

Atendendo a solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta tese/dissertação
será disponibilizado somente a partir de
05/08/2023.

At the author's request, the full text of
this thesis/dissertation will not be
available until Aug 05, 2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

JULIANA CAPARROZ GONÇALE

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DAS FORMULAÇÕES LIPOSSOMAL
E DESOXICOLATO DE ANFOTERICINA B SOBRE ESPÉCIES DE
Candida: estudo *in vitro* e *in vivo* em *Galleria mellonella***

2022

JULIANA CAPARROZ GONÇALE

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DAS FORMULAÇÕES LIPOSSOMAL E
DESOXICOLATO DE ANFOTERICINA B SOBRE ESPÉCIES DE *Candida*: estudo
in vitro e *in vivo* em *Galleria mellonella***

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Microbiologia / Imunologia . Linha de pesquisa: Agentes antimicrobianos e métodos de controle para infecção de interesse médico-odontológico.

Orientadora: Profa. Assoc. Juliana Campos Junqueira
Coorientadora: Dra. Lívia Mara Alves Figueiredo Godoi

São José dos Campos

2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2022]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Gonçale, Juliana Caparroz

Avaliação da eficácia das formulações lipossomal e desoxicolato de anfotericina B sobre espécies de Candida: estudo in vitro e in vivo em *Galleria mellonella* / Juliana Caparroz Gonçale. - São José dos Campos : [s.n.], 2022.

67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Aplicada à Odontologia - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.

Orientador: Juliana Campos Junqueira

Coorientador: Lívia Mara Alves Figueiredo-godoi

1. Anfotericina B. 2. Anfotericina B lipossomal. 3. Anfotericina B desoxicolato . 4. Candida. 5. Biofilme. I. Junqueira, Juliana Campos, orient. II. Figueiredo-godoi, Lívia Mara Alves, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Juliana Campos Junqueira (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciências e Tecnologia

Campus São José dos Campos

Dra. Junya de Lacorte Singulani

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Biológicas

Campus Belo Horizonte

Profa. Assoc. Luciane Dias de Oliveira

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciências e Tecnologia

Campus São José dos Campos

São José dos Campos, 05 de agosto de 2022.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos (UNESP) e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal (CASB), pela oportunidade e suporte para o desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de Mestrado no período de 01/06/2020 a 31/07/2021 e 01/03/2022 a 31/07/2022.

À minha orientadora, Profa. Assoc. Juliana Campos Junqueira, agradeço a paciência, apoio e confiança. Sua competência e organização, foram essenciais na minha formação. A minha eterna gratidão, respeito e admiração.

À minha coorientadora, Dra. Lívia Mara Alves Figueiredo Godoi, por estar ao meu lado, contribuindo para o meu desenvolvimento profissional e pessoal. Sua competência, clareza e dedicação me deram a certeza de que tudo daria certo.

Aos membros da banca, que disponibilizaram o seu tempo e conhecimento para a leitura desta dissertação, e por toda contribuição para melhora da qualidade deste trabalho.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal, especialmente a Profa. Assoc. Luciane Dias de Oliveira, pela recepção e incentivo no início desta jornada.

A Profa. Dra. Lílina Scorzoni por sua colaboração orientação e disponibilidade para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Assoc. Cláudio Antonio Talge Carvalho, Lucas Nakashima e Marina Tiburcio, pela oportunidade de lecionar no projeto de extensão “Prevest - Cursinho Pré-vestibular da Unesp”.

À Professora Marianne Spalding, pelo aprendizado, durante a organização e desenvolvimento de atividades no projeto de extensão “Inverno na Universidade”.

A toda minha família que de alguma forma contribuiu para a realização deste trabalho. Especialmente meu esposo Ivandilson e minha filha Júlia, pois sem eles eu jamais teria chegado até aqui.

Às minhas Professoras de graduação Khesler Patrícia Olázia Name e Nadia Cristina Lima, por fazerem parte da minha jornada acadêmica e por vibrarem com minhas conquistas. Obrigada pelo carinho.

À minha amiga Pâmela Beatriz, pelo apoio, disponibilidade e amizade. Minha eterna gratidão.

Ao Dr. Felipe de Camargo Ribeiro, pela atenção, disponibilidade e profissionalismos ao responder todas as minhas dúvidas após as aulas ministradas.

Aos meus amigos de laboratório, Evelyn, Máira, Paulo, Patrícia, Gabriela, Amanda, Letícia, Lilian, Amanda Siqueira, Maria Fernanda, Rafael, Fernanda, Lara, Milena e Eric. Fazer parte deste grupo de pesquisa foi a realização de um sonho. Obrigada pelo ambiente acolhedor, carinho e colaboração.

Às minhas amigas do LANA Thaís Cristine, Sabrina Liberato, Vanessa Mecatti e Ellen Bessa pela disposição em colaborar, compartilhando conhecimento e também pelos momentos de descontração.

A todos os funcionários do ICT-Unesp que colaboraram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos, que fazem parte da minha vida fora da pesquisa, mas que foram apoio imprescindível nesta importante etapa, muito obrigada!

RESUMO

Gonçale JC. Avaliação da eficácia das formulações lipossomal e desoxicolato de anfotericina B sobre espécies de *Candida*: estudo *in vitro* e *in vivo* em *Galleria mellonella* [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022.

