

Candida parapsilosis Tür Kompleksi ve *Lodderomyces elongisporus* İzolatlarının MALDI-TOF MS ile İdentifikasyonu

Identification of Candida parapsilosis Species Complex and *Lodderomyces elongisporus* Isolates with MALDI-TOF MS

Engin Kaplan**[Ⓜ], Ayşe Sultan Karakoyun**[Ⓜ], Deniz Alkaya***[Ⓜ], Nevzat Ünal****[Ⓜ], Aylin Döğen***[Ⓜ]
Macit İlkit**[Ⓜ]

* Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

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

*** Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

**** Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Adana, Türkiye

Atf/Cite as: Kaplan E, Karakoyun AS, Alkaya D, Ünal N, Döğen A, İlkit M. *Candida parapsilosis* tür kompleksi ve *Lodderomyces elongisporus* izolatlarının MALDI-TOF MS ile identifikasyonu, Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(4):400-5.

Öz

Amaç: *Candida parapsilosis* tür kompleksi ve *Lodderomyces elongisporus* izolatları virülans, prevalans ve antifungal duyarlılık profilleri yönünden farklılıklara sahip olabilmektedir. Bu türlerin biyokimyasal yöntemlerle tanısı zordur. Bu nedenle, uygulanabilirlik, zaman ve maliyet açısından daha verimli yöntemlere gereksinim duyulmaktadır. Bu çalışmanın amacı, *C. parapsilosis* tür kompleksine ve *L. elongisporus*'a ait izolatların ayırımında MALDI-TOF MS yönteminin tanı performansını değerlendirmektir.

Yöntem: Sunulan çalışmada, *C. parapsilosis* (n=8), *Candida orthopsilosis* (n=7), *Candida metapsilosis* (n=6) ve *L. elongisporus* (n=11) türlerini içeren toplam 32 referans izolat MALDI-TOF MS yöntemi ile tanıya edildi.

Bulgular: *Candida parapsilosis* tür kompleksine ve *L. elongisporus*'a ait 31 (%93.7) izolatın tür ismi doğru şekilde tanımlandı. Sekiz (%100) *C. parapsilosis*, 5 (%83) *C. metapsilosis*, 5 (%71) *C. orthopsilosis* ve 6 (%54) *L. elongisporus* izolatını içeren toplam 24 (%75) izolatın tür ismi 1.7–2.14 arasında değişen skor değerleri ile tanıya edildi. Güvenli tanımlama için ≥ 1.7 skoru referans alındığında, MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %54.5–100 ve %96.3–100 olarak belirlendi.

Sonuç: *Candida parapsilosis* tür kompleksi ve *L. elongisporus* gibi biyokimyasal yöntemlerle ayırımı güç olan türlerin hızlı moleküler fenotipik tanısında MALDI-TOF MS'in etkili bir yöntem olduğu gösterilmesine karşılık, daha güvenli skor aralıklarında tür düzeyinde tanımlama için yöntemin optimizasyonu ve daha geniş MS kütüphanesi gereksinimi olduğu açıktr.

Anahtar kelimeler: *Candida parapsilosis* tür kompleksi, *Lodderomyces elongisporus*, moleküler tanı, MALDI-TOF MS

ABSTRACT

Objective: *Candida parapsilosis* species complex and *Lodderomyces elongisporus* may have differences in terms of their virulence, prevalence, and antifungal susceptibility profiles. These species are difficult to identify with biochemical methods. Therefore, there is a need for more efficient identification methods in terms of time, cost, and applicability. This study aims to evaluate the diagnostic performance of the MALDI-TOF MS method in discriminating between isolates belonging to the *C. parapsilosis* species complex and *L. elongisporus*.

Method: In the current study, a total of 32 reference strains, including the *C. parapsilosis* (n=8), *Candida orthopsilosis* (n=7), *Candida metapsilosis* (n=6), and *L. elongisporus* (n=11) species were identified using the MALDI-TOF MS method.

Results: The species names of 31 (93.7%) isolates belonging to the *C. parapsilosis* species complex and *L. elongisporus* were correctly identified. Twenty four isolates including eight (100%) *C. parapsilosis*, five (83%) *C. metapsilosis*, five (71%) *C. orthopsilosis*, and six (54%) *L. elongisporus* isolates were identified with score values ranging from 1.7 to 2.14. According to the secure identification reference score of ≥ 1.7 , the sensitivity and specificity of the MALDI-TOF MS method were determined as 54.5–100% and 96.3–100%, respectively.

