

Artikel Penelitian

Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di *Rattus norvegicus* yang terinfeksi *Candida albicans*

Interleukin-6 and 10 Level on Inflammation's Stage in Rattus norvegicus Infected by Candida albicans

Masfufatun¹, Putu Oky AT², Loo Hariyanto R¹, Afaf Baktir³

¹Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

²Bagian Biomedik Penelitian Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

³Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRAK

Insiden kandidiasis sangat tinggi di dunia yang disebabkan *Candida albicans*. Agen antifungi telah banyak dikembangkan, namun resistensi terhadap antifungi masih menjadi suatu permasalahan. Resistensi antifungi ini diakibatkan oleh kemampuan *C. albicans* dalam membentuk biofilm. Terbentuknya biofilm dari infeksi *C. albicans* diawali oleh proses inflamasi. Proses inflamasi oleh *Candida albicans* terjadi pada beberapa tahap yang salah satu indikatornya adalah dilepaskannya sitokin proinflamasi (IL-6) dan anti inflamasi (IL-10). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar IL-6 dan IL-10 pada tiap tahapan inflamasi *C. albicans* pada intestinal pada tikus putih. Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan perlakuan. Kelompok perlakuan diinokulasi dengan *C. albicans*. Variabel yang diukur adalah kadar IL-6 dan IL-10 pada hari ke-7, 14, 21, 28 dan 35 setelah inokulasi *C. albicans*. pengambilan data sebanyak 5 kali dilakukan untuk mewakili tahapan pembentukan biofilm *candida*. Respon imun pada setiap tahap pembentukan biofilm ditunjukkan dengan kadar sitokin IL-6 dan IL-10 serum darah dengan metode ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar IL-6 dan IL-10 pada hari ke-7 dan 14 sebesar 0pg/mL. Pada hari ke 28 telah terjadi proses inflamasi akut pelepasan IL-6 dan IL-10 dengan kadar tertinggi masing-masing 31,75±9,99pg/mL dan 757,94±576,73pg/mL. Selanjutnya pada hari ke-35, kadar sitokin IL-6 dan IL-10 masing-masing mulai menurun menjadi 28±11,53pg/mL dan 349,5±188,48pg/mL. Respon imun tubuh mulai terjadi pada tahap awal pembentukan biofilm *C. albicans* intestinal tikus, sehingga kedepannya dapat dikembangkan terapi imunomodulator terhadap kandidiasis sehingga dapat menghambat pembentukan biofilm *C. albicans*.

Kata Kunci: Biofilm, *Candida albicans*, IL-6, IL-10, inflamasi

ABSTRACT

High incidence of candidiasis in the world is caused by *Candida albicans*. Antifungal agents have been widely developed, but resistance to antifungals remains a problem. This resistance is due to the ability of *C. albicans* to form biofilms. Inflammatory process and biofilm formation by *Candida albicans* occur in several stages, one of the indicators is the level of proinflammatory and anti-inflammatory (IL-6 and IL-10) cytokines. This study aimed to determine the inflammatory stage of *Candida albicans*' biofilm formation in the intestinal of white rats. This study used 32 Wistar rats (*Rattus norvegicus*) that were divided into two groups, i.e. control and treatment groups. The treatment group was inoculated with *Candida albicans*. The measured variables were IL-6 and IL-10 levels on days 7, 14, 21, 28, and 35 after *C. albicans* inoculation. Sampling was done 5 times to represent the stages of biofilm formation. The immune response at each stage of intestinal *Candida albicans*' biofilm formation was indicated by levels of IL-6 and IL-10 from blood serum using ELISA method. The results showed that IL-6 and IL-10 levels at day 7 and 14 were 0pg/mL. On day 28, there was an acute inflammation phase of IL-6 and IL-10 release with the highest levels at 31,75±9,99pg/mL and 757,94±576,73pg/mL respectively. Then, on day 35 IL-6 and IL-10 levels decreased at 28±11,53pg/mL and 349,5±188,48pg/mL. Body immune response begins in the early stage of intestinal biofilm formation of *C. albicans*, so in the future immunomodulatory therapy against candidiasis can be developed that can inhibit the formation of biofilm *C. albicans*.

