

Kan Örneklerinden İzole Edilen *Candida parapsilosis* Kompleks Suşlarının Tür Düzeyinde Tanımlanması ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Identification of *Candida parapsilosis* Complex Strains Isolated from Blood Samples at Species Level and Determination of Their Antifungal Susceptibilities

Burcu Dalyan Cilo*[✉], Harun Ağca**[✉], Beyza Ener**[✉]

*SBÜ. Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji / Tıbbi Mikoloji Laboratuvarı, Bursa, Türkiye

**Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Öz

Amaç: Dünyada ve ülkemizde birçok merkezde, fırsatçı bir enfeksiyon olan kandidemilere ikinci sıklıkta neden olan tür *Candida parapsilosis* tür kompleksidir. Bu tür kompleksi içinde yer alan *Candida parapsilosis sensu stricto*, *Candida orthopsilosis* ve *Candida metapsilosis* türleri fenotipik olarak birbirinden ayıramaz ve tanımlanmaları için çeşitli moleküler yöntemlere gereksinim duyulur. Bu çalışmada, laboratuvarımızda kan kültürlerinden izole edilen *C. parapsilosis* tür kompleksi suşlarının antifungal duyarlılıklarının incelenmesi ve tür düzeyinde tanımlama yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı stoklarından 118 kan izolati kullanıldı. İzolatların flukonazol, vorikonazol, itraconazol, posakonazol, amfoterisin B ve anidulafungine in vitro duyarlılığı CLSI-M27 dokümanına göre saptandı. *C. parapsilosis* tür kompleksindeki türler, sekonder alkol dehidrogenaz enzimini kodlayan gen bölgesinin (SADH) "polimeraz chain reaction-restriction fragment length polymorphism" (PCR-RFLP) yöntemiyle incelenmesiyle belirlendi.

Bulgular: Bu çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen 118 *C. parapsilosis* tür kompleksi suşunda flukonazol direncinin %26.3 oranında olduğu, amfoterisin B ve anidulafungine ise direncin yok denecek kadar az olduğu saptandı. Antifungal duyarlılığı belirlenen bu suşlar arasında *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* türlerine rastlanmadı.

Sonuç: Bu çalışma ile merkezimizdeki *C. parapsilosis* tür kompleksindeki yüksek flukonazol direncinin kompleks içindeki türlerle ilişkili olmadığı görüldü. Suşlar arasındaki klonal ilişkinin ve direncin genetik temellerinin araştırılması için ek çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Candida parapsilosis* tür kompleksi, antifungal duyarlılık, PCR-RFLP

ABSTRACT

Objective: *Candida parapsilosis* species complex is the second most common cause of candidiasis which is an opportunistic infection, in many centers in the world and in our country. *Candida parapsilosis sensu stricto*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* within this species complex are indistinguishable from each other phenotypically and various molecular methods are needed for their identification. In this study, we aimed to investigate the antifungal susceptibility of *C. parapsilosis* species complex isolated from blood cultures in our laboratory and to identify them at species level.

Method: A total of 118 blood isolates from the stock culture of Uludağ University Faculty of Medicine Department of Microbiology were used. The in vitro sensitivity of the isolates to fluconazole, voriconazole, itraconazole, posaconazole, amphotericin B and anidulafungin was determined according to the CLSI-M27 document. The species in the *C. parapsilosis* species complex were determined by the investigation of the gene encoding the secondary alcohol dehydrogenase enzyme (SADH) using "polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism" (PCR-RFLP) method.

Results: In this study, fluconazole resistance was found to be 26.3% in the 118 *C. parapsilosis* species complex isolated from blood cultures, and the resistance to amphotericin B and anidulafungin was almost none. There were no *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* species among these strains.

Conclusion: In this study, it was shown that high fluconazole resistance in *C. parapsilosis* species complex in our center was not associated with different species in the complex. It is concluded that additional studies should be done to search for clonal relationship between strains and genetic basis of resistance.