Conclusion: Although the MALDI-TOF MS method has been shown to be effective in the rapid molecular phenotypic diagnosis of species that were difficult to discriminate using biochemical methods such as *C. parapsilosis* species complex and *L. elongisporus*, there is a clear need to optimize the method and develop a larger MS library for species-level identification within secure score ranges.

Keywords: *Candida parapsilosis* species complex, *Lodderomyces elongisporus*, Molecular Identification, MALDI-TOF MS

Alındığı tarih / Received:

09.06.2021 / 09.June.2021

Kabul tarihi / Accepted:

02.08.2021 / 02.August.2021

Erken çevrimiçi / First Published:

23.09.2021 / 23.September.2021

ORCID Kayıtları

E. Kaplan 0000-0001-5705-717X

A. S. Karakoyun 0000-0002-2717-6343

D. Alkaya 0000-0001-8580-4152

N. Ünal 0000-0001-5121-3100

A. Döğen 0000-0002-0388-306X

M. İlkit 0000-0002-1174-4182

✉ enginkaplan33@gmail.com

GİRİŞ

Candida türleri invazif mantar hastalıklarının önemli etkenlerindedir⁽¹⁾. Kandidemilerin tüm dünyadaki en sık etkeni *Candida albicans*'dır⁽²⁾. *Candida parapsilosis* ise yoğun bakım ünitelerinde ikinci veya üçüncü sırada yer alır⁽³⁾. Ülkemizde kandideminin en sık ikinci etkeni *C. parapsilosis* olup, insidansı her geçen gün artmaktadır⁽⁴⁾.

Candida parapsilosis tür kompleksi üyeleri, *C. albicans*, *Candida dubliniensis* ve *Lodderomyces elongisporus* ile aynı taksonomik grup içerisinde sınıflandırılır^(5,6). *C. parapsilosis* tür kompleksi *C. parapsilosis*, *Candida metapsilosis*, *Candida orthopsilosis* türlerini içerir⁽⁷⁾ ve *L. elongisporus* türü ile yakından ilişkilidir⁽⁸⁻¹⁰⁾. Kriptik türler olmalarına karşılık, *L. elongisporus* ve tür kompleksi içerisindeki türlerin virülans, prevalans ve antifungal duyarlılık özellikleri açısından farklılıklar dikkat çekmiştir. *C. parapsilosis*, kompleks içerisinde en sık görülen tür iken, *C. metapsilosis* ve *C. orthopsilosis* türlerinin prevalansı bölgesel olarak farklılık gösterebilmektedir⁽¹¹⁾. Son zamanlarda, Ortadoğu^(12,13), İspanya⁽¹⁴⁾ ve Japonya'da⁽¹⁵⁾ *L. elongisporus* ile ilişkili enfeksiyonlar bildirilmiştir. *C. orthopsilosis*'in itrakonazol ve ekinokandin grubu ilaçlara en yüksek minimal inhibisyon konsantrasyonu gösterdiği⁽¹⁶⁾, *C. metapsilosis*'in ise ekinokandin grubu ilaçlara en duyarlı tür olduğu rapor edilmiştir⁽¹⁷⁾. *C. parapsilosis* ile karşılaştırıldığında, *L. elongisporus*'ta antifungal direnci daha düşük oranlarda bulunmuştur⁽¹²⁻¹⁵⁾. Ayrıca, *C. parapsilosis* pozitif kan izolatlarnın %9.5'inde *C. parapsilosis* ve *C. orthopsilosis*'in birlikte etken olduğu belirlenmiştir⁽¹⁸⁾.

Candida parapsilosis, *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis* ve *L. elongisporus* türlerinde görülebilen virülans, prevalans ve antifungal duyarlılık farklılıklarına karşılık, bu türlerin ayırıcı tanısı fenotipik yöntemlerle yapılamamaktadır. *C. parapsilosis* tür kompleksi ayırımında, sıklıkla ribozomal DNA'nın ITS (Internal transcribed spacer) bölgesinin sekansı veya sekonder alkol dehidrojenaz (*SADH*) geni kapsamında kesim enzimi temelli polimorfizm analizleri kullanılmasına karşılık, klinik tanı noktasında uygulanabilirlik, zaman ve maliyet açısından daha verimli yöntemlere gereksi-

nim duyulmaktadır.

