

# VULVOVAJİNAL KANDİDİYAZISLI HASTALARDAN İZOLE EDİLEN CANDIDA TÜRLERİNDEKİ INT, HWP, PLB, SAP VE ALS GENLERİNİN MOLEKÜLER TESPİTİ

## *Molecular Detection of INT, HWP, PLB, SAP and ALS Genes in Candida Species Isolated from Patients with Vulvovaginal Candidiasis*

Semih TOKAK<sup>1</sup> İbrahim Halil KILIÇ<sup>2</sup> Elif GÜLBAHÇE MUTLU<sup>3</sup>  
Fadime BEYAZYÜZ<sup>4</sup> Jule ERİÇ HORASANLI<sup>5</sup> Fatma ESENKAYA TAŞBENT<sup>6</sup>

<sup>1</sup> KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., KONYA, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, GAZİANTEP, TÜRKİYE

<sup>3</sup> KTO Karatay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.D., KONYA, TÜRKİYE

<sup>4</sup> Selçuk Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, KONYA, TÜRKİYE

<sup>5</sup> Necmettin Erbakan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D., KONYA, TÜRKİYE

<sup>6</sup> Necmettin Erbakan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., KONYA, TÜRKİYE

### ÖZ

### ABSTRACT

**Amaç:** Vulvovajinal kandidiyazis, kadınların yaklaşık %75'inde yaşamları boyunca en az bir kez görülen yüzeysel mantar enfeksiyonudur. Bazı genler, *Candida* türlerinin vajina mukozasına ve epitel hücrelerine yapışmasında ve patogeneğinde rol oynamaktadır. Bu çalışmanın amacı, vulvovajinal kandidiyazisli hastalardan izole edilen *Candida* suşlarındaki HWP1 (hifal duvar proteini), ALS1 (agglutinin benzeri sekans), SAP1 (sekrete aspartil proteaz), PLB1 (fosfolipaz B), INT1 (integrin A) genlerinin sıklığının araştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya moleküler teknik kullanılarak tanımlanan 100 vajinal *Candida* izolatu dahil edildi. İzole edilen tüm *Candida* suşlarında, enfeksiyon da önemli rol oynayan INT1, HWP1, PLB1, SAP1 ve ALS1 genlerinin varlığı PCR yöntemi kullanılarak araştırıldı.

**Bulgular:** SAP1, INT1 ve HWP1 virülans genleri *Candida* suşları arasında en yaygın, PLB geni en az tespit edilen gen olmuştur. *Candida albicans* suşlarında SAP1 (%93.0) geni en çok saptanan virülans geni olurken, bunu HWP1 geni (%86) takip etmiştir. Benzer şekilde non-albicans *Candida* türlerinde saptanan virülans genleri arasında SAP1 geni (%86) en fazla saptanan virülans geni olmuştur. Farklı *Candida* türlerinin %95'inde VVK'ya neden olabilecek en az iki virülans faktörü tanımlanmıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, vulvovajinal kandidiyazis enfeksiyonu sırasında eksprese edilen INT, HWP, PLB, SAP ve ALS genlerinin, *Candida* suşlarının vajinaya adezyonuna ve biyofilm oluşumuna katkıda bulunmuş olabileceğini düşündürmektedir.

**Objective:** Vulvovaginal candidiasis is a superficial fungal infection that occurs in approximately 75% of women at least once in their lifetime. Some genes are involved in the adhesion and pathogenesis of *Candida* species to the mucosa and epithelial cells of the vagina. The aim of this study was to investigate the frequency of HWP1 (hyphal wall protein), ALS1 (agglutinin-like sequence), SAP1 (secreted aspartyl proteases), PLB1 (phospholipase B), INT1 (integrin A) genes in *Candida* strains isolated from vulvovaginal candidiasis patients

**Material and Methods:** The study included 100 vaginal *Candida* isolates identified by using molecular technique. The presence of INT1, HWP1, PLB1, SAP1 and ALS1 genes, which play an important role in infection, were investigated using PCR method in all isolated *Candida* strains.

**Results:** SAP1, INT1 and HWP1 virulence genes were commonly found in *Candida* strains, while the PLB gene was least detected. The SAP1 (93.0%) gene was the most detected virulence gene, followed by the HWP1 gene (86%) in *Candida albicans* strains. Similarly, among the virulence genes in non-albicans *Candida* strains, the SAP1 gene (86%) was the most detected virulence gene. At least two virulence factors have been identified that can cause VVC in 95% of the different *Candida* species.