Keywords: *Candida parapsilosis* species complex, antifungal susceptibility, PCR-RFLP

Alındığı tarih:

11.01.2019

Kabul tarihi:

01.03.2019

Yayın tarihi:

30.06.2019

ORCID Kayıtları

B. Dalyan Cilo 0000-0002-6158-9360

H. Ağca 0000-0002-2651-2034

B. Ener 0000-0002-4803-8206

✉ bdalyan@yahoo.com

GİRİŞ

Candida türleri insanlarda hastalık oluşturan fırsatçı mantarlar arasında birinci sırada olup, nozokomiyal enfeksiyonların %10-15'ine neden olmaktadır⁽¹⁾. Kuzey Amerika ve Avrupa'da yapılan sürveyans çalışmalarına göre *Candida* türleri, kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen patojenler arasında %8-10 oran ile dördüncü sırada yer alır^(2,3). *Candida albicans*, en fazla izole edilen tür olup, bunu çoğunlukla *Candida parapsilosis* ya da *Candida glabrata* izler⁽⁴⁾. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, genellikle ikinci sırada izole edilen tür *C. parapsilosis* tür kompleksidir⁽⁵⁻⁸⁾.

Candida parapsilosis tür kompleksi izolatları fenotipik olarak ayırt edilememekle birlikte genotipik olarak heterojendir. Genetik farklılık gösteren suşlar, 2005 yılına kadar *C. parapsilosis* tür kompleksi içinde üç grupta toplanırken (Grup I, II, III), son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarla bu grupların farklı türler olduğu anlaşılmıştır. Bu türler polimeraz chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ve internal transcribed spacer (ITS) gen dizi analizi gibi yöntemlerle ayrılarak; *C. parapsilosis sensu stricto* (Grup I), *Candida orthopsilosis* (Grup II) ve *Candida metapsilosis* (Grup III) olarak adlandırılmışlardır. Yapılan çalışmalar bu türlerin virülans özellikleri ile antifungal duyarlılık paternlerinin birbirinden farklı olduğunu ortaya koymaktadır⁽⁹⁻¹¹⁾.

Candida parapsilosis tür kompleksi içindeki türler rutin mikrobiyolojik yöntemlerle birbirinden ayırt edilememekte, yeni türlerin düşük oranda da olsa (~%5) klinik örneklerden izole edildiği bildirilmektedir⁽¹²⁻¹⁵⁾. Ülkemizde ise *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* izolasyon oranları ile ilgili veriler sınırlıdır⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. *C. parapsilosis* tür kompleksi, hastanemizde kan örneklerinden ikinci sıklıkta izole edilen *Candida* türüdür ve flukonazol direncinin beklenenden yüksek olduğu saptanmıştır⁽¹⁹⁾. Ancak bu tür kompleksi içindeki türlerin hastanemizdeki dağılım oranları ve türe özgü direnç oranları ile ilgili lokal epidemiyolojik verilerimiz bilinmemektedir.

Bu çalışmamızda, laboratuvarımızda kan kültürlerinden izole edilen *C. parapsilosis* tür kompleksi suşlarının antifungal duyarlılıklarının incelenmesi ve sekonder

alkol dehidrogenaz enzimini kodlayan gen bölgesinin (*SADH*) PCR-RFLP yöntemiyle incelenerek tür düzeyinde tanımlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Suşlar: Bu çalışmada, kan kültürlerinden 2010-2014 yılları arasında izole edilen, mısır unu-tween 80 besiyerindeki morfolojisi ve API ID 32C (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) sistemiyle *C. parapsilosis* tür kompleksi olarak tanımlanan ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı -80°C stoklarından Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerine pasajlanarak saf olarak canlandırılabilen 118 suş kullanıldı. Her bir suş ayrı bir hastaya aitti. Ayrıca, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258, *C. orthopsilosis* ATCC 96141 ve *C. metapsilosis* ATCC 96144 suşları kalite kontrol amaçlı kullanıldı.