Anfotericina B pertence a primeira classe (polienos) de medicamentos antifúngicos introduzidos no mercado. O amplo espectro de ação e a baixa taxa de resistência microbiana, definiram a anfotericina B como tratamento de escolha para as infecções graves por *Candida* spp. Porém, os efeitos colaterais causados pela sua toxicidade impulsionaram o desenvolvimento de novas formulações a base de lipídios. Assim, o objetivo desse estudo foi comparar os efeitos antifúngicos da formulação lipossomal da anfotericina B (AmB-L) com a formulação convencional de anfotericina B desoxicolato (AmB-D). Para isso a atividade antifúngica foi testada sobre diferentes espécies de *Candida*, incluindo *Candida albicans* (cepa clínica 70), *Candida glabrata* (cepa clínica 64), *Candida tropicalis* (cepa clínica 11) e *Candida parapsilosis* (cepa ATCC 90018), utilizando-se métodos de estudo *in vitro* e *in vivo*. Em estudo *in vitro*, foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) em células planctônicas por meio do método de microdiluição em caldo. A seguir, concentrações de 10x, 20x e 50x a CIM foram testadas sobre os biofilmes de *Candida*, verificando-se seus efeitos pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC). Para o estudo *in vivo*, foi utilizado o modelo invertebrado *Galleria mellonella*. Os animais foram infectados por *Candida* e tratados com as formulações de anfotericina B, então foram monitorados diariamente para determinação da curva de sobrevivência e índice de saúde. Os resultados dos testes *in vitro* demonstraram atividade antifúngica semelhante entre AmB-L e AmB-D em crescimento planctônico. Ambas as formulações apresentaram valores de CIM de 0,5 µg/mL para *C. albicans* e *C. parapsilosis*, e de 1 µg/mL para *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Nos biofilmes, AmB-D apresentou maior atividade inibitória em relação à AmB-L, para todas as cepas de *Candida* estudadas. Nos testes *in vivo*, o tratamento com AmB-L ou AmB-D aumentou a sobrevivência e índice de saúde das larvas infectadas por *Candida*, sendo observada maior eficácia da formulação AmB-D em relação à AmB-L. Portanto, concluiu-se que AmB-L e AmB-D apresentam a mesma efetividade sobre células planctônicas, mas AmB-D mostrou maior ação antifúngica sobre biofilmes e infecção experimental no modelo *G. mellonella*.

Palavras-chave: anfotericina B; anfotericina B lipossomal; anfotericina B desoxicolato; *Candida*; biofilme.

ABSTRACT

Gonçale JC. Evaluation of the efficacy of liposomal and deoxycholate amphotericin B formulations on Candida species: *in vitro* and *in vivo* study in Galleria mellonella [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2022.

Amphotericin B belongs to the first class (polyenes) of antifungal drugs introduced commercially. The broad spectrum of action and the low rate of microbial resistance have defined amphotericin B as the treatment of choice for serious infections by Candida spp. However, the side effects caused by toxicity stimulated the development of new formulations based on lipids. Thus, the aim of this study was to compare the antifungal effects of the liposomal amphotericin B formulation (AmB-L) with the conventional formulation deoxycholate amphotericin B (AmB-D). For this, the antifungal activity was tested on different Candida species, including Candida albicans (clinical strain 70), Candida glabrata (clinical strain 64), Candida tropicalis (clinical strain 11) and Candida parapsilosis (ATCC strain 90018), using *in vitro* and *in vivo* study methods. In *in vitro* tests, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using the broth microdilution method. Next, concentrations of 10x, 20x and 50x the MIC were tested on Candida biofilms, verifying their effects by counting colony-forming units (CFU). For the *in vivo* study, the Galleria mellonella invertebrate model was used. The animals were infected with Candida and treated with amphotericin B formulations, then monitored daily to determine the survival curves and health index score. The results of *in vitro* tests demonstrated similar antifungal activity between AmB-L and AmB-D in planktonic cells. Both formulations showed MIC values of 0.5 µg/mL for C. albicans and C. parapsilosis, and 1 µg/mL for C. glabrata and C. tropicalis. In biofilms, AmB-D showed greater inhibitory activity in relation to AmB-L for all Candida strains studied. In *in vivo* tests, the treatment with AmB-L or AmB-D increased the survival and health index of larvae infected by Candida, with greater efficacy for the AmB-D formulation in relation to AmB-L. Therefore, it was concluded that AmB-L and AmB-D have the same effectiveness on planktonic cells, but AmB-D showed greater antifungal action on biofilms and experimental infection in the G. mellonella model.

Keywords: amphotericin B; liposomal amphotericin B; deoxycholate amphotericin B; Candida; biofilm.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Gênero <i>Candida</i>	14
2.2 Biofilme	16
2.3 Antifúngicos	18
2.4 <i>Galleria mellonella</i>	20
3 PROPOSIÇÃO	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Cepas e condições de cultivo	24
4.2 Antifúngicos	24
4.3 Suscetibilidade antifúngica <i>in vitro</i> das células planctônicas	25
4.4 Estudo <i>in vitro</i> em biofilme	26
4.4.1 Formação dos biofilmes de <i>Candida</i>	26
4.4.2 Tratamento dos biofilmes com AmB-L e AmB-D	27
4.4.3 Contagem das células viáveis de <i>Candida</i>	27
4.5 Estudo <i>in vivo</i> em <i>G. mellonella</i>	27
4.5.1 Preparo das larvas de <i>G. mellonella</i>	28
4.5.2 Ensaio de susceptibilidade de <i>G. mellonella</i> à infecção por <i>Candida</i> spp.	28
4.5.3 Ensaio de toxicidade de AmB-L e AmB-D L em <i>G. mellonella</i>	29
4.5.4 Tratamento das larvas de <i>G. mellonella</i> com AmB-L e AmB-D.	29
4.5.5 Determinação da curva de sobrevivência de <i>G. mellonella</i> após o tratamento com AmB-L e AmB-D	30
4.5.6 Análise do índice de saúde das larvas de <i>G. mellonella</i> após o tratamento das infecções por <i>Candida</i> spp. com AmB-L e AmB-D.	30
4.6 Análise estatística	31
5 RESULTADO	32
5.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima em células planctônicas	32

