جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۳، شماره ۱، بهار ۱۳۸۷
صفحات: ۳۶-۲۹

# نوسان کمی و کیفی در فعالیت استرازی ایزوله های کلینیکی کاندیدا آلبیکنس در برابر ۵ نوع سوبسترا

مجید ریاضی پور Ph.D ✍ ؛ عباسعلی ایمانی فولادی*، Ph.D ، حمید رضا توکلی Ph.D **

## چکیده

**هدف:** مطالعه قبلی ما نشـان داد که کاندیدا آلبیکنس پس از رشـد در محیط مایع YPG نوعی فعالیت استرازی داخل سلولی نشان می‌دهـد. هدف مطالعه حاضر بررسـی اختلاف های کمی و کیفـی این فعالیت آنزیمی در بین ایزوله‌هـای کلینیکی این قارچ بوده است.

**مواد و روش‌ها:** ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس که به روش پاسـاژ مکرر روی محیط سـابورو دکستروز آگار نگهداری می‌شدند برای القای تولید آنزیم به مدت ۴۸ ساعت در محیط YPG رشد داده شدند. سپس سلول های مخمری جمع‌آوری و با گلاس بید شکسته شد. فعالیت استرازی مایع سیتوپلاسمی ایزوله‌ها با یک روش کلریمتری اندازه گیری و برای ارزیابی تفاوت‌های کیفی در این فعالیت آنزیمی از ۵ نوع سوبسترای سنتتیک استفاده شد.

**یافته‌ها:** عصاره سیتوپلاسـمی همه ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس در برابر همه سوبسـتراهای بکار رفته فعالیت استرازی نشان داد و تفاوت‌های کمی و کیفی قابل توجهی در این فعالیت آنزیمی وجود داشـت. میانگین فعالیت آنزیمی در همه ایزوله‌ها با تعداد کربن عامل کربوکسـیل سوبسـترا (بجز آلفا نفتیل لائورات ) رابطه معکوس نشان داد و میزان این فعالیت برای آلفا نفتیل استات، بتا نفتیل اسـتات، آلفـا نفتیل کاپریلات، الفا نفتیل لائورات و آلفـا نفتیل پالمیتات به ترتیب برابر بـا ۱۴/۴، ۸/۴۵ ، ۰/۹۴، ۰/۴۲، ۰/۷۵ واحد (میکرومول در میلی گرم پروتئین در دقیقه) بود.

**نتیجه‌گیری:** نوسان مشاهده شده درفعالیت استرازی ایزوله‌های کلینیکی کاندیدا آلبیکنس ممکن است برای ردیابی زیرگونه‌های آن در اهداف اپیدمیولوژیک مفید باشد.

**واژه‌های کلیدی:** کاندیدا آلبیکنس، آنزیم، فعالیت استرازی، آلفا نفتیل

دریافت مقاله: ۸۷/۱/۱۸ پذیرش مقاله: ۸۷/۳/۱۱

✍ نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی mriazipour@yahoo.com
* دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) ، مرکز تحقیقات کاربرد توکسین های میکروبی
** دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) ، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی
*** دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) ، مرکز تحقیقات بهداشت

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



## مقدمه

جمعیت تشکیل دهنده یک گونه در بسیاری از ویژگی‌ها اشتراک دارند اما ممکن است اختلافاتی ریز هم داشته باشند که پی بردن به آن‌ها به شناسایی زیرگونه یا استرین (Strain) منجر می‌شود. با شناسایی هر صفت جدید در یک گونه خاص از میکروارگانیسم‌های عفونت زا و نشان دادن نوسان آن صفت در جمعیت آن گونه، افق جدیدی برای درک مکانیسم بیماری زایی ، شفاف تر شدن فاکتورهای اپیدمیولوژیک و نیز تشخیص و درمان بیماری‌های ناشی از آن گونه گشوده می‌شود.