in vitro antifungal duyarlılık testleri: Flukonazol (Sigma Aldrich, St Louis, MO, ABD), vorikonazol (Pfizer Central Research, New York, NY, ABD), itrakonazol (Sigma Aldrich, ABD), posakonazol (Sigma Aldrich, ABD), amfoterisin B (Amresco, OH, ABD) ve anidulafungin'in (Pfizer Central Research, ABD), *C. parapsilosis* tür kompleksi suşlarına karşı in vitro aktivitesi CLSI M27-A3 dokümanına göre saptandı⁽²⁰⁾. Antifungal ilaçlar, %0.2 glukoz içeren RPMI 1640 besiyerinde sulandırılarak U tabanlı mikrodilüsyon plaklarına uygun konsantrasyonda dağıtıldı. İnokulum süspansiyonu son konsantrasyonu 0.5×10^3 - 2.5×10^3 hücre/ml olacak şekilde ayarlandı ve değişik konsantrasyonlarda antifungal bulunan mikrodilüsyon kuyucuklarına dağıtıldı. Plaklar 35°C'da inkübe edildi. Minimum inhibitör konsantrasyonlar (MİK=µg/ml) 24 saat sonra görsel değerlendirildi. Yetersiz üremenin olduğu durumlarda inkübasyon 48. saate uzatıldı. Amfoterisin B için kontrol kuyucuğuna göre üremenin tam inhibe edildiği kuyucuk, diğer ilaçlar için ise belirgin azaldığı kuyucuk MİK olarak belirlendi. MİK değerleri CLSI klinik sınır değerlere göre duyarlı (S), doza bağlı duyarlı (S-DD), orta duyarlı (I) veya dirençli (R) olarak yorumlandı. Klinik sınır değerlerin olmadığı durumlarda epidemiyolojik eşik değerler kullanıldı ve epidemiyolojik eşik değer veya altında olanlar wild-type (WT), epidemiyolojik eşik değer üzerinde olanlar ise non wild-type (non-WT) olarak belirlendi^(20,21) (Tablo 1).

Tablo 1. CLSI referans yöntemine göre *Candida parapsilosis* tür kompleksi için epidemiyolojik eşik ve klinik sınır değerler⁽²⁰⁾.

Antifungal Ajanlar	Epidemiyolojik eşik değeri (µg/ml)		Klinik Sınır Değerler (µg/ml)			
	WT	Non-WT	S	S-DD	I	R
Amfoterisin B	≤2	>2	-	-	-	-
Flukonazol	≤2	>2	≤2	4	-	≥8
Itrakonazol	≤0.5	>0.5	-	-	-	-
Vorikonazol	≤0.125	>0.125	≤0.125	-	0.25-0.5	≥1
Posakonazol	≤0.25	>0.25	-	-	-	-
Anidulafungin	≤4	>4	≤2	-	4	≥8

S: Duyarlı, S-DD: Doza bağlı duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli, WT: wild-type, non-WT: non wild-type

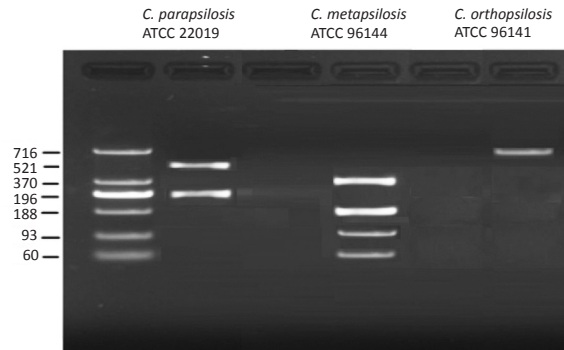
Candida parapsilosis tür kompleksi içindeki türlerin

