



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Candida parapsilosis* KOMPLEKS TÜRLERİNİN ETKEN
OLDUĞU KANDİDEMİLER: EPİDEMİYOLOJİSİ VE
SUŞLARIN ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI**

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Dr. Özgül ÇETİNKAYA

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Meral Dilara ÖĞÜNÇ
Eş Danışman: Prof. Dr. Betil ÖZHAK

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
(Proje No: TTU-2019-4790)

Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir.

Antalya, 2020

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tıbbi Mikoloji Bilim Dalı'nda yapmış olduğum yandal uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Meral Dilara ÖĞÜNÇ ve Sayın Prof. Dr. Betil ÖZHAK'a teşekkürü borç bilirim.

Bilgi ve birikimlerini bizlerle paylaşan desteklerini her zaman hissettiğim başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Derya MUTLU olmak üzere değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Gözde ÖNGÜT, Sayın Prof. Dr. Dilek ÇOLAK, Sayın Prof. Dr. Mete EYİĞÖR, Sayın Prof. Dr. Sadi KÖKSOY, Sayın Doç. Dr. Esvet MUTLU ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hatice YAZISIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, her zaman yardımları ve dostluklarıyla yanımda olan arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Özlem KOYUNCU ÖZYURT, Uzm. Dr. Ömür Mustafa PARKAN, Uzm. Dr. Ayşe ARSLAN, Uzm. Dr. Aylin Erman DALOĞLU ve Uzm. Dr. Tuğba BOZDEMİR'e ve tüm asistan arkadaşlarıma ve mikrobiyoloji laboratuvarının tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Son olarak bugünlere gelmemde en büyük emek ve özveriyi gösteren canım annem, babam ve kardeşlerime ve tüm zorlukları kolay kılan her zaman yanımda olan eşime ve hayatımın anlamı çocuklarıma sonsuz sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Tablolar Dizini.....	vii
Şekiller Dizini	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Tarihçe.....	3
2.2. <i>Candida</i> Cinsi Mantarlar	3
2.2.1. Genel Özellikler.....	3
2.2.2. Virülans Faktörleri.....	5
2.2.3. Patogenez	5
2.2.4. İdentifikasyon.....	6
2.2.5. Klinik Özellikleri.....	9
2.3. <i>Candida parapsilosis</i> kompleks Türü	11
2.3.1. Taksonomi	11
2.3.2. Virülans Faktörleri.....	11
2.3.3. İdentifikasyon.....	13
2.3.4. Epidemiyoloji	15
2.3.5. Klinik Özellikleri.....	17
2.4. Antifungal Duyarlılık Testleri.....	20
2.5. Antifungal İlaçlar ve Direnç Mekanizmaları.....	23
2.5.1. Azoller	24
2.5.2. Ekinokandinler	24
2.5.3. Polyenler	25
2.5.4. 5-Flusitozin	25
2.6. Kandidemide Antifungal Tedavi.....	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	28
3.1. <i>Candida parapsilosis</i> Suşlarının Seçilmesi	28
3.2. Suşların Bruker Maldi Biotyper ile Tanımlanması.....	28
3.2.1. Gerekli Kimyasal Solüsyonların Hazırlanması.....	28

3.2.2. Genişletilmiş Direk Transfer Yöntemi.....	29
3.2.3. Etanol-Formik Asit Ekstraksiyon Yöntemi.....	29
3.2.4. Verilerin Değerlendirilmesi	30
3.3. Sensititre™ YeastOne™ YO10 Antifungal Duyarlılık Testi.....	30
3.3.1. <i>Candida</i> türleri için inokülasyon prosedürü.....	32
3.3.2. <i>Candida</i> türleri için değerlendirme prosedürü	32
3.4. Tanımlar	33
3.5. Klinik Verilerin İncelenmesi ve Analizi	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. <i>Candida parapsilosis</i> kompleks Kandidemisi Sıklığı	34
4.2. <i>Candida parapsilosis</i> kompleks suşlarının Bruker Maldi Biotyper ile identifikasyon sonuçları	37
4.3. Antifungal Duyarlılık Testi Sonuçları	38
4.3.1. CLSI M27 S4, CLSI M27 S3, CLSI M60 ve EUCAST (v 10.0) verilerine göre sonuçların değerlendirilmesi.....	39
4.3.2. Kalite kontrol suşu antifungal duyarlılık sonuçları	43
4.4. Epidemiyoloji	44
4.5. Tedavi Sonuçları.....	47
4.6. Mortalite	49
5. TARTIşMA	51
6. SONUÇLAR	68
7. ÖZET.....	71
8. ABSTRACT	73
9. KAYNAKLAR	75

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
AIDS	Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu
AmB	Amfoterisin B
ATCC	American Type Culture Collection
BDG	1-3- β -D-glukan
CAGTA	<i>Candida albicans</i> Germ-tube Antibody
CBS	Centraalbureau voor Schimmelcultures
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ECV	Epidemiyolojik Eşik Değerler
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	Food&Drug Administration
GİS	Gastrointestinal Sistem
HCCA	α -Cyano-4-Hydroxycinnamic Acid
HS	Hot Spot
IDSA	Infectious Diseases Society of America
ITS	İnternal Transcribed Spacer
IV	İntravenöz
KNO₃	Potasyum Nitrat
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KOB	Koloni oluşturan birim
KOH	Potasyum Hidroksit

MALDI-TOF MS	Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi
MİK	Minimum İnhibitör Konstrasyonu
M.Ö.	Milattan Önce
M.S.	Milattan Sonra
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCR-RFLP	Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriction Fragment Length Polymorphism
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
RNA	Ribonükleik Asit
SADH	Sekonder Alkol Dehidrojenaz
SAP	Aspartil Proteinaz
SDA	Sabouraud Dekstroz Agar
SVK	Santral Venöz Katater
SYO	Sensititre YeastOne
TPN	Total Parenteral Nutrisyon
TSB	Tryptic Soy Broth
UPRTaz	Urasil fosforiboziltransferaz

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>Candida</i> enfeksiyonları klinik formları	10
2.2. <i>Candida parapsilosis</i> kompleksin karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon testlerinin değerlendirmesi	14
2.3. CLSI ve EUCAST antifungal duyarlılık test yöntemlerinin karşılaştırması	21
2.4. <i>C. parapsilosis</i> için EUCAST (v 10.0) (2020), CLSI M27 S3 (2008), CLSI M27 S4 (2012) ve CLSI M60 (2017) klinik eşik değerleri	22
3.1. Sensititre YeastOne YO10 Antifungal Duyarlılık test plağında antifungal ajanların yerleşimi ve konsantrasyonları	31
4.1. 1 Ocak 2014- 31 Aralık 2018 tarihleri arasında kandidemi etkeni olan <i>Candida</i> türlerinin yıllara göre dağılımı	35
4.2. Örnek tiplerine ve yıllara göre <i>Candida parapsilosis</i> kompleks suşlarının dağılımı	36
4.3. Bruker Maldi Biotyper identifikasyon sonuçları	37
4.4. Kandidemi etkeni <i>C. parapsilosis</i> sensu stricto suşlarının dokuz antifungal ajana in vitro duyarlılıkları	38
4.5. <i>C. parapsilosis</i> sensu stricto suşlarının MİK (mg/L) dağılımı	39
4.6. Antifungal direnç gösteren suşlar, MİK (mg/L) değerleri ve yorumlanması	41

4.7.	<i>C. parapsilosis</i> sensu stricto türlerinin antifungal duyarlılık sayı ve yüzdeleri	43
4.8.	ATCC 22019 <i>C. parapsilosis</i> kalite kontrol suşunun MİK değerleri ve EUCAST ve CLSI rehberlerinde belirtilen MİK değer aralıkları	44
4.9.	<i>C. parapsilosis</i> kompleks kandidemisi olan hastaların klinik dağılımları	45
4.10.	<i>C. parapsilosis</i> kompleks kandidemisi olan hastaların klinik özellikleri	46
4.11.	Kandidemi için antifungal tedavi alan ve almayan hastaların klinik sonuçları	48
4.12.	Kandidemi hastalarında tek değişkenli mortalite belirleyicileri	50
5.1.	<i>C. parapsilosis</i> kompleks izolatlarının çeşitli çalışmalarda antifungal direnç verileri	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
2.1.	Mısır unlu-Tween 80 agarın farklı alanlarından <i>C. parapsilosis</i> kompleks'in mikroskopik görüntüsü	13
3.1.	Sensititre YeastOne YO10 Antifungal Duyarlılık Panelinin inokülasyon ve inkübasyon sonrası görüntüsü	31

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yüksek morbidite ve mortalite ilişkili olan invaziv fungal enfeksiyonların sıklığı dünya genelinde giderek artış göstermektedir. Bilinen yüz binin üzerinde fungal tür olmasına rağmen sadece 300 kadarı insanlarda enfeksiyona neden olmaktadır. *Candida* türleri invaziv fungal enfeksiyonların en sık nedeni olarak görülmektedir (1).

Candida türleri insanlarda mukozal yüzeylerde ve ciltte normal mikrobiyal floranın üyesi olarak bulunmaktadır (1, 2). Fırsatçı bir enfeksiyon olarak invaziv kandidiyaz tıbbi ve cerrahi prosedürlerin artan kullanımının bir sonucu olarak hastanede yatan hastalarda son yıllarda artış göstermektedir (3). Solid organ transplantasyonu olan ve kritik olarak hasta bireylerde en sık enfeksiyona neden olan fungal patojendir (1).

İnvaziv kandidiyazın %90'dan fazlası *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* ve *Candida krusei* tarafından meydana gelmektedir. Son yıllarda invaziv kandidiyaz epidemiyolojisi değişmekte, albicans-dışı *Candida* türlerinin sıklığı giderek artmaktadır. *C. parapsilosis* kompleks türleri özellikle ekinokandin grubu antifungal ajanların sıklıkla tercih edildiği merkezlerde artış göstermektedir (2, 3, 4).

Kandidemi invaziv kandidiyazın en sık görülen klinik formu olarak karşımıza çıkmaktadır (4). Dünyanın birçok ülkesinde kandidemi etkenleri arasında *C. albicans*'dan sonra en sık izole edilen ikinci veya üçüncü tür *C. parapsilosis* olarak görülmektedir (5, 6). Özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve infant grubu pediatrik hastalarda en sık görülen tür olmaktadır (7, 8). Tavanti ve ark. 2005 yılında üç alt türden oluşan tür kompleksini, *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* olarak adlandırmışlardır (9). İnvaziv enfeksiyonlardan *C. parapsilosis sensu stricto*nun diğer iki türe göre daha sık izole edildiği yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (10, 11). İdentifikasyon çalışmalarında sıklıkla moleküler yöntemler tercih edilmekle birlikte, son yıllarda matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanı kütle spektrometrisi

(MALDI-TOF MS) yöntemi uygun maliyet, hızlı ve doğru sonuç elde etme nedeniyle tercih edilen yöntemler arasındadır (3, 12).

Kandidemilerde mortalite oranlarının (%40-60) klinik özelliklere bağlı olarak yüksek olabilmesi nedeniyle, uygun ve zamanında antifungal tedavinin başlanması önemlidir. Antifungal tedavinin etkin uygulanabilmesi için kandidemiye neden olan etkenin doğru tanımlanması ve antifungal ajanlara duyarlılığının bilinmesi önem kazanmaktadır (12).

Bu çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde beş yıllık süreçte kandidemi etkeni *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının MALDI-TOF MS yöntemiyle tiplendirilmesi, antifungal duyarlılıklarının ve kandidemili hastaların klinik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

Hippocrates'in (M.Ö. 460-370) 'Epidemion' kitabında yer alan oral aft tanımı *Candida* enfeksiyonlarına ait ilk bilgileri oluşturmaktadır (13). M.S. 2.yüzyılda Galen, benzer şekilde oral aftın tanımını yapmıştır (14). Orofaringeal ve özofageal kandidoza bir mantarın neden olduğu ise ilk kez 1839 yılında Bernhard von Langenbeck tarafından belirlenmiştir. Tifoid ateşi olan bir hastaya yapılan otopsi sonrasında, orofarinks ve özefagus mukozalarının mikroskopik incelemesinde septalı hif, dallanmış yalancı hif ve blastokonidya yapılarını tariflemiştir. Langenbeck pamukçuk ile ilişkili mantarı ilk olarak belgelemekle birlikte, doğrudan bağlantı kuramamıştır (13). Sonrasında birçok bilim adamı yaptıkları araştırmalarla bu mantar türünün tanımlanmasına katkıda bulunmuştur. Zaman içinde *Oidium albicans*, *Saccharomyces albicans* ve *Monilia albicans* gibi birçok farklı isimler verilmiştir. Christine Berkhout 1923 yılında tanımladığı türü *Candida albicans* olarak isimlendirmiş ve *Monilia* cinsine ait olan 9 tür için *Candida* cinsini yaratmıştır (15, 16).

C. albicans'ın tanımlanmasından sonra *Candida parapsilosis* ilk olarak 1928 yılında Ashford tarafından Porto Riko'da ishalleri bir hastanın dışkılarından maltoz fermente edemeyen bir *Monilia* türü olarak izole edilerek *Monilia parapsilosis* olarak adlandırılmış ve patojenik olmadığı düşünülmüştür. 1932 yılında Langeron ve Talice tarafından yeniden sınıflandırılarak *C. parapsilosis* adı verilmiştir. Nedensel ajan olarak tanımlanması ise 1940 yılında bir intravenöz ilaç kullanıcısında ölümcül bir endokardit vakasından olmuştur (17, 18).

2.2. *Candida* Cinsi Mantarlar

2.2.1. Genel Özellikler

Ökaryotik, tek hücreli, tomurcuklanarak (blastokonidyum) çoğalan organizmalardır (19). Diğer ökaryotik hücrelerden, kitin ve glukandan oluşan sert bir hücre duvarına ve kolesterol yerine ergosterolün bulunduğu hücre zarına sahip olmalarıyla ayrılırlar (20). Hücre duvarı; hücreye şekil verir, moleküllerin iç-dış

ortam arasında geçişini sağlar, hücrenin ozmotik basınca karşı parçalanmasını önler ve farklı yüzeylere tutunmasını (adezyon) sağlar. Yapısında %80-90 karbonhidratlar (β-glukanlar, mannoprotein, kitin), %5-15 protein ve %2-5 lipidler bulunmaktadır. Hücre zarı; moleküllerin iç-dış ortam arasındaki geçişinde, hücre duvarının sentezinde, morfogenezde rol almaktadır ve yapısında kitin sentetaz, fosfolipaz C, adenilat siklaz, proteaz gibi enzimler ve fosfolipid yapıları bulunmaktadır (21).

Candida türleri fenotipik değişime uğrayabilir. Fenotipik değişim bir *Candida* türünün geri dönüşümlü olarak birkaç farklı morfotip arasında değişim gösterebilmesidir. Farklı çevresel mikroortamlara hızlı uyum göstermesini sağlayarak, hayatta kalmasına, doku invazyonuna ve immüniteden kaçışına kolaylık sağlar ve virulansına katkıda bulunur (20).

Candida cinsi heterojen bir cinstir ve içerisinde yaklaşık 200 tür bulunmaktadır. Filogenetik gelişmeler bu cinsin yeniden oluşturulması gerekliliğine dair veriler içermektedir. Bazı türlerin telemorf (eşeyli) formları bulunmaktadır. Bu türler *Clavispora*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Wickerhamomyces*, *Yarrowia* gibi cinslerin içinde yer almaktadır (19).

Bitkiler üzerinde ve insanların deri, gastrointestinal sistem (GİS) gibi floralarında bulunabilirler. Klinik örneklerde saptanması durumunda çevresel kontaminasyon, kolonizasyon veya enfeksiyon durumları akla gelmelidir. Bağışıklığı zayıflamış olan bireylerde ölümcül enfeksiyonlara neden olabilirler. Florada fazla miktarda bulunması, proteaz oluşturması, adezinler, yüzey integrinleri ve fenotipik değişiklik gibi bazı virülans faktörleri nedeniyle *C. albicans* en sık izole edilen türdür (19). Bunu *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* takip eder. Bu beş tür birlikte enfeksiyonların %95'inden fazlasına neden olmaktadır (22). *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. pelliculosa*, *C. rugosa*, *C. utilis*, *C. zeylanoides* izole edilebilen diğer önemli *Candida* türleridir (19).