5.2 Comparação da atividade antifúngica de AmB-L e AmB-D sobre os biofilmes de <i>Candida</i> spp.	33
5.3 Ensaio de susceptibilidade de <i>G. mellonella</i> à infecção por <i>Candida</i> spp.	37
5.4 Ensaio de toxicidade de AmB-L e AmB-D em <i>G. mellonella</i>	40
5.5 Curva de sobrevivência de <i>G. mellonella</i> após o tratamento da infecção por <i>Candida</i> com AmB-L e AmB-D	40
5.6 Índice de saúde de <i>G. mellonella</i> após o tratamento da infecção por <i>Candida</i> com AmB-L e AmB-D	44
6 DISCUSSÃO	53
7 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

O corpo humano apresenta microbiota residente composta por diversos microrganismos, incluindo bactérias e fungos. O gênero *Candida* é composto por fungos comensais presentes na pele, mucosa oral, vaginal e gastrointestinal. No estado de deficiência do sistema imune ou desequilíbrio da microbiota residente, podem causar candidoses, sendo então considerados patógenos oportunistas (Köhler et al., 2017; Wall et al., 2019).

Dentro do gênero, *Candida albicans* é a espécie mais comum, porém espécies não *albicans* como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida dubliniensis*, também são apontadas como causa de infecções (Doi et al., 2016). Em 2009, *Candida auris* foi identificada como uma nova espécie do gênero (Satoh et al., 2019) e tem sido associada com doenças invasivas de considerável importância em ambientes hospitalares, principalmente por apresentarem mecanismos de resistência a várias classes de antifúngicos (Larkin et al., 2017).

Os grupos com maior suscetibilidade às infecções por *Candida* (candidoses) são compostos por indivíduos com sistema imunológico debilitado por infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e pacientes submetidos à transplantes de órgãos, tratamento quimioterápico para neoplasias ou terapia prolongada com antibióticos de largo espectro (Sroussi et al., 2017). Outro fator que pode favorecer o desenvolvimento das candidoses é o uso de dispositivos médicos-odontológicos, como próteses dentárias, cateteres venosos e sondas endotraqueais. (Pellon et al., 2020).

Para causar infecção no hospedeiro, o gênero *Candida* dispõe de mecanismos de patogenicidade que aumentam o seu potencial de colonização, invasão tecidual e evasão do sistema imune. Entre esses, os principais são: capacidade de aderência, dimorfismo, produção de enzimas proteolíticas e formação de biofilme. O processo que determina a transição de estado comensal inofensivo para fungo patogênico é multifatorial e está ligado à capacidade do gênero em se adaptar as diferentes condições impostas pelo organismo do hospedeiro (Brown et al., 2014; Vila et al., 2020).

Ao formar tubos germinativos, as células de *Candida* passam da forma leveduriforme para forma filamentosa, aumentando sua capacidade de fixação e nutrição. Após a mudança morfológica, as células fúngicas aderem-se firmemente às superfícies bióticas ou abióticas, formando um biofilme, o qual oferece maior resistência aos tratamentos antifúngicos e evasão do sistema imune. O biofilme é considerado a forma de crescimento mais prevalente e está frequentemente associado as infecções sistêmicas consideradas mais agressivas (Alim et al., 2018).

O tratamento das infecções causadas por *Candida* apresentam algumas limitações. Uma das dificuldades no tratamento das infecções fúngicas se devem às semelhanças bioquímicas e fisiológicas existentes entre as células do fungo e do hospedeiro. Esta característica torna a dose de antifúngico tóxica as células do hospedeiro, resultando em número limitado de fármacos disponíveis. Além desse fator, os mecanismos de resistência desenvolvidos por espécies de *Candida* podem tornar os tratamentos existentes ineficazes (Rojas et al., 2020). Assim, as espécies de *Candida* constituem um dos fungos patogênicos mais estudados em todo o mundo (Rodrigues, Albuquerque 2020; Wall et al., 2020).

As principais classes de antifúngicos disponíveis para uso em humanos são: polienos, azóis e equinocandinas. A classe dos polienos, representada pela anfotericina B, age principalmente ligando-se ao ergosterol, um componente da membrana citoplasmática fúngica. Essa ligação aumenta a permeabilidade, comprometendo a integridade da célula e levando à lise celular (Gray et al., 2012). A classe dos azóis atua impedindo a biossíntese do ergosterol e apresenta menor toxicidade do que os polienos, porém possui alta taxa de resistência microbiana. As equinocandinas representam a classe mais recente de antifúngicos e atuam na inibição da síntese de β -(1,3) glucanas, presente na parede celular dos fungos. As equinocandinas possuem ampla atividade fungicida e baixa toxicidade, mas atualmente já existem cepas de *Candida* que desenvolveram resistência à essa classe de antifúngicos (Pais et al., 2019; Revie et al., 2018).

