Özgün Çalışma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2015; 49(3): 366-376*

Bazı Bakteri ve Mantarların Virülansının Araştırılmasında *Galleria mellonella*'nın İn Vivo Model Olarak Kullanılması*

Using *Galleria mellonella* as an In Vivo Model to Study the Virulence of Some Bacterial and Fungal Agents

Ayşe KALKANCI, Ali Adil FOUAD, Merve ERDOĞAN, Aylin ALTAY, Zemfira ALİYEVA, Gülendam BOZDAYI, Kayhan ÇAĞLAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 19.02.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 20.05.2015

** Bu çalışma, XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (12-16 Kasım 2014, Antalya)'nde poster olarak sunulmuş ve en iyi üçüncü bildiri seçilerek ödüllendirilmiştir. Çalışmanın bir bölümü TÜBİTAK SBAG 113S383 kodlu proje kapsamında desteklenmiştir.*

ÖZ

Mum güvesi olarak bilinen Galleria mellonella gibi omurgasız canlılar, mikroorganizmaların virülansının ve konak yanıtının araştırılmasında kullanılmaktadır. Bu canlılar ekonomik olmaları, etik kurul onayı gerektirmemeleri ve kolayca uygulama yapılabilmeleri nedeniyle avantajlıdır. Bu makalede, *Galleria mellonella* larvalarının bazı bakteri ve mantarlar ile enfekte edilmesiyle oluşturulan deneysel bir in vivo çalışma sunulmaktadır. Çalışmada, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten ve üretmeyen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* klinik kökenleri ile kolistine dirençli ve duyarlı *Acinetobacter baumanii* klinik kökenleri; *Candida albicans* (ATCC 10231), *Scedosporium aurantiacum* (CBS 136047), *Pseudallescheria boydii* (CBS 117410) standart kökenleri, *Aspergillus terreus* ve *Fusarium oxysporum* klinik kökenleri kullanılmıştır. Bu bakteriler ve mantarlar ile enfekte edilen larvalarda mortalite oranları Kaplan-Meier grafikleri kullanılarak hesaplanmıştır. Deneyin 16. saatinde mortalite oranı; GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli*, GSBL üretmeyen *K.pneumoniae* ve GSBL üreten *P.aeruginosa* ile enfekte larvalarda %83; GSBL üreten *K.pneumoniae* ile enfekte larvalarda %91; GSBL üretmeyen *P.aeruginosa* ile enfekte larvalarda %75; kolistine dirençli ve duyarlı *A.baumanii* ile enfekte larvalarda %66 olarak bulunmuştur. Bakteriler ile enfekte edilen larvaların 24 saatteki mortalite oranları %100 olup, mantarlar ile enfekte edilen larvalardan daha yüksek bulunmuştur. Deneyin 16. saatinde mantarlar ile enfekte larvalar için mortalite oranları; *C.albicans* ve *F.oxysporum* için %0, *S.aurantiacum* için %16, *P.boydii* ve *A.terreus* için %8; 24. saatinde *C.albicans* ve *P.boydii* için %25, *S.aurantiacum*, *A.terreus* ve *F.oxysporum* için %33; 48.

İletişim (Correspondence): *Prof. Dr. Ayşe Kalkancı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 312 202 4629,* ***E-posta (E-mail):*** *kalkanci@gazi.edu.tr*

saatinde *C.albicans* için %33, *P.boydii* ve *F.oxysporum* için %50, *A.terreus* için %58, *S.aurantiacum* için %66; 72. saatinde *C.albicans* ve *F.oxysporum* için %58, *P.boydii* için %66, *A.terreus* ve *S.aurantiacum* için %75; 96. saatinde *C.albicans*, *P.boydii* ve *F.oxysporum* %83, *A.terreus* ve *S.aurantiacum* için %91 olarak bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda, *G.mellonella* larva modelinde bakterilerin virülansının mantarlardan fazla olduğu; her mantar türünün farklı virülans özellikleri olduğu; ancak bakterilerin virülansının, bakterinin cinsi veya antibiyotik duyarlılığı ile ilgili olmadığı yönünde güçlü kanıtlar elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: *Galleria mellonella; in vivo model; bakteri; mantar; virülans.*

ABSTRACT

Non-vertebrate hosts, such as *Galleria mellonella*, namely wax moth, have been used to study microbial virulence and host defense. This organism has advantages as it is economical, ethically expedient and easy to handle. Here we describe an experimental in vivo study using the larvae of Galleria mellonella infected with some bacterial and fungal pathogens. In this study, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing and non-producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*, colistin resistant and susceptible Acinetobacter baumanii clinical strains; *Candida albicans* (ATCC 10231), *Scedosporium aurantiacum* (CBS 136047) and *Pseudallescheria boydii* (CBS 117410) reference strains, and *Aspergillus terreus* and *Fusarium oxysporum* clinical strains were used as pathogens. The larvae of *G.mellonella* were challenged with these bacterial and fungal strains, and the mortality rates were calculated using Kaplan-Meier plots. Mortality rates at 16th hour were found as 83% for the larvae infected with both ESBL positive and negative *E.coli*, ESBL negative *K.pneumoniae* and ESBL positive *P.aeruginosa*; 91% for ESBL positive *K.pneumoniae*; 75% for ESBL negative *P.aeruginosa*; 66% for both colistin resistant and susceptible *A.baumanii* strains. All larvae infected with bacteria died within the first 24 hour. Larvae infected with bacteria showed significantly higher mortality rates than those infected with fungi. Mortality rates at 16th hour were found as 0% for *C.albicans* and *F.oxysporum*, 16% for *S.aurantiacum*, 8% for *P.boydii* and *A.terreus*; at 24th hour that was 25% for *C.albicans* and *P.boydii*, 33% for S.aurantiacum, A.terreus and F.oxysporum; at 48th hour that was 33% for C.albicans, 50% for *P.boydii* and *F.oxysporum*, 58% for *A.terreus*, and 66% for *S.aurantiacum*; in 72 hours that was 58% for *C.albicans* and *F.oxysporum*, 66% for *P.boydii*, 75% for *A.terreus* and *S.aurantiacum*, in 96 hours that was 83% for *C.albicans*, *P.boydii* and *F.oxysporum*, 91% for *A.terreus* and *S.aurantiacum*. As a result of this study, potential evidences provided that bacteria were more virulent than fungi for *G.mellonella* larvae model, each fungal species showed different virulence patterns, and bacterial virulence was correlated neither with species nor antibiotic susceptibility.