2.2.2. Virölans Faktörleri

Candida türlerinin virölansı tek bir faktöre bağılı değildir. Fosfolipaz, proteinaz, lipaz gibi hidrolitik enzimlerin aktivitesi, yüzeylere yapışma, biyofilm oluşumu ve hifal morfogenez gibi çeşitli faktörlerin birlikteliğı önemlidir (23, 24). Fosfolipaz enziminin, tüm hücre zarlarının ana bileşenleri olan fosfolipitlerin hidrolizini katalize etmesi ve hücre lizisine yol açması nedeniyle ana virölans faktörü olduğı düşünölmektedir (23). Proteinaz enzimi invazyonu, konakçı mukozal zarlara kolonizasyonu, immunoglobulin G ağır zincir, α_2 -makroglobulin, C3 protein, β -laktoglobulin, laktoperoksidaz, kollajen ve fibronektin gibi immünite için önemli olan savunma proteinlerinin parçalanmasını kolaylaştırır ve doku hasarından sorumludur (17, 25). Bu virölans faktörlerinin oluşumu türe, çevresel kaynağı, enfeksiyonun bulunduğı yere ve konakçı yanıtına bağılı olarak değışebilir (26). Özellikle *C. albicans* türlerinde önemli olan bu virölans faktörlerinin patojenitesi, diğeri *Candida* türlerinde araştırılmaya devam etmektedir (25).

2.2.3. Patogenez

Mukozal mikrobiyotada bozulma ve/veya konakçı immünitesinde zayıflama nedeniyle, virölans faktörlerinin indüksiyonu ile ilişkili olarak, *Candida spp* fırsatçı hale geçmektedir. İnvaziv enfeksiyon oluşumunu tetikleyen başlıca üç etmen görölmektedir.

İlk olarak uzun süreli ve/veya tekrarlayan geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, bağırsak mikrobiyotasındaki yararlı bakterileri azaltarak *Candida spp* nin çoğalmasına neden olmaktadır. Bu bakteriler *Candida* kolonizasyonuna karşı koruyucu faktörlerin mukozadan salınımını indüklemeye önemlidir. Bir diğeri etmen gastrointestinal ve kutanöz bariyerlerin bozulmasıdır. En sık sitotoksik kemoterapiye bağılı mukozit (gastrointestinal mukoza inflamasyonu), gastrointestinal cerrahi veya perforasyon ve/veya santral venöz kateterler ile meydana gelmektedir. *Candida* türlerinin mukokutanöz bölgelerden kan dolaşımına geçmesine neden olmaktadır (27). Ardından konak epitel yüzeylerine kolonizasyon ve morfolojik değışim ve hidrolitik enzimler gibi çeşitli virölans faktörlerinin salınmasıyla desteklenen invazyon görölmektedir. Epitel hücrelerini

geçen maya hücreleri, makofajlar tarafından fagosit edilir. Fagosit edilen maya hücreleri hayatta kalabilir, ekzositozu indükleyebilir veya konakçı hücreler içinde replike olabilir (28). Mukozal kandidiyazda konak savunmasında T lenfositler (Th17) önemli iken, invaziv kandidiyazda nötrofil, monosit, makrofaj ve dendritik hücreler önem kazanmaktadır. Kemoterapi nedenli nötropeni veya kortikosteroid tedavisi gibi immüsupresyona neden olan durumlar üçüncü etmeni oluşturmaktadır. *Candida* türlerinin organlara yayılması kolaylaşmaktadır (27).

2.2.4. İdentifikasyon

Maya mantarlarının tanımlamasında sistematik bir yaklaşım kullanılmalıdır. Günümüzde mevcut olan maya tanımlama sistemleri ile en sık karşılaşılan maya türleri kolaylıkla tanımlanabilmektedir. İdentifikasyonu sıkıntı yaşanan izolatların doğru tanımlanması için DNA dizi analizi gibi moleküler yöntemler veya MALDI-TOF MS kullanılabilmektedir (19).

Mikroskopik Özellikler

İlk basamak olarak klinik örneğe potasyum hidroksit (KOH), kalkoflor beyazı ve Gram boyama ile direk mikroskopik inceleme yapılmalıdır ve maya ve hifal yapıların görülmesi önemlidir (21). *Candida* cinsi tomurcuklanarak çoğalır, 2-8x3-15 µm çapında olup, blastokonidyum yapıları yuvarlak, oval veya uzamış şekilde olabilmektedir. Gram pozitif boyanma özelliği göstermektedir. Germ tüp oluşumu, mısır unu-Tween 80 agara yapılan ekimler sonucundaki üremelerde hücrelerin biçimi ve büyüklükleri, yalancı hiflerin varlığı ve görünümü, bu yapılara blastokonidyumların bağlanma şekilleri, gerçek hif, artrokonidya varlığı, klamidospore oluşumunun değerlendirilmesi ikinci basamaktır ve bu yapılar *Candida* identifikasyonunda önemlidir (19, 21, 29).

Makroskopik Özellikler

Saboraud Dekstrozu Agar (SDA) gibi mikolojik besiyerlerinde büyüme 24 saat gibi erken bir sürede saptanmakla birlikte, koloniler genellikle 48-72 saat içinde beyaz, krem renkli ya da ten rengi olarak görülebilir. Başlangıçta kremsi yapıda olup sonrasında membranöz veya kıvrımlı hale gelebilirler. Çoğu *Candida*

türü aerobik olarak 25-30°C’de iyi üreyebilir, bazıları 37°C ve üzeri ısılarda üreyebilmektedir (19, 29).

Karışık enfeksiyonların, özellikle steril olmayan bölgelerden türlerin hızlı tanımlanması ve tespiti için kromojenik besiyerleri kullanılmaktadır. Koloni tanımlaması, ekzoenzim aktivitesini takiben çeşitli substratlardan kromojenik parçalanma ürünlerinin salınımına dayanmaktadır. Kromojenik besiyerinin ticari üretimine bağlı olarak koloni yapıları farklı renklerde görülmektedir (19, 22). Örneğin BBL Chromagar Candida besiyerinde (Becton Dickinson, Almanya) *C. albicans* açık-orta yeşil, *C. tropicalis* mavi-yeşilimsi ile metalik-mavi, *C. krusei* beyazımsı kenarlı açık gül rengi koloniler oluşturmaktadır. Diğer *Candida* türleri ve diğer mayalar açık-koyu leylak rengi (gül-menekşe) gibi görünürler veya kromojenik substratların hiçbiri kullanılmazsa doğal koloni renklerini (kremden beyaza) alırlar (30).

Biyokimyasal Özellikler

Karbonhidrat asimilasyonu, mayaların O₂ varlığında spesifik karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneğidir. Tür düzeyinde tanımlama için gerekli testlerdir. Wickerham-Burton metodu bu amaçla kullanılan klasik yöntemdir (29). API 20C AUX (bioMerieux, Fransa), Auxacolor 2 (BioRad, CA), ID32C-Vitek2 YST (bioMerieux) gibi güvenilir birçok ticari kit bulunmaktadır (19).

Karbonhidrat fermentasyon testleri, karbonhidratların enzimler yardımıyla fermente edilerek parçalanması esasına dayanır. Mayaların asit ve gaz oluşturma özellikleri değerlendirilir (29).

Üreaz testi ile, mayaların üreaz enzimi varlığı araştırılmaktadır. Uygun substratlar varlığında üreaz enzimi üreyi parçalar ve amonyak oluşur. Fenol kırmızısı indikatörlü besiyerinde pembe-kırmızı renk değişimi gözlenir. *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Pseudzyma*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* gibi üreaz pozitif mayaların diğer mayalardan ayrımında kullanılmaktadır (19, 29).

Fenol oksidaz testi, kafeik asit içeren substratta fenol oksidaz oluşturma özelliğinin incelenmesidir. En sık *Guizotia abyssinica* bitkisinin tohumundan

(Nijer tohumu, kuş yemi) hazırlanan Staib agar kullanılmaktadır. Fenol oksidaz test sonucu pozitif olan maya türü, besiyerinde 2-5 gün içerisinde koyu kahverengi koloniler oluşturmaktadır (19, 29).

Nitrat asimilasyonu, mayaların tek nitrojen kaynağı olarak nitratı kullanma yeteneğidir. *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* ve *Hansenula* türlerinin ayrımında yararlıdır (29).

Serolojik Yöntemler

En yaygın kullanılan serolojik testler; mannan ve anti-mannan, *Candida* germ tüpe karşı antikorlar (CAGTA) ve 1-3- β -D-glukan (1-3-BDG)'dır. Ticari olarak mevcut, (1,3) β -D-glukan (BDG) (Fungitell®), mannan antijeni/antimannan antikor (Platelia®) ve anti-*C. albicans* antikor saptanması (CAGTA®) (Viricell) gibi yöntemler hücre duvar bileşenlerini saptar. BDG, *Candida*, *Aspergillus* ve *Pneumocystis jirovecii* dahil olmak üzere farklı mantar türlerinin hücre duvarında bulunur ve sistemik enfeksiyon sırasında kanda tespit edilebilir. BDG test sonuçları kan kültür sonuçlarından çok daha erken elde edilebilir ve klinik yararı esas olarak yüksek negatif prediktif değerinde yatmaktadır. Negatif bir BDG testi, *Candida* türleri ile sistemik enfeksiyonu dışlar, ancak pozitif bir test, diğer mantarlar ve bazı bakterilerle enfeksiyon veya diğer nedenlerden kaynaklanabilir. Mannan antijeninin saptanmasının, BDG testinden daha az duyarlı fakat daha spesifik olduğu bulunmuştur. Mannan antijeni ve anti-mannan antikorunun birlikte kullanılması, duyarlılığı önemli ölçüde artırır. Yeni kullanıma giren CAGTA®, özellikle kritik hastalarda BDG testi (%97 negatif prediktif değer) ile birlikte kullanıldığında enfeksiyonun dışlanması için yararlıdır (31).

Moleküler Yöntemler

Hızlı sonuç vermeleri en büyük avantajlarıdır fakat yaygın olarak kullanılmadan önce moleküler veritabanı geliştirilmesi, standardizasyonu ve validasyonu gerekmektedir. GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) ve Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) Maya veritabanı (<http://www.cbs.knaw.nl/yeast/biolomics.aspx>) yaygın olarak kullanılan veritabanlarıdır. Mantar tanımlamaya yönelik moleküler yaklaşımlar ve yönergeler,

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) MM03-02 ve MM18-A CLSI dökümanlarında açıklanmaktadır. Mayalar için evrensel bir genetik tanımlama sistemi geliştirmek için en tekrarlanabilir, spesifik ve hassas sekans tanımlanmalıdır ve çoğu araştırma rDNA bölgelerine odaklanmıştır. D1/D2, internal transcribed spacer (ITS) ve intergenik sekans bölgeleri kullanılarak sekanslama yapılmaktadır. Microarray yöntemlerinde ITS bölgeleri kullanılmaktadır (19).

MALDI-Tabanlı Yöntemler

MALDI-TOF MS, moleküler teknolojilere alternatif bir yöntemdir. İdentifikasyon için saf bir maya kolonisi yeterlidir ve kısa sürede sonuç vermektedir. Bu yöntem, klinik maya izolatlarının hızlı tanımlanmasını kolaylaştırmak için yeterli referans suş veritabanı gerektirmektedir. Bazı çalışmalarda maya kültürünün doğrudan yayılmasının (direkt transfer yöntemi) veya hızlı formik asit ekstraksiyonunun, tam formik asit/asetonitril ekstraksiyonundan daha düşük tanımlama oranları sağladığı bulunmuştur (19).

2.2.5. Klinik Özellikleri

Candida türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar ‘kandidiyaz’ olarak adlandırılır. Yüzeyel veya derin, akut veya kronik enfeksiyonlara neden olabilmektedirler. **Tablo 2.1**’de *Candida* enfeksiyonlarının klinik formları gösterilmiştir (32). Kandidiyaz enfeksiyonlarının çoğu endojendir, konak bariyerinin zayıflaması nedeniyle floradaki *Candida* türleri fırsat yakalayarak enfeksiyon oluşturmaktadır (20). AIDS, cerrahi operasyon, immunsupresyon, intravenöz (IV) katater varlığı, uzamış antimikrobiyal ajan kullanımı, kemoterapi, nötropeni, hematolojik malignite hastalıkları, yanıklar ve IV ilaç bağımlılığı enfeksiyonlara zemin hazırlayan faktörlerdir (32). Eksojen enfeksiyonların nedenleri arasında kontamine olmuş yıkama solüsyonlarının kullanımı, yoğun bakım ünitelerinde sağlık çalışanlarından hastalara ve hastadan hastaya bulaş sayılabilir (20).

Tablo 2.1. *Candida* enfeksiyonları klinik formları (32)

Yüzeyel Kandidiyaz	Kutanöz enfeksiyon Kronik mukokutanöz enfeksiyon Onikomikoz Orofarengeal enfeksiyon Vulvovajinit Keratit Konjonktivit
Derin Kandidiyaz	Özefajit Gastrointestinal kandidiyaz Üriner sistem enfeksiyonları Kandidemi Kronik dissemine (hepatosplenik) kandidiyaz Süpüratif flebit Endokardit Menenjit Endoftalmi Artrit Osteomiyelit

Candida enfeksiyonlarına zemin hazırladığı düşünülen önemli bir diğer etken genetik faktörlerdir. Farklı çalışmalarda; *Dektin-1* polimorfizminin mukozal kandidiyaza, *TLR1*, *TLR2* (*R753Q*) ve *TLR4* genlerindeki tek nükleotid polimorfizminin kandidemiye, *NLPR3* genindeki polimorfizmlerin rekürren vulvovajinitlere, *IL-4*'de *-1089T/G*, *-589C/T* ve *-33C/T* polimorfizminin kronik dissemine kandidiyaza, β -defensin 1'i kodlayan *DEFB*'de *-44C/G* polimorfizminin *Candida* taşıyıcılığını arttırmasına, *CARD9* geninde homozigot mutasyonun mukozal ve invaziv kandidiyazda yatkınlığa, *STAT1*'in CC-bölgesindeki mutasyonların ve *IL-12Rb1* eksikliğinin mukokutanöz kandidiyaza ve *IL-10* gen polimorfizminin invaziv kandidiyaza neden olabileceklerini düşündüren sonuçlar elde edilmiştir (33).

2.3. *Candida parapsilosis* kompleks Türü

2.3.1. Taksonomi

Restriksiyon fragman polimorfizmleri ile yapılan önceki çalışmalar *C. parapsilosis* izolatlarının diğer *Candida* türlerinden genotipik olarak daha heterojen olduğunu göstermiştir. *Randomly Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) analizi, farklı genlerin DNA sekanslaması ve morfotiplendirme çalışmalarıyla *C. parapsilosis* grup I, II ve III olarak 3 alt türden oluşan bir tür kompleksi olarak kabul edilmiştir. Tavanti ve arkadaşları (ark.) 2005 yılında multilokus enzim elektroforezi ve ITS sekans analizi ile grup I, II ve III'teki birkaç genin DNA dizilimindeki farklılıkların, bu grupların alt tür olarak gösterilmeyecek kadar büyük olduğunu saptamışlardır. Böylece grup II ve grup III için sırasıyla *Candida orthopsilosis* ve *Candida metapsilosis* isimlerini, grup I için *C. parapsilosis* adının kalmasını önermişlerdir (9). Lockhart ve ark. 2008 yılında Vitek maya tanımlama sistemi (bioMerieux, Durham, NC) ile *C. parapsilosis* olarak tanımlanmış maya izolatlarını BBL Chromagar *Candida* besiyeri (BD) kullanarak tanımladıklarında, tipik pembe/lavanta rengi dışında turkuaz mavimsi renk veren izolatlar için ITS1 ve 26SR primerleri kullanarak D1/D2 bölgesi dahil olmak üzere 18S ve 26S rRNA geninin büyük bölümünü amplifiye ederek *Lodderomyces elongisporus* olarak saptamışlardır. *L. elongisporus*'un daha önce *C. parapsilosis*'in teleomorfı olduğu düşünülürken, son zamanlarda küçük alt birim rRNA gen dizileme verileriyle yakından ilişkili fakat farklı bir tür olduğu gösterilmiştir (34).

C. parapsilosis kompleksi; *Fungi* aleminde, *Ascomycota* bölümünde, *Saccharomycetes* sınıfında, *Saccharomycetales* takımında, *Debaryomycetaceae* ailesinde yer almaktadır (35).

