophagus tissues of the animal groups. A total of 21 BALB/c mice were grouped as control (Group 1; $n= 7$), healthy (Group 2; $n= 7$) and immunocompromised (Group 3; $n= 7$) groups. Immunosuppression in mice was performed by subcutaneous injection of prednisolone. For experimental oral candidiasis, cotton swab impregnated with *C.albicans* strains which did not have acid proteinase and phospholipase enzyme activity, no biofilm production, and sensitive to fluconazole and amphotericin B, were used. In the control group, physiological saline solution was used instead of *C.albicans* strain. In the fourth day of experimental oral candidiasis model swab samples taken from the dorsal tongue surface of mice were evaluated by quantitative cultivation method. No yeast colonies were detected in Group 1 while more significant number of yeast colonies were observed in Group 3 compared to Group 2 ($p= 0.002$). Tongue and esophagus tissues of mice were stained with hematoxylin-eosin and periodic acid schiff staining and evaluated in terms of inflammatory response, abscess formation, vascular congestion, vasodilation and for the presence of yeast and hyphae. When the inflammation in esophagus was considered, statistically significant difference was determined between group 1 and group 3 ($p= 0.023$), however, no difference was detected between group 2 and 3 ($p= 0.107$). The level of inflammation in tongue tissue exhibited no difference between groups 2 and 3 ($p= 0.317$) while the difference was significant when these groups were compared to the control group ($p= 0.00$, $p= 0.002$, respectively). Similarly, the level of congestion in tongue tissue exhibited no difference between groups 2 and 3, however, the difference was significant when compared to the control group. To enlighten the relation between host immune status and oral candidiasis caused by *C. albicans*, further larger-scale studies also concerning the various virulence factors of the infectious agent, should be conducted by the use of experimental animal models which may successfully guide us in this regard.

Key words: *Candida albicans*; oral candidiasis; animal model; immune system.

GİRİŞ

Fırsatçı patojen olan *Candida* türleri, sağlıklı kişilerin gastrointestinal ve genital sistemlerinde komensal olarak bulunabilmektedir. Konakçının immün durumuna bağlı olarak akut veya kronik lokalize mukokütanöz enfeksiyonlardan, yaşamı tehdit eden yaygın hastalıklara kadar geniş bir yelpazede hastalıklara yol açabilirler¹.

Oral kandidiyaz tablosu, insanlarda en sık görülen *Candida* enfeksiyonu olup, dilde ya da dudak mukozasında beyaz yama tarzı plak oluşumu ile seyretmektedir. Oral kandidiyazda en sık izole edilen tür *C.albicans*'tır ve enfeksiyonun gelişiminde, mayaların germ tüp ve yalancı hif yapımı, fenotipik değişim, fosfolipaz enzimi ve salgısal asit proteinaz (SAP) gibi virülans faktörlerinin yanı sıra konakçının immün sisteminin de önemli rolü vardır²⁻⁴. *C.albicans* proteinazları, albumin, hemoglobin, keratin, kollajen, müsin, salgısal IgA ve kompleman komponentleri gibi birçok proteini parçalayarak mayanın konak direnç mekanizmalarından kaçmasını kolaylaştırmaktadır⁵. Ekstraselüler fosfolipazlar ise, konak hücre membranındaki fosfolipidleri parçalayarak membran hasarına yol açmaktadır⁶. Bir diğer virülans faktörü olan biyofilm üretimi ile *Candida*'lar konak hücrelerine, protezlere, kateterlere tutunarak kolonize olmakta ve özellikle immünsüpresif konakta invazif hastalıkların gelişmesine yol açmaktadır^{7,8}. Son yıllarda geniş spektrumlu antibiyotikler, sitotoksik ilaçlar ve kortikosteroidlerin yaygın kullanımı, oral kandidiyaz prevalansında artışa neden olmuştur⁹.