Keywords: *Galleria mellonella; in vivo model; bacteria: fungi; virulence.*

GİRİŞ

Enfeksiyon patogenezinin araştırılması için öteden beri canlı modeller kullanılagelmiştir. En sık memeliler seçilmektedir. Fare, sıçan, tavşan modelleri ile yapılan çalışmaların sonucunda enfeksiyonların tanı ve tedavisi için değerli bilgiler elde edilmiştir. Ancak son yıllarda deneysel hayvan modellerin kullanımında çeşitli kısıtlamalar ve zorluklar yaşanmaktadır. Deney hayvanları ile çalışma yapabilmek için sertifika zorunluluğu getirilmiştir. Standart uygulamaların yapıldığı, veteriner hekimlerin bulunduğu deneysel araştırma merkezi sayısının kısıtlı olması bir başka zorlaştırıcı faktördür. Etik kuralların ağırlaştırılması gibi sebepler yanında çalışmaların bütçelerinin yüksek olması, zaman alıcı ve zor olmaları nedeniyle omurgasız modellerin kullanımı gündeme gelmiştir. Aslında omurgasız modeller, genetik çalışmaların vazgeçilmez canlıları olarak bilinmektedir. Bir nematod olan *Ca-*

enorhabditis elegans, sirke sineği olarak bilinen *Drosophila melanogaster* ile mum güvesi adı verilen *Galleria mellonella*, tıp alanında çeşitli laboratuvar çalışmalarında kullanılmıştır. Enfeksiyon hastalıkları konusunda model olarak kullanılmaları 90'ların sonunda gündeme gelmiş, 2000'li yıllarda yaygınlaşmaya başlamıştır[1-3]. *Galleria mellonella* bal peteklerine zarar vererek önemli miktarda ekonomik kayıplara yol açan bir zararlıdır. Son yıllarda enfeksiyon hastalıklarının patogenezinin ortaya çıkarılmasında, memeli modelleri yanında kullanılmaya başlanan mini modellerden biridir. Kolay yetiştirilebildiği ve 28-30°C arasında yaşayabildiği için patojenitenin değerlendirilmesinde avantaj sağlar[4,5]. *Galleria mellonella* larvasında oluşturulmuş enfeksiyon modelleri ile ilgili literatür taraması yapıldığında "pubmed" veri kayıtlarında toplam 187 adet makale bulunmuştur. Son beş yılda yayımlanan makale sayısı 154'dür. Çalışmaların büyük bölümü, antibiyotiklere dirençli bakteriler veya az bilinen mantar kökenleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı, anabilim dalımız kültür koleksiyonunda bulunan bakteri ve mantarlardan seçilen bazı referans kökenler ve klinik kökenler ile *Galleria mellonella* larvalarında enfeksiyon modelleri oluşturulması ve larvaların yaşam sürelerinin karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Mikroorganizmalar