Son 10 yıl içerisinde, matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) enfeksiyon etkeni maya mantarlarının tür tanısında hızlı ve uygulanabilirliği kolay bir yöntem olarak yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır. MALDI-TOF-MS yönteminin, biyokimyasal yöntemlerle tanımlanabilen mantar türlerinin yanında, birbirine yakın türleri içeren tür kompleksi⁽¹⁹⁾ veya varyete üyesi izolatlarnın ayırımında⁽²⁰⁾ veya antifungal duyarlılık analizlerinde⁽²¹⁻²⁴⁾ de kullanım potansiyeline sahip olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada, MALDI-TOF MS yönteminin *C. parapsilosis* tür kompleksi ve *L. elongisporus* izolatlarnın ayırıcı tanısındaki etkinliğini değerlendirilmesi ve verilerin literatür eşliğinde tartışılması amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatlar: Sunulan çalışmada, *L. elongisporus* (n=11) ve *C. parapsilosis* tür kompleksi üyesi *C. parapsilosis* (n=8), *C. orthopsilosis* (n=7) ve *C. metapsilosis* (n=6) türlerini temsil eden klinik ve çevresel kökenli toplam 32 referans izolat incelendi. *Candida* izolatlarnı CBS-KNAW Mantar Biyoçeşitlilik Merkezi (Westerdijk Mantar Biyoçeşitlilik Enstitüsü, Utrecht, Hollanda) ve *L. elongisporus* izolatlarnı ise Duke Üniversitesi Moleküler Genetik ve Mikrobiyoloji Departmanı (Durham, NC, ABD) koleksiyonundan alındı (Tablo 1). İzolatlar, Sabouraud glikoz agar (SGA; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)'da 30°C'de 2 gün inkübe edilerek canlandırıldı.

MALDI-TOF MS analizi: Tanımlama için SGA plaklarında taze kültürden üretilen koloniler kullanıldı. Her bir izolattan kürdan yardımı ile MALDI hedef plak (MSP 96 BC ground steel target; Bruker Daltonik, Bremen, Almanya) üzerindeki noktalara, transfer yapıldı ve ince bir tabaka hâlinde sürüldü. Plaka üzerinde ekstraksiyon, her noktanın 1 µl %70'lik formik asit çözeltisi ile kaplanması ve örnek yüklü plakanın 5 dakika boyunca oda sıcaklığında kurumaya bırakılması ile yapıldı. Sonra, örneklerin her biri 1 µl α-siyano-4-hidroksi sinamik asit solüsyonu (HCCA matriks;

Tablo 1. Çalışmada incelenen *Candida parapsilosis* kompleks türleri ve *Lodderomyces elongisporus*'a ait kökenlerin özellikleri ve MALDI-TOF MS tanı sonuçları.