برای تعیین زیرگونه قارچها از جمله کاندیدا آلبیکنس تاکنون صفات متعددی مورد ارزیابی قرار گرفته است و روش‌های مختلفی برای نشان دادن نوسان صفات در اعضای تشکیل دهنده جمعیت این گونه بکار رفته است که برخی از آن‌ها نظیر رسیستو تایپ (۱) ، مورفوتایپ (morphotyping) (۲) تایپ با مخمرهای کشنده (۳، ۴)، تایپ از روی الگوی الکتروفورزی و یا الگوی ایمونو بلاتی پروتئینهای سلولی(۵)، و تایپ لکتینی(۶) سابقه طولانی تری دارند و روش‌هایی همچون ژنوتایپ در سال‌های اخیر برای این منظور معرفی شده اند (۱۲-۷).

برای بررسی روابط استرینی در قارچها از تفاوت‌های کمی ( ۱۴و۱۳) و کیفی (۱۵و۹و ۸ و ۵) در فعالیت آنزیمی آن‌ها نیز استفاده شده است. پروتئینازها و فسفولیپازها از جمله آنزیم‌هایی هستند که بیش از همه برای این منظور به کار رفته اند (۱۶) برای نمونه Schreiber ایزوله‌های کلینیکی ک.آلبیکنس و دیگر مخمرها را از نظر توانایی تولید یک کربوکسیل اسید پروتئیناز مطالعه نمود (۱۷) و Williamson فعالیت فسفولیپازی را بعنوان معیاری برای تایپ کردن کاندیدا آلبیکنس مورد آزمایش قرار دارد(۱۳). همچنین Bernhardt با اندازه گیری نوسان ۱۹ آنزیم هیدرولیتیک در ایزوله‌های ک.آلبیکنس نتیجه گیری کرد که روش به کار رفته در مطالعه وی یک متد مفید برای بیوتایپ کردن این مخمر است(۱۸).

علیرغم تنوع قابل توجه در صفات کاندیدا آلیکنس و روش‌های بکار رفته برای تفکیک زیرگونه‌های آن، به علت اشکالاتی موجود در این روش‌ها هنوز هیچ کدام ویژگی‌های لازم برای پذیرفته شدن بعنوان یک روش تایپ استاندارد را نداشته اند. بنابر این شناسایی خصوصیات جدید در این پاتوژن مهم و ارزیابی آن به عنوان ابزاری برای تایپ کردن زیرگونه‌ها باید ادامه یابد و مطالعه ما نیز در این راستا انجام شده است.

مطالعه قبلی ما نشان داد که مایع سیتوپلاسمی کاندیدا آلبیکنس پس از رشد در شرایط خاص نوعی فعالیت استرازی نشان می دهد که مقدار آن در مقابل آلفا نفتیل استات یک میلی مولار در pH ۷/۵ و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد پس از ۹۰ دقیقه به حداکثر خود می رسد(۱۹) و هدف از مطالعه حاضر آن است تا با مورد آزمایش قرار دادن تعداد بیشتری از ایزوله‌های کلینیکی این مخمر نوسان کمی و کیفی این فعالیت آنزیمی را در آن‌ها اندازه گیری نماید. چنانچه این صفت تغییر استرینی نشان دهد زمینه مناسب برای مطالعات بعدی و ارزیابی امکان بکار گیری آن به عنوان شاخصی برای ردیابی زیرگونه‌های این پاتوژن مهم فراهم می‌گردد.

## مواد و روش‌ها

**کاندیدا آلبیکنس:** ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه قارچ شناسی جدا و با پاساژ مکرر روی محیط سابورودکستروزآگار (Saboraud dextrose agar) نگهداری می‌شدند.

**القای فعالیت استرازی:** برای القای فعالیت استرازی ایزوله‌های ک.آلبیکنس در محیط مایع YPG (Yeast extract, Peptone, Glucose) کشت و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند (۱۹).