belirlenmesi: *C. parapsilosis* tür kompleksi olarak tanımlanan ve antifungal duyarlılıklarına bakılan suşlardan DNA izolasyonu ticari bir kit (SP Fungal Kit: Omega Bio-tek, Inc., GA, ABD) kullanılarak kitin önerileri doğrultusunda yapıldı. *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki türlerin ayırımı sağlayan *SADH* (716 baz çifti) genine özgü primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi. Her PCR karışımı 2.5 µl 10x PCR tampon (magnezyum içermeyen), 1.5 µl MgCl₂, 200 µM dNTPs (Qiagen=Katalog no: 201912, Ankara), 10 µM primerler [(*SADH*-F GTTGATGCTGTTGGATTGT) ve (*SADH*-CAATGCCAAATCTCCCAA) (Qiagen)], 1.5 U Taq polimeraz (Qiagen, Katalog no: 201205) ve 2 µl ekstrakte DNA içerecek şekilde toplamda 25 µl olarak hazırlandı. Amplifikasyon Roche LightCycler 480 (Roche, Almanya) cihazında 94°C'de 5 dakika denatürasyon, sonrasında 94°C'de bir dakika, 36°C'de bir dakika, 72°C'de bir dakika olarak 35 siklus ve 72°C'de 10 dakika uzama basamağı ile sonlandırıldı. Tür tanımlaması için *SADH*-PCR ürünü (716 bp) *BanI* restriksiyon enzimi ile (Fermentas, Katalog no: FD1004, Massachusetts, MA, ABD) kesilerek %2 ethidyum bromid (0.05 µg/ml) ile boyalı agaroz jelde yürütüldü ve ultra viyole ışığı altında incelendi. İki bant (196 ve 521 bp) oluşması (*restriksiyon* enzimi ile bir yerden kesildiğini gösterir) *C. parapsilosis* sensu stricto, dört bant (370, 188, 93, 60, bp) oluşması (*restriksiyon* enzimi ile üç yerden kesildiğini gösterir) *C. metapsilosis*, bir bant (716 bp) oluşması (*restriksiyon* enzimi ile hiç kesilmediğini gösterir) *C. orthopsilosis* olarak değerlendirildi⁽¹¹⁾ (Resim 1).

BULGULAR

Bu çalışmada, değerlendirilen 118 *C. parapsilosis* tür

kompleksi suşunun altı antifungale in vitro duyarlılığı Tablo 2'de görülmektedir. *C. parapsilosis* tür kompleksi kandidemilerinde en sık kullanılan ilaç olan flukonazol direncinin %26.3 olduğu belirlenmiştir. Flukonazole dirençli suşların diğer azollere de değişik oranlarda dirençli olduğu saptanmıştır. Amfoterisin B'ye dirençli suş saptanmazken, bir suşa anidulafungin duyarlılığının azaldığı (%0.8) belirlenmiştir.



Resim 1. Standart suşların *SADH*-PCR ürününün *BanI* restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan bantlar.

SADH geninin PCR-RFLP yöntemiyle incelenmesi sonucu izolatlarımızın tamamının (%100) *C. parapsilosis* sensu stricto olduğu anlaşıldı. Tür kompleksi içindeki diğer iki türe rastlanılmadı.

TARTIŞMA

Candida parapsilosis tür kompleksi, diğer *Candida* türlerinden farklı olarak mukozalardan çok deride kolonize olan bir türdür. Biyofilm oluşturma özelliği ile hastanelerde cansız yüzeylerde de bulunabilir ve sağlık çalışanlarının elleriyle gerçek anlamda nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilir. En fazla yeni doğanlar ile pediatrik ve erişkin yoğun bakımlardaki damar içi kateterli hastalarda kandidemiler

Tablo 2. *Candida parapsilosis* tür kompleksi suşlarının (118 suş) in vitro antifungal duyarlılığı.

İlaçlar	Klinik sınır değerlere göre değerlendirme, n (%)				Epidemiyolojik eşik değerlere göre değerlendirme, n (%)	
	S	S-DD	I	R	WT	Non-WT
Amfoterisin B					118 (%100)	
Flukonazol	86 (%72.9)	1 (%0.8)		31 (%26.3)		
İtrakonazol					117 (%99.2)	1 (%0.8)
Vorikonazol	116 (%98.3)	2 (%1.7)				
Posakonazol					100 (%84.7)	18 (%15.3)
Anidulafungin	117 (%99.2)		1 (%0.8)			

S: Duyarlı, S-DD: Doza bağlı duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli, WT: wild-type, non-WT: non wild-type

oluşturur^(10,22). Dünya genelinde yapılan birçok tek veya çok merkezli kandidemi çalışmalarında, *C. parapsilosis* tür kompleksinin *C. albicans*'dan sonra ikinci sırada görüldüğü bildirilmektedir^(2,3,23-25). Ülkemizde yapılan çalışmalarda da pek çok merkezde *C. albicans*'dan sonra en fazla *C. parapsilosis* tür kompleksine rastlanılmaktadır^(5-8,19,26-29).