Tür ismi	Suş ismi	Örnek Türü	Örnek Kökeni	İzolasyon	Ülke	MALDI-TOF MS Tanısı	Tanı Skorları
<i>Candida parapsilosis</i>	CBS 2915	Klinik	İnsan	-	Norveç	<i>C. parapsilosis</i>	1.703
	CBS 604	Klinik	İnsan	-	Porta Riko	<i>C. parapsilosis</i>	1.787
	CBS 7248	Klinik	Hayvan	Subklinik mastit	Yeni Zelanda	<i>C. parapsilosis</i>	1.937
	CBS 8836	Klinik	İnsan	Kan	ABD	<i>C. parapsilosis</i>	2.043
	CBS 12541	Çevresel	Meyve	Ziziphus mauritiana	Zimbabve	<i>C. parapsilosis</i>	1.877
	CBS 1954*	Çevresel	Meyve	-	İtalya	<i>C. parapsilosis</i>	2.001
	CBS 2216	Çevresel	Gıda	Salamura	ABD	<i>C. parapsilosis</i>	1.833
	CBS 8181	Çevresel	Bitki	Nothofagus dombeyii	Şili	<i>C. parapsilosis</i>	2.143
<i>Candida orthopsilosis</i>	CBS 10741	Klinik	İnsan	Tırnak	Belçika	<i>C. orthopsilosis</i>	1.453
	CBS 10742	Klinik	İnsan	Tırnak	Belçika	<i>C. orthopsilosis</i>	1.715
	CBS 10906*	Klinik	İnsan	Vajinal	ABD	<i>C. orthopsilosis</i>	1.516
	CBS 9894	Çevresel	Böcek	-	Panama	<i>C. orthopsilosis</i>	1.785
	CBS 10743	Çevresel	Böcek	-	ABD	<i>C. orthopsilosis</i>	1.896
	CBS 2212	Çevresel	Bitki	-	Endenozya	<i>C. orthopsilosis</i>	1.939
	CBS 8825	Çevresel	Bitki	-	Avustralya	<i>C. orthopsilosis</i>	1.851
<i>Candida metapsilosis</i>	CBS 10747	Klinik	İnsan	Tırnak	Belçika	<i>C. parapsilosis</i>	1.852
	CBS 10907*	Klinik	İnsan	-	ABD	<i>C. metapsilosis</i>	1.813
	CBS 2315	Klinik	İnsan	Balgam	İtalya	<i>C. metapsilosis</i>	1.812
	CBS 11127	-	-	-	-	<i>C. metapsilosis</i>	1.791
	CBS 2916	-	-	-	Norveç	<i>C. metapsilosis</i>	1.971
	CBS 10746	-	-	-	-	<i>C. metapsilosis</i>	1.742
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	7660	Klinik	-	-	Meksika	<i>L. elongisporus</i>	1.762
	7661	Klinik	-	-	Malezya	<i>L. elongisporus</i>	1.655
	7663	Klinik	-	-	ABD	<i>L. elongisporus</i>	1.821
	7665	Klinik	-	-	Venezüella	<i>L. elongisporus</i>	1.609
	7666	Klinik	-	-	Venezüella	<i>L. elongisporus</i>	1.668
	7668	Klinik	-	-	İtalya	<i>L. elongisporus</i>	1.770
	7669	Klinik	-	-	Meksika	<i>L. elongisporus</i>	1.871
	7670	Klinik	-	-	Meksika	<i>L. elongisporus</i>	1.701
	7672	Klinik	-	-	Meksika	<i>L. elongisporus</i>	1.809
	7673	Klinik	-	-	Meksika	<i>L. elongisporus</i>	1.698
	7675	Klinik	-	-	Meksika	<i>L. elongisporus</i>	1.565

Bruker) ile kaplandı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruma sonrası plaka MALDI-TOF kütle spektrometrisi cihazına (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) yüklendi. Cihaz kalibrasyonu ve pozitif kontrol olarak Bruker BTS solüsyonu kullanıldı. Kalite kontrolü ve her bir izolata ait spektrumların analizi için Bruker Biotyper 3.1 yazılım programı ve kütüphanesinden (versiyon 3.1.66) yararlanıldı. MALDI skorları üreticinin talimatlarına göre sınıflandırıldı; buna göre, 2.3–3 arası log-skor değeri yüksek doğrulukta tür düzeyinde tanı, 2–2.29 arası skor güvenli cins ve olası tür düzeyinde tanı, 1.7–1.99 arası olası cins düzeyinde tanı ve 0–1.69 arası skor ise güvenilir olmayan tanı şeklinde değerlendirildi.

MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü Blakely ve Salmond'a⁽²⁵⁾ göre hesaplandı.

BULGULAR

Çalışmada belirlenen MALDI-TOF MS kütle spektrumları MSP kütüphanesi ile karşılaştırıldı. MALDI-TOF MS analizi sonucunda 31 (%93.7) izolatin tür ismi doğru şekilde saptandı, bir (%3.1) *C. metapsilosis* izolati ise yanlış tür ismi ile tanımlandı (Tablo 1). Skor değerleri, üç (%9.3) izolat için ≥ 2.0 , 21 (%65.6) izolat için 1.7–2.0 ve yedi (%21.8) izolat için ise < 1.7 olarak belirlendi (Tablo 1 ve Tablo 2).

Sekiz (%100) *C. parapsilosis*, beş (%83) *C. metapsilosis*, beş (%71) *C. orthopsilosis* ve altı (%54) *L. elongisporus* izolatinı içeren toplam 24 (%75) izolat 1.7–2.14 arasında değişen skor değerleri ile tanımlandı. Buna karşılık, iki (%28.5) *C. orthopsilosis* ve beş (%45.4) *L. elongisporus* izolatinın tür ismi doğru ola-

Tablo 2. MALDI-TOF MS analiz skorları ve tanı performansı.