Hayvan modelleri, antifungal ilaçların terapötik etkinliğinin incelenmesinde ve *Candida* enfeksiyonlarında virülans faktörlerinin ve patogenezin araştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadır^{10,11}. Konvansiyonel laboratuvar fareleri, kalıcı oral floralarında *Candida*'nın bulunmaması nedeniyle oral kandidiyazın deneysel modellerinde sıklıkla tercih edilmektedir¹². Bu çalışmada, sağlıklı ve deneysel olarak immün sistemi baskılanmış farelerde, virülansı düşük ve antifungallere duyarlı *C.albicans* suşu ile geliştirilen oral kandidiyaz modelinde, *Candida* kolonizasyon oranları ve kolonizasyona bağlı olarak dil ve özefagus dokularında gelişen histopatolojik değişikliklerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deney Hayvanları

Çalışmada, konvansiyonel yöntemlerle yetiştirilen 6-8 haftalık, yaklaşık 18-20 g ağırlığında 21 adet BALB/c fare suşu kullanıldı¹³. Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun onayı ile yürütüldü (HADYEK NO: 79/2009). Farelerden steril eküvyon ile orofarengeal sürüntü örnekleri alınarak sabouraud dekstroza agara (SDA) (Oxoid, İngiltere) ekim yapıldı ve 48 saat 35°C'de inkübe edilen plaklarda maya üremesi saptanmayan fareler çalışmaya alındı. Yirmi bir adet BALB/c türü fare; kontrol grubu (Grup 1; n= 7), sağlıklı grup (Grup 2; n= 7) ve immün sistemi baskılanmış grup (Grup 3; n= 7) olmak üzere üç gruba ayrıldı. İmmün sistemin baskılanması amacıyla Grup 3'teki farelere *Candida* inokülasyonundan bir gün önce ve üç gün sonra 100 mg/kg dozunda subkütan prednizolon uygulandı. *Candida* inokülasyonundan bir gün önce farelerin içme sularına 0.83 mg/L tetrasiklin hidroklorid eklenerek deney sonuna kadar bu suyu içmeleri sağlandı¹³.

Orofarengeal Kandidiyaz (OPC) Modeli

Bu amaçla, Kamai ve arkadaşları¹⁴ tarafından tanımlanan model uygulandı. Bu model için SAP ve fosfolipaz enzim aktivitesi negatif, biyofilm üretmeyen, flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlı *C.albicans* suşu kullanıldı. Suşun, SDA'da üretilerek elde edilen taze

kültürlerinden koloniler toplandı ve steril tuzlu su ile 2×10^8 blastokonidya/ml olacak şekilde süspansiyon hazırlandı. İntraperitoneal uygulanan ketamin ve ksilazin kombinasyonu ile fareler anestezide alındı. 3 mm çaplı steril pamuk çubuklar 100'er µl *Candida* süspansiyonu ile doyurulduktan sonra sağlıklı ve immünsüpresif farelerin oral kavitesi içinde iki saat süreyle bekletildi. Kontrol grubunda bu işlem serum fizyolojik emdirilmiş pamuklu çubuk ile yapıldı.

Tanımlama ve Koloni Sayımı

İnokülasyon sonrası ikinci günden itibaren farelerin ağız mukozaları kontrol edilerek beyaz yama tarzı plakların gelişimi değerlendirildi. Dördüncü gün, sakrifikasyon öncesi tüm gruplardaki farelerden steril eküvyon ile dorsal dil yüzeyi ve orofarenksten alınan sürüntü örnekleri 1 ml steril distile su içinde karıştırıldı. Kantitatif olarak SDA'ya ekimler gerçekleştirildi ve 37°C'de 48 saat inkübe edilen plaklarda oluşan koloniler sayıldı. Deneklerden izole edilen suşların tanımlanması, çimlenme borusu (germ tüp) testi, CHROMagar *Candida* besiyerindeki koloni morfolojisi ve mısır unu tween 80 besiyerindeki görünümü ile yapıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

Candida inokülasyonu sonrası dördüncü gün tüm gruplardaki fareler sürüntü örneklerinin alınmasından sonra toksik doz anestezik madde ile sakrifiye edilerek dil ve özefagus dokuları %10 formalin içeren ortama alındı. Rutin doku işlemi sonrasında parafine gömülen dokulardan mikrotom ile (Leica RM2255) 4-5 µ kalınlığında kesitler elde edilerek hematoksil-eozin (HE) ve PAS (periodic acid schiff) boyaları uygulandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile incelendi ve görüntüldü.