**Conclusion:** The results obtained in this study suggests that INT, HWP, PLB, SAP and ALS genes expressed during vulvovaginal candidiasis infection may have contributed to the adherence of *Candida* strains to the vagina and biofilm formation.

**Anahtar Kelimeler:** *Candida*, vulvovajinal kandidiyaz, virülans genleri, adezyon.

**Keywords:** *Candida*, vulvovaginal candidiasis, virulence genes, adhesion.



Yazışma Adresi / Correspondence:

KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., KONYA, TÜRKİYE

Tel / Phone: +905067219688

Geliş Tarihi / Received: 25.07.2023

Dr. Semih TOKAK

E-posta / E-mail: semih Tokak@gmail.com

Kabul Tarihi / Accepted: 09.08.2023

## GİRİŞ

*Candida* cinsleri insanlarda, hayvanlarda ve çeşitli ortamlarda bulunabilen, kadınlarda ise vajinal lümeninde asemptomatik olarak kolonize olan bir maya mantarı cinsidir (1). *Candida* ve *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmalar, konak vajen florasında bir dengeye sahiptir (2). Bu dengenin bozulması halinde vulvovajinal kandidiyazis (VVK) adı verilen *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlar ortaya çıkabilmektedir (3). *Candida* cinsi mayaların virülans faktörleri hastalığın patogeneğinde oldukça aktif rol oynamaktadır. Bu virülans faktörleri arasında adezyon, konak tanıma biyomolekülleri (adezinler) ile konak savunmasından kaçma, konak dokuda biyofilm oluşumu, proteinazlar ve lipazlar gibi dokuya zarar veren hidrolitik enzimlerin üretimi yer almaktadır (4).

Konak hücre yüzeyine adezyon, insan dokularına fungal kolonizasyonunda ilk adımı oluşturmaktadır. Epitel hücrelerine adezyon işlemi, genel olarak diğer hücrelerin yüzeyindeki amino asit ve şeker tamamlayıcı reseptörlere spesifik olarak bağlanan adezin adı verilen özel yüzey proteinleriyle sağlanmaktadır. *Candida* türlerinin adezyonuna ve endotelial hücrelere bağlanmasına aracılık eden aglütinin benzeri sekans (ALS) gen ailesi başta *C. albicans* (1-7,9) olmak üzere *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii* ve *C. lusitaniae*'de tanımlanmıştır. Bu gen adezyonun yanı sıra hif oluşumu için de oldukça önemlidir (5-7).

Hücre duvarı proteini 1 (HWP1), maya benzeri hif mantarlarında bulunan önemli virülans faktörlerinden birisidir. Bu protein, konak epitelinin yüzeyindeki çeşitli proteinlere bağlanmada rol oynayan önemli bir adezyon faktörüdür (8). Bir diğer virülans faktörü olan Integrin benzeri protein 1 (INT1), mantarın epitel hücrelerine adezyonuna ve filamentöz büyümesine katkıda bulunmakta olup ayrıca hücre dışı sinyallere yanıt olarak morfolojik değişikliği azaltabilmektedir (9).

Maya mantarlarının patojenitesinden sorumlu olan diğer virülans faktörleri ise proteaz ve fosfolipaz gibi hücre dışı hidrolitik enzimlerdir. Bu enzimler konak dokularına adezyonda, penetrasyonda, invazyonda ve

konaka dokularının yıkımında önemli bir rol oynamaktadır. Bu enzimler, bu işlevi konağa ait hücre zarı bileşenlerini etkisiz hale getirerek sağlamakta ve bu sayede konağa invazyonu kolaylaştırmaktadır (10).

Sekretuar aspartil proteazlar (SAP), *Candida* cinsi mayalarda bulunan geniş bir SAP gen ailesi tarafından kodlanan önemli bir hidrolitik enzim grubudur. Bu gen ailesi başta *C. albicans* olmak üzere (SAP1-10), *C. dubliniensis*'te (SAP 1-7), *C. tropicalis*'te (SAP1-4), ayrıca *C. parapsilosis*'te (SAP1-3) tanımlanmıştır. Bu gen ailesi *Candida* cinsi mantarların enfeksiyonunda oldukça önemli olup, artmış adezyon ve fenotipik değişkenlikte, hematogen yolla oluşan kandidiyazisin ilerlemesinde ve konakçı dokulara invazyonda önemli rol oynamaktadır (6,11,12).