Türler	Tanı skorları*				Tanı performansı**		
	2.3-3.0	2.0-2.29	1.7-1.9	<1.7	Yalancı pozitiflik	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
<i>Candida parapsilosis</i> (n=8)	-	3	5	-	-	100	100
<i>Candida metapsilosis</i> (n=6)	-	-	5	-	<i>C. parapsilosis</i> (n=1)	100	96.3
<i>Candida orthopsilosis</i> (n=7)	-	-	5	2	-	71.4	100
<i>Lodderomyces elongisporus</i> (n=11)	-	-	6	5	-	54.3	100

* 2.3–3, yüksek doğrulukta tür düzeyinde tanı; 2–2.29, güvenli cins ve olası tür düzeyinde tanı; 1.7–1.99, olası cins düzeyinde tanı; 0–1.69, güvenilir olmayan tanı

** ≥ 1.7 skorla tanımlanmış izolatlar temel alındı.

rak belirlenmesine karşılık, güvenli olmayan skor aralığında belirlendi (skor < 1.7) ve bir (%16.6) *C. metapsilosis* izolatı ise *C. parapsilosis* olarak yanlış tanımlandı (Tablo 1 ve 2).

Güvenli tanımlama için ≥ 1.7 skoru temel alındığında, *C. parapsilosis* tür kompleksine ait izolatların ayırımında, MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı *C. parapsilosis* ve *C. metapsilosis* için %100, *C. orthopsilosis* ve *L. elongisporus* için ise sırasıyla %71.4 ve %54.5 olarak saptandı. Yöntemin özgüllüğü ise *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *L. elongisporus* için %100 ve *C. metapsilosis* için %96.3 olarak belirlendi (Tablo 2).

TARTIŞMA

Bu çalışmada, *L. elongisporus* ve *C. parapsilosis* tür kompleksi üyesi izolatların ayırımında MALDI-TOF MS yönteminin performansı değerlendirildi. Bu amaçla, 32 referans *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis* ve *L. elongisporus* izolatı MALDI-TOF MS yöntemi ile incelendi ve %54.5–%100 duyarlılık ve %96.3–%100 özgüllük oranları ile ayırımının yapılabildiği gösterildi. Bu durum, moleküler temelli yöntemlerin halihazırda daha doğru ve güvenilir olduğuna işaret etmektedir.

MALDI-TOF MS yöntemi, bakteri ve maya mantarı izolatlarının tür düzeyinde tanımlanması için son yıllarda birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarınca rutin olarak kullanılan hızlı ve güvenilir bir yöntemdir⁽²⁶⁾.

Klasik maya mantarı tanı sistemleri ile karşılaştırıldığında, MALDI-TOF MS yöntemi zaman, uygulama kolaylığı ve performans temelinde önemli avantajlara sahiptir. Buna karşılık, MALDI-TOF MS temelli yanlış identifikasyon hemen daima birincil olarak sınırlı referans suş verisine sahip kütüphaneler ile ilişkilendirilmektedir⁽²⁷⁾. MALDI-TOF MS yöntemi maya mantarlarının rutin tanısında kullanılmasına karşılık, özellikle tür kompleksi izolatlarının tanısında spesifik örnek hazırlama protokollerine ve daha geniş MS veri kütüphanelerine gereksinim duyulabilmektedir^(28,29).