**تهیه عصاره سیتوپلاسمی:** سلول‌های مخمری رشد یافته جمع‌آوری و پس از سه بار شستشو با استفاده از پرل‌های شیشه‌ای خرد شدند [۷]. بطور خلاصه سلولهای شسته شده، پرل‌های شیشه‌ای به قطر ۰/۵ میلی متر و بافر شکننده (Breaking buffer) (تریس ۶۲/۵ میلی مولار، دی تیوتریتول ۱ میلی مولار، فنیل متیل سولفونیل فلوراید ۰/۲ میلی گرم در هر میلی لیتر، گلیسرول ۱۵٪ ، pH ۶/۸) به ترتیب به نسبت حجمی ۲:۱:۱ در لوله‌های شیشه‌ای ۱۵۰ × ۲۰ میلی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



متری مخلوط و با سرعت۲۸۰۰ دور در دقیقه تا شکستن بیش از ۸۰ درصد از سلول‌ها بر روی شیکر رومیزی دوران داده شد. لوله‌ها پس از هـر یک دقیقه دوران، بمدت چند دقیقـه در داخل یخ مذاب قرار می‌گرفتند تا از گرم شـدن نمونه ممانعت شود. سپس سوسپانسیون حاصـل بمـدت یک سـاعت در g ۱۰۵× ۱ در ۴ درجه سـانتی گراد اولترا سـانتریفوژ شد و مایع رویی آن (عصاره سیتوپلاسمی) تا زمان اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

**سوبسترا:** برای اندازه گیری فعالیت استرازی از پنج نوع سوبسترای سـینتتیک شـامل: آلفا نفتیل اسـتات، بتا نفتیل اسـتات، آلفانفتیل کاپریلات، آلفانفتیل لائورات، و آلفانفتیل پالمیتات (سیگما)اسـتفاده شـد. استوک ۱۰۰ میلی مولار این سوبستراها در ان- پروپانول تهیه و تا زمان استفاده در دمای۴درجه سانتی گراد نگهداری شد.

**اندازه گیری فعالیت استرازی:** فعالیت استرازی ایزوله‌ها با یک روش کلریمتری و در شرایط اپتیمم تعیین شده در مطالعه قبلی اندازه گیری شـد(۱۹). بطور خلاصه ، سوبسترا از استوک ۱۰۰ میلی مولار به لوله در حال دوران حاوی بافر فسفات ۱۰ میلی مولار با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد اضافه می‌شد. برای حل کردن آلفانفتیل کاپریلات، آلفانفتیل لائورات و آلفانفتیـل پالمیتات به ترتیب مقادیر ۰/۱، ۰/۲، و ۰/۳ درصـد ترایتون X-100 نیز به بافـر اضافه می‌گردید. پس از تنظیـم دمای لوله ، مایع سیتوپلاسـمی اضافه می‌شـد و در صورت لزوم حجم واکنش با استفاده از بافر به یک میلی لیتر می‌رسید. پس از ۹۰ دقیقـه گرماگذاری ، با اضافه کـردن ۵۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات واکنش خاتمه داده می‌شد. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۲ درصد فسـت ویوله B اضافه و با استفاده از طیف سـنج میـزان جذب در طول مـوج۵۲۰ نانومتر اندازه گیری می‌شد.

**منحنی اسـتاندارد فعالیـت آنزیمی:** با توجـه باینکه فعالیت اسـترازی در برابر سوبستراهای مورد استفاده به آزاد شدن آلفا نفتول می‌انجامـد، از مقادیـر معین آلفا نفتول (سـیگما) برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد.

**محاسـبه فعالیت اسـترازی اختصاصی:** میزان آنزیم موجود در هر میلی گرم پروتئین که قادر باشـد یک میکرومول سوبسـترا را هیدرولیز و یک میکرومول آلفا نفتول تولید نماید بعنوان واحد فعالیت استرازی اختصاصی تعریف شد.

**آنالیز اطلاعات:** آزمایش‌ها از کشـت تا سنجش فعالیت استرازی دو مرتبه تکرار شد و اندازه گیری فعالیت آنزیمی هر یک از ایزوله‌ها در مرتبـه اول سـه بار و در مرتبه دوم دو بار تکرار شـد. از تسـت t-Student برای آزمون اختلاف میانگین فعالیت اسـترازی ایزوله‌ها اسـتفاده و P< ۰/۰۵ برای معنی دار بـودن اختلافات در نظر گرفته شد.