2.3.2. Virülans Faktörleri

C. parapsilosis türleri *C. albicans* gibi epitelyal hücrelere yapışma özelliği gösterir ve biyofilm oluşumu önemli bir virülans faktörüdür. Biyofilmler epitelyal hücreler ve biyomalzemeler gibi yüzeylere yapışmayı sağlayan ve polisakkaritler, proteinler ve DNA'dan oluşan ekstrasellüler matrix içine yerleştirilmiş mikrobiyal topluluklardır. Biyofilm oluşumu için; morfogenez ve hücre yüzeyi antijenlerinin

ekspresyonunda gerekli bir transkripsiyon faktörü olan *BCR1* gerekmektedir. Amino asitler, *C. parapsilosis*'te maya hücrelerinden yalancı hife morfogenezi uyarmaktadır ve bu amino asit bakımından zengin parenteral nütrisyon çözeltileri üzerinde bulunan yüksek *C. parapsilosis* insidansını açıklamaktadır. Parenteral beslenme uygulaması, kalıcı vasküler kateterlerin varlığı biyofilm oluşumuna zemin hazırlamaları nedeniyle *C. parapsilosis* enfeksiyonu için risk faktörleridir (24).

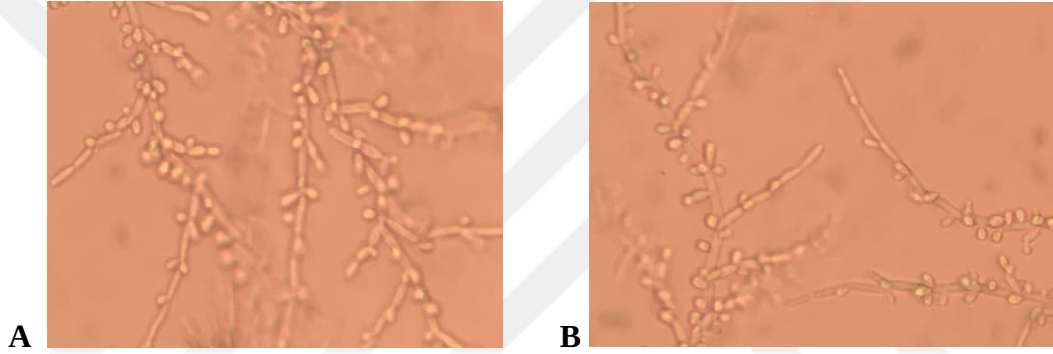
Aspartil proteinaz (SAP), fosfolipaz ve lipaz gibi hidrolitik enzimlerin *C. parapsilosis* türlerinde yapışma ve doku invazyonunda önemli olduğu düşünülmektedir ve kompleks içindeki üyeler için virülans faktörleri açısından çalışmalar yapılmaktadır (36). Ge ve ark.'nın 2011 yılında *C. parapsilosis* ve *C. metapsilosis* izolatlarıyla yaptıkları çalışmada iki tür arasında fosfolipaz aktivitesi açısından fark bulunamazken, proteinaz aktivitesinin *C. parapsilosis* izolatlarında daha fazla olduğu saptanmıştır (25).

Bertini ve ark. *C. parapsilosis* kompleks türlerinin bukkal epitele adezyon özelliklerini, fosfataz adezyona etkisini ve vajinal kandidiyaziste patojenik potansiyellerini incelemiştir. *C. parapsilosis* ve *C. orthopsilosis* benzer adezyon özellikleri gösterirken, *C. metapsilosis* en düşük adezyon gösteren tür olmuştur. Fosfataz seviyeleri ile adezyon yeteneği arasında ilişki saptanmamıştır. Türlerin hepsinin vajinite neden olabileceği saptanmış ancak *C. metapsilosis*'in virülansının daha az olduğu belirlenmiştir (37).

Trevino-Rangel ve ark.'nın *C. parapsilosis* kompleks klinik izolatlarından aspartil proteinaz, fosfolipaz, esteraz ve hemolizin aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmada, aspartil proteinaz *C. parapsilosis* tür kompleksi tarafından en az üretilen enzim olarak belirlenmiştir. *C. parapsilosis* sensu stricto izolatlarında %10 fosfolipaz, %13 esteraz üretimi belirlenirken; *C. orthopsilosis* izolatlarında her iki enzim %67 oranında, *C. metapsilosis* izolatlarında düşük düzeyde saptanmıştır. Hemolizin aktivitesi *C. orthopsilosis*'te (%87) *C. parapsilosis* sensu stricto'ya (%67) göre daha fazla belirlenmiştir. Fosfolipaz ve hemolizin üretimi *C. orthopsilosis* izolatlarında anlamlı bulunmuştur ve kandan izole edilen türler ile fosfolipaz üretimi arasında istatistiksel bir ilişki saptanmıştır (36).

2.3.3. İdentifikasyon

Besiyerinde 3 gün içinde hızlı üreme gerçekleşir. Kremi, bazen dantelimsi bir koloni morfolojisi oluşturur. Primer izolasyon besiyerlerinde maya hücreleri oval görünümündedir (2.5-4 x 3-8 μm). Mısır unlu-Tween 80 agarda 25°C’de 72 saatte blastokonidyumlar tek tek yerleşimli veya küme halinde yalancı hif boyunca görülür. Göze çarpan özellikleri, nispeten kısa yalancı hif yapılarının çarpık veya kavisli görünümü ve ara sıra ‘dev hücreler’ olarak adlandırılan büyük hifal elementlerin varlığıdır (38). *C. parapsilosis* kompleks türünün mısır unlu-Tween 80 agardaki mikroskopik görüntüsü **Şekil 2.1.A** ve **2.1.B**’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. A/B Mısır unlu-Tween 80 agarın farklı alanlarından *C. parapsilosis* kompleks’in mikroskopik görüntüsü (x400).

C. parapsilosis kompleks türleri 37°C’de üreyebilir, 40°C’de üremesi değişkendir ve %0.1 sikloheksimid varlığında üreyemez. Askospor, klamidospor ve germ tüp yapıları oluşturmaz. Üreaz, potasyum nitrat (KNO_3) utilizasyon, fenol oksidaz testleri negatiftir (19, 39). Diğer karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon test sonuçları **Tablo 2.2**’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. *Candida parapsilosis* kompleksin karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon testlerinin değerlendirmesi (39)

FERMENTASYON			
Glukoz	+	Laktoz	-
Galaktoz	d	Rafinoz	-
Sükroz	-/y	Trehaloz	-/y
Maltoz	-/y		
KARBONHİDRAT ASİMİLASYON			
Glukoz	+	N-Asetil-D-Glukozamin	+
Galaktoz	+	Metanol	-
L-sorboz	+/L	Etanol	+
Sükroz	+	Gliserol	+
Maltoz	+	Eritritol	-
Sellobiyoz	-	Ribitol	+/L
Trehaloz	+	Galaktitol	-
Laktoz	-	D-Mannitol	+
Melibiyoz	-	D-Glukitol	+
Rafinoz	-	A-Metil-D-glikozid	+
Melezitoz	+	Salisin	-
İnülin	-	D-Glukonat	+/L
Çözünebilir nişasta	-	DL-Laktat	-
D-Ksiloz	+	Süksinat	+
L-Arabinoz	+	Sitrat	+
D-Arabinoz	-	İnozit	-
D-Riboz	d	Heksadekan	+/L
L-Ramnoz	-	Nitrat	-
D-glukozamin	d	Serbest vitamin	-

+: Pozitif, -: Negatif, d: Değişken, y: Yavaş pozitif (fermentasyon testleri için 7 gün; asimilasyon testleri için 2 haftadan sonra yavaş pozitif), L: Latent pozitif, gecikmiş pozitif (fermantasyon testleri için 7 gün; asimilasyon testleri için 2 haftadan sonra hızlı pozitif)

C. parapsilosis kompleks türlerinin biyokimyasal yöntemlerle birbirinden ayrımı yapılamamaktadır. Tür ayrımının yapılabilmesi için sekonder alkol dehidrojenaz (SADH) gen fragmanı için Polimeraz zincir reaksiyonu-*Restriction fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP), ITS dizilemesi, *Amplified fragment length polymorphism* (AFLP) ve DNA-mikroarray tabanlı sistemler gibi DNA bazlı teknikler kullanılmaktadır (40). Konvansiyonel metodlarla *C. parapsilosis* olarak tanımlanmış izolatlar, Tavanti ve ark. tarafından AFLP ve SADH BanI restriksiyon

analizi ile yeniden değerlendirilerek ve %4.5 enfeksiyon/kolonizasyondan *C. orthopsilosis*'in sorumlu olduğu saptanmıştır. Ayrıca AFLP ile *C. orthopsilosis* suşlarının geniş genetik çeşitliliğe sahip oldukları belirlenmiş ve bu çeşitliliğe klonal çoğalma ve rekombinasyonun katkıda bulunduğu belirtilmiştir (41).

Son yıllarda MALDI-TOF MS yöntemi klinik laboratuvarlarda maya identifikasyonunda hızlı ve güvenilir tanı için kullanılmaktadır. *C. parapsilosis* kompleks türleriyle moleküler yöntemlerle karşılaştırmalı yapılan bazı çalışmalarda identifikasyonda başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Carolis ve ark.nın AFLP ve MALDI-TOF MS yöntemini karşılaştırdıkları çalışmalarında, MALDI-TOF MS yöntemi tüm izolatlarda doğru tanımlama yapmıştır. Her iki yöntemin dendrogramları *C. orthopsilosis* ve *C. parapsilosis* türlerinde filogenetik açıdan benzer sonuçlar verirken, *C. metapsilosis* için farklı bir kümelenme elde edilmiştir (42). Farklı bir çalışmada MALDI-TOF MS 510 maya izolatının 494 (%96.9)'ünü, *C. parapsilosis* izolatlarının ise %93.3'ünü doğru tanımlamıştır (43).

2.3.4. Epidemiyoloji

C. parapsilosis doğada her yerde bulunabilmekte, toprak, deniz suyu, bitkiler gibi insan dışı çeşitli kaynaklardan da izole edilebilmektedir. İnsan derisinin normal flora üyesi olabilmektedir. Sağlıklı gönüllülerin subungual bölgesinden en sık izole edilen mantar türü olmuştur. Fiziksel yüzeylerden izole edilebilmesi nedeniyle hastane ortamında sıkça bulunabilmektedir (44, 45).

C. albicans kan dolaşımı enfeksiyonlarından en sık izole edilen mantar türü olmasına rağmen son zamanlarda, albicans-dışı *Candida* türlerinde özellikle *C. parapsilosis* insidansında, mikroorganizmanın büyüme kapasitesine, intravasküler cihazlara ve protez materyallerine olan afinitesine, gastrointestinal kolonizasyonuna ve sağlık çalışanlarının ellerinden bulaşa bağlı olarak bildirilen bir artış olmuştur (46). Yaygın olarak izole edilen albicans-dışı *Candida* türleri arasında, *C. parapsilosis* hasta grubuna ve coğrafi bölgelere bağlı olarak genellikle ikinci veya üçüncü en yaygın izole edilen türdür (6). Maligniteli hastalarda ve yoğun bakım ünitelerinde en sık izole edilen tür olduğunu hatta salgınlara neden olduğunu bildirir çalışmalar bulunmaktadır (7, 47, 48). Pediatrik hastalarda yapılan bazı çalışmalarda en sık izole edilen tür *C. albicans* olarak bildirilirken, Dotis ve ark.nın yaptığı çalışmada 2 yaş altında ve Warris ve ark.nın çalışmasında 1 ay-1 yaş

arası infantlarda *C. parapsilosis* kompleks türünün en sık kandidemi etkeni olduğunu belirlemişlerdir (8, 46).

1997-2003 yılları arasında 39 ülkeden 140.767 maya izolatının dahil edildiği Artemis Disk Global Sürveyans Çalışmasının sonucunda *C. parapsilosis* dördüncü sırada saptanmış ve 1997-98 yılında insidansı %4.03 iken 2003'te %6.96'ya yükselmiştir (49).

1997-2007 yılları arasında 41 ülkeden 256.882 izolatın dahil edildiği Artemis Disk Global Sürveyans Çalışmasının sonucunda *C. parapsilosis* %6 oranla yine dördüncü sırada yer almıştır. 1997-2000 yılları arasında %4.8 olan insidansı 2005-2007 yıllarında %5.6'ya yükselmiştir (50).

Ülkemizden de verilerin bulunduğu, 2001-2005 yılları arasında *C. parapsilosis* izolatlarının değerlendirildiği Artemis Disk Global Sürveyans Çalışmasının sonucunda *Candida parapsilosis*, tüm *Candida* suşları içinde %6.6 ile en sık dördüncü etken olmuştur. Ülkemizdeki insidans %7.8 olarak raporlanmıştır. Örnek tipleri içinde en sık kan ve cilt-yumuşak doku örneklerinden izole edilmiştir ve dermatoloji kliniğinde en yüksek (%20.9) oranda saptanmıştır (51).

Kuzey Amerika, Latin Amerika, Avrupa ve Asya-Pasifik bölgelerinin dahil edildiği, 1996-2016 SENTRY Antifungal Sürveyans Programının sonuçlarına göre 20.788 *Candida* izolatının %46.9'u *C. albicans*, %18.7'si *C. glabrata*, %15.9'u *C. parapsilosis*, %9.3'ü *C. tropicalis*, %2.8'i *C. krusei* ve % 6.5'i çeşitli *Candida* türlerinden oluşmaktadır. Yıllar içinde *C. albicans* izolasyonunda azalma ve *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* izolasyonunda bir artış gözlenmektedir. Latin Amerika hariç tüm coğrafi bölgelerde *C. glabrata* en yaygın *albicans*-dışı *Candida* türü olarak belirlenirken, bu bölgede *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* daha yaygın olarak tespit edilmiştir. *C. parapsilosis* genel sıralamada üçüncü sırada yer alırken, sıklığı 1997-2001 döneminde %12.3'ten 2009-2011'de %17.8'e yükselmiştir; bununla birlikte, bu türün invaziv kandidiyaz nedeni olarak sıklığı 2011'den sonra azalmış ve 2015-2016'da %14.4 olarak belirlenmiştir (6).

2016-2018 SENTRY Antifungal Sürveyans Programının sonuçlarına göre 1.904 *Candida* izolatının %43.9'u *C. albicans*, %19.6'sı *C. glabrata*, %17.3'ü *C. parapsilosis*, %10.3'ü *C. tropicalis*, %4.9'u *C. dubliniensis* ve %4'ü *C. krusei* olarak belirlenmiştir. 1996-2016 yıllarıyla benzer şekilde Latin Amerika'da *C.*

parapsilosis ve *C. tropicalis*, *C. glabrata* 'dan daha yüksek oranda tespit edilmiştir. 2016-2018 yıllarında *C. parapsilosis*'in yeniden oranının artma eğiliminde olduğu görülmektedir (52).

Ülkemizden tek merkezli veriler daha çok bulunmaktadır ve sonuçlar bölgeden bölgeye değişiklik göstermektedir. Örneğin Yeşilkaya ve ark.nın Ankara'da 2007-2014 yılları arasında 243 kandidemi etkeniyle yaptıkları çalışmada *C. albicans* %54.6 ile ilk sırada yer alırken, bunu sırasıyla *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* izlemektedir (53).

2014-2016 yılları arasında Antalya'da Kolak ve ark.nın 102 kandidemi hastasıyla yapmış oldukları çalışmada *C. albicans* %36.3 ile ilk sırada yer alırken, *C. parapsilosis* %22.5 ile ikinci sırada yer almıştır. Sonrasında *C. tropicalis* %16.7 ve *C. glabrata* %12.7 olarak belirlenmiştir (54).

2015-2016 yılları arasında Diyarbakır'da tüm örneklerden izole edilen *Candida* türleriyle yapılan bir çalışmada, izolatların 179 (%60.3)'u *C. albicans*, 46 (%15.5)'si *C. tropicalis*, 27 (%9.1)'si *C. parapsilosis*, 19 (%6.4)'u *C. glabrata*, 13 (%4.4)'ü *C. kefyr*, 7(%2.3)'si *C. lusitanae* olarak tanımlanmıştır (55).

2.3.5. Klinik Özellikleri

C. parapsilosis, pamukçuktan birçok invaziv enfeksiyona neden olabilen, sıklıkla girişimsel prosedürler veya protez cihazları ile birlikte ortaya çıkan önemli bir fırsatçı patojendir ve enfeksiyonların çoğu eksojen kaynaklıdır (45).