Hidrolazlar, ayırdıkları ester bağına göre A, B, C ve D olmak üzere dört sınıfa ayrılan fosfolipaz grubunu meydana getirmektedir. *Candida* türlerinin hemen hemen çoğu, bu dört sınıfa ait fosfolipazları sentezleme yeteneğine sahiptir. Fosfolipaz enzimleri, hücre zarlarının fosfolipidlerini hidrolize ederek konak hücrenin lizisinin indüklenmesine ve doku penetrasyonuna katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle fosfolipaz enzimleri mantar enfeksiyonunun ilerlemesi ile doğrudan ilişkilidir (6,13).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya daha önce Tokak ve ark. (14) tarafından VVK şüpheli hastalardan izole edilen ve genotipik olarak tanımlanan 100 *Candida* suşu dahil edildi. Çalışma için KTO Karatay Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (Sayı: E-41901325-200-50504, Tarih: 30.12.2022). Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 24 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

*DNA İzolasyonu ve Virülans Genlerinin PCR Yöntemiyle Belirlenmesi*

Çalışmada izole edilen *Candida* suşlarından DNA izolasyonu, High Pure PCR Template Hazırlama Kiti

(Roche Diagnostic, ABD) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına göre yapıldı. Çalışmada kullanılan primer sekansları ve ürün boyutları Tablo 1’de verildi. PCR, MgCl<sub>2</sub> içermeyen 10x PCR tamponundan 2.5 µl, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, her bir deoksiniüksit trifosfattan (dNTP’ler) 1 µl, her primerden 0.4 µl (10mM), 0.08 µl Taq polimeraz (Thermo Scientific, ABD), 1.25 µl kalıp DNA ve 25 µl’ye kadar steril distile su eklenerek, 25

µl’lik reaksiyon karışımında gerçekleştirildi. PCR reaksiyonları Tablo 1’de verilen koşullarda gerçekleştirildi. Amplikonlar etidyum bromür (0.5 µg/mL TAE) ile boyandı ve ardından %1.5’lik agaroz jel üzerinde yürütüldü. Jel görüntüleme sistemi (Major Science, ABD) ile fotoğraflandı.

**Tablo 1:** Oligonüksit primer dizisi ve PCR amplifikasyonu için PCR protokolü

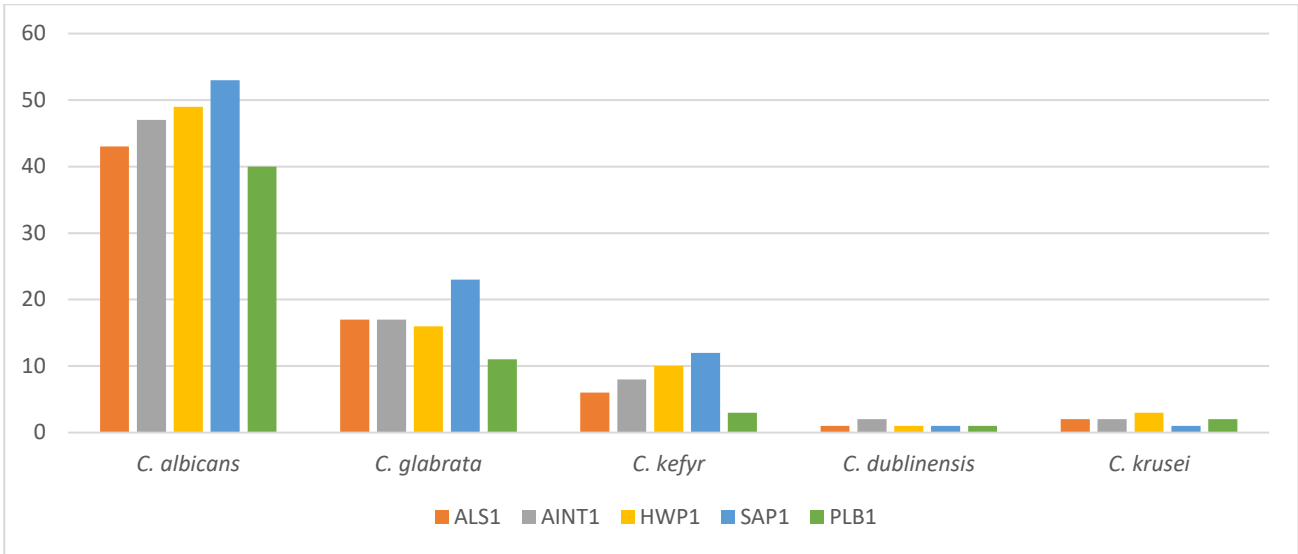
Genler	Primer dizi	Ürün boyutu (bp)	PCR protokolü
HWP1	F-ATGACTCCAGCTGGTTC	572 bp	94 °C-4 dk
	R-TAGATCAAGAATGCAGC		94 °C-30 s 52 °C-1 dk 72 °C-2 dk
ALS1	F-ACTAGTGAACCAACAAATACCAGA	318 bp	72 °C-5 dk
	R-CCAGAAGAAACAGCAGGTGA		94 °C-2 dk 94 °C-4 dk 52 °C-1 dk 72 °C-2 dk
INT1	F-AAGCTCTGATACCTACACTAGCGA	239 bp	72 °C-5 dk
	R- GTTAGGTCTAAAGTCGAAGTCATC		92 °C-5 dk 92 °C-1 dk 65 °C-1 dk 72 °C-1 dk
SAP1	F-GCTCTTGCTATTGCTTTATTA	253 bp	72 °C-5 dk
	R- CATCAGGAACCCATAAATCAG		95 °C-5 dk 95 °C-4 dk 49 °C-1 dk 72 °C-1 dk
PLB1	F-ATGATTTTGCATCATTTG	751 bp	72 °C-5 dk
	R-AGTATCTGGAGCTCTAC		94 °C-5 dk 94 °C-1 dk 47 °C-1 dk 72 °C-1 dk