## نتایج

جدول شـماره ۱ نتایج بدسـت آمده از اندازه گیـری فعالیت آنزیمی در برابـر ۵ نوع سوبسـترا را نشـان می‌دهد. همـه ایزوله‌های مورد مطالعه در برابر سوبسـتراهای آزمایش شـده دارای فعالیت استرازی بودنـد و مقایسـه میانگین فعالیـت آنزیمی آن‌هـا در برابر پنج نوع سوبسـترا، بیانگر بیشترین میزان فعالیت در برابر آلفا نفتیل استات با ۱۴/۱۴ میکرومول بـر میلیگرم پروتئین در دقیقه ، و کمترین میزان فعالیـت در برابر آلفا نفتیل لائورات بـا ۰/۴۲ میکرومول بر میلیگرم پروتئیـن در دقیقه اسـت. میانگین فعالیت آنزیمـی بترتیب در برابر آلفـا نفتیل لائورات ، آلفا نفتیل پالمیتـات، آلفا نفتیل کاپریلات ، بتا نفتیل اسـتات ، و آلفا نفتیل اسـتات افزایش می‌یابد. آنالیز واریانس دوطرفه نشـان داد که بجز اختلاف میانگین فعالیت آنزیمی در برابر آلفا نفتیـل کاپریلات و آلفا نفتیل پالمیتات کـه فاقد اهمیت آماری است (P=۰,۲۰۴۹) سـایر تفاوت‌ها معنی دار است بطوری که مقدار Pبـرای اختلاف میانگین فعالیت در برابـر آلفا نفتیل لائورات و آلفا نفتیـل پالمیتات معـادل ۰/۰۳ و برای اختـلاف میانگین فعالیت در برابر سـایر سوبستراها کمتر از ۰/۰۰۰۱ است. دامنه فعالیت استرازی ایزوله‌ها از ۷/۴۱ تا ۱۹/۵۵ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه متغیر بود و آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد تفاوتهای مشاهده شده در فعالیت اسـترازی ایزوله‌ها در برابر آلفا نفتیل استات از نظر آماری معنی دار است (P<۰,۰۰۰۱) . دامنه فعالیت آنزیمی ایزوله‌ها در برابر بتا نفتیل اسـتات ۴/۹۶ تا ۱۲/۹۰ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و ایزوله‌های دارای کمترین و بیشترین فعالیت آنزیمی در برابر

این سوبســترا همان ایزوله‌هایی بودند که در مورد آلفا نفتیل استات هم کمترین و بیشترین فعالیت را نشان می‌دادند. نتایج آنالیز واریانس در مورد بتا نفتیل استات نیز نشان داد که تفاوتهای مشاهده شده بین فعالیت ایزوله‌های مورد مطالعه در برابر این سوبســترا معنی دار است (P<۰,۰۰۰۱) . کمتریــن میزان فعالیت در برابر آلفا نفتیل کاپریلات ۰/۶۶ و بیشــترین آن ۱/۳۵ میکرومول بر میلیگرم پروتئین در دقیقه بــود. در اینجا نیز اختلاف موجود بین ایزوله‌هــا از نظر آماری معنی دار بود (P<۰,۰۰۰۱) .کمترین و بیشترین میزان فعالیت در برابر این سوبســترا به ترتیــب ۰/۲۴ و ۰/۷۱ میکرومول بــر میلیگرم پروتئین در دقیقه و اختلافات مشــاهده شــده بین فعالیت ایزوله دربرابر این سوبســترا از نظر آماری معنی دار است (P<۰,۰۰۰۱) . دامنه فعالیت در برابــر آلفا نفتیل پالمیتات از ۰/۱۸ تا ۱/۷۳ میکرومول بر میلیگرم پروتئین در دقیقه متغیر بود که آنالیز واریانس معنی دار بودن اختلاف فعالیت در برابر این سوبسترا را نشان داد (P<۰,۰۰۰۱)