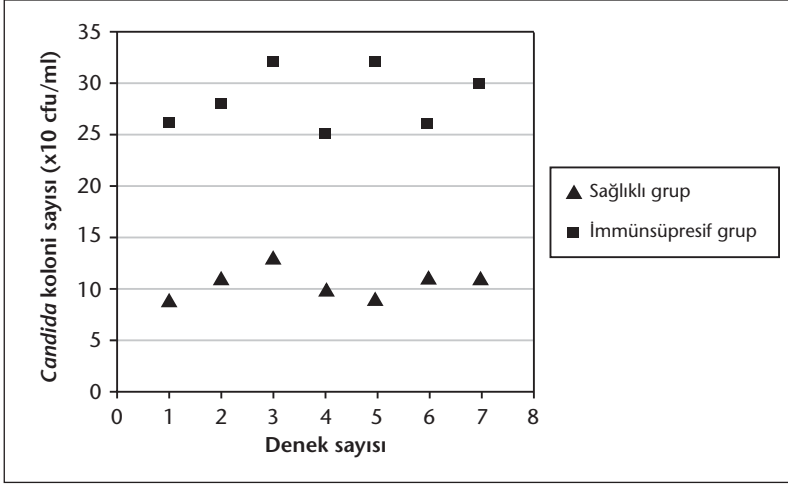
İstatistiksel Analiz

Tüm veriler "SPSS 15.0 for Windows" istatistik programında değerlendirildi. Gruplar arasındaki fark ki-kare testi ile, ikili grup karşılaştırmaları ise Mann-Whitney U testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edildi.

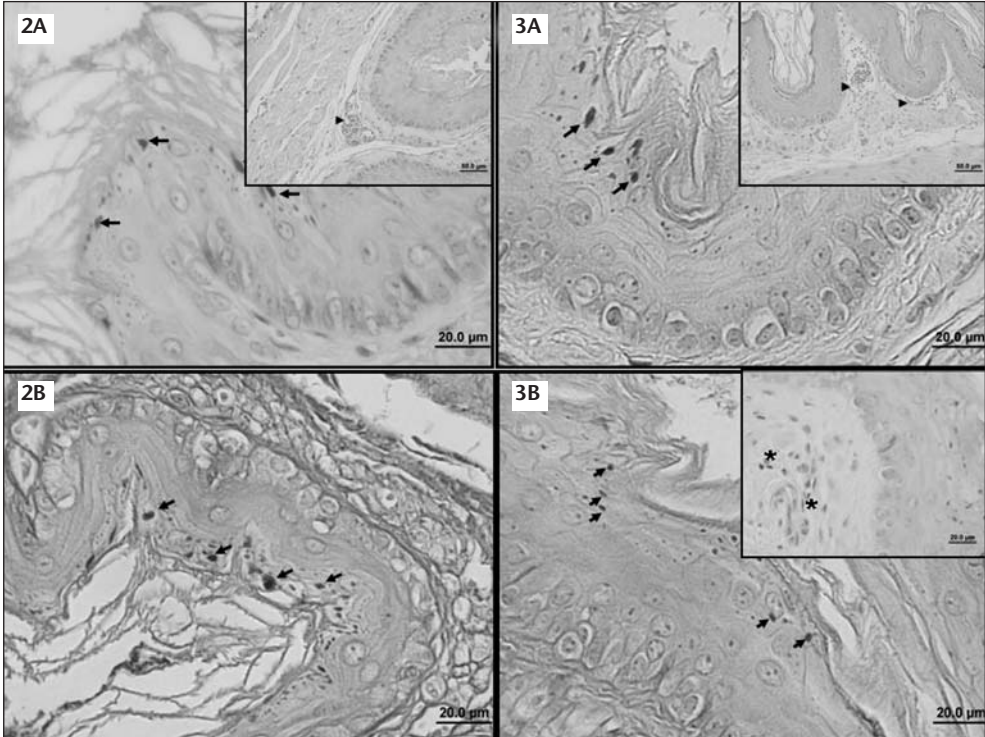
BULGULAR

İnokülasyon sonrası ikinci günden itibaren farelerin ağız mukozaları değerlendirildiğinde; kontrol grubunda (Grup 1) bir değişiklik gözlenmezken, sağlıklı (Grup 2) ve immün sistemi baskılanmış (Grup 3) farelerde pamukçuk tablosuna benzer beyaz yama tarzı plakların geliştiği saptanmıştır. Oral kandidiyaz modelinin dördüncü gününde, farelerden alınan sürüntü örneklerinin kantitatif ekimi sonucunda Grup 1'de üreme görülmemiş; Grup 2 ve Grup 3'teki tüm farelerde ise *C.albicans* üremesi saptanmıştır. Grup 3'te saptanan koloni sayısı Grup 2'ye göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p = 0.002$) (Şekil 1).

Deneklerden alınan dil ve özefagus dokuları HE ile boyanarak enflamatuvar yanıt, apse oluşumu, vasküler konjesyon ve vazodilatasyon açısından değerlendirilmiş, PAS ile mantar varlığı ve fungal morfolojinin aydınlatılması amaçlanmıştır (Resim 1). Belirtilen parametreler kesitlerde bulunup bulunmamasına göre var/yok şeklinde skorlanmıştır.