Keywords: Biofilm, *Candida albicans*, IL-6, IL-10, inflammation

Korespondensi: Masfufatun. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Jl. Dukuh Kupang XXV/ 54 Surabaya, 60225 Tel. 08585111283 Email: masfufahhabibah@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jkb.2018.030.01.4>

PENDAHULUAN

Insiden dan prevalensi infeksi *Candida* (kandidiasis) meningkat sejak tahun 1980an terutama pada pasien *immunocompromised*. Sembilan puluh persen infeksi *Candida* yang invasif berasal dari genus *Candida* yaitu *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsiosis*, *Candida tropicalis* dan *Candida krusei*, yang merupakan patogen eukariotik oportunistik yang berada pada mukosa saluran gastrointestinal di mulut, esofagus dan vagina (1). Infeksi pada bagian superfisial kulit dan membran mukosa merupakan jenis infeksi paling umum yang disebabkan oleh *Candida albicans* (2). Kandidiasis vulvovagina karena *Candida albicans*, merupakan penyebab ke 4 kejadian nosokomial dalam 2 dekade ini (3). Infeksi *Candida albicans* merupakan infeksi genus *Candida* yang paling sering menyebabkan kandidiasis pada saluran urogenital (4). Gastric kandidiasis dengan karakteristik ulserasi (*gastric ulcer*) juga sering kali dijumpai (5). Pada pasien yang menderita kanker, aktivasi sel endotel karena *Candida albicans* atau mannoprotein yang dikandungnya dapat menjadi faktor risiko perkembangan metastasis pada liver (6). Keberadaan mikroflora seperti *Candida albicans* yang merupakan fungi komensal pada intestinal, selain berperan penting dalam mengembangkan toleransi imun juga berperan pada perkembangan penyakit inflamasi bowel (*bowel disease*) dan obesitas. Terjadinya *load* spesies *Candida* menunjukkan peningkatan pada pasien yang menderita *Crohn's disease* (7).

Paparan C. albicans yang dimediasi oleh respon inflamasi akan mencetuskan pembentukan biofilm. Biofilm merupakan komunitas sel terorganisir yang menempel pada permukaan tempat infeksi, dan terbungkus dalam substansi matriks ekstraseluler. Biofilm menunjukkan sifat virulensi, yang memungkinkan *Candida* untuk bertahan dari antifungi dan terhindar dari respon imun host. Pembentukan biofilm *Candida albicans* merupakan proses yang kompleks, yang melibatkan pelekatan sel *planktonik* (fase adesi), pertumbuhan dan agregasi sel (fase kolonisasi awal), produksi matriks ekstraseluler dan perkembangan matriks biofilm yang matang (fase maturasi). Terdapat tiga tahapan penting dalam perkembangan biofilm, yaitu pelekatan dan kolonisasi pada substrat, pertumbuhan dan proliferasi sel *yeast*, pematangan biofilm serta pelepasannya (8,9,10). Pembentukan biofilm ditandai dengan produksi dan perlekatan matriks ekstraseluler pada permukaan biofilm tersebut. Sel pada biofilm memiliki mekanisme toleransi terhadap antimikroba yang membedakannya dengan struktur planktonik, sehingga menyebabkan resisten terhadap antimikroba termasuk antifungi (11). Pertahanan imun *host* memegang peranan penting pada infeksi *Candida* patogen. Respon imun diinisiasi oleh keberadaan molekul asing (*Pathogen-Associated Molecular Patterns/PAMPs*) pada *C. albicans*, yang selanjutnya mengawali terjadinya respon inflamasi. Keseimbangan respon antara pro dan anti inflamasi selama interaksi awal antara *Candida* dengan sel-sel imun sangat penting untuk perkembangan infeksi *Candida* (12). Patogenitas kandidiasis ditandai dengan peningkatan respon pro inflamasi, diikuti oleh peningkatan sitokin anti inflamasi (13).

Menurut Scheller *et al.*, IL-6 kebanyakan dianggap sebagai sitokin pro-inflamasi, namun sitokin ini juga memiliki aktivitas regeneratif dan anti inflamasi (14). IL-10 merupakan sitokin yang memiliki fungsi utama

pembatasan dan terminasi respon imun (anti inflamasi) (15).