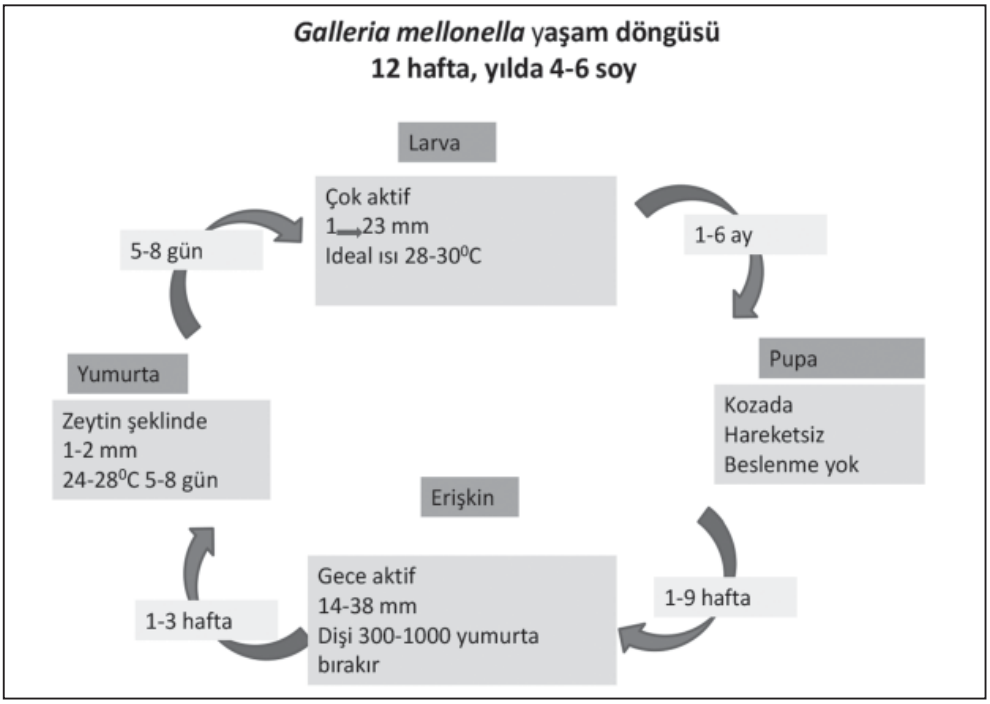
Çalışma için, klinik örneklerden izole edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten ve üretmeyen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* kökenleri ile kolistine dirençli ve duyarlı *Acinetobacter baumanii* kökenleri seçildi. Bakterilerin tür tanımlaması ve antibiyotik duyarlılıkları, BD Phoenix™ Automated Microbiology System (BD Diagnostic Systems, MD) ile yapıldı. Mantarlardan referans kökenler olarak *Candida albicans* ATCC 10231, *Scedosporium aurantiacum* (CBS 136047), *Pseudallescheria boydii* (CBS 117410) ve klinik köken olarak *Aspergillus terreus* ve *Fusarium oxysporum* kökenleri kullanıldı. Klinik mantar kökenlerinde tür tanımlaması morfolojik yöntemler kullanılarak yapıldı. Bakterilerin Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarındaki 24 saatlik kültürleri; mantarların ise Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) plaklarındaki 24-72 saatlik kültürleri kullanıldı. Bakteri ve mantar kolonilerinin serum fizyolojik (%0.9 NaCl) içinde süspansiyonları hazırlandı, bakteriler için 10^8 koloni oluşturan ünite (CFU)/mL, mantarlar için 10^6 CFU/mL konsantrasyonda inokulüm kullanıldı.

Galleria mellonella larvaları

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2014 yılında alınan bir çift yetişkin *G.mellonella*, anabilim dalı laboratuvarımızda ayrı bir etüve yerleştirildi. Yetişkin mum güvesi yaşam döngüsü için gerekli besiyeri sağlanarak, yeni soylar üretildi. Besiyeri (100 g) olarak 22 g buğday unu, 22 g buğday kepeği, 11 g süt tozu, 5.5 g kuru maya, 17 g mum, 11 mL gliserol ve 11 mL bal karışımı kullanıldı. Larvalardan 0.33 g ağırlığında, rengi kremsi ve 2-3 cm uzunluğunda olanlar çalışmaya dahil edildi[6-8]. *G.mellonella* yaşam döngüsü Şekil 1'de gösterildi.

Larvalara enjeksiyon yapılması

Mikroorganizma süspansiyonlarından 10 µL'si larvaların sol arka ayağı hizasından Hamilton iğnesi ile enjekte edildi[6,7]. Her grupta 12 larva olmak üzere; (1) ellenmemiş sağlıklı kontrol, (2) serum fizyolojik enjekte edilmiş SF kontrol ve (3) patojen etken enjekte



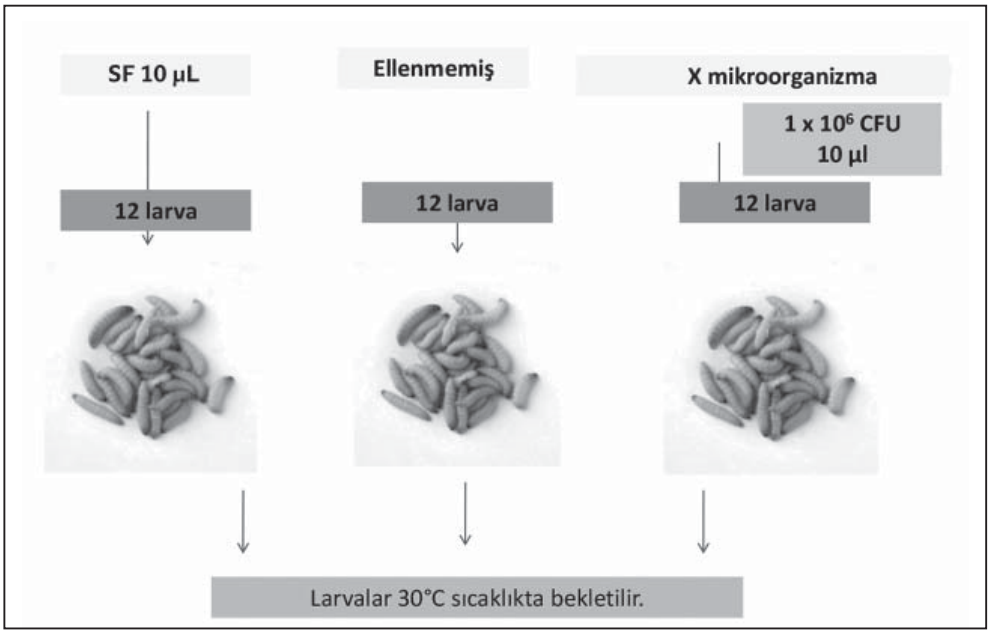
Şekil 1. *Galleria mellonella'nın yaşam döngüsü.*

edilmiş deney grubu olarak ayrıldı. Deney protokolü şeması Şekil 2'de gösterildi. Larvalar 30°C sıcaklıkta 96 saate kadar izlendi ve her gün kontrol edilerek ölen larvalar (hareketsiz ve kahve renkli) kaydedildi. Enfeksiyonun kontrolü için canlı kalan larvalardan hemolenf sıvısı alınarak kültürü yapıldı (Resim 1).