Şekil 1. Deneysel enfeksiyonun dördüncü gününde dorsal dil yüzeyi ve orofarenksten alınan sürüntü örneklerinde üreyen Candida kolonisi sayıları.



Resim 1. Grup 2 ve Grup 3'te özefagus doku kesitlerindeki mayaların (oklar) ışık mikroskopik görüntüsü (A: HE; B: PAS boyama). 2A ve 3A'da küçük resimlerdeki ok başları konjesyonu, 3B'de küçük resimdeki yıldızlar enflamatuvar hücreleri işaret etmektedir.

Özefagus dokusunda meydana gelen enflamasyon değerlendirildiğinde; Grup 3 ile Grup 1 arasında anlamlı bir fark saptanırken ($p= 0.023$), Grup 2 ile arasında fark gözlenmemiştir ($p= 0.107$). Dil dokusunda oluşan enflamasyon ise Grup 2 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p= 0.317$), bu iki grubun kontrol grubuna göre farkı anlamlı (sırasıyla; $p= 0.00$ ve $p= 0.002$) bulunmuştur. Özefagus dokusundaki konjesyon dikkate alındığında; Grup 2 ve 3 ile Grup 1 arasındaki fark anlamlı bulunmuş ($p= 0.002$), ancak Grup 2 ve 3 kendi aralarında anlamlı fark göstermemiştir ($p= 1.00$). Benzer şekilde dil dokusundaki konjesyon da, Grup 2 ve 3'te Grup 1'e göre anlamlı olarak farklı iken (sırasıyla; $p= 0.023$ ve $p= 0.007$), Grup 2 ve 3 kendi aralarında anlamlı bir fark göstermemişlerdir ($p= 0.591$).

Özefagus ve dil dokularında maya varlığının değerlendirilmesi sonucunda; Grup 2 ve Grup 3 ile Grup 1 arasında anlamlı bir fark olduğu ($p= 0.00$), Grup 2 ve 3 karşılaştırıldığında ise Grup 3'te maya oranı daha fazla olmakla birlikte bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görölmüştür ($p= 1.00$). Grupların hişbirinde dil ve özefagus dokularında hif varlığı tespit edilmemiştir.

TARTIşMA

C.albicans'ın neden olduğu enfeksiyonlarda tek bir virölans faktörünün etkin olmadığı, konakçının immün yanıtının da önemli olduğu vurgulanmaktadır⁸. Enfeksiyonların gelişmesinde, *Candida* tarafından üretilen çeşitli enzimlerin rolü olmakla birlikte proteinaz ve fosfolipaz üretiminin patogenezi önemli ölçüde artırdığı rapor edilmektedir¹⁵⁻¹⁸. Çalışmamızda deneysel oral kandidiyaz için proteinaz ve fosfolipaz aktivitesi negatif, biyofilm üretmeyen, flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlı *C.albicans* suğu kullanılmıştır. Böylece gruplar arasında gerek *Candida* kolonizasyon oranları açısından, gerekse dil ve özefagus dokularındaki histopatolojik değişiklikler açısından karşılaştırma yaparken çalışılan virölans faktörlerinin etkisi olmadan konakçının immün sistemi dikkate alınabilmemiştir.

Yapılan çalışmalarda, sağlıklı bireylerde kandidaların oral kaviteye yerleşim oranının %25-30 olduğu, immün sistemi baskılanmış kişilerde ise *Candida* ile asemptomatik oral kolonizasyon ve ardından OPC tablosunun görölme sıklığının arttığı bildirilmektedir^{19,20}. Çalışmamızda sağlıklı ve deneysel olarak immün sistemi baskılanmış farelerde geliştirilen oral kandidiyaz modeli sonrası gruplar arasında *C.albicans* kolonizasyon oranları açısından fark bulunmamıştır. Buna karşılık immün sistemi baskılanmış farelerde dorsal dil yüzeyinden alınan sürüntü örneklerinde üreyen *Candida* kolonilerinin sayısı, sağlıklı farelere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu bulgu hem özefagus hem de dil doku kesitlerinin ışık mikroskobu incelemesinde Grup 3'te maya oranının daha fazla saptanması ile desteklenmiştir. Bu çalışmada *C.albicans* kolonizasyon oranları açısından gruplar arasında fark bulunmaması, daha önceki literatür bilgileri ile çelişkili gibi görünmekle birlikte, son zamanlarda bu veriyi destekleyen bazı araştırmalar yayınlanmıştır. Dongari-Bagt-zoglou ve arkadaşları²¹, immünsüpresif tedavi alan transplantlı hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunu, oral mukozada *C.albicans* kolonizasyonu açısından karşılaştırmışlar ve gruplar arasında bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada, organ transplantasyonu yapılan hastalarda oral *Candida* yükünün sağlıklı gruba göre daha yüksek oldu-