A anfotericina B foi descoberta no ano de 1956, e está comercialmente disponível para o uso como antifúngico desde 1965. Desde então, é considerada como tratamento de escolha para infecções fúngicas invasivas graves, pois apresenta amplo espectro de ação e baixa taxa de resistência microbiana (Cavassin et al., 2021). A primeira formulação de anfotericina B desoxicolato (AmB-D), aprovada pela *Food*

and Drug Administration (FDA) é conhecida comercialmente como Fungisone®. Nesta formulação, a anfotericina B está associada ao desoxicolato de sódio, que possui a função de promover a solubilidade da droga em solução aquosa, facilitando a ligação da parte hidrofóbica do fármaco ao ergosterol. Porém, esta afinidade não é específica, e pode ocorrer entre o fármaco e o colesterol, presente em células de mamíferos, causando toxicidade. Diante desta desvantagem, houve o interesse no desenvolvimento de novas formulações, buscando-se melhorar a eficácia e a segurança do tratamento com anfotericina B (Wall, Lopez-Ribot, 2020).

Então, na década de 1990, foram desenvolvidas novas formulações a base de lipídios, entre elas a anfotericina B lipossomal (AmB-L) registrada comercialmente como AmBisome®. Sua principal característica é a estabilidade físico-química proporcionada pela presença de colesterol em sua fórmula. A complexa estrutura formada por anfotericina B em lipossomas é capaz de atravessar a parede celular fúngica. Isso permite que a anfotericina B seja liberada diretamente na membrana celular do fungo, diminuindo a ligação ao colesterol e conseqüentemente causando menor toxicidade (Groll et al., 2019).

As diferenças entre as formulações de anfotericina B não se limitam apenas a toxicidade, mas também ao tempo de liberação nos tecidos do hospedeiro, o que pode influenciar no tratamento das infecções ligadas a formação do biofilme (Dorocka-Bobkowska et al., 2009). Deste modo, para comparar a eficácia das formulações é necessário testar seus efeitos em diferentes condições de crescimento fúngico, tanto em estudos *in vitro*, como *in vivo*.

Os testes *in vitro* de susceptibilidade das células planctônicas são conduzidos por normativas globais que descrevem metodologias e interpretação precisa dos seus resultados (Berkow et al., 2020; Rex et al., 1996). Porém, o mesmo não acontece com os testes de biofilmes (Soldini et al., 2018). Levando em consideração as implicações do biofilme nas infecções fúngicas, estabelecer metodologias de avaliação pode ser útil para a escolha da formulação adequada e o direcionamento da dose eficaz, uma vez que os biofilmes são mais resistentes aos antifúngicos (Rodrigues, Henriques 2017).

O modelo *in vivo* *Galleria mellonella*, tem sido amplamente utilizado para testes de eficácia de agentes antimicrobianos. Esses animais contam com a presença de seis tipos de células fagocitárias que podem ser monitoradas durante a infecção,

fornecendo parâmetros de resposta imunológica. Além disso, são de fácil manuseio e apresentam tamanho adequado para inoculação de doses exatas, tanto de patógenos quanto de fármacos (Scorzoni et al., 2013). Por todas estas qualidades, *G. mellonella* tornou-se uma opção viável para o estudo de fungos e comparações entre diferentes terapias (Jorjão et al., 2018).

Diante do exposto, esse trabalho teve por objetivo comparar a eficácia antifúngica das formulações de AmB-L e AmB-D sobre *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, investigando seus efeitos em células planctônicas, biofilmes e modelo hospedeiro de *G. mellonella*.

7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos concluiu-se que:

- a) As formulações AmB-L e AmB-D apresentaram valores semelhantes de concentração inibitória mínima, sendo 0,5 µg/mL para *C. parapsilosis* e *C. albicans*, e de 1 µg/mL para *C. glabrata* e *C. tropicalis*;
- b) A formulação AmB-D apresentou maior ação inibitória sobre os biofilmes de *Candida* do que a AmB-L para todas as cepas fúngicas estudadas;
- c) O tratamento com AmB-L ou AmB-D aumentou a sobrevivência e índice de saúde das larvas infectadas por *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Ao comparar as formulações de anfotericina B estudadas, AmB-D demonstrou maior eficácia *in vivo* do que AmB-L.

REFERÊNCIAS

- Adler-Moore J, Lewis RE, Brüggemann RJM, Rijnders BJA, Groll AH, Walsh TJ. Preclinical Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Antifungal Activity of Liposomal Amphotericin B. *Clin Infect Dis*. 2019;68(Suppl4): S244–59. doi: 10.1093/cid/ciz064. PMID: 31222254.
- Adler-Moore JP, Gangneux JP, Pappas PG. Comparison between liposomal formulations of amphotericin B. *Med Mycol*. 2016;54(3):223–31. doi: 10.1093/mmy/myv111. PMID: 26768369.
- Alim D, Sircaik S, Panwar SL. The significance of lipids to biofilm formation in *Candida albicans*: An emerging perspective. *J Fungi (Basel)*. 2018 Dec 18;4(4):140. doi: 10.3390/jof4040140. PMID: 30567300; PMCID: PMC6308932.
- Almshawit H, Macreadie I, Grando D. A simple and inexpensive device for biofilm analysis. *J Microbiol Methods*. 2014;98(1):59–63. doi: 10.1016/j.mimet.2013.12.020. PMID: 24389040.
- Álvarez-Lerma F, Palomar M, León C, Olaechea P, Cerdá E, Bermejo B. Colonización y/o infección por hongos en unidades de cuidados intensivos. Estudio multicéntrico de 1.562 pacientes. *Med Clin (Barc)*. 2003;121(5):161–6. doi: 10.1016/s0025-7753(03)73891-3.
- Ames L, Duxbury S, Pawlowska B, Ho H, Haynes K, Bates S. *Galleria mellonella* as a host model to study *Candida glabrata* virulence and antifungal efficacy. *Virulence*. 2017;8(8):1909–17.
- Arastehfar A, Carvalho A, Hong Nguyen M, Hedayati MT, Netea MG, Perlin DS, et al. Covid-19-associated candidiasis (Cac): An underestimated complication in the absence of immunological predispositions? *J Fungi*. 2020;6(4):1–13. doi: 10.3390/jof6040211. PMID: 33050019.
- Banville N, Browne N, Kavanagh K. Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection. *Virulence*. 2012;3(6):497–503. doi: 10.4161/viru.21972. PMID: 23076277.
- Berkow EL, Lockhart SR, Ostrosky-Zeichner L. Antifungal susceptibility testing: Current approaches. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(3):1–30. doi: 10.1128/CMR.00069-19. PMID: 32349998.
- Binder U, Arastehfar A, Schnegg L, Hörtnagl C, Hilmioğlu-Polat S, Perlin DS, et al. Efficacy of lamb against emerging azole-and multidrug-resistant *Candida parapsilosis*