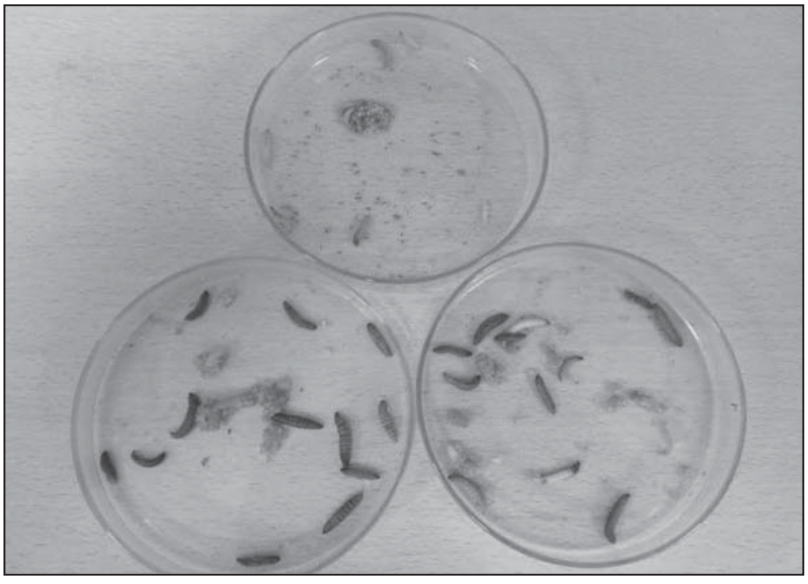
BULGULAR

Larvalarda, kullanılan bütün etkenler ile enfeksiyon modeli oluşturulmuştur. Enfeksiyonun kontrolü larvalardan alınan hemolenf sıvısının kültürü ile doğrulanmıştır. *E.coli*, *K. pneumoniae* ve *P.aeruginosa* kökenlerinin GSBL üretiminden bağımsız olarak, *A.baumanii* kökenlerinin ise kolistin direncinden bağımsız olarak ilk 24 saatte bütün larvaları öldürdükleri görülmüştür (Tablo I). Aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı olmadığı için, bu bakteriler ile oluşturulan deneysel larva modelinde virülansın ilaç direncinden bağımsız olduğu düşünülmüştür. Bakterilerle enfekte edilen ve 12, 16 ve 24. saatlerde canlı kalan larvaların sayısı Kaplan-Meier eğrisi ile belirtilmiştir. Bu eğrilerde her bakteri için ayrı ayrı olmak üzere, enfekte larvalar, SF enjekte edilen larvalar ile ellenmeden bırakılan kontrol grubu larvalara ait sayılar yer almaktadır (Şekil 3-6).

Mantarlar ile oluşturulan enfeksiyon modellerinde mantarların cinsine göre farklı yaşam eğrileri elde edilmiştir. Bütün gruplarda 12. saatte başlangıçtaki 12 larva canlı kalmıştır. Ölümler 16. saatten itibaren başlamış ve 96. saate en yüksek düzeye ulaşmıştır (Tablo II).



Şekil 2. *Deney protokolü.*

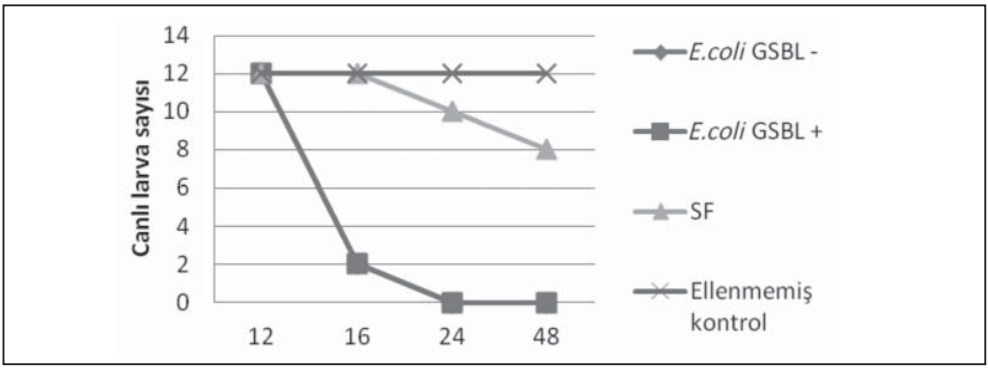


Resim 1. *Sağlıklı larvalar açık renkli, enfekte larvalar koyu renkli olarak görülmektedir.*

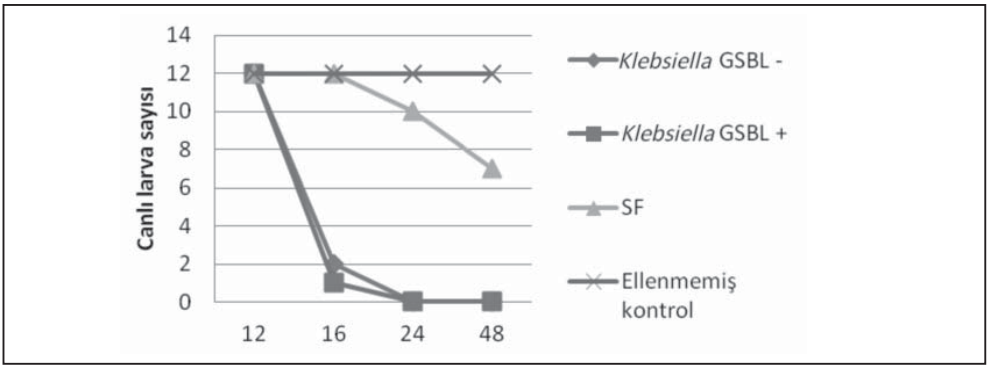
Tablo I. *Bakteriler ile oluşturulan enfeksiyon modellerinde, deney saatlerine göre canlı kalan larva sayısı ve mortalite oranları*

