

Candida parapsilosis'in Ekstrem Koşullara Toleransında Tuz ve Sıcaklık Stres Direncinin Etkisi[§]

Effect of Salt and Temperature Stress Resistance on the Tolerance of Candida parapsilosis to Extreme Conditions

Engin Kaplan*[®], Macit İlkit**[®], G. Sybren de Hoog***[®]

*Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim Araştırma ve Uygulama Merkezi, Mersin, Türkiye

**Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bölümü, Adana, Türkiye

***Westerdijk Mantar Biyoçeşitlilik Enstitüsü, Utrecht, Hollanda

Öz

Amaç: Günümüzde, tüm dünyada, *Candida albicans* dışı invazif kandidozun önemli bir etkeni *Candida parapsilosis*'dir. Birbirine yakın üç tür olan *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis*, "*Candida parapsilosis grubu*" olarak tanımlanmaktadır. *Candida parapsilosis*; insan florası, çevresel ortamlar ve henüz nedeni açıklanamamış olmakla birlikte, ev-içi ekstrem ortamlarda sıklıkla rastlanmaktadır. Bu çalışmada, *C. parapsilosis*'in ev-içi bulaşık ve çamaşır makinelerindeki benzer koşullara karşı tolerans özelliklerinin incelenmesi amaçlandı.

Yöntem: Çalışmada, *C. parapsilosis* (n = 8), *C. orthopsilosis* (n = 7) ve *C. metapsilosis* (n = 6) olmak üzere toplam 21 referans kökenin sıcaklık, tuz, pH ve sikloheksimit tolerans özellikleri incelendi.

Bulgular: İzolatların tümü 40°C sıcaklıkta üremelerine karşılık; 42°C ve üstü (45°C ve 50°C) sıcaklıklarda üreme görülmedi. *Candida parapsilosis*, *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis* kökenlerinin tamamının %5-10 NaCl, pH 2.5-10 ve %0.01 sikloheksimit ortamlarına tolerans gösterdikleri belirlendi. Buna karşılık, izolatlardan hiçbirinin pH 12.5 veya %0.1 sikloheksimit ortamlarında üremediği görüldü. Dikkat çekici şekilde, çalışmada incelenen *C. parapsilosis* grubuna ait tüm kökenlerin %10 NaCl ve %0.01 sikloheksimit içeren ve pH 2.5-10 arası ortamlardan en az birine tolerans gösterebildiği saptandı. *Candida parapsilosis*, *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis* izolatlarının 45°C'de canlı kalabilme oranları, sırasıyla %50, %16.6 ve %14.2 olarak saptandı. Ayrıca, *C. parapsilosis* izolatlarının %75'inin %17 NaCl'e tolerans göstermesine karşılık, *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis* izolatlarının bu koşula uyum sağlamadığı görüldü.

Sonuç: *Candida parapsilosis*'in ev-içi aletlerindeki ekstrem koşullara karşı gösterdiği tolerans mekanizmasında termofilik ve halofilik özelliklerinin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Candida parapsilosis*, ev içi habitat, tolerans

ABSTRACT

Objective: Currently, *Candida parapsilosis* is an emerging cause of non-*C. albicans*-related invasive candidiasis worldwide. Three phenotypically close species, *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* are defined as "*Candida parapsilosis group*". *Candida parapsilosis* is frequently found in human commensal flora, natural environments, and inexplicably, in extreme indoor environments. This study aimed to examine the tolerance characteristics of *C. parapsilosis* to similar conditions of domestic dishwashing and washing machines.

Method: We investigated the thermo-, halo-, pH and cycloheximide tolerance of 21 reference strains of *C. parapsilosis* (n = 8), *C. orthopsilosis* (n = 7), and *C. metapsilosis* (n = 6).

Results: All isolates grew at 40°C but showed no growth at temperatures at or above 42°C (45°C and 50°C). All *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis*, and *C. orthopsilosis* strains tolerated 5-10% NaCl, pH 2.5-10, and 0.01% cycloheximide. However, the isolates did not grow at pH 12.5 or in the presence of 0.1% cycloheximide. Notably, all the examined isolates of the *C. parapsilosis* species group can show tolerance at least one of the following conditions as; 10% NaCl, pH 2.5-10, and 0.01% cycloheximide. The survival rates of *Candida parapsilosis*, *C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis* isolates at 45°C were 50%, 16.6%, and 14.2%, respectively. In addition, although 75% of *C. parapsilosis* isolates were tolerant to 17% NaCl, *C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis* isolates were not tolerant to this condition.