isolates in the *Galleria mellonella* model. J Fungi. 2020;6(4):1–11. doi: 10.3390/jof6040377.

Brown AJP, Brown GD, Netea MG, Gow NAR. Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. Trends Microbiol. 2014;22(11):614–22. doi: 10.1016/j.tim.2014.07.001. PMID: 25088819.

Casagrande Pierantoni D, Roscini L, Corte L, Bernardo M, Bassetti M, Tascini C, et al. Qualitative and quantitative change of the tolerance to liposomal amphotericin B triggered by biofilm maturation in *Candida parapsilosis*. Med Mycol. 2021;58(6):827–34. doi: 10.1093/MMY/MYZ113. PMID: 31758171.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI M27-A3(28): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Wayne, PA: 2008. 13p.

Cutuli MA, Petronio G, Vergalito F, Magnifico I, Pietrangelo L, Venditti N, et al. *Galleria mellonella* as a consolidated *in vivo* model hosts: New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. Virulence. 2019;10(1):527–41. doi: 10.1080/21505594.2019.1621649. PMID: 31142220.

Cavassin FB, Baú-Carneiro JL, Vilas-Boas RR, Queiroz-Telles F. Sixty years of Amphotericin B: AN OVERVIEW OF THE MAIN ANTIFUNGAL AGENT USED TO TREAT INVASIVE FUNGAL INFECTIONS. Infect Dis Ther. 2021;10(1):115–47. doi: 10.1007/s40121-020-00382-7.

Chang YL, Yu SJ, Heitman J, Wellington M, Chen YL. New facets of antifungal therapy. Virulence. 2017;8(2):222–36. doi: 10.1080/21505594.2016.1257457. PMID: 27820668.

Chandra J, Mukherjee PK. *Candida* Biofilms: Development, Architecture, and Resistance. Microbiol Spectr. 2015 Aug;3(4):10.1128/microbiolspec.MB-0020-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.MB-0020-2015. PMID: 26350306; PMCID: PMC4566167.

Ciurea CN, Santini A, Mare AD, Kosovski IB, Toma F, Vintila C, et al. *Candida* spp . in lower respiratory tract secretions – A ten years retrospective study. J Crit Care Med. 2021;7(3):217–26. doi: 10.2478/jccm-2021-0016.

Costa-Orlandi CB, Sardi JCO, Pitanguí NS, de Oliveira HC, Scorzoni L, Galeane MC, et al. Fungal biofilms and polymicrobial diseases. J Fungi. 2017;3(2):1–24. doi: 10.3390/jof3020022.

Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K. *Candida albicans* Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control – An update. Microb Pathog. 2018;117(February):128–38. doi: 10.1016/j.micpath.2018.02.028. PMID: 29454824.

- de Barros PP, Rossoni RD, De Camargo Ribeiro F, Junqueira JC, Jorge AOC. Temporal Profile of Biofilm Formation, Gene Expression and Virulence Analysis in *Candida albicans* Strains. *Mycopathologia*. 2017;182(3–4):285–95. doi: 10.1007/s11046-016-0088-2. PMID: 27830437.
- de Barros PP, Rossoni RD, Freire F, Ribeiro F de C, Lopes LA das C, Junqueira JC, et al. *Candida tropicalis* affects the virulence profile of *Candida albicans*: an *in vitro* and *in vivo* study. *Pathog Dis*. 2018;76(2):1–9. doi: 10.1093/femspd/fty014. PMID: 29617858.
- Doi AM, Pignatari ACC, Edmond MB, Marra AR, Camargo LFA, Siqueira RA, et al. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian national surveillance program. *PLoS One*. 2016;11(1):1–9. doi: 10.1371/journal.pone.0146909. PMID: 26808778.
- Dorocka-Bobkowska B, Düzgüneş N, Konopka K. AmBisome and amphotericin B inhibit the initial adherence of *Candida albicans* to human epithelial cell lines, but do not cause yeast detachment. *Med Sci Monit*. 2009;15(9):262–9. PMID: 19721394.
- Gómez-Molero E, De-La-pinta I, Fernández-Pereira J, Groß U, Weig M, Quindós G, et al. *Candida parapsilosis* colony morphotype forecasts biofilm formation of clinical isolates. *J Fungi*. 2021;7(1):1–12. doi: 10.3390/jof7010033.
- Grazziotin LR, Moreira LB, Ferreira MAP. Comparative effectiveness and safety between amphotericin B lipidformulations: A systematic review. *Int J Technol Assess Health Care*. 2018;34(3):343–51. doi: 10.1017/S026646231800034X. PMID: 29897025.
- Gil-Bona A, Llama-Palacios A, Parra CM, Vivanco F, Nombela C, Monteoliva L, et al. Proteomics unravels extracellular vesicles as carriers of classical cytoplasmic proteins in *Candida albicans*. *J Proteome Res*. 2015;14(1):142–53. doi: 10.1021/pr5007944.
- Gonçalves B, Fernandes L, Henriques M, Silva S. Environmental pH modulates biofilm formation and matrix composition in *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Biofouling*. 2020;36(5):621–30. doi: 10.1080/08927014.2020.1793963. PMID: 32674601.
- Gray KC, Palacios DS, Dailey I, Endo MM, Uno BE, Wilcock BC, et al. Amphotericin primarily kills yeast by simply binding ergosterol. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(7):2234–9. doi: 10.1073/pnas.1117280109. PMID: 22308411.
- Groll AH, Rijnders BJA, Walsh TJ, Adler-Moore J, Lewis RE, Brüggemann RJM. Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Safety and Efficacy of Liposomal Amphotericin B. *Clin Infect Dis*. 2019;68(Suppl 4): S260–74. doi: 10.1093/cid/ciz076. PMID: 31222253.