Klinik öneme sahip ve tanısı zor olan kriptomatik mantar türlerinin ayırımında MALDI-TOF MS yönteminin uygulanabilirliği bulgularımızla uyumlu olarak diğer çalışmalarda da rapor edilmiştir. Literatürde, Arastehfar ve ark.⁽¹¹⁾, MALDI-TOF MS temelli *C. parapsilosis* tür kompleksi izolat tanılarının, DNA temelli tanı yöntemleriyle (rDNA sekanslama ve genotipleme) uyumlu olduğunu rapor etmişlerdir. De Carolis ve ark.'nın⁽⁸⁾ *L. elongisporus* ve *C. parapsilosis* tür kompleksi üyesi toplam 36 izolatı incelediği çalışmada, MALDI-TOF MS yönteminin tüm türleri doğru tanımladığı (skor ≥ 2.0), ayrıca DNA ve kütle spektrum verileri temelli filogenetik analizlerde izolatların benzer şekilde kümelenildiği bildirilmiştir. Roberto ve ark.⁽³⁰⁾ ise *C. parapsilosis* tür kompleks izolatlarının ekinokandin ilaç direnç profillerinin belirlenmesinde, MALDI-TOF MS'nin optimize yöntemlerle yüksek doğrulukta veri sağlayabildiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, *L. elongisporus* ve *C. parapsilosis* tür kompleksinin hızlı tanısında MALDI-TOF MS yönteminin uygulanabilirliği gösterilmiştir. Buna karşılık, kriptik türlerin güvenli skor aralıklarında tanısı için yöntem optimizasyonu ve standart MS kütüphanesine ek olarak, laboratuvar içi referans suş MS kütüphanesine gereksinim olabileceği belirlenmiştir. Analiz edilen izolat sayısının görece az olması bu çalışmanın bir eksikliği olabileceği düşünüldü. Gelecekte MALDI-TOF MS yönteminin multipleks tanı performansının değerlendirilmesi kuşkusuz ilgi çekici olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışmada kullanılan *Candida* suşlarını sağlayan Prof. Dr. Sybren de Hoog (Radboud Üniversitesi, Tıp Merkezi, Nijmegen, Hollanda)'a ve *Lodderomyces elongisporus* suşlarını sağlayan Prof. Dr. Joseph Heitman (Moleküler Genetik ve Mikrobiyoloji Departmanı, Duke Üniversitesi)'a teşekkürlerimizi sunarız.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma için etik kurul onayı gerekmemektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. Nat. Rev. Dis. Primers. 2018;4:18026. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26>
2. 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>
3. Asadzadeh M, Ahmad S, Al-Sweih N, Hagen F, Meis JF, Khan Z. High-resolution fingerprinting of *Candida parapsilosis* isolates suggests persistence and transmission of infections among neonatal intensive care unit patients in Kuwait. Sci Rep. 2019;9(1):1340. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37855-2>
4. Arastehfar A, Hilmioğlu-Polat S, Daneshnia F, et al.

Clonal Candidemia Outbreak by *Candida parapsilosis* Carrying Y132F in Turkey: Evolution of a Persisting Challenge. Front Cell Infect Microbiol. 2021; 11:676177.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.676177>

5. van der Walt JP. *Lodderomyces*, a new genus of the Saccharomycetaceae. Antonie van Leeuwenhoek. 1966; 32:1-5. <https://doi.org/10.1007/BF02097439>
6. Diezmann S, Cox CJ, Schönian G, Vilgalys RJ, Mitchell TG. Phylogeny and evolution of medical species of *Candida* and related taxa: a multigenic analysis. J Clin Microbiol. 2004;42(12):5624-35. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.12.5624-5635.2004>
7. 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>
8. De Carolis E, Hensgens LA, Vella A, et al. Identification and typing of the *Candida parapsilosis* complex: MALDI-TOF MS vs. AFLP. Med Mycol. 2014;52(2):123-30. <https://doi.org/10.1093/mmy/myt009>
9. 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>
10. Riccombeni A, Vidanes G, Proux-Wéra E, Wolfe KH, Butler G. Sequence and analysis of the genome of the pathogenic yeast *Candida orthopsilosis*. PLoS One. 2012;7(4): e35750. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035750>
11. Arastehfar A, Khodavaisy S, Daneshnia F, et al. Molecular identification, genotypic diversity, antifungal susceptibility, and clinical outcomes of infections caused by clinically underrated yeasts, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis*: An Iranian multicenter study (2014-2019). Front Cell Infect Microbiol. 2019; 9:264. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00264>
12. Ahmad S, Khan ZU, Johny M, et al. Isolation of *Lodderomyces elongisporus* from the catheter tip of a fungemia patient in the Middle East. Case Rep Med. 2013; 2013:560406. <https://doi.org/10.1155/2013/560406>
13. Taj-Aldeen SJ, AbdulWahab A, Kolecka A, Deshmukh A, Meis JF, Boekhout T. Uncommon opportunistic yeast bloodstream infections from Qatar. Med Mycol. 2014;52(5):552-6.