### BULGULAR

Bu çalışmaya, VVK’lı hastaların vajinal sürüntü örneklerinden izole edilen ve moleküler yöntemle tanımlanan 100 *Candida* türü dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen izolatların %57’si (57) *C. albicans*, %26’sı (26) *C. glabrata*, %12’si (12) *C. kefir*, %3’ü (3) *C. krusei* ve %2’si (2) *C. dubliniensis*’i içermektedir.

Çalışmaya dahil edilen *Candida* suşları arasında en yüksek HWP1 gen frekansı *C. krusei*’de (%100) bulunmuş olup, bunu *C. albicans* (%86) izlemiştir. İzole edilen *Candida* suşları arasında ALS1 virülans geninin

varlığı en yüksek oranda *C. albicans* (%75.4), *C. krusei* (%66.7) ve *C. kefir* (%66.7)’de bulunmuştur. SAP1 geninin varlığı en yüksek oranda *C. albicans* (%93) suşlarında saptanmış, bunu %88.5 ile *C. glabrata* izlemiştir. Non-albicans *Candida* (NAC) suşları arasında INT1 gen oranı *C. dubliniensis* (%100) suşlarında en yüksek oranda bulunurken bu oran *C. albicans* suşlarında %86 olarak belirlenmiştir. Son olarak, *Candida* suşları arasında PLB1 virülans geninin varlığı en yüksek oranda *C. kefir*’de (%100) saptanmış olup, bunu %70.2 lik oranla *C. albicans* izlemiştir (Şekil 1).



Şekil 1: Candida suşları arasında virülans genlerinin dağılımı

### TARTIŞMA

*Candida* türlerinin genital sistem mukozasındaki patojenitesi VVK'ya neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar son yıllarda VVK'lı hasta sayısında önemli bir artış olduğunu göstermektedir (15). *C. albicans* türlerinin farklı konaklardaki enfeksiyonunda çeşitli virülans faktörleri önemli rol oynamaktadır. Bu virülans faktörleri arasında maya ve hif formları arasındaki morfolojik geçiş, hücre yüzeyinde adezinlerin ekspresyonu ve invazyon, tigmotropizm, biyofilm oluşumu, fenotipik değişim ve hidrolitik enzimlerin salgılanması yer almaktadır (4).

Adezinler, *C. albicans*'ın inert polimerlere veya insan hücrelerinin yüzeyindeki proteinlere bağlanmasına aracılık eden mantar yüzey molekülleridir (16). Adezin moleküllerini kodlayan genler arasında ALS1, HWP1 ve INT1 gibi genler yer almaktadır (17).