Herrada J, Gamal A, Long L, Sanchez SP, McCormick TS, Ghannoum MA. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of AmBisome compared to conventional amphotericin B and fluconazole against *Candida auris*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021;65(6):1–4. doi: 10.1128/AAC.00306-21. PMID: 33846131.

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. doi: 10.1080/13693780701435317. PMID: 17852717.

Hull CM, Parker JE, Bader O, Weig M, Gross U, Warrilow AGS, et al. Facultative sterol uptake in an ergosterol-deficient clinical isolate of *candida glabrata* harboring a missense mutation in ERG11 and exhibiting cross-resistance to azoles and amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(8):4223–32. doi: 10.1128/AAC.06253-11. PMID: 22615281.

Jensen RH, Astvad KMT, Silva LV, Sanglard D, Jørgensen R, Nielsen KF, et al. Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance *in vivo* in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(9):2551–5. doi: 10.1093/jac/dkv140. PMID: 26017038.

Jemel S, Guillot J, Kallel K, Botterel F, Dannaoui E. *Galleria mellonella* for the Evaluation of Antifungal Efficacy against Medically Important Fungi, a Narrative Review. *Microorganisms*. 2020 Mar 11;8(3):390. doi: 10.3390/microorganisms8030390. PMID: 32168839; PMCID: PMC7142887.

Jorjão AL, Oliveira LD, Scorzoni L, Figueiredo-Godoi LMA, Prata MCA, Jorge AOC, et al. From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for *in vivo* microbiological studies. *Virulence*. 2018;9(1):383–9. doi: 10.1080/21505594.2017.1397871.

Junqueira JC, Vilela SF, Rossoni RD, Barbosa JO, Costa AC, Rasteiro VMC, et al. Oral colonization by yeasts in HIV-positive patients in Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2012 Jan-Feb;54(1):17-24.

Köhler JR, Hube B, Puccia R, Casadevall A, Perfect JR. Fungi that infect humans. *The Fungal Kingdom*. 2017(4):813–43. doi: 10.1128/9781555819583.ch39.

Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: Unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(6):1773–80. doi: 10.1128/AAC.46.6.1773-1780.2002. PMID: 12019089.

Larkin E, Hager C, Chandra J, Mukherjee PK, Retuerto M, Salem I, et al. The emerging pathogen *Candida auris*: Growth phenotype, virulence factors, activity of antifungals, and effect of SCY-078, a novel glucan synthesis inhibitor, on growth

morphology and biofilm formation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(5):1–13. doi: 10.1128/AAC.02396-16. PMID: 28223375.

Li DD, Deng L, Hu GH, Zhao LX, Hu DD, Jiang YY, et al. Using *Galleria mellonella-candida albicans* infection model to evaluate antifungal agents. *Biol Pharm Bull.* 2013;36(9):1482–7. doi: 10.1248/bpb.b13-00270. PMID: 23995660.

Liu Y, Mei Z, Mei L, Tang J, Yuan W, Srinivasan S, et al. Analytical method development and comparability study for AmBisome® and generic Amphotericin B liposomal products. *Eur J Pharm Biopharm.* 2020;157(April):241–9. doi: 10.1016/j.ejpb.2020.09.008. PMID: 32980448.

Leon CG, Lee J, Bartlett K, Gershkovich P, Wasan EK, Zhao J, Clement JG, Wasan KM. In vitro cytotoxicity of two novel oral formulations of Amphotericin B (iCo-009 and iCo-010) against *Candida albicans*, human monocytic and kidney cell lines. *Lipids Health Dis.* 2011 Aug 20;10:144. doi: 10.1186/1476-511X-10-144. PMID: 21854638; PMCID: PMC3173361.

Logan C, Martin-Loeches I, Bicanic T. Invasive candidiasis in critical care: challenges and future directions. *Intensive Care Med.* 2020;46(11):2001–14. doi: 10.1007/s00134-020-06240-x. PMID: 32990778.

MacArthur Clark J. The 3Rs in research: A contemporary approach to replacement, reduction, and refinement. *Br J Nutr.* 2018;120(s1): S1–7. doi: 10.1017/S0007114517002227. PMID: 29081302.

Marcos-Zambrano LJ, Gómez-Perosanz M, Escribano P, Zaragoza CO, Bouza E, Guinea J. Biofilm production and antibiofilm activity of echinocandins and liposomal amphotericin B in Echinocandin-Resistant yeast species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(6):3579–86. doi: 10.1128/AAC.03065-15. PMID: 27021323.