## بحث:

گزارش صفات جدید و ناشــناخته در یک گونه عفونت زا ، بررســی نوســان آن صفــت در جمعیت آن گونه ، و برقــراری ارتباط بین آن صفت و دیگر ویژگی‌های مهم یا بیماری ناشــی از آن گونه مسیری اســت که بــرای یافتن یک روش تایپ کردن طــی می گردد. تایپ کردن یا تعیین خصوصیات زیر گونه‌های یک میکروارگانیسم امکان ردیابی دقیق تر سویه‌های آن را فراهم می کند و می تواند با شفاف تر کردن اپیدمیولوژی بیماری‌ها ، به پیشــگیری ، تشخیص و درمان موثرتر آن‌ها کمک نماید. این کار با اندازه گیری شاخص‌هایی که از استرینی به استرین دیگر نوسان داشته باشد امکان پذیر می گردد. برای افتراق زیر گونه‌های کاندیدا آلبیکنس و بررســی نوسان صفات بیــن آن‌هــا تاکنون بیش از ده روش مختلف معرفی شــده اســت و

**جدول(۱) فعالیت استرازی ایزوله های کلینیکی کاندیدا آلبیکنس در برابر ۵ نوع سوبسترا**

| شماره ایزوله کاندیدا آلبیکنس | نوع سوبسترا و میزان فعالیت استرازی در برابر آن (میکرومول بر میلیگرم پروتئین در دقیقه) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | آلفا نفتیل استات | بتا نفتیل استات | آلفا نفتیل کاپریلات | آلفا نفتیل لائورات | آلفا نفتیل پالمیتات |
| ۱ | ۸/۹۲ | ۵/۸۰ | ۱/۲۴ | ۰/۶۴ | ۱/۷۳ |
| ۲ | ۱۹/۵۵ | ۱۲/۹۰ | ۱/۳۵ | ۰/۷۱ | ۱/۵۱ |
| ۳ | ۱۲/۹۵ | ۷/۷۴ | ۱/۰۰ | ۰/۳۲ | ۰/۴۲ |
| ۴ | ۱۹/۲۲ | ۱۲/۲۶ | ۱/۰۵ | ۰/۵۰ | ۰/۸۲ |
| ۵ | ۱۴/۳۵ | ۸/۸۹ | ۰/۶۷ | ۰/۲۴ | ۰/۱۸ |
| ۶ | ۱۳/۰۲ | ۸/۶۰ | ۰/۸۰ | ۰/۳۰ | ۰/۶۲ |
| ۷ | ۱۵/۲ | ۸/۰۳ | ۱/۰۶ | ۰/۵۲ | ۰/۸۰ |
| ۸ | ۱۴/۷۳ | ۷/۴۷ | ۰/۷۵ | ۰/۲۴ | ۰/۳۲ |
| ۹ | ۷/۴۱ | ۴/۹۶ | ۰/۶۶ | ۰/۲۹ | ۰/۵۴ |
| ۱۰ | ۱۴/۱۳ | ۷/۸۶ | ۰/۷۸ | ۰/۴۰ | ۰/۸۱ |
| ۱۱ | ۱۵/۱۶ | ۸/۶۴ | ۰/۹۱ | ۰/۳۴ | ۰/۴۲ |
| ۱۲ | ۱۵/۰۷ | ۸/۲۷ | ۱/۰۳ | ۰/۵۵ | ۰/۸۰ |
| میانگین | ۱۴/۱۴ | ۸/۴۵ | ۰/۹۴ | ۰/۴۲ | ۰/۷۵ |
| (± انحراف معیار) | (۳/۴۹) | (۲/۲۵) | (۰/۲۲) | (۰/۱۶) | (۰/۴۶) |

پتانسیل برخی از آن‌ها برای دستیابی به اهداف اپیدمیولوژیک و غیر اپیدمیولوژیک ارزیابی شده است. بعنوان نمونه می توان به بررسی ارتباط بین ویژگی‌های زیر گونه‌های این قارچ و مولفه‌هایی همچون منبع بیماری (۴) فرم‌های کلینیکی بیماری (۹و ۸ و ۲و۱)، منطقه جغرافیایی (۲۰و۷و۳)، مقاومت دارویی(۱۵و۱۴و۱۲و۸)، بروز عفونت‌های بیمارستانی (۲۱و۴) اشاره کرد. تناقض‌های زیادی در نتایج مطالعات مختلف که با استفاده از این روشهای انجام شده است وجود دارد و تا کنون هیچ کدام از آن‌ها ویژگی‌های لازم برای پذیرفته شدن بعنوان یک روش استاندارد تایپ کردن را نداشته اند . بنابر این معرفی ویژگی‌های ناشناخته در این پاتوژن مهم و ارزیابی پتانسیل آن برای تفکیک زیرگونه‌ها ممکن است برای رسیدن به یک روش تایپ کردن قابل قبول و استاندارد راه گشا باشد.