HWP1 geni taşıyan *Candida* türleri vajinal mukozaya yerleşme ve burada kalma yeteneğine sahiptir. Nas ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada VVK'lı olan doğum öncesi ve üreme çağındaki kadınlardan almış olduğu vajinal sürüntü örneklerinden izole edilen suşlardaki HWP1 geninin sırasıyla %60 ve %73'ünde eksprese edildiğini bildirmiştir (18). Perez ve ark., 264 kadın hastadan alınan vajinal sürüntü örneğinde *C. albicans* türünün HWP1 gen sıklığını %75 olarak bulmuşlardır (19). Çalışmamızda adezin genlerinden

biri olan HWP1 geninin sıklığı *C. albicans* suşlarında %86, NAC suşlarının ise %69.8 olarak bulunmuştur.

ALS genleri tarafından kodlanan ALS proteinleri, *C. albicans*'ın hücre yüzeyinde yaygın olarak dağılmakta olup, bu proteinler konak-patojen etkileşiminde önemli bir rol oynamaktadır (20). Roudbarmohammadi ve ark., üreme çağındaki VVK'lı kadınlardan alınan vajinal sürüntü örneklerinde *C. albicans* suşlarının ALS1 gen sıklığını %75 olarak saptamışlardır (21). Başka bir çalışmada *C. albicans* suşlarında ALS1 gen sıklığı %100 olarak bildirilmiştir (22). Çalışmamızda ALS1 geninin sıklığı *C. albicans* izolatlarında %75.4 iken, NAC suşlarında ise bu oran %60.5 olarak saptanmıştır. INT1, *Candida* türlerinin epitel hücrelerine adezyonuna katkıda bulunan virülans genleri arasında önemli bir yere sahiptir. Shrief ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada *C. albicans* suşlarında INT1 gen frekansı %72 olarak bulunmuştur (23). Çalışmamızda INT1 gen frekansı *C. albicans* izolatlarında %82.5, NAC suşlarında ise %67.4 olarak bulunmuştur.

Proteinazlar, kollajen, müsin ve keratin gibi konak epitelyal ve mukozal bariyer proteinlerini bozan önemli bir hidrolitik enzim grubudur. Bu enzimler komplemanların, antikorların, sitokinlerin vb. immün sistem elemanlarının parçalanmasıyla *Candida* mayalarının konak hümmoral ve hüccresel bağışıklığına direnmesine yardımcı olmaktadır (24).

Lian ve Lui, VVK klinik bulgu ve semptomları olan hastalarda yaptıkları çalışmada *C. albicans* suşlarının 16'sının (%75) SAP1 genine sahip olduğunu bildirmişlerdir (25). VVK'lı kadınlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada izole edilen *Candida* türlerinin %98.3'ünde SAP1 geni saptanmıştır (26). Çalışmamızda 57 *C. albicans* izolatından 53 (%93) izolatın ve NAC suşlarından 37 (%86) izolatın SAP1 genini taşıdığı saptanmıştır.

PLB1 genleri *Candida* türlerinin tutunmasında ve invazyonunda gerekli olan, konakçı hücre zarının bozulmasına ve hatta yırtılmasına neden olan virülans genleridir (27). Lotfali ve ark. çalışmalarına dahil ettikleri hastaların vajinal örneklerinden izole edilen *C. albicans* türlerinde PLB1 geni sıklığını %53.3 olarak saptanmıştır (28). Perez ve ark.'nın VVK'lı kadınlar üzerine yaptığı çalışmada ise *C. albicans* türlerinin %100'ünde PLB1 genini saptanmıştır (29). Çalışmamızda PLB1 sıklığı *Candida* türleri arasında farklılık göstermiş olup PLB1 geni sıklığı *C. albicans* suşlarında %70, NAC suşlarında ise %39.53 olarak saptanmıştır.

Çalışmamızın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Bunlar; I. Bu çalışmada *Candida* suşlarının sahip olduğu ALS1, HWP1, INT1, PLB1 ve SAP1 genleri PCR yöntemi ile belirlenmiş olup, gen ekspresyon çalışması yapılmamıştır.

II. Çalışmaya dahil edilen *Candida* suşlarının ALS (1-7, 9), SAP (1-10) ve PLB (1-4) ailelerinde yer alan genlerden sadece bir tanesi üzerinde durulmuştur.

III. Çalışmamızın küçük örneklem boyutuna sahip olması nedeniyle, elde edilen sonuçlar ile ilgili genelleme yapılamamıştır.