Conclusion: Thermophilic and halophilic properties of *Candida parapsilosis* are thought to play an important role in the tolerance mechanism against extreme conditions in household appliances.

Keywords: *Candida parapsilosis*, domestic habitat, tolerance

Alındığı tarih:

26.12.2018

Kabul tarihi:

24.01.2019

Ç. içi yayın tarihi:

25.03.2019

ORCID Kayıtları

E. Kaplan 0000-0001-5705-717X

M. İlkit 0000-0002-1174-4182

G. S. Hoog 0000-0002-5344-257X

✉ enginkaplan33@gmail.com

[§] Bu araştırmanın verileri, 1. Uluslararası Avrasya Mikoloji Kongresi (1st International Eurasia Mycology Congress, 3-5 Temmuz 2017, Manisa)'nde (0-32) sunulmuştur.

GİRİŞ

Candida albicans dışı *Candida* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar son 20 yıldır artış göstermekte ve

enfeksiyon etkenlerinin görülme sıklığı kayda değer şekilde *C. albicans*'tan *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*'e doğru kaymaktadır⁽¹⁾. Günümüzde, *C. parapsilosis* tüm dünyada

invazif kandidozun önemli bir etkenidir^(2,3). Ribozomal DNA'nın ITS (Internal transcribed spacer) bölgelerinin sekansları temel alındığında, *C. parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* ve *Candida metapsilosis* türlerinin aynı kökenden gelen üç kriptik tür olduğu fark edilmiştir⁽⁴⁾. Ancak, daha sonra Chen ve ark.⁽⁵⁾, bu üç türün virülans, yayılım, antifungal duyarlılık gibi özelliklerinde farklılık gösterdiklerini ve bu nedenle *C. parapsilosis* ve yakın türleri için "tür kompleksi" söyleminin kullanılmasının doğru olmayacağını savunmuşlardır.

Candida parapsilosis evcil hayvanlar, böcekler, toprak ve deniz ekosistemi de dâhil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunur^(5,6). Ayrıca, *C. parapsilosis* insanlar dâhil memelilerde flora üyesi olan ve mukoza, deri ve tırnaklardan izole edilebilen bir türdür⁽⁵⁾. *C. parapsilosis* grubunda, *C. parapsilosis* en sık saptanan tür iken, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis*'e daha az rastlanır^(7,8). Kullanılmaları sırasında sıcak ve nemli ortamların oluştuğu, özellikle bulaşık⁽⁹⁻¹²⁾ ve çamaşır^(13,14) makinesi gibi, ev içi aletleri, *C. parapsilosis* için habitat işlevi görmektedir. Bu mikro-habitatlar, deterjanlar ile ilişkili oluşan yüksek pH, 60-80°C'ye

kadar yükselebilen ve azalıp artan sıcaklık ve özellikle çamaşır makinelerinde kireç birikimini önlemek amacı ile kullanılan yüksek tuz konsantrasyonu^(9,10) gibi faktörlerinin bir veya birkaçını barındırır. Buna karşılık, *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* türlerinin ev-içi ortamlardaki dağılımı konusunda literatür bilgisi sınırlıdır.

Bu çalışmanın amacı, özellikle bulaşık ve çamaşır makineleri gibi ev-içi ekstrem ortamlardaki *C. parapsilosis* varlığından sorumlu koşulların aydınlatılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda, referans *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* kökenlerinin ekstrem ev-içi mikro-çevrelere benzer fizyolojik koşullara olan tolerans düzeyleri incelendi.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatlar

Bu çalışmada, *C. parapsilosis* grubundaki *C. parapsilosis* (n=8), *C. orthopsilosis* (n=7) ve *C. metapsilosis* (n=6) olmak üzere üç türe ait toplam 21 izolat incelendi. İzolat numaraları ve kökenleri Tablo 1' de verilmektedir. İzolatlar, CBS-KNAW Mantar Biyoçeşitlilik Merkezi

Tablo 1. Çalışmada incelenen *Candida parapsilosis* tür grubuna ait suşlar.