مطالعه فعالیت آنزیمی جنس کاندیدا با اهداف مختلف از جمله بعنوان روشی برای تایپ کردن زیر گونه‌ها مورد توجه قرار گرفته است (۲۳و ۲۲و ۱۸و ۱۳). در مورد نوسان فعالیت استرازی در گونه‌های کاندیدا نیز گزارش‌های محدودی وجود دارد. Rudek کیفیت فعالیت استرازی گونه‌های کاندیدا را که اغلب از عفونتهای انسانی جدا می‌شوند با استفاده از پلیت‌های حاوی توئین تعیین، و الگوی رسوب ناشی از واکنش اسیدهای چرب آزاد شده از توئین با یونهای کلسیم محیط را برای تشخیص برخی از گونه‌ها مفید گزارش نمود (۲۴) و Tsuboii نشان داد که گونه‌های ک.آلبیکنس یک استراز خارج سلولی ترشح می‌کنند که میزان آن در گونه‌های پاتوژن بیشتر است (۲۵).

مطالعه قبلی ما نشان داده بود که ک.آلبیکنس دارای نوعی فعالیت استرازی درون سلولی است که قبلا گزارش نشده است(۱۹). در آن مطالعه برخی از خصوصیات این فعالیت آنزیمی را مورد بررسی قرار دادیم. هدف مطالعه حاضر آن بود تا نوسان این فعالیت آنزیمی را در تعدادی از ایزوله‌های این مخمر بیماری زا بررسی نماید تا پتانسیل آن به عنوان یک روش تایپ کردن ارزیابی گردد. طبق اطلاعات ما این اولین مطالعه ای است که فعالیت استرازی داخل سلولی را به عنوان فاکتوری برای تفکیک زیرگونه‌های ک. آلبیکنس مورد بررسی قرار می دهد در حالی که مطالعات معدود قبلی به بررسی استرازهای ترشحی اختصاص دارد و با هدف تفکیک گونه‌ها و نه زیرگونه‌ها انجام شده است(۲۵ و ۲۴).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد ایزوله‌های کلینیکی کاندیدا آلبیکنس از نظر فعالیت استرازی داخل سلولی در برابر هر یک از سوبستراهای بکار رفته اختلافاتی نشان می دهند که هم از نظر کمی و هم از نظر کیفی قابل توجه است. به نظر می‌رسد این تفاوت‌ها به عنوان شاخصی برای ردیابی زیرگونه‌های این مخمر و بررسی روابط استرینی آن‌ها قابل استفاده باشد. بررسی ارتباط بین این فعالیت آنزیمی با عواملی همچون ویرولانس و زیستگاه طبیعی ک.آلبیکنس توسط همکاران ما در حال انجام است.

## References

1. Williams DW, Wilson MJ, Potts AJ, Lewis MA. Phenotypic characterisation of Candida albicans isolated from chronic hyperplastic candidosis. J Med Microbiol 2000 ; 49:199-202

2. Riviera L, Bellotti MG, Malighetti V. Morphotypes of Candida albicans and their associations with underlying diseases and source of samples. New Microbiol 1996 ;19: 335-43

3. Budak A . Epidemiology of Candida infection. I. Use of killer system for typing of Candida albicans strains. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 1990; 38: 359-67

4. Candido RC, Fischman O, Zaror L, Ito IY. [The differentiation of Candida albicans strains by the killer system]. Rev Soc Bras Med Trop 1995; 28: 321-4.

5. Rosa E, Rosa R, Pereira C, Boriollo M, Hofling J. Analysis of parity between protein-based electrophoretic methods for the characterization of oral candida species. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000; 95: 801-6.

6. Nenoff P, Suss K, Flemming C, Haustein UF. Differentiation of Candida strains by lectin-mediated

agglutination kinetics. Mycoses 2000; 43:101-7.