*Candida* türlerinin fırsatçı patojene dönüşmesi genellikle vajinal ortamdaki değişikliklere bağlı olarak gerçekleşmektedir. Yapılan son çalışmalar ile VVK gelişiminin patogenezi anlamada önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu çalışmalar *Candida* türlerinin neden olduğu vajinal enfeksiyonların patogenezinin, bazı virülans genlerinin diferansiyel ekspresyonu ile ilişkili olabileceğini bildirmektedir. Yapılan çalışmalarda

virülans genleri daha çok *C. albicans* suşlarında araştırılmış olup NAC suşlarında ise araştırılmamıştır. Çalışmamızda *C. albicans* suşlarında saptanan INT, HWP, PLB, SAP ve ALS genlerinin saptanma oranı diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. NAC suşlarında bulmuş olduğumuz yüksek virülans oranı ise yapılacak olan çalışmalarda bu suşların da göz ardı edilmemesini göstermektedir. Bu çalışmada sunulan sonuçlar VVK enfeksiyonu esnasında INT, HWP, PLB, SAP ve ALS genlerinin eksprese edildiğini göstermektedir, bu da virülans genlerinin farklı kombinasyonlarının *Candida* suşlarının vajinaya tutunmasına ve VVK enfeksiyonuna katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, virülans genlerinin moleküler mekanizmasını ve bunların enfeksiyon bölgesine katkısını karakterize etmek için daha fazla numuneyi içeren ileri düzey çalışmalar yapılması kanaatindeyiz.

**Çıkar Çatışması Beyanı:** Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**Katkı Oranı Beyanı:** Anafikir/Planlama: ST, İHK, EGM.; Analiz/Yorum: ST, İHK, EGM, FB; Veri Sağlama: JEH, FET; Yazım: ST, EGM, FB; Gözden Geçirme ve Düzeltme: İHK, JEH, FET; Onaylama: ST, İHK.

**Destek / Teşekkür Beyanı:** Çalışmada hiçbir kurum ya da kişiden finansal destek alınmamıştır.

**Etik Kurul Onamı:** KTO Karatay Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (Sayı: E-41901325-200-50504, Tarih: 30.12.2022).

## KAYNAKLAR

1. Gonçaves SS, Souza, ACR, Chowdhary A, Meis JF, Colombo AL. Epidemiology and molecular mechanisms of antifungal resistance in *Candida* and *Aspergillus*. *Mycoses*. 2016;59(4):198-219.
2. Ferrer J. Vaginal candidosis: Epidemiological and etiological factors. *Int J Gynaecol Obstet*. 2000;71(1):21-7.