Takson İsmi	CBS No	Örnek Türü	İzolasyon	Ülke
<i>Candida parapsilosis</i> sensu stricto	2915	Klinik	-	Norveç
	604	Klinik	-	Porto Riko
	7248	Klinik	Subklinik mastit	Yeni Zelanda
	8836	Klinik	Kan	ABD
	125.41	Çevresel	<i>Ziziphus mauritiana</i>	Zimbabve
	1954*	Çevresel	-	İtalya
	2216	Çevresel	Salamura	ABD
	8181	Çevresel	<i>Nothofagus dombeyii</i>	Şili
<i>Candida metapsilosis</i>	107.47	Klinik	Tırnak	Belçika
	109.07*	Klinik	-	ABD
	2315	Klinik	Balgam	İtalya
	111.27	-	-	-
	2916	-	-	Norveç
	107.46	-	-	-
<i>Candida orthopsilosis</i>	107.41	Klinik	Tırnak	Belçika
	107.42	Klinik	Tırnak	Belçika
	109.06*	Klinik	Vajinal	ABD
	9894	Çevresel	-	Panama
	107.43	Çevresel	-	ABD
	2212	Çevresel	-	Endonezya
	8825	Çevresel	-	Avustralya
	8181	Çevresel	<i>Nothofagus dombeyii</i>	Şili

*Tip suşlar.

(Westerdijk Mantar Biyoçeşitlilik Enstitüsü, Utrecht, Hollanda)'nden sağlandı. Çalışma öncesinde izolatlar Sabouraud dextrose agar'a (SDA; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) pasajlandı ve fizyolojik parametreler değerlendirilmeden önce 25°C'de 3 gün inkübe edildi.

Fizyolojik özelliklerin belirlenmesi: Çalışmada, bulaşık ve çamaşır makinelerinin iç yüzeylerine benzer ekstrem koşullar taklit edildi. Kullanılan başlıca stres parametreleri, bu ortamlardaki ani sıcaklık değişimlerinin yanında, çeşitli deterjanlarca oluşabilecek asit-alkali veya tuzluluk ortamları temelinde belirlendi^(9-11,14). Kökenlerin termotoleransı ve pH toleransı SDA'da, halotoleransı NaCl'de ve sikloheksimit toleransı ise 96 kuyucuklu plaklarda Sabouraud dekstroz broth (SDB, Sigma-Aldrich) ortamında incelendi. Kökenlerin termotolerans özellikleri SDA'da 40°C, 42°C, 45°C ve 50°C'de 5 güne kadar inkübe edilerek incelendi. Üremeyen kökenlerin canlılıklarını incelemek için üreme olmayan tüpler 37°C'ye alınarak 5 gün daha inkübe edildi. Kökenlerin pH tolerans özellikleri 2.5, 4, 10 ve 12.5 değerleri için incelendi. Bu amaçla SDB'nin pH'sı 0.1 M HCl ya da 0.1 M NaOH kullanılarak ayarlandı. Kökenlerin halotolerans özellikleri %5, %10 ya da %17 (w/v) NaCl içeren SDB'de incelendi. Sikloheksimit toleran-

sı ise %0.1 ve %0.01 sikloheksimit (Sigma, Steinheim, Germany) içeren SDB'de değerlendirildi. Kökenlerin büyümeleri her gün görsel veya spektrofotometrik (Thermo Scientific MultiScan Go reader, 1510-012, Vankaa, Finlandiya) olarak 405 nm'de takip edildi⁽¹⁵⁾.

BULGULAR

Çalışma izolatları 40°C sıcaklığı tolere edebilmelerine karşılık, 42°C ve üstü sıcaklıklarda (45°C ve 50°C) üreme görülmedi. Buna karşılık, izolatları 42°C'den 37°C'ye alındığında üremeye başladıkları fark edildi. Ayrıca, 45°C'de inkübe edilen sekiz *C. parapsilosis* suşlarından dördü ve birer *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis* suşunun 37°C'deki inkübasyonu sonrası canlı kaldıkları belirlendi (Tablo 2). Bütün *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis* suşları %5–10 NaCl, pH 2.5–10 ve %0.01 sikloheksimit ortamlarına tolerans gösterdikleri belirlendi. Buna karşılık, kökenlerden hiçbirinin pH 12.5 ya da %0.1 sikloheksimit ortamlarında üreyemediği görüldü. *C. parapsilosis* izolatlarının %75 (n=6)'inin %17 NaCl ortamını tolere edebildiği, ancak *C. metapsilosis* ya da *C. orthopsilosis* kökenlerinin bu tuzluluk oranına karşı tolerans göstermediği belirlendi (Tablo 3).