Pengobatan pasien kandidiasis lebih sulit jika terjadi pada fase biofilm. Pada penelitian ini, biofilm dibiarkan tumbuh dengan pemberian antibiotik yang bertujuan untuk memicu terjadinya disbiosis (ketidakseimbangan mikroba atau maladaptasi pada atau di dalam tubuh), dengan cara mengeliminasi mikroflora normal dalam saluran intestinal. Selain itu, agar respon imun *host* ditekan dan tidak terjadi pengenalan terhadap infeksi *Candida albicans*, maka dilakukan pemberian kortison (imunosupresan) Pertumbuhan biofilm berdampak sistemik dan dampak tersebut dapat dicegah apabila proses pembentukan biofilm diketahui sejak awal dengan mengukur *biomarker* inflamasi salah satunya dengan sitokin pro inflamasi yaitu IL-6, dan sitokin anti inflamasi yaitu IL-10. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar IL-6 dan IL-10 pada tiap tahapan inflamasi *C. albicans* pada intestinal pada tikus putih yang ditunjukkan pada hari ke-7, 14, 21, 28 dan 35 (16).

METODE

Sebanyak 36 ekor tikus putih jantan Wistar (*Rattus norvegicus*) dalam kondisi sehat diaklimatisasi 1 minggu sebelum perlakuan dengan tujuan agar beradaptasi dengan lingkungan laboratorium. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K1, K2, K3, K4 dan K5) dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4 dan P5). Masing-masing kelompok dibagi lagi menjadi 5 kelompok berdasarkan waktu terminasinya yaitu pada hari ke-7, 14, 21, 28 dan 35.

Kelompok kontrol hanya diberikan akuades secara per oral, dan diinjeksi *aquabidest* pada hari ke 4. Kelompok perlakuan (P) diberikan antibiotik *tetracyclin* (25mg/mL), *streptomycin* (20mg/Kg), dan *gentamycin* (7,5mg/Kg) per oral pada hari ke 1, 2, 3, 4, dan 5 (17), pemberian kortison asetat (225mg/Kg) yang dilarutkan dalam 200 ml PBS yang mengandung 0,5% Tween-20 diinjeksikan secara subkutan pada hari ke 5 sebelum inokulasi *Candida albicans* (18). Pada hari ke-6, hewan coba diinokulasi secara oral dengan 0,1ml inokulum yang mengandung 1×10^8 *C. albicans*. Hari ke-7 sampai hari terminasi di berikan media pertumbuhan *Candida* (spider) dua kali per hari masing-masing 2,5mL (16).

Terminasi dilakukan sebanyak 5 tahap. Tahap 1 pada hari ke-14 (K1 dan P1), tahap ke 2 pada hari ke-21 (K2 dan P2), tahap ke 3 pada hari ke-28 (K3 dan P3), tahap ke 4 pada hari ke-35 (K4 dan P4) dan tahap ke 5 pada hari ke-42 (K5 dan P5) setelah inokulasi *Candida albicans*. Setelah terminasi pada masing-masing tahap, dilakukan pengambilan sampel berupa darah untuk dipisahkan serumnya dan dilanjutkan dengan metode ELISA untuk menghitung kadar IL-6 (*Biolegend*) dan IL-10 (*Raybio*). Analisis data dilakukan secara deskriptif.

HASIL

Kadar sitokin IL-6 dan IL-10 sebagai respon terhadap inflamasi. IL-6 memiliki fungsi sebagai sitokin pro-inflamasi dan anti inflamasi yang disekresikan sel T dan makrofag untuk merangsang respon kekebalan tubuh selama infeksi. Pada penelitian ini Kadar IL-6 ditentukan dengan menggunakan metode ELISA. Hasil rerata kadar IL-6 dan IL-10 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar IL-6 dan IL-10 serum tikus selama tahap pembentukan biofilm *C. albicans*.