Moreno-Rodríguez AC, Torrado-Durán S, Molero G, García-Rodríguez JJ, Torrado-Santiago S. Efficacy, and toxicity evaluation of new amphotericin B micelle systems for brain fungal infections. *Int J Pharm.* 2015;494(1):17–22. doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.08.003. PMID: 26256151.

Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol.* 2015;69(1):71–92. doi: 10.1146/annurev-micro-091014-104330. PMID: 26488273.

Pais P, Galocha M, Viana R, Cavalheiro M, Pereira D, Teixeira MC. Microevolution of the pathogenic yeasts *Candida albicans* and *Candida glabrata* during antifungal therapy and host infection. *Microb Cell.* 2019;6(3):142–59. doi: 10.15698/mic2019.03.670.

Prażyńska M, Gospodarek E. In Vitro Effect of Amphotericin B on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida parapsilosis* Biofilm Formation. *Mycopathologia*. 2014;177(1–2):19–27. doi: 10.1007/s11046-014-9727-7. PMID: 24436013.

Pellon A, Sadeghi Nasab SD, Moyes DL. New Insights in *Candida albicans* Innate Immunity at the Mucosa: Toxins, Epithelium, Metabolism, and Beyond. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10(March):1–14. doi: 10.3389/fcimb.2020.00081. PMID: 32195196.

Pereira TC, Barros PP de, de Oliveira Fugisaki LR, Rossoni RD, Ribeiro F de C, Menezes RT de et al. Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogens. *J Fungi*. 2018;4(4). doi: 10.3390/jof4040128.

Peters BM, Jabra-Rizk MA, O'May GA, William Costerton J, Shirtliff ME. Polymicrobial interactions: Impact on pathogenesis and human disease. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(1):193–213. doi: 10.1128/CMR.00013-11. PMID: 22232376.

Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, Wormley FL Jr, Mowat E, Ramage G, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc*. 2008;3(9):1494–500. doi: 10.1038/nprot.2008.141. PMID: 18772877; PMCID: PMC2741160.

Ramage G, Wickes BL. Standardized Method for In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of. *Society*. 2001;45(9):2475–9. doi: 10.1128/AAC.45.9.2475. PMID: 11502517.

Revie NM, Iyer KR, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms, and impact. *Current Opinion Microbiol*. 2018;45(Figure 2):70–6. doi: 10.1016/j.mib.2018.02.005.

Rex JH, Pfaller MA, Lancaster M, Odds FC, Bolmstrom A, Rinaldi MG. Quality control guidelines for National Committee for Clinical Laboratory standards-recommended broth macrodilution testing of ketoconazole and itraconazole. *J Clin Microbiol*. 1996;34(4):816–7. doi: 10.1128/jcm.34.4.816-817.1996. PMID: 8815089.

Rodrigues CF, Henriques M. Liposomal and deoxycholate amphotericin b formulations: Effectiveness against biofilm infections of *Candida* spp. *Pathogens*. 2017;6(4):1–13. doi: 10.3390/pathogens6040062.

Rodrigues ML, Albuquerque PC. Searching for a change: The need for increased support for public health and research on fungal diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(6):1–5. doi: 10.1371/journal.pntd.0006479.

Rojas AE, Pérez JE, Hernández JS, Zapata Y. Análisis cuantitativo de la expresión de genes de resistencia a fluconazol en cepas de *Candida albicans* aisladas al ingreso de adultos mayores a una unidad de cuidados intensivos de Manizales, Colombia. *Biomédica*. 2020;40(1):153–65. doi: 10.7705/biomedica.4723.

Salehi M, Ahmadikia K, Mahmoudi S, Kalantari S, Jamalimoghadamsiahkali S, Izadi A, et al. Oropharyngeal candidiasis in hospitalised COVID-19 patients from Iran: Species identification and antifungal susceptibility pattern. *Mycoses*. 2020;63(8):771–8. doi: 10.1111/myc.13137. PMID: 32609906.

Santos JD, Piva E, Vilela SF, Jorge AO, Junqueira JC. Mixed biofilms formed by *C. albicans* and non-*albicans* species: a study of microbial interactions. *Braz Oral Res*. 2016;30:S1806-83242016000100232. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0023. Epub 2016 Mar 15. PMID: 26981754.

Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunol*. 2009;53(1):41–4. doi:10.1111/j.1348-0421.2008.00083.x.\

Scorzoni L, de Lucas MP, Mesa-Arango AC, Fusco-Almeida AM, Lozano E, Cuenca-Estrella M, et al. Antifungal Efficacy during *Candida krusei* Infection in Non-Conventional Models Correlates with the Yeast In Vitro Susceptibility Profile. *PLoS One*. 2013;8(3). doi: 10.1371/journal.pone.0060047.

Seyoum E, Bitew A, Mihret A. Distribution of *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species isolated in different clinical samples and their in vitro antifungal susceptibility profile in Ethiopia. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):1–9. doi: 10.1186/s12879-020-4883-5. PMID: 32188422.

Silva S, Henriques M, Martins A, Oliveira R, Williams D, Azeredo J. Biofilms of non-*Candida albicans Candida* species: Quantification, structure, and matrix composition. *Med Mycol*. 2009;47(7):681–9. doi: 10.3109/13693780802549594. PMID: 19888800.

Singh R, Kumari A, Kaur K, Sethi P, Chakrabarti A. Relevance of antifungal penetration in biofilm-associated resistance of *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species. *J Med Microbiol*. 2018;67(7):922–6. doi: 10.1099/jmm.0.000757. PMID: 29767615.