Tablo 2. *Candida parapsilosis* tür grubuna ait suşların farklı sıcaklıklardaki üreme özellikleri.

	Sıcaklık (°C)						
	40	42	45	50	42→37	45→37	50→37
<i>C. parapsilosis</i> s. str. (n=8)	+	-	-	-	+	4+,4-	-
<i>C. metapsilosis</i> (n=6)	+	-	-	-	+	1+,5-	-
<i>C. orthopsilosis</i> (n=7)	+	-	-	-	+	1+,6-	-

+, Üreme pozitif; -, Üreme negatif.

Tablo 3. *Candida parapsilosis* tür grubuna ait suşların farklı pH değerleri, tuzluluk ve sikloheksimit konsantrasyonlarındaki üreme özellikleri.

	NaCl (%)			pH				Sikloheksimit (%)	
	5	10	17	2.5	4	10	12.5	0.01	0.1
<i>C. parapsilosis</i> s. str. (n=8)	+	+	3+,3±,2-	+	+	+	-	+	-
<i>C. metapsilosis</i> (n=6)	+	+	-	+	+	+	-	+	-
<i>C. orthopsilosis</i> (n=7)	+	+	-	+	+	+	-	+	-

+, Üreme pozitif; ± Zayıf üreme; -, Üreme negatif.

Tablo 4. *Candida parapsilosis*'in bulaşık ve çamaşır makinelerindeki izolasyon sıklığı.

Makine tipi	Ülke	Örnek sayısı	Mantar pozitifliği n (%)	<i>C. parapsilosis</i> n (%)	Kaynaklar
Bulaşık	Slovenya, Avustralya, Avusturya, Belçika, Brezilya, Kanada, Çin, Hırvatistan, Danimarka, Almanya, Büyük Britanya, İsrail, İtalya, Japonya, Fransa, Güney Afrika, İspanya, ABD	189	117 (62)	16 (8.5)	[9]
	Türkiye	158	28 (17.7)	2 (0.6)	[10]
	Türkiye	937	230 (24.5)	44 (16.6)	[11]
	Slovenya	30	25 (83)	10 (33)	[12]
Çamaşır	Slovenya	70	55 (79)	14 (25.4)	[13]
	Türkiye	99	47 (47.5)	25 (25.3)	[14]

TARTIŞMA

Bu çalışmada, *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* kökenlerinin yüksek sıcaklık ve tuzluluk, asidik/alkalik koşullar ve sikloheksimit varlığı gibi ekstrem koşullara olan olası tolerans yetenekleri dikate alınarak fizyolojik özellikleri incelendi. Bulgularımız, giderek önem kazanan bir patojen olan *C. parapsilosis*'in kriptomik türleri olan *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* ile karşılaştırıldığında daha yüksek ekolojik adaptasyon yeteneklerinin varlığını ortaya koymaktadır. Bulaşık⁽⁹⁻¹²⁾ ve çamaşır^(13,14) makinelerindeki *C. parapsilosis*, sırasıyla %6.7-33 ve %25.3-25.4 oranlarında bulunmuş ve sıcak su barındıran ev aletlerinin bu fırsatçı mantarları barındırabileceğini göstermiştir (Tablo 4). *Candida parapsilosis* izolatlarının *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* kökenlerinden farklı olarak yüksek sıcaklık ve tuzluluğa karşı gösterdikleri tolerans, insan yapımı çevrelere olan adaptasyon yetenekleri için bir açıklama olabileceğini düşünmekteyiz.

Döğen ve ark.⁽¹⁴⁾ çamaşır makinelerinden izole ettikleri 29 *C. parapsilosis* izolatının 10°C-37°C sıcaklık, pH 4-10 ve %5-10 NaCl ortamlarında üreyebildiğini bildirmişlerdir. Zupančič ve ark.⁽¹²⁾, *C. parapsilosis*'in sıklıkla bulaşık makinelerinin kapak ve kapağa yakın lastik kısımlarından izole edilmesini, 45°C ve üzerindeki sıcaklıklarda canlı kalamamalarına bağlamışlardır. Ayrıca, Novak Babič ve ark.⁽¹³⁾, çamaşır makinelerinin deterjan gözleri ve kapak plastik bölgelerinden *C. parapsilosis* izole etmişlerdir. Bu adaptasyon yeteneğiyle *C. parapsilosis*'in, *C. metapsilosis* ve

C. orthopsilosis'e göre insan yapımı çevreler dâhil geniş bir habitatta⁽¹⁶⁾ virülansı daha yüksek bir klonal yayılım gösteriyor olabileceği düşünülmektedir⁽¹⁷⁾.