Kelompok		Kadar Sitokin (pg/mL)									
		Hari ke-7		Hari ke-14		Hari ke-21		Hari ke-28		Hari ke-35	
		IL-6	IL-10	IL-6	IL-10	IL-6	IL-10	IL-6	IL-10	IL-6	IL-10
Kontrol	Rerata	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Perlakuan	Rerata	0	0	0	0	20,25	21,65	31,75	757,94	28,10	349,50
	SD	0	0	0	0	4,96	1,02	9,99	576,73	11,53	188,48

Kadar sitokin pada kelompok kontrol dan perlakuan yang dibagi lagi menjadi 5 kelompok (terminasi hari ke-7, 14, 21, 28 dan 35). Pada kelompok kontrol yang hanya diberikan aquades tidak menunjukkan pelepasan sitokin IL-6 maupun IL-10 dengan kadar sebesar 0pg/mL pada semua kelompok terminasi. Pada kelompok perlakuan terminasi hari ke 7 dan 14 tidak ditemukan pelepasan sitokin baik IL-6 maupun IL-10. Pelepasan kadar IL-6 meningkat mulai terminasi hari ke-14 lalu meningkat lagi pada terminasi hari ke-28 dan menurun pada terminasi hari ke-35. Kadar IL-10 pada hari ke-21 juga mengalami peningkatan, diikuti peningkatan tajam pada hari ke-28, dan menurun kembali pada hari ke-35. Kadar tertinggi (*peak*) pada kelompok perlakuan hari ke-28, baik untuk kadar IL-6 maupun IL-10.

DISKUSI

Pada kelompok kontrol yaitu kelompok yang tidak diinfeksi dengan *C. albicans*, pada kelompok ini tidak ditemukan adanya pelepasan kadar sitokin IL-6. Pada kelompok perlakuan tikus diinfeksi dengan *C. albicans*. Pada tahap awal, infeksi *C. albicans* dalam bentuk planktonik (*yeast*). Saat ini mulai terjadi pengenalan oleh imunitas tikus. Pengenalan sistem imun melalui molekul PAMPs yang berasal dari *C. albicans*, yang berikatan dengan reseptor (PRRs) di permukaan sel Polimorfonuklear (PMN) pada mukosa intestinal. Pada permukaan sel *Candida* mengandung gugus gula β -1,3-glukan yang berperan sebagai PAMPs (17).

Kadar Sitokin Interleukin-6 (IL-6) Serum

Proses pengenalan PAMPs dan PRRs yaitu pada fase awal infeksi *Candida albicans*, terjadi pada hari ke 7 dan 14 setelah inokulasi *C. albicans* yang ditandai dengan tidak ditemukannya sekresi sitokin IL-6 (Opg/ml). Tahapan selanjutnya terjadi ikatan antara gugus gula dengan reseptor pada sel PMN akan mengawali pelepasan sitokin termasuk IL-6 (17). Pelepasan sitokin IL-6 sebagai penanda terjadinya inflamasi.

Menurut Shaikh, inflamasi merupakan respon terhadap perlukaan, dimana terjadi akumulasi leukosit, mediator inflamasi seperti sitokin. Inflamasi terjadi pada tahap akut dan subakut/kronis. Pada tahap inflamasi akut terjadi pelepasan sitokin pro inflamasi termasuk IL-6 (19). Tahap awal inflamasi atau inflamasi akut pada penelitian ini nampaknya terjadi pada hari ke 21 setelah inokulasi *C. albicans*, yang ditunjukkan dengan mulai disekresikan sitokin IL-6 dengan rata-rata sebesar 20,25pg/mL. Pada fase ini jumlah koloni *Candida* mulai mengalami peningkatan dibandingkan fase sebelumnya. Peningkatan jumlah koloni ini akan mencetuskan respon inflamasi yang ditandai dengan disekresikannya IL-6 pada fase ini.

Kadar IL-6 serum pada hari ke-28 mengalami peningkatan

dibanding hari ke-21 menjadi 31,75pg/ mL. Pada hari ke-28 ini, tahapan inflamasi memasuki tahap sub akut/ kronis, ditunjukkan dengan meningkatnya kadar IL-6 pada posisi puncak. IL-6 akan disekresi pada infeksi fase akut sebagai mekanisme pertahanan terhadap *C. albicans*. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Kovacs yaitu kadar IL-6 akan meningkat tajam pada 72 jam setelah infeksi dibandingkan 24 jam setelah infeksi pada mencit yang diinfeksi *C. albicans* secara sistemik (20).