7. Berenguer J, Diaz-Guerra TM, Ruiz-Diez B, Bernaldo de Quiros JC, Rodriguez-Tudela JL, Martinez-Suarez JV. Genetic dissimilarity of two fluconazole-resistant Candida albicans strains causing meningitis and oral candidiasis in the same AIDS patient. J Clin Microbiol 1996 ;34: 1542-5.

8. Boerlin P, Boerlin-Petzold F, Goudet J, Durussel C, Pagani JL, Chave JP,Bille J. Typing Candida albicans oral isolates from human immunodeficiency virus-infected patients by multilocus enzyme electrophoresis and DNA fingerprinting. J Clin Microbiol 1996;34:1235-48.

9. Mathaba LT, Paxman AE, Ward PB, forbes DA, Warmington JR. Genetically distinct strains of Candida albicans with elevated secretory proteinase production are associated with diarrhoea in hospitalized children. J Gastroenterol Hepatol 2000 ;15: 53-60.

10. Pinto de Andrade M, Schonian G, Forche A, Rosado L, Costa I, Muller M, Presber W, Mitchell TG, Tietz HJ. Assessment of genetic relatedness of vaginal isolates of Candida albicans from different geographical origins. Int J Med Microbiol 2000; 290: 97-104.

11. Xu J, Mitchell TG, Vilgalys R. PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses reveal both extensive clonality and local genetic differences in Candida albicans.Mol Ecol 1999; 8: 59-73.

12. Xu J, Ramos AR, Vilgalys R, Mitchell TG. Clonal and spontaneous origins of fluconazole resistance in Candida albicans.J Clin Microbiol 2000; 38: 1214-20.

13. Williamson MI, Samaranayake LP, MacFarlane TW. Phospholipase activity as a criterion for biotyping Candida albicans. J Med Vet Mycol 1986; 24: 415-7.

14. Wu T, Wright K, Hurst SF, Morrison CJ. Enhanced extracellular production of aspartyl proteinase, a virulence factor, by Candida albicans isolates following growth in subinhibitory concentrations of fluconazole. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1200-8.

15. Cowen LE, Sirjusingh C, Summerbell RC, Walmsley S, Richardson S, Kohn LM, Anderson JB. Multilocus genotypes and DNA fingerprints Do not predict variation in azole resistance among clinical isolates of Candida albicans.Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2930-8.

16. Annemarie Borst and Ad C. Fluit. High levels of hydrolytic enzymes secreted by Candida albicans isolates involved in respiratory infections. J Med Microbiol 2003; 52: 971-4.

17. Schreiber B, Lyman CA, Gurevich J, Needham CA. Proteolytic activity of Candida albicans and other yeasts. Diagn Microbiol Infect Dis 1985; 3: 1-5.

18. Bernhardt H, Zimmermann K, Knoke M, Schwesinger G. [Enzymatic activities of Candida albicans strains from different locations]. Mycoses 1991; 34: 69-71.

19. Riazipour M , Khosravi AR , Mousavi L, Lotfi A, [Esterase activity in Candida albicans and some of its properties]. Kowsar Med J 2005; 10: 191-200.

20. Budak A . Epidemiology of Candida infection. III. A proposal for a new typing system for Candida albicans strains. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 1990; 38: 379-85.

21.Tanaka K. Strain-relatedness among different populations of the pathogenic yeast Candida albicans analyzed by DNA-based typing methods. Nagoya J

Med Sci 1997; 60: 1-14.

22. Krzeminska-Jaskowiak E, Pietkiewicz K, Ozdowska B. [Utilization of enzymatic activity in strains of Candida isolated from the vagina for typing and evaluation of pathogenicity]. Med Dosw Mikrobiol 1994; 46: 225-31.

23. Sono E, Masuda T, Takesako K, Kato I, Uchida K, Murayama SY,Yamaguchi H. Comparison of secretory acid proteinases from Candida tropicalis, C.parapsilosis and C. albicans.Microbiol Immunol 1992; 36: 1099-104.

24. Rudek W. Esterase activity in Candida species. J Clin Microbiol 1978; 8: 756-9.

25. Tsuboi R., Komatsuzaki H., Ogawa H, Induction of an extracellular esterase from Candida albicans and some of its properties. Infec Immun 1996: 2936-40.