Deney saati	Canlı kalan larva sayısı (Mortalite oranı, %)*							
	E.coli grubu		*K.pneumoniae* grubu		*P.aeruginosa* grubu		*A.baumanii* grubu	
	GSBL (+)	GSBL (-)	GSBL (+)	GSBL (-)	GSBL (+)	GSBL (-)	COL-R	COL-S
12.	12 (0)	12 (0)	12 (0)	12 (0)	12 (0)	12 (0)	12 (0)	12 (0)
16.	2 (83)	2 (83)	1 (91)	2 (83)	2 (83)	3 (75)	4 (66)	4 (66)
24.	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)

* Tüm gruplarda 12'şer larva bulunmaktadır.
GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz; COL-R: Kolistine dirençli; COL-S: Kolistine duyarlı



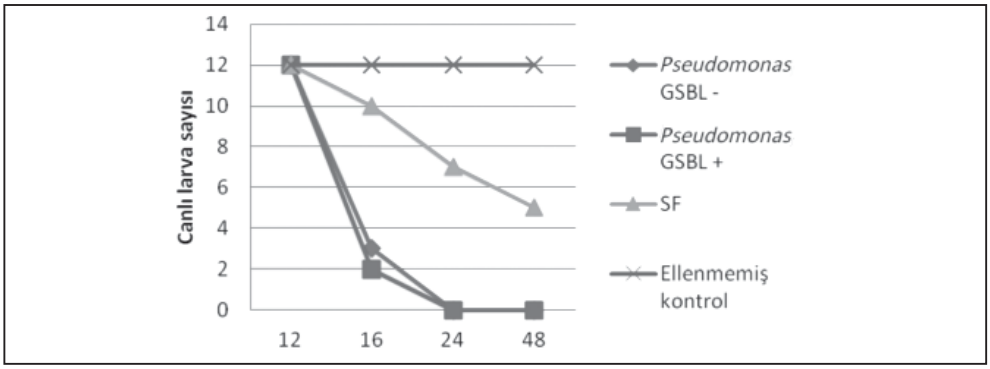
Şekil 3. *E.coli ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*



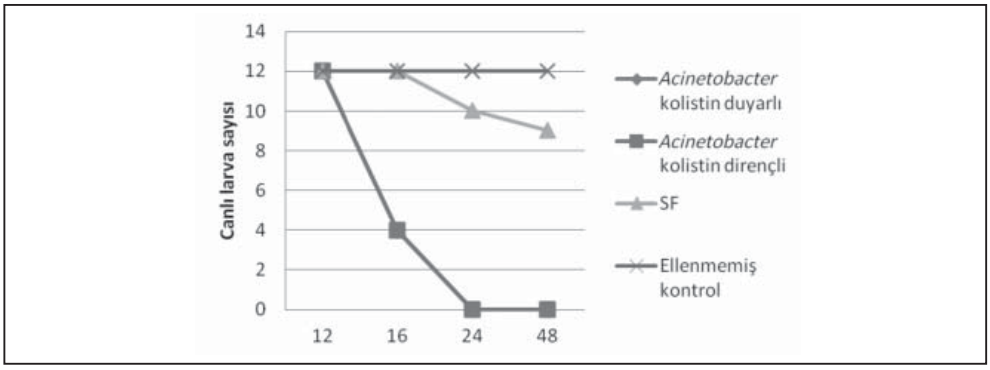
Şekil 4. *K.pneumoniae ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*

Her mantar kökeni için Kaplan-Meier eğrileri oluşturulmuştur (Şekil 7-11). Bu eğrilerde her mantar için ayrı ayrı olmak üzere enfekte larvalar, SF enjekte edilen larvalar ile ellenmeden bırakılan kontrol grubu larvalara ait sayılar yer almaktadır.

Çalışma sonucunda, bakterilerin virülansının mantarların virülansından yüksek olduğu; bakteriler için virülansın ilaç direncinden ve bakterinin cinsinden bağımsız olduğu; mantarların ise cinse göre değişen virülans gösterdikleri anlaşılmıştır.



Şekil 5. *P.aeruginosa ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*



Şekil 6. *A.baumanii ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*

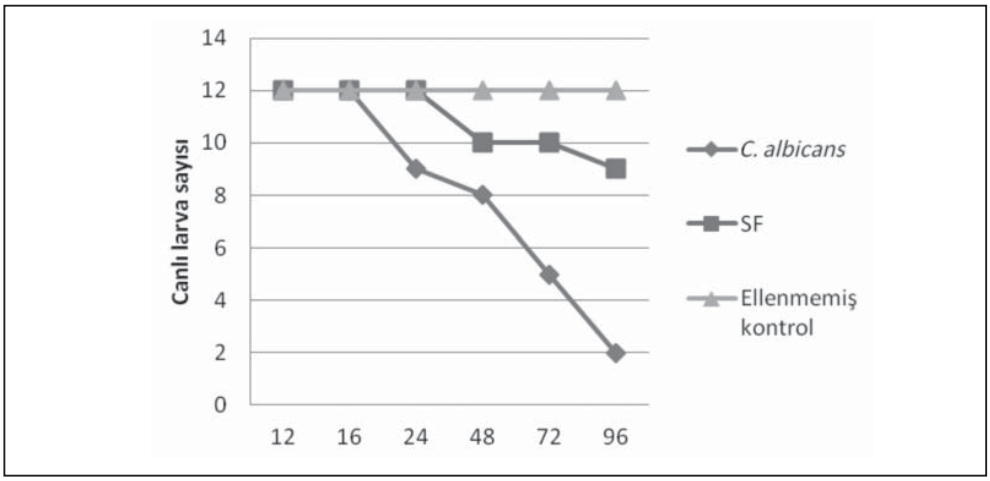
Tablo II. *Mantarlar ile oluşturulan enfeksiyon modellerinde, deney saatlerine göre canlı kalan larva sayısı ve mortalite oranları*