ğunun gösterilmiş olması verilerimizi desteklemektedir. Araştırmacılar immünsüpresyonun süresi, kullanılan immünsüpresif ilacın dozu ya da türü ile oral *Candida* taşıyıcılığı arasında korelasyon olmadığını da belirtmişlerdir²¹. Diğer çalışmalarda ise, oral mukozada maya kolonizasyon ya da enfeksiyon oranları sağlıklı kişilerde %51.7, HIV/AIDS'li olgularda %66.7 olarak bildirilmekte, oral *Candida* taşıyıcılığının CD4⁺ T hücrelerinin sayısı ya da viral yük ile ilişkili olmadığı ifade edilmektedir^{22,23}.

Klinik örneklerden *C.albicans*'ın izole edilmesi durumunda, bunun gerçek bir patojen mi yoksa normal flora üyesi mi olduğunun ayırt edilmesi her zaman kolay olmamaktadır. Bu mantarın kolonizasyondan invazyon aşamasına nasıl geçtiği, hangi mekanizmalarla konak hasarına yol açtığı konusunda araştırmalar yoğun olarak yürütülmektedir. Bizim çalışmamızda Grup 2 ve Grup 3'te tüm farelerin dorsal dil yüzeyinden alınan sürüntü örneklerinde *Candida* kolonizasyonu gösterilmiştir. Literatürde oral olarak *Candida* uygulaması yöntemi ile hayvanların tümünde asemptomatik kolonizasyon oluşturulabildiği bildirilmektedir¹⁰. Asemptomatik kolonizasyonu göstermek için hayvanların oral kavitelerinden sürüntü alıp SDA'da üretmek yeterlidir; ancak enfeksiyona giden süreçte özellikle hif varlığının ve epitelyal invazyonun gösterilmesi önem taşır¹¹. Oral kandidiyazda *C.albicans*'ın mukozadaki histopatolojik süreçleri, (a) mukozaya adezyon, (b) proliferasyon ve hif oluşumu, (c) derin epitelyal dokulara invazyon olmak üzere üç basamaktan oluşmaktadır. Adezyon basamağında dil yüzeyi mukoidal bir örtü ile kaplanmakta ve maya hücreleri bu alanda kümeler oluşturmaktadır. Enfeksiyon sürecini kolaylaştıran bu mukoidal yapı tam olarak açıklanamamakla birlikte, bu konudaki görüşlerden birisi konağın tükürüğündeki müsün yapısının etkisi; diğeri ise *Candida*'nın biyofilm üretimi kaynaklı olabileceğidir²⁴. Bu çalışmada *Candida* kolonizasyonu sonrası dil ve özefagus doku kesitlerinin ışık mikroskobunda değerlendirilmesi sonucunda her iki grupta da farelerin tümünde maya varlığı gösterilmekle birlikte hif varlığı gösterilememiştir. Farelerin dil ve özefagus doku kesitleri enflamatuvar yanıt, apse oluşumu, vasküler konjesyon ve vazodilatasyon açısından ışık mikroskobu ile değerlendirildiğinde ise Grup 2 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durum, oral kandidiyazı oluşturmak için kullandığımız suşun virülansının düşük olması ve özellikle de biyofilm üretmesi nedeniyle deneysel modelin asemptomatik oral kolonizasyon aşamasında kaldığını, dolayısıyla proliferasyon ve hif oluşumu aşamasına ilerleyemediğini düşündürmektedir. Deneysel olarak immün sistemi baskılanmış farelerde dorsal dil yüzeyinden alınan sürüntü örneklerinde saptanan koloni sayısının sağlıklı gruba göre yüksek olmasında ise konağın immün durumu etkili olmuş olabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada elde edilen veriler, *C.albicans*'ın neden olduğu oral kandidiyaz tablosunda, kolonizasyondan enfeksiyona giden süreçte, tek başına konağın immün sisteminin etkili olmadığını göstermekle birlikte, bu konuda daha ileri çalışmalara gereksinim olduğu açıktır. *C.albicans*'ın virülans faktörlerinin ve konak immün durumunun birlikte ele alındığı çalışmalarda, özellikle deneysel hayvan modellerinin yol gösterici olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Silva RF. Fungal infections in immunocompromised patients. J Bras Pneumol 2010; 36(1): 142-7.
2. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral candida: clearance, colonization, or candidiasis? J Dent Res 1995; 74(5): 1152-61.