Candida parapsilosis türünün yanında, termofilik *Exophiala dermatitidis* ve *Exophiala phaeomuriformis* ile mezofilik *Hortaea werneckii* ve *Aureobasidium pullulans* gibi bazı fırsatçı esmer mantar türleri de iyi bilinen halofilik türlerdir^(10,18-20). Esas olarak, *Exophiala* türleri birden fazla ekstrem çevresel koşullara tolerans gösteren "poliektremotoleran" türler olup, 5-47°C sıcaklık ve 2.5-12.5 pH aralığı ile %0.1 sikloheksimit varlığında üreyebilmektedir^(10,21-24). *C. parapsilosis* ve *E. dermatitidis*'e karşılık, mezofilik *H. werneckii*'nin 35°C'nin üzerinde üreyemediği ve 30°C'de ise daha yavaş ve küçük koloniler oluşturduğu kaydedilmiştir⁽²⁰⁾. Halotoleran bir tür olan *A. pullulans*'ın %17 oranına kadar NaCl'li ortamı tolere edebildiği bilinmektedir⁽¹⁹⁾. Ayrıca, *A. pullulans* var. melanogenum 37°C'de üreyebilirken, diğer varyetelerinin üreyemediği kaydedilmiştir⁽²⁵⁾.

Bu çalışmada, termofilik ve halofilik özelliklere sahip *C. parapsilosis*'in ekstrem koşullara tolerans gösterebildiği ve bu özelliklerin *C. parapsilosis*'in ev-içi mikro-çevrelerdeki varlığını açıklayabileceği düşünülmektedir. Buna karşılık, çalışılan izolat sayısının görece az olması bu çalışmanın bir eksikliği olabilir. Ekolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılması ve potansiyel mantar patojenlerine karşı önlem almak amacıyla insan yerleşimi olan benzer habitatlar ve ev-içi bölge ve aletler (banyolar, sıcak su ve hava ilişkili ev aletleri vb.)'de de bu mantar türlerinin varlığı ve yayılımı

incelenmelidir. Buna ek olarak, gelecekte yapılacak çalışmalar, *C. parapsilosis*'in insan yapımı bölgeler, evler ve hastanelerde bulunabilen ekstrem mikro-çevrelerdeki varlığının anlaşılmasını sağlayacaktır. Gelecekte bu mantarların yayılımının insan sağlığına olan etkisinin araştırılması kuşkusuz ilgi çekici olacaktır.