Merkezimizde de *C. parapsilosis* tür kompleksi *C. albicans*'dan sonra ikinci sırada belirlenmiştir⁽¹⁹⁾. *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis*'in farklı türler olduğu 2005 yılında belirlenmiş olsa da günümüzde hâlen rutin incelemelerle bu türleri *C. parapsilosis* sensu stricto'dan ayırt etmek mümkün olamamaktadır.

Bu çalışmada, hastanemizde kan kültürlerinden izole edilen ve *C. parapsilosis* tür kompleksi olarak tanımlanan suşların tamamının *C. parapsilosis* sensu stricto olduğu saptanırken *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* suşuna rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda *C. metapsilosis*'in kan kültür izolatlarında çok çok az olduğu, daha çok solunum yolları, idrar, mukoza sürüntü örneklerinden izole edildiği vurgulanmaktadır. Bunun ötesinde bu türün virülansı en düşük tür olduğu da bildirilmiştir⁽³⁰⁾. *Candida orthopsilosis*'in ise %0-23.3 oranlarında kan kültürlerinden izole edildiği gösterilmiştir⁽¹²⁻¹⁵⁾. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, %1.5 oranında *C. orthopsilosis* tespit edilmiş olsa da, üreme kan değil idrar örneğine ait bulunmuştur⁽¹⁶⁾. Yapılan diğer çalışmada da kan kültür izolatlarının hepsi bizim çalışmada olduğu gibi *C. parapsilosis* sensu stricto olarak bulunmuştur⁽¹⁷⁾. İklimsel, sosyoekonomik ve sanitasyon olanaklarının *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki diğer türlerin izolasyon oranlarına etkili olabileceği vurgulanmaktadır^(12,14).

ITS1/ITS2 sekanslama *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki türleri belirlemede kullanılabilir altın standart bir yöntemdir. Ancak pahalı ve zaman alıcı olması en önemli dezavantajı olup, farklı yöntem arayışları sürmektedir^(11,14). *SADH* geninin PCR-RFLP yöntemiyle incelenmesi *C. parapsilosis* tür kompleksi içindeki türleri belirlemede kullanılan güvenilir bir yöntemdir. Ancak bazı çalışmalarda, *C. metapsilosis*'in yanlış olarak *C. orthopsilosis* olarak tanımlandığı ileri sürülmektedir⁽¹⁴⁾. Bu çalışmada, bu iki tür izole edilmediği için yöntemle ilişkin yanlış tanımlama hakkında yorum yapılamamıştır.

Ülkemizde farklı merkezlerde yapılan çeşitli çalışmalarda, *C. parapsilosis* tür kompleksi suşlarında flukonazole (%0 - %7.4) arasında değişen direnç oranları bildirilmiştir⁽³¹⁻³⁴⁾. Merkezimizde daha önce yapılmış olan çalışmalarda da saptandığı gibi çalışmamızda, flukonazol direnci (%26.3) ülkemiz verilerinin üstünde bulunmuştur^(8,19). Benzer şekilde flukonazol direnci Güney Afrika (%63), Çin (%19.3) ve İsveç'te (%15) de belirlenmiştir⁽³⁵⁻³⁷⁾. Ancak dirençli suşlar arasındaki moleküler epidemiyolojik ilişkinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma vardır^(38,39).

Candida orthopsilosis ve *C. metapsilosis* suşlarının antifungal duyarlılıklarının incelendiği çalışma az olmakla birlikte, yapılan çalışmalarda bu türlerin *C. parapsilosis* sensu stricto'ya göre amfoterisin B ve ekinokandinlere duyarlılığının daha yüksek, flukonazole duyarlılığının ise daha düşük olduğu bildirilmektedir^(12,14,40,41). Bu çalışma merkezimizdeki *C. parapsilosis* tür kompleksindeki yüksek flukonazol direncinin kompleks içindeki türlerle ilişkili olabileceği düşüncesiyle yapılmıştır. Ancak böyle bir ilişki

belirlenememiştir. Bundan sonraki süreçte *C. parapsilosis* tür kompleksi izolatlarının duyarlılık paterni takip edilerek dirençli ve duyarlı suşlar arasındaki klonal ilişki ve direnç genlerinin araştırılacağı yeni çalışmalara gereksinim vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (KUAP (T) - 2014/3).