3. Bassiouny A, el-Refai HA, Abdel Nabi EA, Fateen AM, Hendawy DS. *Candida* infection of tongue and pharynx. J Laryngol Otol 1984; 98(6): 609-11.
4. Haynes K. Virulence in *Candida* species. Trends Microbiol 2001; 9(12): 591-6.
5. Staib P, Kretschmar M, Nichterlein T, Hof H, Morschhäuser J. Differential activation of a *Candida albicans* virulence gene family during infection. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97(11): 6102-7.
6. Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. Clin Microbiol Rev 2000; 13(1): 122-43.
7. Hasan F, Xess I, Wang X, Jain N, Fries BC. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. Microbes Infect 2009; 11(8-9): 753-61.
8. Ghannoum MA, Abu-Elteen KH. Pathogenicity determinants of *Candida*. Mycoses 1990; 33(6): 265-82.
9. Samaranyake LP, Keung Leung W, Jin L. Oral mucosal fungal infections. Periodontol 2000. 2009; 49(1): 39-59.
10. Samaranyake YH, Samaranyake LP. Experimental oral candidiasis in animal models. Clin Microbiol Rev 2001; 14(2): 398-429.
11. Romani L. Animal models for candidiasis, pp: 19.6.1-19.6.16. In: Current Protocols in Immunology. 2001, Wiley Online Library. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142735.im1906s30/full>
12. Trudel L, St-Amand L, Bareil M, Cardinal P, Lavoie MC. Bacteriology of the oral cavity of BALB/c mice. Can J Microbiol 1986; 32(8): 673-8.
13. Takakura N, Sato Y, Ishibashi H, et al. A novel murine model of oral candidiasis with local symptoms characteristic of oral thrush. Microbiol Immunol 2003; 47(5): 321-6.
14. Kamai Y, Kubota M, Kamai Y, Hosokawa T, Fukuoka T, Fuller SG. New model of oropharyngeal candidiasis in mice. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45(11):3195-7.
15. Shimizu MT, Almeida NQ, Fantinato V, Unterkircher CS. Studies on hyaluronidase, chondroitin sulphatase, proteinase and phospholipase secreted by *Candida* species. Mycoses 1996; 39(5-6): 161-7.
16. Yücesoy M, Karaman M, Yuluğ N. Sağlıklı bireylerden ve oral kandidiazisli olgulardan izole edilen *Candida albicans* türlerinde proteinaz aktivitesinin incelenmesi. Mikrobiyol Bul 2001; 35: 443-50.
17. Koga-Ito CY, Lyon JP, Vidotto V, de Resende MA. Virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from oral candidosis patients and control individuals. Mycopathologia 2006; 161(4): 219-23.
18. Yücesoy M, Karaman M. Oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *Candida albicans* suşlarında fosfolipaz ve esteraz aktivitesinin değerlendirilmesi. İnfeksiyon Derg 2003; 17(4): 483-6.
19. Samaranyake LP, Holmstrup P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. J Oral Pathol Med 1989; 18(10): 554-64.
20. Vargas KG, Joly S. Carriage frequency, intensity of carriage, and strains of oral yeast species vary in the progression to oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive individuals. J Clin Microbiol 2002; 40(2): 341-50.
21. Dongari-Bagtzoglou A, Dwivedi P, Ioannidou E, Shaqman M, Hull D, Burleson J. Oral *Candida* infection and colonization in solid organ transplant recipients. Oral Microbiol Immunol 2009; 24(3): 249-54.
22. Sánchez-Vargas LO, Ortiz-López NG, Villar M, et al. Oral *Candida* isolates colonizing or infecting human immunodeficiency virus-infected and healthy persons in Mexico. J Clin Microbiol 2005; 43(8): 4159-62.
23. Erköse G, Erturan Z. Oral *Candida* colonization of human immunodeficiency virus infected subjects in Turkey and its relation with viral load and CD4+ T-lymphocyte count. Mycoses 2007; 50(6): 485-90.
24. Hisajima T, Ishibashi H, Yamada T, et al. Invasion process of *Candida albicans* to tongue surface in early stages of experimental murine oral candidiasis. Med Mycol 2008; 46(7): 697-704.