Deney saati	Canlı kalan larva sayısı (Mortalite oranı, %)*				
	C.albicans grubu	*S.aurantiacum* grubu	*P.boydii* grubu	*A.terreus* grubu	*F.oxysporum* grubu
12.	12 (0)	12 (0)	12 (0)	12 (0)	12 (0)
16.	12 (0)	10 (16)	11 (8)	11 (8)	12 (0)
24.	9 (25)	8 (33)	9 (25)	8 (33)	8 (33)
48.	8 (33)	4 (66)	6 (50)	5 (58)	6 (50)
72.	5 (58)	3 (75)	4 (66)	3 (75)	5 (58)
96.	2 (83)	1 (91)	2 (83)	1 (91)	2 (83)

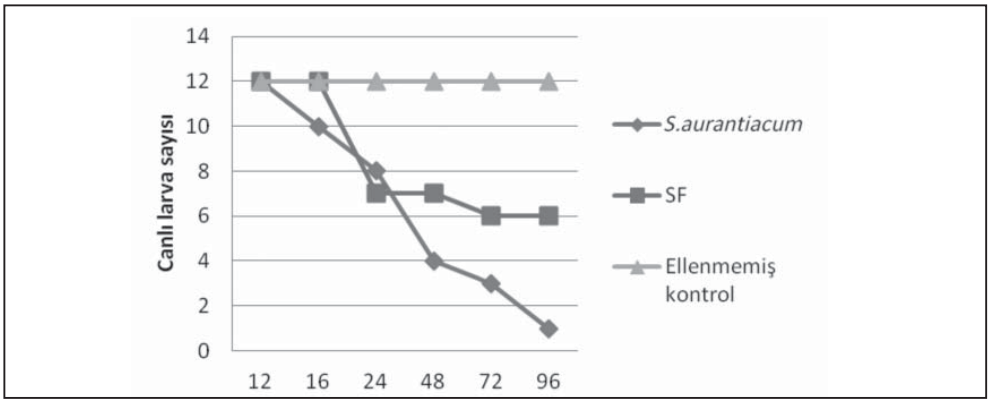
* Tüm gruplarda 12'şer larva bulunmaktadır.

TARTIŞMA

Mum güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella*'nın geçirdiği metamorfoz sırasında oluşan larvalar enfeksiyon modeli olarak kullanılmıştır[8,9]. Ülkemizde *G.mellonella*'nın enfeksiyon modeli olarak kullanılması yaygın bir uygulama değildir. Bu çalışma ülkemizde bu alanda yapılmış ilk deneysel çalışmadır. Ayrıca daha önce uluslararası literatürde bulun-



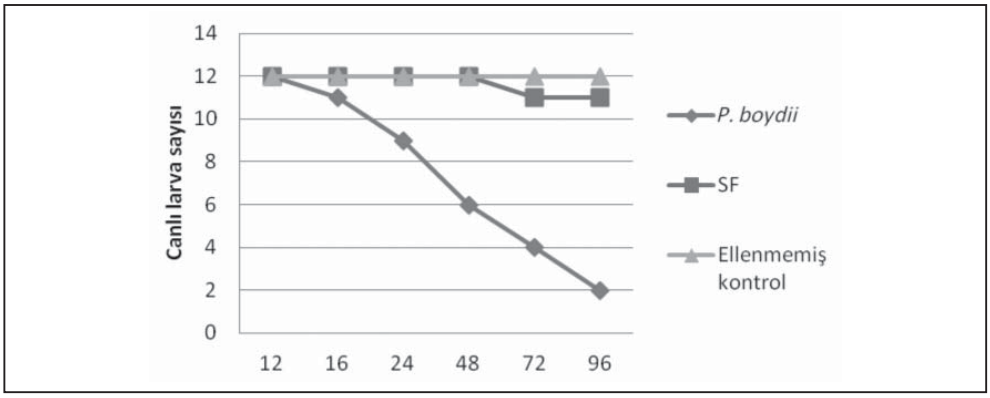
Şekil 7. *C.albicans ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*



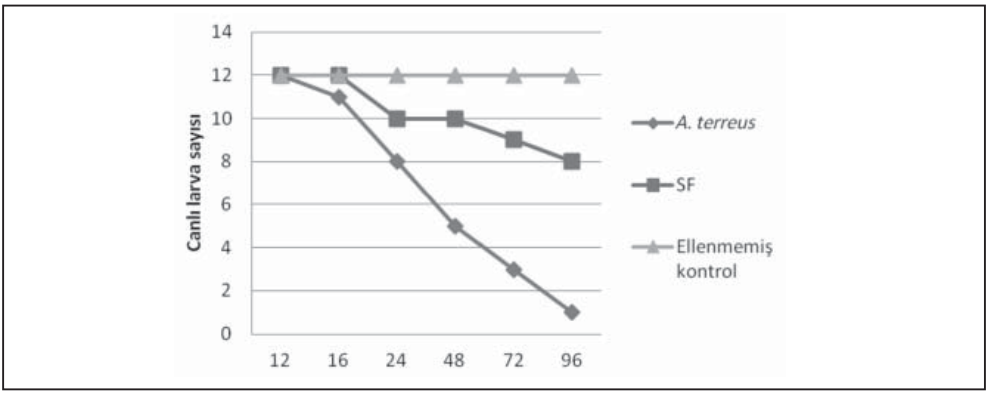
Şekil 8. *S.aurantiacum ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*

mayan *A.terreus*, *S.aurantiacum* ve *P.boydii* larva modelleri bu çalışma kapsamında ilk kez oluşturulmuştur.