KAYNAKLAR

1. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis*. 2003;3(11):685-702. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00801-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00801-6)
2. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*. 2004;39(3):309-17. <https://doi.org/10.1086/421946>
3. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, et al. Epidemiology of candidemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23(4):317-22. <https://doi.org/10.1007/s10096-004-1103-y>
4. Diekema DJ, Pfaller MA. Nosocomial candidemia: an ounce of prevention is better than a pound of cure. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004;25(8):624-6. <https://doi.org/10.1086/502451>
5. Yapar N, Uysal U, Yücesoy M, Çakır N, Yüce A. Nosocomial bloodstream infections associated with *Candida* species in a Turkish university hospital. *Mycoses*. 2005;49(2):134-8. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01187.x>
6. Çelebi S, Hacimustafaoğlu M, Özdemir O, Özkaya G. Nosocomial candidemia in children: results of a 9-year study. *Mycoses*. 2008;51(3):248-57. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01464.x>
7. Bakır M, Çerikcioğlu N, Bartaon R, Yağcı. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital. *APMIS*. 2006;114(9):601-10. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2006.apm_359.x
8. Gürcüoğlu E, Ener B, Akalın H, et al. Epidemiology of nosocomial candidemia in a university hospital: a 12-year study. *Epidemiol Infect*. 2010;138(9):1328-35. <https://doi.org/10.1017/S0950268809991531>
9. Nosek J, Holesova Z, Kosa P, Gacser A, Tomaska L. Biology and genetics of the pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. *Curr Genet*. 2009;55(5):497-509. <https://doi.org/10.1007/s00294-009-0268-4>
10. Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*: an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(4):606-25. <https://doi.org/10.1128/CMR.00013-08>
11. Tavanti A, Davidson AD, Gow NAR, Maiden MCJ, 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>
12. Lockhart SR, Messer SA, Pfaller MA, Diekema DJ. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* 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>
13. Chen Y, Lin Y, Chen K, Lii J, Teng H, Li S. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu stricto, *C. orthopsilosis*, and *C. metapsilosis* in Taiwan. *Diag Microbiol Infect Dis*. 2010;68(3):284-92. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.07.004>
14. Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Rodriguez D, et al. Prevalence and susceptibility profile of *C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis*: results from population-based surveillance of candidemia in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(4):1506-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.01595-07>
15. Mirhendi H, Bruun B, Schönheyder HC, et al. Molecular screening for *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* among Danish *Candida parapsilosis* group blood culture isolates: proposal of a new RFLP profile for differentiation. *J Med Microbiol*. 2010;59(Pt 4):414-20. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.017293-0>
16. Cebeci Güler N, Tosun İ, Bayramoğlu G, Buruk K, Aydın F. Klinik örneklerden izole edilen *Candida parapsilosis* kompleks türlerinin (*C. parapsilosis* sensu stricto, *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis*) genotipik olarak tanımlanması ve dağılımlarının belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2011;45(4):723-8.
17. Hilmioğlu-Polat S, Sharifynia S, Öz Y, et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu stricto isolated from bloodstream infections in Turkish patients. *Mycopathologia*. 2018;183(4):701-8. <https://doi.org/10.1007/s11046-018-0261-x>
18. Tosun İ, Akyüz Z, Cebeci Güler N, et al. Distribution, virulence attributes and antifungal susceptibility patterns of *Candida parapsilosis* complex strains isolated from clinical samples. *Med Mycol*. 2013;51(5):483-92. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.745953>
19. Kazak E, Akın H, Ener B, et al. An investigation of *Candida* species isolated from blood cultures during 17 years in a university hospital. *Mycoses*. 2014;57(10):623-9.