KAYNAKLAR

- San Miguel LG, Cobo J, Otheo E, Sánchez-Sousa A, Abreira V, Moreno S. Secular trends of candidemia in a large tertiary-care hospital from 1988 to 2000: emergence of *Candida parapsilosis*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005;26(6):548-52. <https://doi.org/10.1086/502582>
- van Asbeck EC, Clemons KV, Stevens DA. *Candida parapsilosis*: a review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility. *Crit Rev Microbiol.* 2009;35(4):283-309. <https://doi.org/10.3109/10408410903213393>
- Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, et al. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-albicans species of *Candida* in 2,496 patients: data from the respective Antifungal Therapy (PATH) Registry 2004-2008. *PLoS One.* 2014;9(7):e101510. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101510>
- Tavanti A, Davidson AD, Gow NA, Maiden MC, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* Groups II and III. *J Clin Microbiol.* 2005;43(1):284-92. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.1.284-292.2005>
- Chen M, Zeng J, de Hoog GS, et al. The "species complex" issue in clinically relevant fungi: A case study in *Scedosporium apiospermum*. *Fungal Biol.* 2016;120(2):137-46. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.09.003>
- 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.* 2012;36(2):288-305. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>
- Lockhart SR, Messer SA, Pfaller MA, Diekema DJ. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis*, in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol.* 2008;46(8):2659-64. <https://doi.org/10.1128/JCM.00803-08>
- Silva AP, Miranda IM, Lisboa C, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Prevalence, distribution, and antifungal susceptibility profiles of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* in a tertiary care hospital. *J Clin Microbiol.* 2009;47(8):2392-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.02379-08>
- Zalar P, Novak M, de Hoog GS, Gunde-Cimerman N. Dishwashers – A man-made ecological niche accommodating human opportunistic fungal pathogens. *Fungal Biol.* 2011;115(10):997-1007. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.04.007>
- Döğen A, Kaplan E, Öksüz Z, Serin MS, Ilkit M, de Hoog GS. Dishwashers are a major source of human opportunistic yeast-like fungi in indoor environments in Mersin, Turkey. *Med Mycol.* 2013;51(5):493-8. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.738313>
- Gümral R, Özhak-Baysan B, Tümgör A, et al. Dishwashers provide a selective extreme environment for human-opportunistic yeast-like fungi. *Fungal Divers.* 2016;76:1-9. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0327-8>
- Zupančič J, Novak Babic M, Zalar P, Gunde-Cimerman N. The black yeast *Exophiala dermatitidis* and other selected opportunistic human fungal pathogens spread from dishwashers to kitchens. *PLoS One.* 2016;11(2):e0148166. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148166>
- Novak Babič M, Zalar P, Ženko B, Schroers HJ, Džeroski S, Gunde-Cimerman N. *Candida* and *Fusarium* species known as opportunistic human pathogens from customer-accessible parts of residential washing machines. *Fungal Biol.* 2015;119(2-3): 95-113. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.10.007>
- Döğen A, Sav H, Gonca S, et al. *Candida parapsilosis* in domestic laundry machines. *Med Mycol.* 2017;55(8):813-9. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx008>
- Sudhadham M, Prakitsin S, Sivichai S, et al. The neurotropic black yeast *Exophiala dermatitidis* has a possible origin in the tropical rain forest. *Stud Mycol.* 2008;61:145-55. <https://doi.org/10.3114/sim.2008.61.15>
- Pammi M, Holland L, Butler G, Gacser A, Bliss JM. *Candida parapsilosis* is a significant neonatal pathogen: A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32(5):e206-16. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3182863a1c>
- Pryszcz LP, Németh T, Gácsér A, Gabaldón T. Unexpected genomic variability in clinical and environmental strains of the pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. *Genome Biol Evol.* 2013;5(12):2382-92. <https://doi.org/10.1093/gbe/evt185>
- Gunde-Cimerman N, Zalar P, de Hoog GS, Plemenitas A. Hypersaline waters in salterns: natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiol Ecol.*

- 2000;32(3):235-40.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2000.tb00716.x>
19. Kogej T, Ramos J, Plemenitaš A, Gunde-Cimerman N. The halophilic fungus *Hortaea werneckii* and the halotolerant fungus *Aureobasidium pullulans* maintain low intracellular cation concentrations in hypersaline environments. *J Appl Environ Microbiol.* 2005;71(11):6600-5.
<https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6600-6605.2005>
20. Cabañes FJ, Bragulat MR, Castellá G. *Hortaea werneckii* isolated from silicone scuba diving equipment in Spain. *Med Mycol.* 2012;50(8):852-7.
<https://doi.org/10.3109/13693786.2012.679628>
21. Vicente VA, Attili-Angelis D, Pie MR, et al. Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection. *Stud Mycol.* 2008;61:137-44.
<https://doi.org/10.3114/sim.2008.61.14>
22. Döğen A, Ilkit M, de Hoog GS. Black yeast habitat choices and species spectrum on high altitude creosote-treated railway ties. *Fungal Biol.* 2013;117(10):692-6.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.07.006>
23. Döğen A, Kaplan E, Ilkit M, de Hoog GS. Massive contamination of *Exophiala dermatitidis* and *E. phaeomuriformis* in railway stations in subtropical Turkey. *Mycopathologia.* 2013;175(5-6):381-6.
<https://doi.org/10.1007/s11046-012-9594-z>
24. Gümral R, Tümgör A, Saraçlı MA, Yıldırım ŞT, Ilkit M, de Hoog GS. Black yeast diversity on creosoted railway sleepers changes with ambient climatic conditions. *Microb Ecol.* 2014;68(4):699-707.
<https://doi.org/10.1007/s00248-014-0459-5>
25. Gostinčar C, Ohm RA, Kogej T, et al. Genome sequencing of four *Aureobasidium pullulans* varieties: biotechnological potential, stress tolerance, and description of new species. *BMC Genomics.* 2014;15:549.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-549>