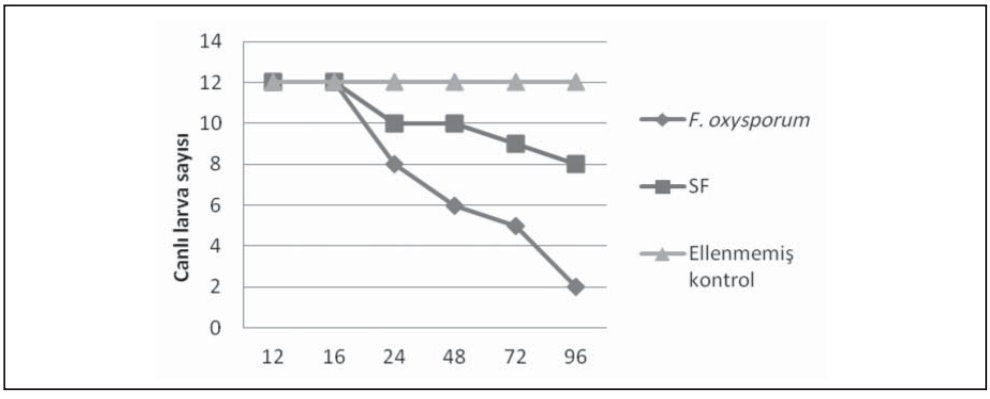
Çalışma kapsamında kullanılan *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* ve *A.baumanii* kökenleri ile oluşturulan larva modelinde, enfeksiyon virülansının antibiyotik direnci ile ilgili olmadığı görülmüştür. Hem duyarlı hem de dirençli kökenler ile oluşturulan modellerde ilk 24 saat içinde bütün larvalar ölmüştür. İlk 16 saat içinde en yüksek mortalite oranı GSBL pozitif *K.pneumoniae* kökeni ile oluşturulan enfeksiyon modelinde (%91) hesaplanmıştır. GSBL negatif *K.pneumoniae*, GSBL pozitif *P.aeruginosa* ve GSBL pozitif ve negatif *E.coli* kökenleri ile oluşturulan modellerde mortalite oranı %83 olarak bulunmuştur. GSBL negatif *P.aeruginosa* kökeni için mortalite oranı %75, kolistine duyarlı ve dirençli *A.baumanii* kökenleri için de %66 olarak izlenmiştir (Tablo I). Son yıllarda sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlar arasında en büyük sorunu oluşturan dirençli *Acinetobacter* kö-



Şekil 9. *P.boydii ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*



Şekil 10. *A.terreus ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*



Şekil 11. *F.oxysporum ile enfekte edilen larvaların yaşam eğrileri.*

kenlerinden birinin 16 saatlik modelde mortalite oranı, diğer gram-negatif bakteriler ile oluşturulan enfeksiyonlardan daha düşük bulunmuştur. Bu bakteriler ile yapılan benzer çalışmalarda da virülansın antibiyotik direncinden bağımsız olduğu gösterilmiştir[10-13]. Bu sonuçlar, bakterilerde virülansın antibiyotik direncinden ayrı değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Mantar kökenleri arasında virülansı en yüksek olanın *S.aurantiacum* olduğu görülmüştür. İlk 16 saatte *S.aurantiacum* ile oluşan modelde mortalite oranı %16 olarak bulunmuştur. İlk 24 saatte mortalite oranları birbirine benzer şekilde *C.albicans* ve *P.boydii* için %25; *S.aurantiacum*, *A.terreus* ve *F.oxysporum* için %33 olarak hesaplanmıştır (Tablo II). İkinci günde en düşük mortalite oranı %33 ile *C.albicans* için, en yüksek mortalite oranı %66 ile *S.aurantiacum* için hesaplanmıştır. Deneyin 72. saatinde de en düşük mortalite oranı *C.albicans* ve *F.oxysporum* için (%58), en yüksek *S.aurantiacum* için (%75) hesaplanmıştır. *C.albicans*, *P.boydii* ve *F.oxysporum*, 96. saatte larvaların %83'ünü öldürürken, *A.terreus* ve *S.aurantiacum* için bu oran %91 olarak hesaplanmıştır (Tablo II). Birbirinin eşeyli ve eşeysiz üreme formu olan *S.aurantiacum* ve *P.boydii* arasında virülans açısından belirgin fark bulunması ilginç bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Küflerin neden olduğu mortalite, başlangıçta *Candida*'lardan daha yüksek bulunmuş ancak 96. saatte aradaki bu fark kaybolmuş, küf ve maya için benzer sonuçlar elde edilmiştir. Literatürde *A.terreus*, *P.boydii* ve *S.aurantiacum* ile oluşturulan *Galleria mellonella* modeline rastlanmamıştır. Diğer *Aspergillus* türleri, *Candida* ve *F.oxysporum* virülansının gösterilmesinde larva modeli kullanılmaktadır[14,15]. Bu çalışmalardan benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Oluşturduğumuz larva modelinde bakterilerin virülansı mantarlardan yüksek bulunmuştur. İlk 24 saatte mantarlar larvaların en çok %33'ünü öldürebilirken, bakterilerde bu oran %100 olmuştur. Yaşamı tehdit eden mantar enfeksiyonları, genel olarak immün sistemi baskılanmış konaklarda görülmektedir. Sağlıklı kişilerde mantar enfeksiyonlarının invazif tablolara yol açması nadirdir. Mantar enfeksiyonlarının patogenezinde, mantarlara ait virülans faktörlerinin yanında konağın immün yanıtının da büyük rolü bulunmaktadır[16].