Kandidemi

C. parapsilosis, dünya çapında invaziv hastalığa neden olan en yaygın *Candida* türleri arasındadır (17). *C. albicans* en sık saptanan maya patojeni olmasına rağmen, özellikle *C. parapsilosis* kompleks'in neden olduğu kan dolaşım enfeksiyonları özellikle yenidoğan ünitelerinde son yıllarda artmıştır (56). *C. parapsilosis* kandidemisinde dokulara yayılımın ardından derin yerleşimli enfeksiyonlar görülebilmektedir (17). Diğer *Candida* türlerinin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarından daha düşük bir mortaliteye sahiptir (45). Sıklıkla birden fazla hasta tarafından kullanılan kontamine kaynaklarla salgınlar ortaya çıkmaktadır (17).

2019 yılında Çin’de, 82 kandidemi hastasıyla yapılan bir çalışmada *C. albicans* %46.3 ile ilk sırada saptanırken *C. parapsilosis* %19.5 ile ikinci sırada yer almaktadır (57). Benzer şekilde Şili’de yapılan bir çalışmada *C. parapsilosis* %30 ile ikinci sırada saptanmıştır. Santral venöz katater (SVK) ve antibiyotik kullanımı en sık belirlenen risk faktörleri arasında bulunmuştur (58). Lindber ve ark.’nın İsveç’te yapmış oldukları çalışmada, *C. parapsilosis* %10 ile üçüncü sırada ve esas olarak küçük çocuklarda saptanmıştır (59).

Endokardit

C. parapsilosis’in neden olduğu belgelenen ilk enfeksiyon endokardittir (44). Fungal endokardit, enfeksiyöz endokardit vakalarının %1.3-6 ’sını oluşturan nadir bir endokardit formudur. En sık *C. albicans* etken olarak belirlenirken, albicans-dışı türlerde *C. parapsilosis* en sık saptanmaktadır. En sık predispozan faktör protez kapak varlığıdır. IV ilaç kullanımı, IV parenteral beslenme, abdominal cerrahi, immünosupresyon, geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi ve önceki kapak hastalığı diğer risk faktörleridir (17, 60). En sık tutulum aort kapağında gözlenirken, ikinci sırada mitral kapak vardır (61).

Menenjit

Candida türleri tipik olarak akut nötrofilik menenjite neden olur. Fungal menenjitinin nedenleri arasında *C. parapsilosis* nadiren izole edilir. Bununla birlikte, artan insidansı göz önüne alındığında, yenidoğanlarda potansiyel morbidite ve mortalite nedeniyle menenjit gelişimi için dikkatli olmak gerekmektedir (17).

Peritonit

Klinik olarak diğer *Candida* türlerinin semptomlarına benzer olarak *C. parapsilosis* peritonitinde bulanık diyalizat akıntısı, abdominal ağrı, ateş ve barsak obstruksiyonu görülmektedir (17). Özellikle sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanan hastalarda baskın tür olarak saptanmaktadır (44). İyileşme sürecinde kataterin çıkarılması önemli olsa da, abse gelişimi ve peritonitin uzaması görülebilmektedir (17).

Artrit

C. parapsilosis artrite nadiren neden olmaktadır. Olgu sunumları, sıklıkla protez implantasyonundan veya artrosentezden sonra eklemleri etkilediğini göstermektedir. En sık görülen klinik belirtiler lokal ağrı ve şişliktir. Diğer *Candida* artritlerine benzer olarak diz en sık tutulan eklemdir ve sıklıkla monoartrit şeklinde görülmektedir (17, 62).

Oküler Enfeksiyonlar

C. parapsilosis, göz enfeksiyonlarına neden olan en yaygın beşinci mantar türüdür. Keratit ve özellikle operasyon sonrası gelişen endoftalmi gibi invaziv enfeksiyonlara neden olmaktadır. Endojen fungal endoftalmi, sistemik hastalık durumunda bile nispeten nadirdir (17). Literatürde kortikosteroid kullanımı, kornea nakli gibi risk faktörleriyle ilişkilendirilen keratit vakaları bulunmaktadır (45).

Onikomikoz

C. parapsilosis, *Trichophyton rubrum*'u takiben tırnakları ve ayak tırnaklarını enfekte eden öncü maya patojeni ve onikomikozun en yaygın ikinci etkenidir. Klinik gözlemler, distal tırnak hastalığı ile ilişkili raporlar sunmaktadır. Bazı yayınlarda risk faktörleri arasında travmatik distrofi ve toprak maruziyeti sayılmaktadır (17).

Vulvovajinit

Fungal vulvovajinitlerin nadir nedenleri arasındadır. Vulvovajinit ile ilişkili *C. parapsilosis* izolatları, asemptomatik taşıyıcılardan izole edilen izolatlara kıyasla in vitro olarak daha fazla aspartil proteinaz salgılamaktadır bu da vajinanın enfeksiyona karşı en etkili korumalarından olan mukozal immünoglobulin A'yı hidrolize ederek *C. parapsilosis*'in patojenik kapasitesine katkıda bulunmaktadır (17). *C. parapsilosis* asemptomatik olabileceği gibi kaşıntı, yanma, disparoni ve vajinal akıntı gibi vulvovajinal semptomlara neden olabilir (45).

Üriner Sistem Enfeksiyonları

Üriner kataterlerin varlığıyla alakalı olarak *C. parapsilosis* enfeksiyonlarının sıklığı son yıllarda artmaktadır. Kolonizasyon ve enfeksiyonda mikroorganizmaların yüzeye yapışması etkilidir (45).

2.4. Antifungal Duyarlılık Testleri

Antifungal duyarlılık test yöntemleri, bir mantar türü için uygun tedaviyi belirlemek, antifungal direnci saptamak ve direncin yerel ve küresel epidemiyolojisini belirlemek amaçlı kullanılmaktadır. Referans yöntem olarak, mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır (63). Mikrodilüsyon yöntemleri yeni antifungal ajanların aktivitesini değerlendirmek, diğer test formatlarında belirsiz sonuçlar veren organizmaların duyarlılığını doğrulamak ve formatların güvenilir olmayabileceği veya henüz doğrulanamayacağı izolatların duyarlılığını belirlemek için kullanılmaktadır (64).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ve *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) tarafından antifungal duyarlılık testleri için standart yöntemler oluşturulmuştur. CLSI tarafından 1997 yılında oluşturulan M27-A3 adlı rehber en son 2008 yılında güncellenmiştir. EUCAST Edef 7.3.1 dökümanına en son güncelleme 2017 yılında yapılmıştır. Son güncellemede kalite kontrol suşlarının MİK değerleri dökümandan kaldırılmış ayrı yeni bir doküman olarak sunulmuştur ve spektrofotometrenin hazırlanması ve kalibrasyonu kısmı değiştirilmiştir. Besiyeri glukoz içeriği, inokulum miktarı ve okuma/değerlendirme aşaması CLSI ve EUCAST yöntemleri arasındaki esas farklardır. Her iki yöntemin karşılaştırması **Tablo 2.3**'de gösterilmiştir (63, 64).

Tablo 2.3. CLSI ve EUCAST antifungal duyarlılık test yöntemlerinin karşılaştırması (63, 64)

	CLSI M27-A3	EUCAST Edef 7.3.1
Yöntem	Mikrodilüsyon	Mikrodilüsyon
Mikroplak	U tabanlı	Düz tabanlı
Besiyeri	RPMI 1640	RPMI 1640
Glukoz içeriği	%0.2	%2
İnokulum miktarı	0.5-2.5x10 ³	0.5-2.5x10 ⁵
İnkübasyon Sıcaklığı	35°C	35°C
İnkübasyon süresi AmB, Flukonazol, Ekinokandinler Azoller <i>Cryptococcus</i>	24 sa 48 sa 72 sa	24 sa 24 sa 48 sa
Okuma/Değerlendirme	Gözle/ Spektrofotometrik	Spektrofotometrik
Son nokta/İnhibisyon AmB Azoller ve Ekinokandinler	%100 inhibisyon ≥%50 inhibisyon	≥%90 inhibisyon ≥%50 inhibisyon

Mikrodilüsyon yöntemleriyle, farklı antifungal ilaç konsantrasyonlarının varlığında, belirli bir sürede mantar üremesinin değerlendirilmesi sayısal bir değer olan *minimum inhibitör konsantrasyonunun* (MİK) belirlenmesine izin verir. MİK değeri mantarların üremesini durduran en düşük antifungal konsantrasyonudur ve mg/L olarak ifade edilir (64, 65). Klinik eşik değerlerin var olması durumunda MİK değerleri, mantarların bir ilaca karşı duyarlı (S), orta duyarlı (I), doza bağlı duyarlı (SSD) veya dirençli (R) olup olmadığını değerlendirmeye olanak sağlar. Ayrıca MİK dağılımları, antifungal etkili ajana karşı direnç mekanizmaları bulunmayan ‘vahşi tip’ (wild-type) mantar izolatlarını ortaya çıkarmak için kullanılabilir (64). *C. parapsilosis* için EUCAST ve CLSI klinik eşik değerleri **Tablo 2.4**’de karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir (66, 67, 68).

Tablo 2.4. *C. parapsilosis* için EUCAST (v 10.0) (2020) (66), CLSI M27 S3 (2008), CLSI M27 S4 (2012) (67) ve CLSI M60 (2017) (68) klinik eşik değerleri (mg/L)

	EUCAST (v 10.0) <i>C. parapsilosis</i>		CLSI M27 S3* <i>Candida spp.</i>		CLSI M27 S4 <i>C. parapsilosis</i>		CLSI M60 <i>C. parapsilosis</i>			
	≤ S	R >	≤ S	R >	≤ S	R >	≤ S	I	SDD	≥R
AmB	1	1	-	-	-	-				
Anidulafungin	4	4	2	- ³	2	4	2	4	-	8
Kaspofungin	- ¹	- ¹	2	- ³	2	4	2	4	-	8
Mikafungin	2	2	2	- ³	2	4	2	4	-	8
Flukonazol	2	4	8 ⁴	32 ⁴	2 ⁴	4 ⁴	2	-	4	8
Vorikonazol	0.125 ²	0.25 ²	1 ⁴	2 ⁴	0.125 ⁴	0.5 ⁴	0.12	0.25-0.5	-	1
İtrakonazol	0.125	0.125	0.125 ⁴	0.5 ⁴	-	-	-	-	-	-
Posakonazol	0.06	0.06	-	-	-	-	-	-	-	-
İsavuonazol	IE	IE	-	-	-	-	-	-	-	-
5-Flusitozin	-	-	4	16	-	-	-	-	-	-

*: CLSI M27 S3'te tür bağımsız (*Candida spp*) eşik değerler belirlenmiştir.

¹: Anidulafungin ve mikafungine duyarlı izolatlar, kaspofungin sınır değerleri belirlenene kadar kaspofungine duyarlı kabul edilmelidir. Kaspofungin için MİK aralıklarında laboratuvarlar arası önemli varyasyon nedeniyle kaspofungin için henüz EUCAST sınır değerleri oluşturulmamıştır.

²: S/I sınır değerinin üzerinde MİK değerlerine sahip suşlar nadirdir veya henüz bildirilmemiştir. Bu tür bir izolatin tanımlama ve antifungal duyarlılık testleri tekrarlanmalıdır ve sonuç doğrulanırsa izolat bir referans laboratuvarına gönderilmelidir. MİK değeri mevcut dirençli (R) sınır değerinin üzerinde olduğu doğrulanmış izolatlar, klinik yanıt ile ilgili kanıtlar bulunana kadar dirençli olarak raporlanmalıdır. MİK değerleri epidemiyolojik cut-off değerlerinden daha düşük veya eşit olduğunda aşağıda listelenen türlerin neden olduğu enfeksiyonlarda %76'lık bir klinik yanıt elde edilmiştir. Bu nedenle, vahşi tip *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* popülasyonları duyarlı kabul edilir.

³: Ekinokandinler için R kategorisi yoktur. >2 mg/L 'duyarlı değil' olarak rapor edilir.

⁴: 'Orta duyarlı' terimi yerine 'Doza bağlı duyarlı (DBD)' terimi kullanılmaktadır.

IE: İlaçla tedavi için iyi bir hedef olduğuna dair yeterli kanıt bulunmamaktadır; yorumlu, ancak eşlik eden S, I veya R kategorizasyonu olmayan bir MİK bildirilebilir.

Mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılan antifungal duyarlılık testlerinin klinik laboratuvarlar açısından uygulanması zor ve zaman alıcı olabilmektedir. *Candida* izolatlarında antifungal ajanları in vitro test etmek için rutin kullanımda uygun maliyetli alternatif ticari yöntemler bulunmaktadır (63). Metabolik boya (Alamar Blue) kullanılarak üretilen Sensititre™ YeastOne™ (TREK Diagnostics, Thermofisher, Birleşik Krallık), ASTY (Kyokuto Pharmaceutical Industrial Co.,

Ltd., Tokyo, Japonya), Fungitest (Bio-Rad Laboratories, Fransa), SensiQuattro Candida EU® (Liofilchem, İtalya) ve ATB FUNGUS3 (bioMérieux, Fransa) mikrodilüsyon referans metodlarını baz alan manuel ticari testlerdir. VITEK®2 sistemi (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Fransa) ise antifungal duyarlılık testlerini otomatik olarak gerçekleştiren bu testlere alternatif bir seçenektir (67, 69, 70).

Sensititre™ YeastOne™ testi anidulafungin, kaspofungin, mikafungin, flukonazol, vorikonazol, itrakonazol, posakonazol, 5-flusitozin ve AmB antifungallerini tek seferde değerlendirebilen, kolay uygulanabilen ve hızlı/zamanında sonuç alma avantajlarına sahip bir test yöntemidir. *Candida spp* izolatlarında antifungal duyarlılığın yorumlanması için CLSI M27 S4 kılavuzunun kullanılmasını önerir. Dirençli ve düşük duyarlılığa sahip izolatlarda CLSI ile güçlü bir uyum göstermektedir (63).

Etest® (AB Biodisk, Solna, İsveç) besiyeri içerisine yayılan antifungallerin konsantrasyon gradyanlarını kullanan agar bazlı bir antifungal duyarlılık yöntemidir (69). Net bir zonun oluşmaması, MİK değerinin belirlenmesindeki en büyük problemidir. Bir diğer agar bazlı yöntem disk difüzyon metodudur. İdeal bir tarama testi olan disk testleri ekonomik ve çalışma kolaylığı açısından avantajlara sahiptir. CLSI tarafından antifungal diskleri değerlendirmek için CLSI M44 rehberi oluşturulmuştur ve *Candida* izolatları için azoller ve ekinokandinler onaylanmıştır (63, 67).

Son zamanlarda moleküler yöntemlerle direnç gen bölgelerinin saptanması, hedef enzimlerdeki mutasyonların belirlenmesi ve MALDI-TOF MS yöntemiyle fenotipik olarak direncin belirlenmesi duyarlılık yöntemleri arasında yerini almaya başlamıştır (67, 69, 71).

2.5. Antifungal İlaçlar ve Direnç Mekanizmaları

İnvaziv kandidiyaz tedavisinin başarılı olması için, dirençli olmayan etkili bir antifungal ilacın zamanında kullanılması gerekmektedir. İlaç seçimi ilk olarak klinik deneyimlerden edinilen kanıtlara ve saptanan mantar türüne dayanmaktadır. Genellikle, kullanılan antifungal ajanların sınıfları arasında azoller, polyenler, ekinokandinler ve flusitozin yer almaktadır (72, 73).

Antifungal direnç yeni ajanların kullanıma girmesine rağmen artan bir sorun olarak tedavi başarısızlığına neden olmaktadır. Antifungal direnç mikrobiyolojik veya klinik direnç ile ifade edilmektedir. Klinik direnç, standart dozdaki antifungal tedaviye yanıt alınamayan terapötik başarısızlık olarak kabul edilmektedir. Mikrobiyolojik direnç, primer veya sekonder olabilmektedir. Primer (intrensek) direnç, bir türün bir antifungal ajana doğal olarak gösterdiği dirençtir. Sekonder (kazanılmış) direnç ise duyarlı bir izolatın antifungal tedaviye maruz kalma gibi durumlardan sonra gösterdiği dirençtir (74, 75).

2.5.1. Azoller

Azol grubu antifungal ilaçlar (flukonazol, itrakonazol, isavukonazol, posakonazol ve vorikonazol), lanosterolün ergosterole dönüşümünden sorumlu olan fungal sitokrom P450 bağımlı lanosterol 14 α -demetilaz enzimini inhibe ederek etki göstermektedir. Memeli sitokrom P450 enzim sistemine de etki edebildiğinden birçok yan etki görülebilmektedir (72, 76).