Smith DFQ, Casadevall A. Fungal immunity and pathogenesis in mammals versus the invertebrate model organism *Galleria mellonella*. *Pathog Dis*. 2021;79(3):1–25. doi: 10.1093/femspd/ftab013. PMID: 33544836.

Soldini S, Posteraro B, Vella A, De Carolis E, Borghi E, Falleni M, et al. Microbiologic and clinical characteristics of biofilm-forming *Candida parapsilosis* isolates

associated with fungaemia and their impact on mortality. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(7):771–7. doi: 10.1016/j.cmi.2017.11.005. PMID: 29133157.

Srinivasan A, Gupta CM, Agrawal CM, Leung KP, Lopez-Ribot JL, Ramasubramanian AK. Drug susceptibility of matrix-encapsulated *Candida albicans* nano-biofilms. *Biotechnol Bioeng.* 2014;111(2):418–24. doi: 10.1002/bit.25120. PMID: 24114441.

Sroussi HY, Epstein JB, Bensadoun RJ, Saunders DP, Lalla RV, Migliorati CA, et al. Common oral complications of head and neck cancer radiation therapy: mucositis, infections, saliva change, fibrosis, sensory dysfunctions, dental caries, periodontal disease, and osteoradionecrosis. *Cancer Med.* 2017;6(12):2918–31. doi: 10.1002/cam4.1221. PMID: 29071801.

Taff HT, Mitchell KF, Edward JA, Andes DR. Mechanisms of *Candida* biofilm drug resistance. *Future Microbiol.* 2013;8(10):1325–37. doi: 10.2217/fmb.13.101. PMID: 24059922.

Takemoto K, Yamamoto Y, Ueda Y. Evaluation of antifungal pharmacodynamic characteristics of AmBisome against *Candida albicans*. *Microbiol Immunol.* 2006;50(8):579–86. doi: 10.1111/j.1348-0421.2006.tb03832.x. PMID: 16924142.

Tan Y, Leonhard M, Ma S, Moser D, Schneider-Stickler B. Dispersal of single and mixed non-*albicans* *Candida* species biofilms by β -1,3-glucanase in vitro. *Microb Pathog.* 2017 Dec;113:342–347. doi: 10.1016/j.micpath.2017.10.057. PMID: 29101060.

Touil HFZ, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K. In vitro activity of antifungal combinations against planktonic and sessile cells of *Candida albicans* isolated from medical devices in an intensive care department. *J Mycol Med.* 2018;28(3):414–8. doi: 10.1016/j.mycmed.2018.06.008. PMID: 30032993.

Trevijano-Contador N, Zaragoza O. Immune response of *Galleria mellonella* against human fungal pathogens. *J Fungi.* 2019;5(1):1–13. doi: 10.3390/jof5010003.

Van De Ven H, Paulussen C, Feijens PB, Matheeußen A, Rombaut P, Kayaert P, et al. PLGA nanoparticles and nanosuspensions with amphotericin B: Potent in vitro and in vivo alternatives to Fungizone and AmBisome. *J Control Release.* 2012;161(3):795–803. doi: 10.1016/j.jconrel.2012.05.037. PMID: 22641062.

Vertyporokh L, Wojda I. Immune response of *Galleria mellonella* after injection with non-lethal and lethal dosages of *Candida albicans*. *J Invertebr Pathol.* 2020;170:107327. doi: 10.1016/j.jip.2020.107327. PMID: 31945326.

Vila T, Ishida K, Seabra SH, Rozental S. Miltefosine inhibits *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* spp. biofilms and impairs the dispersion of infectious cells. *Int*

J Antimicrob Agents. 2016;48(5):512–20. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.07.022. PMID: 27667564.

Vila T, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk MA. Oral candidiasis: A disease of opportunity. J Fungi. 2020;6(1):1–28. doi: 10.3390/jof6010015.

Vitális E, Nagy F, Tóth Z, Forgács L, Bozó A, Kardos G, et al. *Candida* biofilm production is associated with higher mortality in patients with candidaemia. Mycoses. 2020;63(4):352–60. doi: 10.1111/myc.13049. PMID: 31943428.

Walker L, Sood P, Lenardon MD, Milne G, Olson J, Jensen G, et al. The viscoelastic properties of the fungal cell wall allow traffic of AmBisome as intact liposome vesicles. MBio. 2018;9(1):1–15. doi: 10.1128/mBio.02383-17. PMID: 29437927.

Wall G, Lopez-Ribot JL. Current antimycotics, new prospects, and future approaches to antifungal therapy. Antibiotics. 2020;9(8):1–10. doi: 10.3390/antibiotics9080445.

Wall G, Montelongo-Jauregui D, Vidal Bonifacio B, Lopez-Ribot JL, Uppuluri P. *Candida albicans* biofilm growth and dispersal: contributions to pathogenesis. Curr Opin Microbiol. 2019 Dec;52:1-6. doi: 10.1016/j.mib.2019.04.001. Epub 2019 May 11. PMID: 31085405; PMCID: PMC6842673.

Witchley JN, Penumetcha P, Abon N V., Woolford CA, Mitchell AP, Noble SM. *Candida albicans* Morphogenesis Programs Control the Balance between Gut Commensalism and Invasive Infection. Cell Host Microbe. 2019;25(3):432-443.e6. doi: 10.1016/j.chom.2019.02.008. PMID: 30870623.

Witherden EA, Shoaie S, Hall RA, Moyes DL. The human mucosal mycobiome and fungal community interactions. J Fungi. 2017;3(4):1–12. doi: 10.3390/jof3040056.