Çalışmamızın en önemli eksikiği, larvaların ilk kontrollerinin 16. saatte yapılmış olmasıdır; zira bu saatte bakterilerin kullanıldığı gruplarda larvaların büyük bölümü zaten kaybedilmiştir. Bu kontrollerin; enfeksiyonun 3, 6, 8. saatlerinde yapılmış olması halinde, daha ayrıntılı yaşam eğrileri elde edilmiş olacaktır. Bu nedenle gelecekte yapılması planlanan larva modellerinde, kontrol aralıklarının sıklaştırılması önerilmektedir. Antimikrobiyallere dirençli ve duyarlı başka kökenler ile oluşturulacak enfeksiyon modelleri arasında; mortalite açısından fark olup olmadığının gösterilmesi, tedavinin değerlendirilmesi, virülansı değiştirilmiş ve genleri eksiltilmiş kökenler ile oluşturulacak enfeksiyon modellerinin seyrinin gösterilmesi, gelecekte yapılabilecek ilginç araştırma konuları olacaktır. Sonuç olarak bu deneysel çalışmada, *Galleria mellonella* larvaları, ülkemizde ilk kez enfeksiyon modeli olarak kullanılmış; bazı bakteri ve mantarlar için mortalite oranları hesaplanmıştır. Memeli modellerin yerine omurgasız modellerin kullanılmaya başlaması konusunda farkındalık yaratılması ve bu konuda bilgilerimizin genişletilmesi yararlı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Nevin Keskin'e, yetişkin bir çift *Galleria mellonella* sağladığı ve bu çalışmanın temelini oluşturduğu için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Scully LR, Bidochka MJ. Developing insect models for the study of current and emerging human pathogens. FEMS Microbiol Lett 2006; 263(1): 1-9.
2. Arvanitis M, Glavis-Bloom J, Mylonakis E. Invertebrate models of fungal infection. Biochimica Biophysica Acta 2013; 1832(9): 1378-83.
3. Kavanagh K, Reeves EP. Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. FEMS Microbiol Rev 2004; 28(1): 101-12.
4. Fuchs BB, Mylonakis E. Using non-mammalian hosts to study fungal virulence and host defense. Curr Opinion Microbiol 2006; 9(4): 346-51.
5. Lionakis MS. Drosophila and Galleria insect model hosts. Virulence 2011; 2(6):521-7.
6. Zdybicka-Barabas A, Sowa-Jasitek A, Staczek S, Jakubowicz T, Cytrynska M. Different forms of apolipophorin III in *Galleria mellonella* larvae challenged with bacteria and fungi. Peptides 2015; 68: 105-12.
7. Perdoni F, Falleni M, Tosi D, et al. A histological procedure to study fungal infection in the wax moth *Galleria mellonella*. Eur J Histochem 2014; 58(3): 2428.
8. Yang H, Chen G, Hu L, et al. In vivo activity of daptomycin/colistin combination therapy in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. Int J Antimicrob Agents 2015; 45(2): 188-91.
9. Jacobsen ID. *Galleria mellonella* as a model host to study virulence of *Candida*. Virulence 2014; 5(2): 237-9.
10. Alghoribi MF, Gibreel TM, Dodgson AR, Beatson SA, Upton M. *Galleria mellonella* infection model demonstrates high lethality of ST69 and ST127 uropathogenic *E.coli*. PLOS One 2014; 9(7): e101547.
11. Chusri S, Chongsuvivatwong V, Rivera JI, et al. Clinical outcomes of hospital-acquired infection with *Acinetobacter nosocomialis* and *Acinetobacter pittii*. Antimicrob Agents Chemother 2014; 58(7): 4172-9.
12. McLaughlin MM, Advincula MR, Malczynski M, Barajas G, Qi C, Scheetz MH. Quantifying the clinical virulence of *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemase *Klebsiella pneumoniae* with a *Galleria mellonella* model and a pilot study to translate to patient outcomes. BMC Infect Dis 2014; 14: 31.
13. Koch G, Nadal-Jimenez P, Cool RH, Quax WJ. Assessing *Pseudomonas* virulence with nonmammalian host: Galleria mellonella. Methods Mol Biol 2014; 1149: 681-8.
14. Liu FF, Pu L, Zheng QQ, et al. Calcium signaling mediates antifungal activity of triazole drugs in the Aspergilli. Fungal Genet Biol 2014; pii: S1087-1845(14)00220-5.
15. Munoz-Gomez A, Corredor M, Benitez-Paez A, Pelaez C. Development of quantitative proteomics using ITRAQ based on the immunological response of *Galleria mellonella* larvae challenged with *Fusarium oxysporum microconidia*. PLOS One 2014; 9: e112179.
16. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence 2013; 4(2): 119-28.