Menurut penelitian Baktir *et al.*, diketahui bahwa hari ke 35 setelah infeksi *C. albicans*, pada intestinal tikus mulai terbentuk massa fibrous biofilm (16). Sejalan dengan penelitian tersebut pada hari ke35, biofilm telah terbentuk lebih masif, lalu kadar IL-6 menurun menjadi 28,1pg/mL. Hal ini ditunjukkan dengan hasil yang serupa pada penelitian yang dilakukan Chandra *et al.*, bahwa kadar IL-6 pada kultur Biofilm *Candida* menunjukkan kadar yang menurun/*down regulated* dibandingkan kadar IL-6 pada kultur *Candida* planktonik (21). Pembentukan biofilm akan mengekspresikan beberapa protein (Pra1, Gpd2, Sap) yang memiliki kemampuan membloking aktivasi komplemen sehingga produksi protein-protein pro-inflamasi juga menurun. Biofilm ini akan lebih resisten terhadap sel-sel imun host (17).

Kadar Sitokin Anti-inflamasi (IL-10) Serum

Pada kondisi infeksi *Candida*, sitokin proinflamasi sangat berperan untuk meningkatkan fagositosis, rekrutmen netrofil sehingga memediasi inflamasi (22). Sitokin IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi. Selama infeksi, sitokin ini akan menghambat aktivitas dari sel Th2, sel NK dan makrofag. Ketika patogen masih mampu untuk bertahan terhadap pemusnahan melalui mekanisme imun yang normal, IL-10 akan diproduksi untuk mengurangi inflamasi yang nantinya akan meminimalkan kondisi patologi akibat inflamasi yang berlebihan (23).

Kadar IL-10 pada fase-fase awal yaitu pada hari ke 7 dan 14 setelah inokulasi menunjukkan nilai 0pg/mL. Pada tahap ini masih dalam fase pengenalan *Candida* oleh respon imun. Hasil penghitungan jumlah *Colony Forming Unit* (CFU) sel *Candida* pada *feces* menunjukkan jumlah yang semakin meningkat, dan mengalami puncak jumlah koloni pada hari ke-14 yang berarti *Candida* tidak banyak menempel pada mukosa intestinal, namun sebagian besar dikeluarkan lewat *feces* (24). Pada tahap ini belum menuju fase inflamasi, dibuktikan dengan tidak terdeteksinya kadar sitokin baik IL-6 dan IL-10 pada hari ke-7 dan 14.

Pada hari ke-21, kadar IL-10 menunjukkan kadar 7,57pg/mL. Pada fase ini, *Candida albicans* sudah mulai memasuki fase inflamasi sub akut, dan *Candida* masih dalam fase planktonik, dimana kadar IL-6 mulai meningkat, dan kadar IL-10 juga mulai meningkat. Penelitian ini serupa dengan hasil penelitian oleh Chandra *et al.*, pada fase

planktonik IL-10 akan berada pada level yang sangat rendah dan akan meningkat secara signifikan pada fase biofilm (20).

Inflamasi akut terjadi pada hari ke 28, kadar IL-6 mencapai puncaknya yaitu sebesar 31,75pg/mL, sedangkan kadar IL-10 juga mencapai puncaknya sebesar 757,81pg/mL. Pada saat inflamasi dan terjadi infeksi sekunder, produksi IL-10 berkorelasi dengan kontrol patogen yang rendah. Tingginya kadar IL-10 pada tahap ini juga mungkin merupakan akibat dari tingginya *pathogens burden* (22). Kadar sitokin IL-10 pada tahap ini mencapai kadar maksimal, IL-10 menghambat aktivitas sel TH1, sel NK dan makrofag yang semuanya dibutuhkan untuk pengeliminasian patogen secara optimal. Tahap ini merupakan tahap patogenik (*Pathogenic state*) dari kandidiasis karena ditandai dengan peningkatan respon pro inflamasi dan diikuti dengan peningkatan sitokin anti-inflamasi (13).