3. Achkar JM, Fries BC. Candida infections of the genitourinary tract. Clin Microbiol Rev. 2010;23(2):253-73.
4. Gauwerky K, Borelli C, Korting HC. Targeting virulence: A new paradigm for antifungals. Drug Discov Today. 2009;14(3):214-22
5. Hoyer LL, Green CB, Oh SH, Zhao X. Discovering the secrets of the Candida albicans agglutinin-like sequence (ALS) gene family-a sticky pursuit. Med Mycol. 2008;46(1):1-15.
6. Czechowicz P, Nowicka J, Gościński G. Virulence factors of candida spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. Int. J. Mol. Sci. 2022;23(11):5895.
7. Dekkers BGJ, Veringa A, Marriott DJE, Boonstra JM, van der Elst KCM, Doukas FF, et al. Invasive candidiasis in the elderly: Considerations for drug therapy. Drugs aging. 2018;35(9):781-89.
8. Rodríguez-Cerdeira C, Gregorio MC, Molares-Vila A, López-Barcenas A, Fabbrocini G, Bardhi B, et al. Biofilms and vulvovaginal candidiasis. Colloids Surf. Biointerfaces. 2019;174(1):110-25.
9. Asleson CM, Bensen ES, Gale CA, Melms AS, Kurischko C, Berman J. Candida albicans INT1-induced filamentation in Saccharomyces cerevisiae depends on Sla2p. Mol Cell Biol. 2001;21(4):1272-84.
10. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis: Biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiol Rev. 2011;36(2):288-305.
11. Sikora M, Dabkowska M, Swoboda-Kopec E, Jarzynka S, Netsvyetayeva I, Jaworska-Zaremba M, et al. Differences in proteolytic activity and gene profiles of fungal strains isolated from the total parenteral nutrition patients. Folia Microbiol. 2011;56(2):143-48.
12. Staniszewska M, Bondaryk M, Siennicka K, Piłat J, Schaller M, Kurzatkowski W. Role of aspartic proteinases in Candida albicans virulence. Substrate specificity of Aspartic proteinases and Candida albicans pathogenesis. Postep. Mikrobiol. 2012;51(2):236.
13. Tellapragada C, Eshwara VK, Johar R, Shaw T, Malik N, Bhat PV, et al. Antifungal susceptibility patterns, in vitro production of virulence factors, and evaluation of diagnostic modalities for the speciation of pathogenic candida from blood stream infections and vulvovaginal candidiasis. J. Pathog. 2014;2014(1):142864.
14. Tokak S, Kılıç İH, Horasanlı JE, Mutlu EG, Taşbent FE, Karagöz ID. Vaginal candidiasis in Konya area: Etiology, risk factors, virulence patterns, and antifungal susceptibility. Rev Romana Med Lab. 2021;29(2):201-15.
15. Romani L, Bistoni F, Puccetti P. Adaptation of Candida albicans to the host environment: The role of morphogenesis in virulence and survival in mammalian hosts. Curr Opin Microbiol. 2003;6(4):338-43.
16. Cannon RD, Chaffin WL. Oral colonization by Candida albicans. Crit Rev Oral Biol Med. 1999;10(3):359-83.
17. Tri W. The role of virulence factors in Candida albicans pathogenicity. J Med Sci. 2016;48(1):58-68.
18. Nas T, Kalkancı A, Fidan I, Hizel K, Bolat S, Yolbakan S, et al. Expression of ALS1, HWP1 and SAP4 genes in Candida albicans strains isolated from women with vaginitis. Folia Microbiol (Praha). 2008;53(2):179-83.
19. Monroy-Pérez E, Paniagua-Contreras G, Vaca-Paniagua F, Negrete-Abascal E, Vaca S. SAP expression in candida albicans strains isolated from mexican patients with vaginal candidosis. Int J Clin Med. 2013;4(1):25-31.
20. Hoyer LL, Clevenger J, Hecht JE, Ehrhart EJ, Poulet FM. Detection of Als proteins on the cell wall of Candida albicans in murine tissues. Infect Immun. 1999;67(8):4251-5.
21. Roudbarmohammadi S, Roudbary M, Bakhshi B, Katirae F, Mohammadi R, Falahati M. ALS1 and

- ALS3 gene expression and biofilm formation in *Candida albicans* isolated from vulvovaginal candidiasis. *Adv Biomed Res.* 2016;5(1):105.
22. Monroy-Pérez E, Sáinz-Espuñes T, Paniagua-Contreras G, Negrete-Abascal E, Rodríguez-Moctezuma JR, Vaca S. Frequency and expression of ALS and HWP1 genotypes in *Candida albicans* strains isolated from Mexican patients suffering from vaginal candidosis. *Mycoses.* 2012;55(3):e151-e157.
23. Shrief R, Zaki MES, el-Sehsah EM, Ghaleb S, Mofreh M. Study of antifungal susceptibility, virulence genes and biofilm formation in *Candida albicans*. *Open Microbiol J.* 2019;13(1):241-8.
24. Borst A, Fluit AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. *J Med Microbiol.* 2003;52(11):971-74.
25. Lian CH, Liu WD. Differential expression of *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase in human vulvovaginal candidiasis. *Mycoses.* 2007;50(5):383-90.
26. Bassyouni RH, Wegdan AA, Abdelmoneim A, Said W, AboElnaga F. Phospholipase and aspartyl proteinase activities of *Candida* species causing vulvovaginal candidiasis in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2015;25(10):1734-41.
27. De Luca C, Guglielminetti M, Ferrario A, Clabro M, Casari E. Candidemia: Species involved, virulence factors and antimycotic susceptibility. *New Microbiol.* 2012;35(4):459-68.
28. Lotfali E, Fattahi A, Noorbakhsh F, Ansari S, Ghasemi R, Rabiei MM. Alternation of HWP1 and PLB1 mRNA expression level in progression of *Candida albicans* in different anatomical sites. *Arch Clin Infect Dis.* 2019;14(6):e91258.
29. Monroy-Pérez E, Paniagua-Contreras GL, Rodríguez-Purata P, Vaca-Paniagua F, Vázquez-Villaseñor M, Díaz-Velásquez C, et al. High virulence and antifungal resistance in clinical strains of *Candida albicans*. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2016;2016(1):5930489.