- <https://doi.org/10.1111/myc.12209>
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard-third edition. CLSI document (M27-A3). 2008. CLSI, Wayne, PA.
 21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: 3rd informational supplement (M27-S3). 2008. CLSI, Wayne, PA.
 22. Delfino D, Scordino F, Pernice I, et al. Potential association of specific *Candida parapsilosis* genotypes, bloodstream infections and colonization of health workers' hands. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(11):946-51.
<https://doi.org/10.1111/1469-0691.12685>
 23. Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, et al. Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002-2010). *Intens Care Med*. 2014;40(9):1303-12.
<https://doi.org/10.1007/s00134-014-3408-3>
 24. Pfaller MA, Moet GJ, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. Geographic variations in species distribution and echinocandin and azole antifungal resistance rates among *Candida* bloodstream infection isolates: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2008-2009). *J Clin Microbiol*. 2011;49(1):396-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01398-10>
 25. Pemán J, Cantón E, Quindós G, et al. Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(5):1181-7.
<https://doi.org/10.1093/jac/dks019>
 26. Çalışkan E, Dede A, Biten G. Kan kültürlerinde haftanın *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *ANKEM Derg*. 2013;27(1):25-30.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2013.025>
 27. Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının ve antifungal duyarlılıklarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. *ANKEM Derg*. 2015;29(3):105-13.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2015.0105>
 28. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. *ANKEM Derg*. 2010;24(4):202-8.
 29. Kılınçel Ö, Akar N, Karamurat ZD, ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2018;48:256-63.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.256>
 30. Orsi CF, Colombari B, Blasi E. *Candida metapsilosis* as the least virulent member of the '*C. parapsilosis*' complex. *Med Mycol*. 2010;48(8):1024-33.
<https://doi.org/10.3109/13693786.2010.489233>
 31. Hazırolan G, Yıldırım D, Baran I, Mumcuoğlu İ, Aksu N. Yatan hasta örneklerinden izole edilen *Candida* izolatlarının tür dağılımlarının ve antifungal duyarlılık profillerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2015;72(1):17-26.
<https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2015.75010>
 32. Çalgın MK, Çetinkol Y. Distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species at a university hospital in Northern Turkey. *J Infect Dev Ctries*. 2018;12(2):97-101.
<https://doi.org/10.3855/jidc.9698>
 33. Kiraz N, Öz Y. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility of clinical *Candida isolates* from a university hospital in Turkey over a 5-year period. *Med Mycol*. 2011;49(2):126-31.
<https://doi.org/10.3109/13693786.2010.503195>
 34. Dizbay M, Fidan I, Kalkancı A, et al. High incidence of *Candida parapsilosis* candidaemia in non-neutropenic critically ill patients: epidemiology and antifungal susceptibility. *Scand J Infect Dis*. 2010;42(2):114-20.
<https://doi.org/10.3109/00365540903321572>
 35. Govender NP, Patel J, Magobo RE, et al. Emergence of azole-resistant *Candida parapsilosis* causing bloodstream infection: results from laboratory-based sentinel surveillance in South Africa. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(7):1994-2004.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkw091>
 36. Liu W, Tan J, Sun J, et al. Invasive candidiasis in intensive care units in China: in vitro antifungal susceptibility in the China-SCAN study. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(1):162-7.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkt330>
 37. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(1):133-63.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00029-06>
 38. Pinhati HM, Casulari LA, Souza AC, Siqueira RA, Damasceno CM, Colombo AL. Outbreak of candidemia caused by fluconazole resistant *Candida parapsilosis* strains in an intensive care unit. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):433.
<https://doi.org/10.1186/s12879-016-1767-9>
 39. Magobo RE, Naicker SD, Wadula J, et al. Detection of neonatal unit clusters of *Candida parapsilosis* fungaemia by microsatellite genotyping: results from laboratory-based sentinel surveillance, South Africa, 2009-2010. *Mycoses*. 2017;60(5):320-7.
<https://doi.org/10.1111/myc.12596>
 40. Tavanti A, Hensgens LAM, Ghelardi E, Campa M, Senesi S. Genotyping of *Candida orthopsilosis* clinical isolates by amplification fragment length polymorphism reveals genetic diversity among independent isolates and strain maintenance within patients. *J Clin Microbiol*. 2007;45(5):1455-62.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00243-07>
 41. Van Asbeck E, Clemons KV, Martinez M, Tong AJ, Stevens D. Significant differences in drug susceptibility among species in the *Candida parapsilosis* group. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;62(1):106-9.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.019>