Pada hari ke 35, kadar IL-10 mencapai 349,5pg/mL. Sesuai dengan penelitian Masfufatun *et al.*, bahwa di hari ke-35 infeksi *C. albicans* ini telah terbentuk biofilm (24). yang merupakan kumpulan mikroba yang terorganisasi dengan baik yang menyebabkan perubahan komposisi karbohidrat dinding sel dan terdapat peningkatan β -glucans (18). Menurut Chandra *et al.*, di dalam biofilm, monosit akan terlokalisasi sebagian besar pada lapisan basal dan tidak mampu untuk lolos dari biofilm (21). Pembentukan biofilm dapat berfungsi sebagai perlindungan *candida* terhadap pertahanan *host*. Biofilm *c. albicans* akan dikenali dan dikelilingi oleh netrofil,

namun netrofil tersebut gagal untuk mengeliminasi *candida*. Hal ini dikarenakan keberadaan *glucan* pada matriks ekstraseluler akan menghambat aktivasi netrofil (17). Pada tahap ini terjadi penurunan kadar IL-10 dan IL-6 dikarenakan tahap inflamasi berangsur berhenti, sehingga konsentrasi IL-10 sebagai anti inflamasi juga menurun mempersiapkan ke keadaan normal dan imunotoleran. *Candida* dalam bentuk hifa/biofilm tidak dikenali dan mampu berlindung dari pertahanan imun *host*. Pada kondisi ini, *C. albicans* akan keluar dan lepas dari perlindungan biofilm untuk mencari lokasi lain dalam tubuh dan mulai melakukan invasi.

Kesimpulan dari penelitian ini bahwa, ada tahap inflamasi akut yang akan diikuti dengan peningkatan baik IL-6 maupun IL-10 sampai pada tahap sub akut/kronis, ketika kadar IL-6 dan IL-10 mencapai puncaknya. Tahapan selanjutnya terjadi *down regulated* sitokin IL-6 dan IL-10 sebagai respon terhadap berakhirnya fase inflamasi yaitu pada hari ke-35. Hubungan antara sitokin IL-6 dan IL-10 sebagai pro dan anti inflamasi perlu dijaga keseimbangannya karena penting sebagai aktivasi atau penghambatan sistem imun. Penggunaan marker sitokin dirasa kurang spesifik jika digunakan sebagai penanda inflamasi akut maupun sub akut/kronis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami sampaikan kepada Badan Litbangkes, Kementerian Kesehatan RI yang telah memberikan dana pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Sardi JCO, Scorzoni L, Bernadi T, Fusco-Almeida AM, and Mendes Giannini MJS. *Candida Species: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal, Products and New Therapeutic Options*. Journal of Medical Microbiology. 2013; 62(1): 10-24.
- Raz-Pasteur A, Ullmann Y, and Berdicevsky I. *The Pathogenesis of Candida Infection in Human Skin Model: Scanning Electron Microscope Observations*. International Scholarly Research Network (ISRN) Dermatology. 2011; 2011: 1-6
- Mustofa E. *Efek Stres Fisik dan Psikologi pada Kortisol, PGE, BAFF, IL-21, slgA, dan Kandidiasis Vulvovaginal*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2012; 27(1): 21-27.
- Onianwah IF. *The Incidence and Prevalence of Candida albicans Infection of the Urogenital Tract of Females between the Ages of 18 and 45 Years Old: A Case Study of Patients Receiving Treatment in Ashford and Patrice Clinic in Port Harcourt*. International Research Journal of Environment Science. 2014; 3(4): 101-104.
- Sasaki K. *Candida-Associated Gastric Ulcer Relapsing in a Different Position with a Different Appearance*. World Journal of Gastroenterology. 2012; 18(32): 4450-4453
- Ramirez-Garcia A, Arteta B, Abad-Diaz-de-Cerio A, *et al. Candida albicans Increases Tumor Cell Adhesion to Endothelial Cells in Vitro: Intraspecific Differences and Importance of the Mannose Receptor*. PLoS ONE. 2013; 8(1): 1-10
- Strijbis K, Yilmaz OH, Dougan SK, *et al. Intestinal Colonization by Candida albicans Alters Inflammatory Responses in Bruton's Tyrosine Kinase-Deficient Mice*. PLoS ONE. 2014; 9(11): 1-8
- Matsubara VH, Wang Y, Bandara HMHN, Mayer MPA, and Samaranayake LP. *Probiotic Lactobacilli Inhibit Early Stage of Candida albicans Biofilm Development by Reducing Their Growth, Cell Adhesion, and Filamentation*. Applied Microbiology and Biotechnology. 2016; 100(14): 6415-6426.
- Blankenship JR, Fanning S, Hamaker JJ, and Mitchell AP. *An Extensive Circuitry for Cell Wall Regulation in Candida albicans*. PLoS Pathogens. 2010; 6(2): 1-12.
- Nobile CJ, Andes DR, Nett JE, *et al. Critical Role of Bcr-1 Dependent Adhesion in C. albicans Biofilm Formation in Vitro and in Vivo*. PLoS Pathogens. 2006; 2(7): 636-649.
- Bojsen R, Regenber B, and Folkesson A. *Saccharomyces cerevisiae Biofilm Tolerance towards Systemic Antifungal Depends on Growth Phase*. BMC Microbiology. 2014; 14 (305): 1-10.
- Sarazin A, Poulain D, and Jouault T. *In vitro Pro- and Anti-Inflammatory Responses to Viable Candida albicans Yeasts by a Murine Macrophage Cell Line*. Medical Mycology. 2010; 48(7): 912-921.
- Seleem D, Chen E, Benso B, Pardi V, and Murata RM. *In Vitro Evaluation of Antifungal Activity of Monolaurin against Candida albicans Biofilms*. PeerJ. 2016; 4: 1-17.

14. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, and Rose-John S. *The Pro- and Anti-Inflammatory Properties of the Cytokine Interleukin-6*. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011; 1813(5): 878-888.
15. Paul G, Khare V, and Gasche C. *Infamed Gut Mucosa: Downstream of Interleukin-10*. *European Journal of Clinical Investigation*. 2012; 42(1): 95-109.
16. Baktir A, Masfufatun, Hanum GR, Amalia KR, and Purkan. *Construction and Characterization of the Intestinal Biofilm Model of Candida spp*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological, and Chemical*. 2014; 5(1): 204-211.
17. Gulati M and Nobile CJ. *Candida albicans Biofilms: Development, Regulation, and Molecular Mechanism*. *Microbes and Infection*. 2016; 18(5): 310-321.
18. Dongari-Bagtzoglou A, Kashleva H, Dwivedi P, Diaz P and Vasilakos J. *Characterization of Mucosal Candida albicans Biofilms*. *PLoS ONE*. 2009; 4: e7967.
19. Kovacs R, Czudar A, Horvath L, Szakács L, Majoros L, and Kónya J. *Serum Interleukin-6 Levels in Murine Models of Candida albicans Infection*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 2014; 6(1): 61-69.
20. Shaikh PZ. *Cytokines and Their Physiologic and Pharmacologic Function in Inflammation: A Review*. *International Journal of Pharmacy & Life Science*. 2011; 2(11): 1247-1263.
21. Chandra J, McCormick TS, Imamura Y, Mukherjee PK and Ghannoum MA. *Interaction of Candida albicans with Adherent Human Peripheral Blood Mononuclear Cells Increases C. albicans Biofilm Formation and Results in Differential Expression of Pro- and Anti-inflammatory Cytokines*. *Infection and Immunity*. 2007; 75(5): 2612-2620.
22. Gao N and Chen C. *Candida Infections: An Update on Host Immune Defenses and Anti-Fungal Drugs*. *Infectious Disease Translational Medicine*. 2016; 2(1): 30-40.
23. Couper KN, Blount DG, and Riley EM. *IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection*. *The Journal of Immunology*. 2008; 180(9): 5771-5777.
24. Masfufatun, Bayasud SL, Yasinta MS, Ni'matuzahro, and Baktir A. *Serum Acetaldehyde as a Potencial Biomarker for the Detection of Pathogenic Biofilm Formation by Candida albicans*. *Journal of Chemical and Metallurgy*. 2017; 52(6): 1032-1038.