Azol grubu antifungallere farklı mekanizmalarla direnç gelişebilmektedir. *CDR* veya *MDR* gibi eflux pompa genlerinin upregülasyonu, hedef enzimi kodlayan *ERG11* (Cyp51A) genindeki nokta mutasyonlar, *ERG11* geni aşırı ekspresyonu ve biyofilm üretimi dirence neden olan başlıca faktörlerdir (74, 75, 77). *CDR* geni tüm azollere dirence neden olurken, *MDR* geni sadece flukonazol direncinden sorumlu görünmektedir (74). Biyofilmler eflux pompalarının indüksiyonu gibi nedenlerle azollere intrinsek direnç gösterir (77).

2.5.2. Ekinokandinler

Ekinokandinler (kaspofungin, anidulafungin ve mikafungin), mantar hücre duvar sentezini bozan yarı sentetik lipopeptid antifungal ajan sınıfıdır. 1,3- β -d-glukan sentaz enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Yüksek moleküler ağırlıkları ve düşük oral biyoyararlanımları nedeniyle, sadece IV formları bulunmaktadır (76).

1,3- β -d-glukan sentaz enzimini kodlayan gendeki mutasyonlar ekinokandin direncine neden olmaktadır. Özellikle *FKS1*'deki iki “hot spot” bölgede (HS1 ve HS2) nokta mutasyon varlığı *Candida*'larda azalmış ekinokandin duyarlılığı ile ilişkilidir (74).

C. parapsilosis kompleks ve *C. guilliermondii*'de anidulafungin, mikafungin ve kaspofungin gibi ekinokandin grubu antifungal ajanlara azalmış duyarlılık saptanmaktadır (72). *C. parapsilosis* komplekste, HS1'in distalindeki yüksek oranda korunmuş prolin yerine alanin mutasyonu bulunması azalmış duyarlılıktan sorumludur. Bu suşlarla enfekte hastalar genellikle standart doz ekinokandin ilaçlarıyla tedavi edilebildikleri için azalmış duyarlılık klinik olarak önemi net değildir (77).

2.5.3. Polyenler

Polyen grubu antifungal ilaçlar, mantar hücre zarında sterollere özellikle ergosterole bağlanarak membran bariyer fonksiyonunun bozulmasına, hücre bileşenlerinin sızmasına, metabolik bozulmaya ve hücre ölümüne neden olur. Geleneksel amfoterisin B (amfoterisinB (AmB) deoxycholate) tedavisiyle yan etki gözlenen durumlarda veya nefrolojik sorunlar nedeniyle geleneksel AmB'nin kullanılamadığı durumlarda, AmB'nin lipitle ilişkili formülasyonları (Lipozomal AmB, AmB lipit kompleksi ve AmB koloidal dispersiyon) kullanılmaktadır (76).

Polyen direnci az görülmekle birlikte esas olarak hücre zarında ergosterol içeriğinin azalmasına veya değişimine bağlıdır. *ERG1*, *ERG2*, *ERG3*, *ERG4*, *ERG6* ve *ERG11* gibi sterol yolağındaki genlerdeki mutasyonlar sonucu görülmektedir. Uzun süren başarısız tedavilerin sonucunda bile direnç gelişimi nadir olarak gözlenmektedir (74, 77).

2.5.4. 5-Flusitozin

5-Flusitozin (5-Fluorocytosine, 5-FC), DNA, RNA ve protein sentezini bozan bir pirimidin analogu ön ilaçtır. Sıklıkla AmB ve flukonazolle kombine tedavi olarak kullanılır, monoterapi olarak kullanıldığında direnç gelişme hızı yüksektir (76, 78). Sitozin deaminaz ya da urasil fosforiboziltransferaz urasil (UPRTaz) aktivitesinin azalması dirençte önemlidir.

2.6. Kandidemide Antifungal Tedavi

Çoğu merkezde, flukonazol ve ekinokandinler hastaların kliniğine bağlı olarak birinci basamak tedavi olarak tercih edilmektedir. Tedavide yüzeysel ve derin ven kateterlerinin çıkarılması mortalite oranını azalttığı için önemlidir. Eğer

katater çıkarımı mümkün değilse, ekinokandinler ve lipozomal amfoterisin B gibi biyofilmlere karşı etkili antifungal ilaçlar kullanılmalıdır (72).

Infectious Diseases Society of America (IDSA) tarafından 2016 yılında yayınlanan kandidiyazis yönetimi rehberinde; nötropenik olmayan hastalarda kandidemi tedavisinde ekinokandinler (kaspofungin: 70 mg/gün yükleme dozu devamında 50 mg/gün idame; mikafungin: 100 mg/gün; anidulafungin: 200 mg/gün yükleme dozu devamında 100 mg/gün idame) başlangıç tedavisi olarak önerilmektedir. Kritik hastalığı olmayan ve fluconazole-dirençli *Candida* türüne sahip olma olasılığı düşük olan hastalarda alternatif olarak flukonazol IV/oral (800 mg (12 mg/kg) yükleme dozu devamında 400 mg (6 mg/kg) idame) önerilmektedir. Tüm *Candida* türleri için azol duyarlılığının test edilmesi gerektiği; ekinokandin duyarlılığının ise herhangi bir ekinokandin türevi ile daha önce tedavi görmüş hastalarda ve *C. glabrata* veya *C. parapsilosis* ile enfekte hastalarda çalışılması gerektiği belirtilmektedir. Diğer antifungal ajanlara direnç veya intolerans durumlarında Lipozomal AmB (3-5 mg/kg) alternatif tedavi seçeneği olabilmektedir. Ekinokandin veya AmB tedavisi sonrasında (5-7 gün) stabil durumlarda, etken *Candida*'nın fluconazole duyarlı saptanmasında ve tekrarlayan kan kültürlerinin steril olması durumunda tedavide fluconazole geçilmesi önerilmektedir. Ekinokandin dirençli, azol duyarlılığı şüpheli olan *Candida* türlerinde lipozomal AmB kullanılması önerilmektedir. Vorikonazol'un ilk tedavi olarak fluconazole göre çok az avantajı bulunmakla birlikte, bazı (*C. krusei* ile oluşan kandidemiler gibi) vakalarda tercih edilebilmektedir. Tüm hastalar bir hafta içinde geniş bir oftalmolojik muayeneden geçirilmelidir. Takip kan kültürleri alınarak kandideminin sonlandığı belirlenmeli ve klinik iyileşme sağlandıktan sonra 2 hafta daha tedaviye devam edilmelidir. Enfeksiyon kaynağının SVK olması durumunda kateter mümkün olan en kısa sürede çıkarılmalıdır (73).

Nötropenik hastalarda ekinokandinler, nötropenik olmayan hastalara benzer şekilde ilk tercih edilecek antifungal grubudur. Toksik etkileri nedeniyle AmB lipid formülasyonu az tercih edilen alternatif bir tedavidir. Durumu kritik olmayan ve azole maruz kalmamış hastalarda flukonazol alternatif tedavi olarak önerilmektedir. Flukonazol ve vorikonazol, klinik durumu stabil olan ve kontrol

kan kültürlerinin steril olduğu belirlenen nötropenik hastalarda tedavi seçeneği olarak kullanılabilir. *C. krusei* kandidemisinde tedavide ekinokandin, lipozomal amfoterisin B ya da vorikonazol önerilmektedir. Nötropenik hastalarda kandidemi nedeninin flora kaynaklı olduğu düşünülmesi nedeniyle kateter çıkarımı bireysel değerlendirilmelidir. Nötropeninin iyileşmesinden sonraki ilk hafta içinde oftalmolojik muayene yapılması önemlidir çünkü koroid ve vitreal enfeksiyonun bulguları nötropeni iyileşene kadar en az düzeyde seyretmektedir (73).

C. parapsilosis izolatlarında azalmış ekinokandin duyarlılığı nedeniyle, bu türle meydana gelen kandidemi tedavisinde uygun antifungal seçimi açısından kararsızlık bulunmaktaydı. Ancak 2014 yılında İspanya’da yapılan çok merkezli prospektif bir çalışmada *C. parapsilosis* kandidemisinde ilk seçenek olarak ekinokandin grubu antifungal kullanımının sonucu olumsuz yönde etkilemediği raporlanmıştır (79).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma için TTU-2019-4790 proje kodu ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından destek sağlanmıştır ve Akdeniz Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2019/34 sayılı karar ile etik kurul onayı alınmıştır.

Bu çalışmada kandidemi etkeni *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının MALDI-TOF MS yöntemiyle tiplendirilmesi, epidemiyolojik özelliklerinin ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.1. *Candida parapsilosis* Suşlarının Seçilmesi

1 Ocak 2014- 31 Aralık 2018 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi yataklı servislerinde takip edilen hastaların, kan kültürlerinden izole edilmiş *Candida parapsilosis* kompleks izolatları çalışmaya alındı. Her hastanın hastanede yattığı dönemde üreme saptanan ilk kan kültürü stok kayıtlarından geriye dönük incelenerek seçildi. Kalite kontrol olarak ATCC 22019 *C. parapsilosis* suşu kullanıldı.

3.2. Suşların Bruker Maldi Biotyper ile Tanımlanması

%15 gliserollü Tryptic Soy Broth (TSB) içerisinde -80°C'de saklanmış olan suşlar oda ısısında çözüldükten sonra, SDA (BD, Almanya) ve %5 koyun kanlı (BD, Almanya) besiyerine pasajlandı ve 35-37°C'de 24 saat inkübe edildi. Üremesi zayıf olan, tek koloni görüntüsü elde edilemeyen plakların inkübasyon süresi 48 saate kadar uzatıldı. MALDI-TOF MS yöntemiyle çalışan Bruker Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı kullanılarak 'genişletilmiş direk transfer yöntemi' ve 'etanol-formik asit ekstraksiyon yöntemi' ile her suş 2 kez tanımlandı.

3.2.1. Gerekli Kimyasal Solüsyonların Hazırlanması

Organik Çözücü Hazırlanması: 1 ml'lik ependorf tüpün içerisine 475 µl deiyonize su eklendi. Üzerine 500 µl Asetonitril ilave edildi. Son olarak karışımın üzerine 25 µl Trifloro asetik asit eklendi ve vorteks ile karıştırıldı.

HCCA (α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) Matriks Hazırlanması: Katı halde bulunan HCCA matriks maddesinden hassas terazide 5 mg tartıldı. Kapaklı tüpe

aktarıldı. Üzerine hazırladığımız organik çözücünden 450 µl koyuldu. Çözünme işlemi tamamlanana kadar vortekslendi.

3.2.2. Genişletilmiş Direk Transfer Yöntemi

1. Besiyeri plağından tek bir koloni seçildi.
2. Seçilen koloni ince bir tabaka halinde target spotuna sürüldü.
3. Ardından örneğin üzerine hazırlamış olduğumuz %70'lik formik asit çözeltisinden 1 µl damlatıldı, oda sıcaklığında kuruması beklenildi.
4. Ardından en geç 1 saat içerisinde 1 µl Matriks çözeltisi damlatıldı. Oda sıcaklığında kuruması beklenildi.
5. Hazırlanan spotlar analiz için cihaza yüklendi.

3.2.3. Etanol-Formik Asit Ekstraksiyon Yöntemi

1. Bir ependorf tüpün içerisine 300 µl deiyonize su kondu, besiyerinde üremiş olan koloniden deiyonize suyun içerisine aktarıldı. Pipetle karıştırılıp, vortekslendi.
2. 900 µl etanol eklendi ve vortekslendi.
3. 2 dakika süreyle 13 000 rpm de santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası dipte kalan pelete zarar vermeyecek şekilde üst sıvı faz uzaklaştırıldı.
4. Santrifüj basamağı tekrarlandı, dipte kalan etanol pipet yardımıyla atıldı.
5. Etanolün tamamen uzaklaşması için ependorf tüpleri ağzı açık şekilde oda sıcaklığında 2-3 dakika kurumaya bırakıldı.
6. Pelet miktarına göre 1-80 µl arasında %70'lik Formik asit eklendi, vortekslenerek karıştırıldı.
7. İlave ettiğimiz formik asit miktarı ile aynı miktarda asetonitril eklendi.
8. 2 dakika süreyle 13 000 rpm de santrifüj yapıldı.
9. Üst fazdan 1 µl alındı, target spota aktarıldı ve kuruması beklendi.
10. Üzerine 1 µl Matriks çözeltisi eklendi ve kuruması beklendi.
11. Hazırlanan spotlar analiz için cihaza yüklendi.

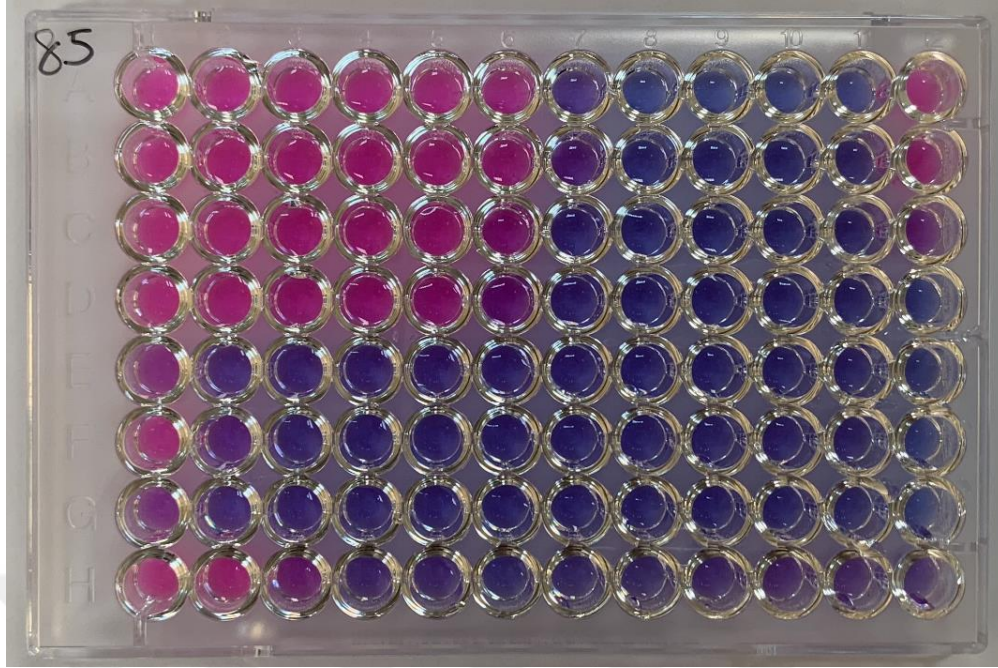
3.2.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Biotyper yazılımı her suşun karakteristik özelliği olan kütle spektrumunu veri tabanındaki referans kütle spektrumlarıyla karşılaştırır, suş ve referans spektrumu arasındaki benzerlik değerlendirilir. İstatistiksel analiz kullanılarak, organizma identifikasyonunda olasılık sıralaması oluşturulur. Olasılık sıralaması 0.00 ile 3.00 arasında bir log (skor) olarak belirtilir. Eğer $\log(\text{skor}) \geq 2,00$ ise organizma tanımlaması (direkt veya ekstraksiyon ile) yüksek güvenilirlikte tanımlamadır ve sonuç raporlanır (yeşil). Direkt transfer yöntemi ile organizmanın tanımlanma log (skor) değeri <2.00 ise; kullanıcıdan bir ekstraksiyon prosedürünü (Genişletilmiş Direkt Transfer Yöntemi veya Etanol-Formik Asit Ekstraksiyon gibi) uygulaması istenir. Ekstraksiyon sonrası Organizma tanımlama log (skor) değeri 1.7 ile <2.0 arasındaysa, tanımlama düşük güvenilirlikte tanımlama olarak rapor edilir (sarı). 1.7'nin altındaki puanlar ise güvenilmez olarak kabul edilir (kırmızı). Ayrıca, Biotyper yazılımı tarafından atanan A (tür tutarlılığı), B (cins tutarlılığı) ve C (tutarlılık yok) kategorileri tanımlama için dikkate alındı (80).