- <https://doi.org/10.1093/mmycol/myu016>
14. Fernández-Ruiz M, Guinea J, Puig-Asensio M, et al. Fungemia due to rare opportunistic yeasts: data from a population-based surveillance in Spain. *Med Mycol*. 2017;55(2):125-36.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myw055>
 15. Hatanaka S, Nakamura I, Fukushima S, Ohkusu K, Matsumoto T. Catheter-related bloodstream infection due to *Lodderomyces elongisporus*. *Jpn J Infect Dis*. 2016;69(6):520-2.
<https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.2.182>
 16. Vigezzi C, Icely PA, Dudiuk C, et al. Frequency, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* species complex isolated from patients with candidemia in the central region of Argentina. *J Mycol Med*. 2019;29(4):285-91.
<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.100907>
 17. Gil-Alonso S, Quindós G, Cantón E, Eraso E, Jauregizar N. Killing kinetics of anidulafungin, caspofungin and micafungin against *Candida parapsilosis* species complex: Evaluation of the fungicidal activity. *Rev Iberoam Micol*. 2019;36(1):24-9.
<https://doi.org/10.1016/j.riam.2018.12.001>
 18. Barbedo LS, Vaz C, Pais C, et al. Different scenarios for *Candida parapsilosis* fungaemia reveal high numbers of mixed *C. parapsilosis* and *Candida orthopsilosis* infections. *J Med Microbiol*. 2015;64(1):7-17.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.080655-0>
 19. Özhak-Baysan B, Ögünç D, Döğen A, Ilkit M, de Hoog GS. MALDI-TOF MS-based identification of black yeasts of the genus *Exophiala*. *Med Mycol*. 2015;53(4):347-52.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myu093>
 20. Firacative C, Trilles L, Meyer W. MALDI-TOF MS enables the rapid identification of the major molecular types within the *Cryptococcus neoformans/C. gattii* species complex. *PLoS One*. 2012;7(5): e37566.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037566>
 21. Delavy M, Dos Santos AR, Heiman CM, Coste AT. Investigating antifungal susceptibility in *Candida* species with MALDI-TOF MS-based assays. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019; 9:19.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00019>
 22. Vatanshenassan M, Boekhout T, Meis JF, et al. *Candida auris* identification and rapid antifungal susceptibility testing against echinocandins by MALDI-TOF MS. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019; 9:20.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00020>
 23. Vella A, De Carolis E, Vaccaro L, et al. Rapid antifungal susceptibility testing by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry analysis. *J Clin Microbiol*. 2013;51(9):2964-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00903-13>
 24. Knoll MA, Ulmer H, Lass-Flörl C. Rapid antifungal susceptibility testing of yeasts and molds by MALDI-TOF MS: A systematic review and meta-analysis. *J Fungi*. 2021;7(1):63.
<https://doi.org/10.3390/jof7010063>
 25. Blakely T, Salmond C. Probabilistic record linkage and a method to calculate the positive predictive value. *Int J Epidemiol*. 2002;31(6):1246-52.
<https://doi.org/10.1093/ije/31.6.1246>
 26. De Carolis E, Posteraro B, Lass-Flörl C, et al. Species identification of *Aspergillus*, *Fusarium* and Mucorales with direct surface analysis by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(5):475-84.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03599.x>
 27. Tsuchida S, Umemura H, Nakayama T. Current status of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology. *Molecules*. 2020;25(20): 4775.
<https://doi.org/10.3390/molecules25204775>
 28. Haas M, Grenouillet F, Loubersac S, et al. Identification of cryptic *Candida* species by MALDI-TOF mass spectrometry, not all MALDI-TOF systems are the same: focus on the *C. parapsilosis* species complex. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016;86(4):385-86.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.08.028>
 29. Sow D, Fall B, Ndiaye M, et al. Usefulness of MALDI-TOF mass spectrometry for routine identification of *Candida* species in a resource-poor setting. *Mycopathologia*. 2015;180(3-4):173-9.
<https://doi.org/10.1007/s11046-015-9905-2>
 30. Roberto AEM, Xavier DE., Vidal EE, Vidal CFL, Neves RP, Lima-Neto RG. Rapid detection of echinocandins resistance by MALDI-TOF MS in *Candida parapsilosis* complex. *Microorganisms*. 2020;8(1):109.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8010109>