3.3. Sensititre™ YeastOne™ YO10 Antifungal Duyarlılık Testi

Çalışmaya dahil edilen her suş için ticari Thermo Scientific™ Sensititre™ YeastOne™ YO10 (SYO) (TREK Diagnostic Systems) yöntemi kullanılarak antifungal duyarlılık çalışıldı. SYO, *Candida* ve *Cryptococcus* gibi maya türleri, *Aspergillus* türleri ve diğer hızlı üreyen mantar türlerinde anidulafungin, mikafungin, kaspofungin, 5-flusitozin, posakonazol, vorikonazol, itrakonazol, flukonazol ve AmB için MİK değeri belirleyebilen 96 kuyucuklu kolorimetrik mikrodilüsyon test yöntemidir (**Şekil 2**) (81).

Her kuyucukta uygun dilüsyonlarda antifungal ajan ve kolorimetrik indikatör bulunmaktadır. Üremenin olmadığı en düşük antifungal konsantrasyon gözle değerlendirilerek sonuç verilmektedir (81). Test plağında antifungal ajanların yerleşimi ve konsantrasyonları **Tablo 3.1**'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Sensititre YeastOne YO10 Antifungal Duyarlılık Panelinin inokülasyon ve inkübasyon sonrası görüntüsü

Tablo 3.1. Sensititre YeastOne YO10 Antifungal Duyarlılık test plağında antifungal ajanların yerleşimi ve konsantrasyonları (mg/L) (82)

PK	AND 0.015	AND 0.03	AND 0.06	AND 0.12	AND 0.25	AND 0.5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AMB 0.12
MF 0.008	MF 0.015	MF 0.03	MF 0.06	MF 0.12	MF 0.25	MF 0.5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AMB 0.25
CAS 0.008	CAS 0.015	CAS 0.03	CAS 0.06	CAS 0.12	CAS 0.25	CAS 0.5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AMB 0.5
FC 0.06	FC 0.12	FC 0.25	FC 0.5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AMB 1
PZ 0.008	PZ 0.015	PZ 0.03	PZ 0.06	PZ 0.12	PZ 0.25	PZ 0.5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AMB 2
VOR 0.008	VOR 0.015	VOR 0.03	VOR 0.06	VOR 0.12	VOR 0.25	VOR 0.5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AMB 4
IZ 0.015	IZ 0.03	IZ 0.06	IZ 0.12	IZ 0.25	IZ 0.5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AMB 8
FZ 0.12	FZ 0.25	FZ 0.5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

PK: Pozitif Kontrol, AND: Anidulafungin, MF: Mikafungin, CAS: Kaspofungin, FC: Flusitozin, PZ: Posakonazol, VOR: Vorikonazol, IZ: İtrakonazol, FZ: Flukonazol, AMB: Amfoterisin B

3.3.1. *Candida* türleri için inokülasyon prosedürü (81)

1. SDA besiyerinde 24 saat inkübe edilen saf maya kolonilerinden >1mm olan birkaç iyi izole edilmiş koloni seçildi ve demineralize su içinde süspansiyon hazırlandı.
2. Süspansiyon 15 saniye vorteksle iyice karıştırıldı, homojen süspansiyon sağlandı. 0.5 Mc Farland stardardına göre bulanıklık ayarlandı.
3. $1.5-8 \times 10^3$ kob/ml inokülüm elde etmek için 11 ml'lik YeastOne inokülüm tüpüne 20 µl' si transfer edildi. Buraya kadar olan basamaklar 15 dk içinde tamamlandı.
4. Hazırlanmış süspansiyondan manuel pipet ile 100 µl çekilerek her bir kuyucuk içine inoküle edildi.
5. Yapışkan bant ile tüm kuyucuklar kapanacak şekilde plağın üzeri kapatıldı.
6. En az 24-25 saat 35 °C de inkübe edildi.

3.3.2. *Candida* türleri için değerlendirme prosedürü (81)

1. 24-25 saat inkübasyondan sonra pozitif büyüme kuyucuğu kırmızı ise test değerlendirmeye alındı, mavi veya soluk mor ise bir 24 saat daha inkübe edilerek okundu.
2. Plaktaki antifungal solüsyonlarda mantar üremesi kolorimetrik üreme indikatörü ile maviden (negatif), kırmızıya (pozitif) değişen renkler oluşturmaktadır. MİK değeri üremenin inhibe olduğu, yani herhangi bir renk değişiminin olmadığı en düşük antifungal konsantrasyonu gösteren kuyucuğun gözlenmesi ile belirlendi.
3. Amfoterisin B için pozitif büyüme kuyucuğuna kıyasla belirgin bir renk değişimi gösteren ilk kuyucuk MİK değeri olarak belirlendi.
4. Flusitozin ve azol grubu antifungal ajanlar için MİK, pozitif büyüme kontrol kuyusuna kıyasla daha az yoğun bir renk değişimi gösteren ilk kuyucuk olarak değerlendirildi.
5. Ekinokandinler için MİK, pozitif kontrol kuyucuğuna kıyasla daha az yoğun bir renk değişimi gösteren ilk kuyucuk olarak okundu.
6. Belirlenen MİK değerleri üreticinin önerdiği şekilde CLSI M27 S4 rehberindeki klinik eşik değerlere göre yorumlandı (Bkz. **Tablo 2.4**).

7. Klinik eşik değeri bulunmayan antifungal ajanlar için epidemiyolojik eşik değerler (ECV) kullanılarak vahşi tip ve vahşi olmayan tip ayrımı yapıldı (83).
8. Belirlenen MİK değerleri ayrıca CLSI M27 S3, CLSI M60 ve EUCAST (v 10.0) klinik eşik değerlerine göre yorumlandı (Bkz. **Tablo 2.4**).

3.4. Tanımlar

Hastaneye yatıştan 48 saat sonra en az bir kan kültüründe *Candida spp.* üremesi olan ve *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) kriterlerine uygun olarak hastane kaynaklı kandidemi olarak kabul edildi. Çıkarılmış olan kateterin, vorteksleme yöntemiyle yapılan kantitatif kültüründe $\geq 10^3$ KOB (koloni oluşturan birim)/ml üreme olması, aynı zamanda periferik kanda da aynı mikroorganizmanın üremesi durumunda kateterle ilişkili kandidemi olarak değerlendirildi. Erken mortalite tanıdan 1-7 gün sonra ölüm olarak, geç mortalite 8-30 gün arasında ölüm olarak tanımlandı (84).

3.5. Klinik Verilerin İncelenmesi ve Analizi

Hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 1 Ocak 2014- 31 Aralık 2018 tarihleri arasında kan kültürlerinde *Candida parapsilosis* kompleks üremesi saptanan hastaların klinik verileri retrospektif olarak tarandı. Hastaların yaşı, cinsiyeti, yattığı klinik birim, yatış tarihi, yatış nedeni, altta yatan hastalıklar (Diabetes mellitus (DM), malignite, kronik böbrek yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), kalp yetmezliği), organ nakli, nötropeni varlığı ($<2000/\text{mm}^3$), GİS kanaması, abdominal operasyon öyküsü, immunsupresif ilaç ve steroid kullanımı, kemoterapi, SVK varlığı, total parenteral nütrisyon kullanımı, üriner kateter varlığı, kandidüri varlığı, son bir hafta içerisinde kullanılan antibiyotik ve antifungal ajanlar gibi risk faktörleri, hastaneye yatıştan kaç gün sonra kandideminin başladığı, kandidemi tedavisi, kullanılan ajanlar ve süreleri ve sonrasındaki klinik durum elektronik ortamda incelenip kaydedildi.

Verilerin analizi SPSS yazılım programı (versiyon 22) kullanılarak yapıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin analizinde Pearson ki-kare testi veya Fisher's Exact Test kullanıldı. İstatistiksel olarak 0,05'den küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. *Candida parapsilosis* kompleks Kandidemisi Sıklığı

1 Ocak 2014- 31 Aralık 2018 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde toplam 527 kandidemi epizodu belirlenmiştir. Beş yıllık süreçte 527 kandidemili hastanın %40'ında etken *C. albicans* iken, %60'ında etken *albicans* dışı *Candida* türleridir. Kandidemi epizodlarında etkenlerin 211'i (%40) *C. albicans*, 99'u (%18.8) *C. parapsilosis* kompleks, 72'si (%13.7) *C. tropicalis*, 63'ü (%12) *C. glabrata*, 32'si (%6.1) *C. krusei*, 17'si (%3.2) *C. kefyr*, 7'si (%1.3) *C. lusitaniae*, 5'i (%0.9) *C. dubliniensis* ve 21'i (%4.1) diğer *Candida* türleri olarak belirlenmiştir.

Candida türlerinin yıllara göre dağılımı incelendiğinde, her yıl için *C. albicans* en sık izole edilen tür olmuştur (%35.7-45). 2016 yılı dışında, *C. parapsilosis* ikinci en sık izole edilen türdür. 2016 yılında *C. albicans*'ı, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* izlemiştir. *Candida* türlerinin yıllara göre dağılımı **Tablo 4.1**'de gösterilmiştir.

Candida parapsilosis kompleks olarak tanımlanan 99 suşun üçü, stok besiyerlerinden canlandırılmadığı için çalışma dışında bırakılmıştır ve çalışmaya toplam 96 klinik suş dahil edilmiştir.

Tablo 4.1. 1 Ocak 2014- 31 Aralık 2018 tarihleri arasında kandidemi etkeni olan *Candida* türlerinin yıllara göre dağılımı

<i>Candida</i> Türleri	2014 n(%)	2015 n(%)	2016 n(%)	2017 n(%)	2018 n(%)	TOPLAM n(%)
<i>C. albicans</i>	46 (41.1)	40 (35.7)	41 (38.3)	30 (39.5)	54 (45)	211 (40)
<i>C. parapsilosis</i> kompleks	22 (19.6)	25 (22.3)	13** (12.2)	16 (21.1)	23 (19.2)	99 (18.8)
<i>C. tropicalis</i>	17 (15.2)	12 (10.7)	18 (16.8)	9 (11.8)	16 (13.4)	72 (13.7)
<i>C. glabrata</i>	9 (8)	16 (14.3)	14 (13.1)	9 (11.8)	15 (12.5)	63 (12)
<i>C. krusei</i>	5 (4.5)	8 (7.1)	8 (7.5)	4 (5.3)	7 (5.8)	32 (6.1)
<i>C. kefyr</i>	8 (7.1)	1 (0.9)	5 (4.7)	2 (2.6)	1 (0.8)	17 (3.2)
<i>C. lusitaniae</i>	-	2 (1.8)	1 (0.9)	3 (4)	1 (0.8)	7 (1.3)
<i>C. dubliniensis</i>	-	1 (0.9)	2 (1.9)	-	2 (1.7)	5 (0.9)
<i>Candida spp</i>	-	3 (2.7)	1 (0.9)	-	1 (0.8)	5 (0.9)
<i>C. inconspicua</i>	-	-	2 (1.9)	1 (1.3)	-	3 (0.6)
<i>C. guilliermondii</i>	1 (0.9)	-	-	1 (1.3)	-	2 (0.4)
<i>C. catenulata</i>	1 (0.9)	1 (0.9)	-	-	-	2 (0.4)
<i>C. lambica</i>	-	1 (0.9)	1 (0.9)	-	-	2 (0.4)
Diğer <i>Candida</i> türleri*	3 (2.7)	2 (1.8)	1 (0.9)	1 (1.3)	-	7 (1.3)
TOPLAM	112 (100)	112 (100)	107 (100)	76 (100)	120 (100)	527 (100)

*: *C. lipolytica*, *C. pelliculosa*, *C. robusta*, *C. norvegensis*, *C. zeynaloides*, *C. pararugosa* ve *C. carpophila* türlerinden 1'er suş içermektedir.

** : 2016 yılına ait 3 suş üretilenmemiştir.

Hastanemizde 1 Ocak 2014- 31 Aralık 2018 tarihleri arasında toplam 227 *Candida parapsilosis* kompleks suşu üretilmiştir. Bu suşların 217'si (%95.6) *Candida parapsilosis sensu stricto*, 8'i (%3.5) *Candida orthopsilosis* ve 2'si *Candida metapsilosis* (%0.9) olarak tanımlanmıştır. *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının en sık izole edildiği örnek tipi kan olmuştur. Sonrasında pü ve idrar örnekleri gelmektedir. Örnek tiplerine ve yıllara göre *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının dağılımı Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Örnek tiplerine ve yıllara göre *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının dağılımı

Örnek Türü	2014			2015			2016**			2017			2018			TOPLAM		
	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>
KAN	22	-	-	25	-	-	13	-	-	16	-	-	23	-	-	99	-	-
PÜ	-	-	-	2	1	-	10	-	1	8	-	-	21	-	-	41	1	1
İDRAR	-	-	-	-	-	-	15	2	-	3	-	-	11	-	1	29	2	1
KATETER*	5	-	-	4	-	-	4	-	-	9	-	-	4	-	-	26	-	-
KULAK	-	-	-	-	-	-	5	1	-	1	1	-	3	-	-	9	2	-
BALGAM	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	5	-	-	6	-	-
TASP	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	4	-	-	5	-	-
TIRNAK	-	1	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	1	-	2	3	-
TOPLAM	27	1	-	31	1	-	51	4	1	37	1	-	71	1	1	217	8	2

TASP: Trakeal Aspirat Sıvısı

*: Eş zamanlı kan kültürü üremeleri mevcuttur.

** : 2016 yılına ait kateter ilişkili 3 suş üretilenmemiştir.

4.2. *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının Bruker Maldi Biotyper ile identifikasyon sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 96 suşun hepsi Bruker Maldi Biotyper genişletilmiş direk transfer yöntemi ve etanol-formik asit ekstraksiyon yöntemlerinin her ikisi ile *C. parapsilosis* sensu stricto olarak tanımlanmıştır. *C. metapsilosis* ve *C. ortopsilosis* tipleri izole edilmemiştir.

Genişletilmiş direk transfer yöntemi ile 1 (%1) suşun Bruker tanımlama puanı ≥ 2.0 olarak hesaplanmış ve tür seviyesinde güvenilir sonuç elde edilmiştir. 82 (%85.4) suş için cins seviyesinde güvenilir sonuç elde edilmiştir ($2.0 >$ ve ≥ 1.7). 13 (%13.6) suşun puanı $1.7 >$ olarak hesaplanmış ve güvenilirmez sonuç elde edilmiştir.

Etanol-formik asit ekstraksiyon yöntemiyle 19 (%19.8) suşun Bruker tanımlama puanı ≥ 2.0 olarak hesaplanmış ve tür seviyesinde güvenilir sonuç elde edilmiştir. Kalan 77 (%80.2) suş için cins seviyesinde güvenilir sonuç elde edilmiştir. **Tablo 4.3**'de her iki yöntemin karşılaştırmalı sonuçları gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Bruker Maldi Biotyper identifikasyon sonuçları

	Genişletilmiş direk transfer yöntemi n(%)	Etanol-formik asit ekstraksiyon yöntemi n(%)
≥ 2.0	1 (1)	19 (19.8)
$2 >$ ve ≥ 1.7	82 (85.4)	77 (80.2)
$1.7 >$	13 (13.6)	-
TOPLAM	96 (100)	96 (100)

ATCC 22019 *C. parapsilosis* kalite kontrol suşu her iki yöntemle ikişer kez çalışılmıştır. Genişletilmiş direk transfer yöntemiyle her iki çalışma sonucu $1.8 >$ ve ≥ 1.7 bulunmuştur. Etanol-formik asit ekstraksiyon yöntemiyle bir sonuç $1.9 >$ ve ≥ 1.8 , diğer sonuç $2 >$ ve ≥ 1.9 bulunmuştur.

4.3. Antifungal Duyarlılık Testi Sonuçları

Suşların anidulafungin, mikafungin, kaspofungin, 5-flusitozin, posakonazol, vorikonazol, itrakonazol, flukonazol ve amfoterisin B'ye duyarlılıkları kolorimetrik mikrodilüsyon yöntemi olan Thermo Scientific™ Sensititre™ YeastOne™ YO10 (TREK Diagnostics, Thermo Fisher Scientific, East Grinstead, Birleşik Krallık) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda araştırılmıştır. SYO antifungal duyarlılık testinin tüm antifungal ajanlar için MİK değer aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri **Tablo 4.4**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Kandidemi etkeni *C. parapsilosis* sensu stricto suşlarının dokuz antifungal ajana in vitro duyarlılıkları

	Antifungal Ajan	MİK aralığı (mg/L)	MİK ₅₀ (mg/L)	MİK ₉₀ (mg/L)
<i>C. parapsilosis</i> (96)	Anidulafungin	0.25-4	1	2
	Mikafungin	0.25-2	0.5	1
	Kaspofungin	0.06-1	0.25	0.5
	5-Flusitozin	<0.06-2	0.25	1
	Posakonazol	0.008-0.25	0.015	0.03
	Vorikonazol	<0.008-8	0.015	0.06
	Itrakonazol	0.015-0.5	0.03	0.06
	Flukonazol	0.12->256	1	2
	Amfoterisin B	0.12-1	0.5	0.5

SYO YO10 panelinde bulunan antifungallerin MİK (mg/L) değerlerine göre *C. parapsilosis* sensu stricto suşlarının dağılımı **Tablo 4.5**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. *C. parapsilosis* sensu stricto suşlarının MİK (mg/L) dağılımı

<i>C. parapsilosis</i> (96)	MİK değerleri (mg/L)																		
	<0,008	0,008	0,015	0,03	<0,06	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
Anidulafungin	-	-	0	0	-	0	0	3	28	37	27	1	0	-	-	-	-	-	-
Mikafungin	-	0	0	0	-	0	0	7	43	44	2	0	0	-	-	-	-	-	-
Kaspofungin	-	0	0	0	-	1	12	57	20	6	0	0	0	-	-	-	-	-	-
5-Flusitozin	-	-	-	-	8	22	13	21	21	9	2	0	0	0	0	0	-	-	-
Posakonazol	-	3	59	26	-	5	2	1	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
Vorikonazol	8	9	31	36	-	5	1	3	1	0	0	0	2	-	-	-	-	-	-
İtrakonazol	-	-	8	53	-	30	2	2	1	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	1	8	29	35	15	2	0	1	1	2	0	0	2
Amfoterisin B	-	-	-	-	-	-	15	32	48	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-

4.3.1. CLSI M27 S4, CLSI M27 S3, CLSI M60 ve EUCAST (v 10.0) verilerine göre sonuçların değerlendirilmesi

Antifungal duyarlılık sonuçları EUCAST (v 10.0), CLSI M27 S3, CLSI M27 S4 ve CLSI M60 klinik eşik değerlerine göre yorumlanmıştır (Bkz. **Tablo 2.4**). Klinik eşik değeri bulunmayan antifungal ajanlar için epidemiyolojik eşik değerler (ECV) kullanılarak vahşi tip ve vahşi olmayan tip ayrımı yapılmıştır (83).

Ekinokandinler

EUCAST (v 10.0) eşik değerlerine göre tüm *C. parapsilosis* sensu stricto suşları mikafungin ve anidulafungine duyarlı bulunmuştur. EUCAST standardında kaspofungin için klinik eşik değerleri bulunmamaktadır. Fakat mikafungin ve anidulafungin sonuçlarına göre yorum yapılabileceği belirtilmiştir. Bu bilgiye göre tüm suşlar kaspofungine de duyarlı olarak değerlendirilmiştir.

CLSI M27 S3 eşik değerlerine göre tüm *C. parapsilosis* sensu stricto suşları mikafungin, kaspofungin ve bir suş dışında anidulafungine duyarlı bulunmuştur. Bu suşun anidulafungin MİK değeri 4 mg/l olarak belirlendiği için anidulafungine ‘duyarlı değil’ olarak değerlendirilmiştir.

CLSI M27 S4 ve CLSI M60 eşik değerlerine göre tüm *C. parapsilosis* sensu stricto suşları mikafungin ve kaspofungine duyarlı bulunmuştur. Anidulafungine bir suş orta duyarlı, diğerleri duyarlı bulunmuştur. Orta duyarlı suşun anidulafungin MİK değeri 4 mg/l'dir.

Azoller

Flukonazol

EUCAST (v 10.0) ve eşik değerlerine göre 88 suş flukonazole duyarlı, 2 suş orta duyarlıdır. CLSI M27 S4 ve CLSI M60 eşik değerlerine göre 88 suş flukonazole duyarlı, 2 suş doza bağlı duyarlıdır. Hem EUCAST hem de CLSI M27 S4 eşik değerlerine göre 6 (%6.3) suş dirençli olarak belirlenmiştir.

EUCAST (v 10.0) eşik değerlerine göre flukonazol dirençli 6 suşun 3'ü panel ile değerlendirilen tüm azollere (flukonazol, vorikonazol, posakonazol ve itraconazol) dirençli bulunmuştur. Flukonazole dirençli diğer 3 suş vorikonazole orta duyarlı, posakonazol ve itraconazole duyarlı bulunmuştur.

CLSI M27 S3 eşik değerlerine göre 90 suş flukonazol duyarlı, 2 suş doza bağlı duyarlı ve 4 (%4.1) suş dirençli olarak belirlenmiştir.

Vorikonazol

EUCAST (v 10.0) eşik değerlerine göre 90 suş vorikonazol duyarlıdır. Dirençli 3 (%3.1) suş, orta duyarlı 3 (%3.1) suş bulunmaktadır.

CLSI M27 S3 eşik değerlerine göre 94 suş duyarlı, 2 suş (%2.1) dirençli olarak belirlenmiştir. CLSI M27 S4 ve CLSI M60 eşik değerlerine göre 90 suş vorikonazol duyarlıdır. Doza bağlı duyarlı 4 suş ve dirençli 2 (%2.1) suş bulunmaktadır. EUCAST (v 10.0) eşik değerlerine göre dirençli olarak saptanan 1 suş CLSI eşik değerlerine göre doza bağlı duyarlı kategorisinde yer almıştır.

Posakonazol

EUCAST (v 10.0) eşik değerlerine göre 93 suş posakonazol duyarlıdır. Dirençli 3 (%3.1) suş bulunmaktadır.

CLSI M27 S4, CLSI M60 ve CLSI M27 S3 rehberlerinde posakonazol için klinik eşik değeri bulunmadığından bu antifungal ajan için ECV değeri kullanılmıştır. *C. parapsilosis* türlerinde posakonazol için ECV ≤ 0.25 µg/ml'dir (83). Bu değere göre tüm suşlarımız vahşi tip olarak değerlendirilmiştir.

İtrakonazol

EUCAST (v 10.0) eşik değerlerine göre 93 suş itrakonazol duyarlıdır. Dirençli 3 (%3.1) suş bulunmaktadır. CLSI M27 S3 eşik değerlerine göre 93 suş itrakonazol duyarlı, 3 (%3.1) suş dirençlidir.

CLSI M27 S4 ve CLSI M60 dökümanında itrakonazol için klinik eşik değeri bulunmadığından bu antifungal ajan için ECV değeri kullanılmıştır. *C. parapsilosis* türlerinde itrakonazol için ECV ≤ 0.5 µg/ml'dir (83). Bu değere göre tüm suşlarımız vahşi tip olarak değerlendirilmiştir.

Azol grubuna azalmış duyarlılık ve direnç gösteren suşların MİK değerleri **Tablo 4.6'**da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Antifungal direnç gösteren suşlar, MİK (mg/L) değerleri ve yorumlanması

Suş Numarası	FLUKONAZOL				VORİKONAZOL				POSAKONAZOL				İTRAKONAZOL			
	MİK (mg/L)	EU	CL S4/M60	CL S3	MİK (mg/L)	EU	CL S4/M60	CL S3	MİK (mg/L)	EU	CL S4/M60	CL S3	MİK (mg/L)	EU	CL S4/M60	CL S3
2	32	R	R	DBD	0,25	I	DBD	S	0,015	S	-	-	0,03	S	-	S
7	64	R	R	R	0,25	I	DBD	S	0,03	S	-	-	0,06	S	-	S
46	4	I	DBD	S	0,03	S	S	S	0,015	S	-	-	0,03	S	-	S
48	16	R	R	DBD	0,25	I	DBD	S	0,03	S	-	-	0,06	S	-	S
50	>256	R	R	R	8	R	R	R	0,12	R	-	-	0,25	R	-	DBD
83	>256	R	R	R	8	R	R	R	0,25	R	-	-	0,5	R	-	DBD
96	64	R	R	R	0,5	R	DBD	S	0,12	R	-	-	0,25	R	-	DBD
98	4	I	DBD	S	0,12	S	S	S	0,06	S	-	-	0,06	S	-	S

EU:EUCAST (v 10.0); CL S4:CLSI M27 S4; CL M60: CLSI M60; CL S3: CLSI M27 S3; S:Duyarlı,

I:Orta duyarlı, DBD:Doza bağlı duyarlı; R:Dirençli; -:yorum yok

Amfoterisin B

Amfoterisin B için elde edilen değerler incelendiğinde tüm suşlar 2 mg/L'nin altında MİK değerleri göstermiştir. EUCAST (v 10.0) kriterlerine göre tüm suşların Amfoterisin B'ye duyarlı olduğu görülmüştür.

CLSI M27 S4, CLSI M60 ve CLSI M27 S3 rehberlerinde Amfoterisin B için klinik eşik değer bulunmadığından bu antifungal için ECV değeri kullanılmıştır. *C. parapsilosis* türlerinde amfoterisin B için ECV ≤ 2 µg/ml'dir (83). Bu değere göre tüm suşlarımız vahşi tip olarak değerlendirilmiştir.

5-Flusitozin

Suşların 5-flusitozin MİK değer aralıkları <0.06-2 mg/L arasında değişmektedir. CLSI M27 S3'de verilen eşik değerlere göre suşların hepsi 5-flusitozine duyarlı bulunmuştur.

CLSI M27 S4, CLSI M60 ve EUCAST (v 10.0)'da 5-flusitozin için klinik eşik değer bulunmadığından bu antifungal için ECV değeri kullanılmıştır. *C. parapsilosis* türlerinde flusitozin için ECV ≤ 0.5 µg/ml'dir (83). Bu değere göre 11 (%11.5) suşumuz vahşi olmayan tip olarak değerlendirilmiştir.

C. parapsilosis sensu stricto türlerinin EUCAST (v 10.0), CLSI M27 S3, CLSI M27 S4 ve CLSI M60'a göre antifungal duyarlılık sayı ve yüzdeleri **Tablo 4.7'**de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. *C. parapsilosis* sensu stricto türlerinin antifungal duyarlılık sayı ve yüzdeleri

Antifungal Ajan	EUCAST (v 10.0)			CLSI M27 S3				CLSI M27 S4/CLSI M60				
	S n(%)	I n(%)	R n(%)	S n(%)	I n(%)	DBD n(%)	R ** n(%)	S n(%)	I n(%)	DBD n(%)	R n(%)	Vahşi olmayan tip*** n(%)
Anidulafungin	96 (100)	0 (0)	0 (0)	95 (99)	-	-	1 (1)	95 (99)	1 (1)	-	0 (0)	-
Mikafungin	96 (100)	0 (0)	0 (0)	96 (100)	-	-	-	96 (100)	0 (0)	-	0 (0)	-
Kaspofungin	96 (100)	0 (0)	0 (0)	96 (100)	-	-	-	96 (100)	0 (0)	-	0 (0)	-
5-Flusitozin*	-	-	-	96 (100)	0 (0)	-	0 (0)	-	-	-	-	11 (11.5)
Posakonazol*	93 (96.9)	-	3 (3.1)	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0)
Vorikonazol	90 (93.8)	3 (3.1)	3 (3.1)	94 (97.9)	-	0 (0)	2 (2.1)	90 (93.7)	-	4 (4.2)	2 (2.1)	-
İtrakonazol	93 (96.9)	-	3 (3.1)	93 (96.9)	-	3 (3.1)	0 (0)	-	-	-	-	0 (0)
Flukonazol	88 (91.6)	2 (2.1)	6 (6.3)	90 (93.7)	-	2 (2.1)	4 (4.2)	88 (91.6)	-	2 (2.1)	6 (6.3)	-
Amfoterisin B*	96 (100)	-	0 (0)	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0)

S:Duyarlı, I:Orta duyarlı, DBD:Doza bağlı duyarlı; R:Dirençli; -:değer aralığı bulunmamaktadır.

*:EUCAST (v 10.0), CLSI M27 S4 ve CLSI M60 için flusitozin; CLSI M27 S3, CLSI M27 S4 ve CLSI M60 için posakonazol ve amfoterisin B klinik eşik değerleri bulunmamaktadır.

**: Ekinokandinler için R kategorisi yoktur. >2 mg/L ‘duyarlı değil’ olarak rapor edilir.

***: CLSI M27 S4 rehberinde klinik eşik değer bulunmayan antifungal ajanlar için ECV değeri kullanılmıştır.

4.3.2. Kalite kontrol suşu antifungal duyarlılık sonuçları

EUCAST (v 10.0) ATCC 22019 *C. parapsilosis* kalite kontrol suşu için antifungal MİK değerlerinin 18-24 saat sonra değerlendirilmesini önerir (66). CLSI M27 rehberinde 24 saat ve 48 saat için ayrı değer aralıkları bulunmaktadır. Çalışmamızda ATCC 22019 *C. parapsilosis* kalite kontrol suşunun MİK değerleri ve EUCAST ve CLSI rehberlerinde belirtilen MİK değer aralıkları **Tablo 4.8**’de gösterilmiştir (67, 85). Çalışma sonuçlarımız her iki rehberde beklenen değerlerde bulunmuştur.

Tablo 4.8. ATCC 22019 *C. parapsilosis* kalite kontrol suşunun MİK değerleri ve EUCAST ve CLSI rehberlerinde belirtilen MİK değer aralıkları (67, 85)

	Çalışma Sonuçlarımız		EUCAST v 1.0	CLSI M27-A3 ve M38-A2	
	24 saat	48 saat	18-24 saat	24 saat	48 saat
Anidulafungin	0.25	0.5	0.25 - 1	0.25 - 2	0.5 - 2
Mikafungin	0.5	1	0.5-2	0.5 - 2	0.5 - 4
Kaspofungin	0.25	0.5	-	0.25 - 1	0.5 - 4
5-Flusitozin	0.12	0.25	0.125-0.5	0.06 - 0.25	0.12 - 0.5
Posakonazol	0.03	0.12	0.015-0.06	0.03 - 0.25	0.03 - 0.25
İtrakonazol	0.06	0.12	0.03-0.125	0.06 - 0.5	0.06 - 0.5
Vorikonazol	0.06	0.25	0.015-0.06	0.016 - 0.12	0.03 - 0.25
Flukonazol	2	4	0.5-2	0,5 - 4	1 - 4
Amfoterisin B	0.5	2	0.125-1	0.25 - 2	0.5 - 4

4.4. Epidemiyoloji

Çalışmaya alınan 96 hastanın 61'i (%63.5) erkek, 35'i (%36.5) kadındır. Yaş aralığı 0-97 arasında değişen tüm hastaların yaş ortalaması 40,75±28,73'dir. Erkeklerin yaş ortalaması 39,82±25,75 ve kadınların yaş ortalaması 42.36±33,65 olarak belirlenmiştir. Hastaların 12'si (%12.5) <1 yaş, 7'si (%7.3) 1-5 yaş aralığında, 10'u (%10.4) 5-18 yaş aralığında, 45'i (%46.9) 18-65 yaş aralığında ve 22'si (%22.9) >65 yaş olarak bulunmuştur.

Hastaların 57'si (%59.4) dahili bilimlerde, 39'u (%40.6) cerrahi bilimlerde takip edilmiştir. Kandidemi saptandığı sırada hastaların 48'i (%50) farklı yoğun bakım birimlerinde bulunmaktadır. **Tablo 4.9'**da hastaların kliniklere göre dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 4.9. *C. parapsilosis* kompleks kandidemisi olan hastaların klinik dağılımları

Klinikler	Hasta sayısı (n)	Yüzde
Anestezi Yoğun Bakım	22	22.9
Onkoloji-Hematoloji Servis	10	10.4
Pediyatri Servis	10	10.4
Yenidoğan Yoğun Bakım	7	7.3
Pediyatri Yoğun Bakım	6	6.3
Dahiliye Yoğun Bakım	6	6.3
Kardiyoloji Yoğun Bakım	5	5.2
Göğüs Cerrahi Servisi	5	5.2
Dahiliye Servisi	4	4.2
Gastroenteroloji Servisi	3	3.1
Nöroşirürji Servisi	3	3.1
Genel Cerrahi Servisi	3	3.1
Diğer Klinikler*	12	12.5
TOPLAM	96	100

*: Yenidoğan Servisi, Çocuk Cerrahi Servisi, Enfeksiyon Hastalıkları Servisi ve Kardiyoloji Servisi birimlerinden ikişer hasta; Göğüs Cerrahi Yoğun Bakım, Kalp Damar Cerrahi Yoğun Bakım, Kalp Damar Cerrahi Servisi ve Plastik Cerrahi Servisi birimlerinden birer hasta bulunmaktadır.

Olguların 87'si (%90.6) hastane kaynaklı kandidemilerdir. Dokuz (%9.4) hastada hastaneye yatışlarından sonra 48 saat içinde kandidemi saptanmış ve hastane kaynaklı kandidemi olarak kabul edilmemiştir. Kandidemili hastalarda enfeksiyon başlangıcı hastaneye yatıştan ortalama $38,05 \pm 43,15$ gün (3-245 gün) sonra saptanmıştır. Hastaların toplam yatış gün sayısı $73,64 \pm 68,62$ (7-437 gün) olarak bulunmuştur. Yirmi üç (%23.9) hastada kandideminin kateter ilişkili kandidemi olduğu saptanmıştır. *C. parapsilosis* kompleks kandidemisi olan hastaların klinik özellikleri **Tablo 4.10**'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. *C. parapsilosis* kompleks kandidemisi olan hastaların klinik özellikleri

Klinik Özellikler	Hasta sayısı	Yüzde
Yaş Ortalaması ± SS	40,75±28,73	96
Cinsiyet		
Erkek	61	63.5
Kadın	35	36.5
Kandideminin kaynağı		
Kandidemi	73	76.1
Kateter ilişkili kandidemi	23	23.9
Altta yatan hastalıklar		
Malignite	29	30.2
Primer GİS malignite	10	10.4
Diabetes Mellitus	9	9.4
Kronik böbrek yetmezliği	4	4.2
Transplantasyon	3	3.1
Kalp Yetmezliği	3	3.1
KOAH	2	2.1
Risk Faktörleri		
Nötropeni	16	16.7
Total parenteral nütrisyon	16	16.7
Abdominal cerrahi operasyon	11	11.5
GİS kanama	4	4.2
Antibiyotik tedavisi*	80	83.3
İmmüsupresif tedavi*	39	40.6
Antifungal tedavi*	31	32.3
Kemoterapi*	10	10.4
Kortikosteroid kullanımı*	37	38.5
Santral venöz kateter	62	64.6
Üriner kateter uygulaması	63	65.6
Genel mortalite	49	51

*: Kandidemi öncesi uygulanan tedaviler

Hastaların hastaneye yatış nedenleri incelendiğinde; en sık yatış nedeni herhangi bir nedene bağlı enfeksiyon (%24) olup, bunu cerrahi girişim (%16.7), kardiyak nedenler (%9.4), travma (%8.4) ve onkolojik-hematolojik hastalıklar (%7.3) izlemektedir.

Altta yatan hastalıklar incelendiğinde 29 (%30.2) hastada malignite varlığı tespit edilmiştir. En sık görülen maligniteler sırasıyla gastrointestinal sistem maligniteleri (%10.4), akciğer (%4.2), beyin (%4.2) ve genitoüriner sistem (%4.2) maligniteleri olarak saptanmıştır. Diğer altta yatan hastalıkların; 9 hastada DM, 4 hastada kronik böbrek yetmezliği, 3 hastada transplantasyon, 3 hastada kalp yetmezliği ve 2 hastada KOAH olduğu belirlenmiştir.

Kandidemi tespit edilen tüm hastalarda, incelenen risk faktörlerinden en az biri saptanmıştır. En sık saptanan risk faktörü bir veya daha fazla geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı (%83.3) olarak belirlenmiştir. En sık tercih edilen antibiyotikler sırasıyla meropenem (n=34; %35.4), trimetoprim-sülfametoksazol (n=22; %22.9), vankomisin (n=20; %20.8), kolistin (n=17; %17.7) ve teikoplanin (n=10; %10.4) olmuştur. Diğer risk faktörleri 63 (%65.6) hastada üriner kateter varlığı, 62 (%64.6) hastada santral venöz kateter varlığı, 39 (%40.6) hastada immunsupresan ilaç kullanımı, 37 (%38.5) hastada steroid kullanımı, 31 (%32.3) hastada kandidemi öncesi bir veya daha fazla antifungal kullanımı, 16 (%16.7) hastada nötropeni varlığı, 16 (%16.7) hastada total parenteral nütrisyon kullanımı, 11 (%11.5) hastada abdominal cerrahi öyküsü, 10 (%10.4) hastanın yakın dönemde kemoterapi aldığı ve 4 (%4.2) hastada GİS kanama öyküsü olduğu belirlenmiştir.

Kandidemili hastaların 22'sinde (%22.9) kandidemiye kandidüri eşlik etmektedir. Bu hastaların on dördünde (%14.6) *C. albicans*, dördünde (%4.2) *C. parapsilosis* kompleks, üçünde (%3.1) *C. tropicalis* ve birinde (%1) idrar kültüründe *Clavispora lusitaniae* üremesi saptanmıştır.

4.5. Tedavi Sonuçları

Hastaların 76'sı (%79.2) kandidemi için antifungal tedavi almıştır, 20'sinde (%20.8) antifungal kullanımına ilişkin verilere kayıtlarda rastlanılmamıştır.

Yirmi dokuz hasta (%30.2) flukonazol, 8 (%8.3) hasta amfoterisin B, 6 (%6.3) hasta kaspofungin, 5 (%5.2) hasta anidulafungin ve 4 (%4.2) hasta mikafungin ile tekli tedavi almıştır. İki (%2.1) hastada kombinasyon tedavisi uygulanmış ve 22 (%22.9) hastada iki veya üç antifungal ajan sırayla kullanılmıştır. Birden fazla antifungal ajanın kullanıldığı hastaların da verilerinin eklenmesiyle toplam 46 (%47.9) hastada flukonazol en sık tercih edilen antifungal ajan olmuştur. Sonrasında sırasıyla 18 (%18.8) hastada amfoterisin B, 14 (%14.6) hastada anidulafungin, 13 (%13.5) hastada kaspofungin, 8 (%8.3) hastada mikafungin ve 6 (%6.3) hastada vorikonazol kullanıldığı belirlenmiştir. Kandidürinin eşlik ettiği olguların 11'inde flukonazol, 8'inde ekinokandin ve 3'ünde amfoterisin B kullanılmıştır. Yoğun bakımda ve servislerde takip edilen hastalar arasında tedavide

azol (p=0,540) ve ekinokandin (p=0,999) grubu antifungal kullanımı arasında fark saptanmamıştır.

Antifungal tedavi alan 76 hastanın 34'ünde (%44.7) kandidemi tedavi edilmiştir. Tedavi alan hastaların ortalama tedavi süreleri $15,89 \pm 14,88$ gündür (1-68 gün aralığında). Kandidemi için antifungal tedavi alan ve almayan hastaların klinik sonuçları **Tablo 4.11**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Kandidemi için antifungal tedavi alan ve almayan hastaların klinik sonuçları

	Tedavi alan n(%)	Tedavi almayan n(%)
Taburcu	34 (44.7)	7 (35)
Ex	37 (48.7)	12 (60)
Sevk	4 (5.3)	1 (5)
Bilgi yok	1 (1.3)	-
TOPLAM	76 (100)	20 (100)

Tedavi almayan ve ex olan 12 hastanın 9'u kan kültürü sonuçları raporlanmadan ex olmuştur, diğer üç hastaya neden tedavi başlanmadığına dair verilere ulaşılammıştır. Taburcu olan 7 hastanın 3'ü kan kültür sonucu raporlanmadan taburcu edilmiştir, diğer 4 hastanın ardışık kan kültürleri steril sonuçlanmıştır. Bir hasta kan kültür sonucu raporlanmadan sevk edilmek zorunda kalınmıştır.

Tedavi almayan hastalar ile mortalite arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0,391). Tedavide kullanılan antifungal ajanların mortalite ile ilişkisi değerlendirildiğinde; ekinokandin grubu (p=0,529), azol grubu (p=0,087) ve polyen grubu (p=0,133) antifungaller ile mortalite arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.6. Mortalite

Çalışmaya alınan 96 hastada toplam mortalite oranı %51 (49/96) olarak saptanmıştır. Kandidemiyle ilişkili mortalite %34.4 (33/96) olarak hesaplanmıştır. Erken mortalite %18.8 (18/96), geç mortalite %15.6 (15/96) olarak belirlenmiştir. Tedavi alan hastalarda mortalite %48.7 iken tedavi almayanlarda bu oran %60 olarak belirlenmiştir. Hastaların 5'i (%5.2) başka bir kuruma sevk edilmiş ve 1 (%1) hasta hakkında bilgiye ulaşılammıştır ve klinik olarak son durumları bilinmemektedir. Tüm risk faktörleri ve altta yatan hastalıklar ile mortalite arasında istatistiksel anlamda ilişki olup olmadığı 90 hasta üzerinden değerlendirilmiştir.

Altmış beş yaşın üzerindeki hastalar, yoğun bakım hastaları, kandidemi öncesi antibiyotik kullanımı ve üriner kateter uygulanması ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlenmiştir ($p<0,05$). >65 yaş olan hastalarda mortalite oranı daha yüksektir ($p=0,009$). Yoğun bakımda takip edilen hastalarda mortalite oranı daha yüksek bulunmuştur ($p=0,006$). Kandidemi öncesi geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan hastalarda mortalite oranı daha yüksektir ($p=0,003$). Üriner kateter uygulaması yapılan hastalarda mortalite daha yüksek bulunmuştur ($p=0,002$). Ayrıca kandidürinin eşlik ettiği hastalarda mortalite daha yüksek bulunmuştur ($p=0,022$). On sekiz yaşından küçük olan hastaların sağkalım oranları iyi ve anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Diğer risk faktörleri ve altta yatan hastalıklar ile mortalite arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Mortalite ve risk faktörleri ve altta yatan hastalıklar arasındaki ilişki **Tablo 4.12**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.12. Kandidemi hastalarında tek değişkenli mortalite belirleyicileri (n=90)

Risk Faktörleri	Ölüm n(%)	Sağkalım n(%)	**p
Cinsiyet			
Kadın	19 (38.8)	14 (34.1)	
Erkek	30 (61.2)	27 (65.9)	0,650
Yaş			
<65 yaş	33 (67.3)	37 (90.2)	
>65 yaş	16 (32.7)	4 (9.8)	0,009
Yoğun bakımda takip	31 (63.3)	14 (34.1)	0,006
Malignite	15 (30.6)	11 (26.8)	0,693
Diabetes Mellitus	6 (12.2)	3 (6.1)	0,502
Kronik böbrek yetmezliği	0 (0)	3 (6.1)	0,091
Transplantasyon	2 (4.1)	1 (2.4)	0,999
Kalp Yetmezliği	3 (6.1)	0 (0)	0,248
KOAH	1 (2)	1 (2.4)	0,999
Nötropeni	7 (14.3)	8 (19.5)	0,508
Total parenteral nütrisyon	5 (10.2)	9 (22)	0,126
Abdominal cerrahi operasyon	6 (12.2)	5 (12.2)	0,994
GİS kanama	2 (4.1)	2 (4.9)	0,999
Antibiyotik tedavisi*	46 (93.9)	29 (70.7)	0,003
İmmüsupresif tedavi*	22 (44.9)	14 (34.1)	0,300
Antifungal tedavi*	17 (34.7)	13 (31.7)	0,765
Kemoterapi*	6 (12.2)	4 (9.8)	0,750
Kortikosteroid kullanımı*	20 (40.8)	14 (34.1)	0,516
Santral venöz kateter	32 (65.3)	26 (63.4)	0,957
Üriner kateter uygulaması	39 (79.6)	20 (48.8)	0,002

*: Kandidemi öncesi uygulanan tedaviler

**p<0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Candida türlerinin neden olduğu kan dolaşım enfeksiyonları, Avrupa ve Amerika’da hastane enfeksiyonlarının en yaygın dördüncü nedeni olarak görülmektedir (7, 86, 87). Kandidemiye neden olan etkenlerin sıralamasında bölgeler, ülkeler hatta merkezler arasında değişkenlik gözlenmektedir (86).

C. albicans’ın, albicans-dışı türlerden daha sık izole edildiğini bildirir çalışmalar bulunmaktadır (88, 89). *C. albicans* genel olarak halen en sık izole edilen tür olmasına rağmen, son yıllarda albicans-dışı türlerin izolasyonunda artış saptanmaktadır. Singapur’da 2008-2015 yılları arasında kandidemi etkenlerinin değerlendirildiği bir çalışmada *C. glabrata*’nın çalışma yılları arasında önemli derecede arttığı belirlenmiştir. 2008 yılında en sık izole edilen tür *C. albicans* iken, 2015 yılında yerini *C. glabrata* almıştır (90).

Etken türlerin sıklığının belirlenmesi, uygun ampirik antifungal tedavinin seçimini kolaylaştırması açısından önemlidir (91). Hastanemizde 2014-2018 yılları arasında, kandidemi hastalarının %40’ında etken *C. albicans* iken, %60’ında albicans-dışı *Candida* türleri izole edilmiştir. En sık izole edilen tür *C. albicans* olup, bunu sırasıyla *C. parapsilosis* kompleks (%18.8), *C. tropicalis* (%13.7), *C. glabrata* (%12) ve *C. krusei* (%6.1) türleri izlemektedir.

Kandidemi hastalarında yapılan çalışmalarda *C. parapsilosis* sıklığı %5.4 ile %40.85 gibi geniş bir aralıkta değişmekte ve genellikle izole edilen ilk dört tür arasında yer almaktadır (7, 88). Özellikle Güney Avrupa’da, başlıca albicans-dışı türlerden biri bulgularımıza benzer olarak *C. parapsilosis*’dir ve insidansı giderek artmaktadır. İspanya’da 2003 yılında kandidemi izolatlarıyla yapılan çalışmada *C. albicans*, *C. parapsilosis* (78, %23), *C. glabrata* ve *C. tropicalis* en sık izole edilen etkenler olmuştur (84). Mesini ve ark.nın 2008-2016 yıllarını kapsayan İtalya’da yaptıkları çalışmalarında *C. albicans* (%48), *C. parapsilosis* (%28) ve *C. glabrata* (%10) en sık izole edilen türler olmuştur. Tüm klinik verilerini toparlayabildikleri 660 (*C. parapsilosis*: %31.5) hastanın 34’ünde tekrarlayan epizodlar görülmüş ve tekrar epizodlarında en sık *C. parapsilosis* (%50) türü saptanmıştır (86). Portekiz’de fungemi epizodlarından izole edilen 240 *Candida* izolatının

değerlendirildiği çok merkezli bir çalışmada, %40.4 *C. albicans*, %22.9 *C. parapsilosis*, %13.3 *C. glabrata* ve %6.3 *C. tropicalis* türleri belirlenmiştir (92).

Latin Amerika’da izole edilen etken türlerin sıralaması bizim bulgularımızla benzerdir. Bu bölgeden bildirilen farklı çalışmalarda bizim sonuçlarımızla benzer şekilde *C. albicans* en sık izole edilen tür ve *C. parapsilosis* en sık albicans-dışı *Candida* türü olmuştur (5, 93). Kuzey Amerika, Avrupa, Latin Amerika ve Asya-Pasifik bölgelerinin 20 yıllık verilerinin değerlendirildiği SENTRY çalışmasında, Latin Amerika dışındaki bölgelerde *C. glabrata* albicans-dışı en sık izole edilen tür olarak belirlenmiştir. Latin Amerika’da *C. albicans*’dan sonra *C. parapsilosis* (%24.3) en sık izole edilen tür olmuştur (6). Bu bölgeden yapılan bazı çalışmalarda ise *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*’den daha sık izole edilerek, en sık albicans-dışı *Candida* türü olarak belirlenmiştir (94, 95).

Asya ve Batı Pasifik bölgelerinde artan invaziv fungal enfeksiyonlar nedeniyle birçok ülkede sürveyans çalışmaları yapılmaktadır. Avusturalya, Hong Kong, Hindistan, Kore, Yeni Zelanda, Singapur, Kuzey Afrika, Tayvan ve Tayland gibi Asya-Batı Pasifik ülkelerinin 2010-2012 yılları arasında izole ettikleri *Candida* izolatlarıyla yapılan SENTRY çalışmasında en sık saptanan türler sırasıyla *C. albicans* (n=197), *C. glabrata* (n=88), *C. parapsilosis* (n=88) ve *C. tropicalis* (n=55) olmuştur. Bazı ülkelere az sayıda izolat çalışmaya dahil edilse de dokuz ülkeden 6 farklı sıklık paterni bildirilmiştir, yerel epidemiyolojik veriler bu nedenle önem kazanmaktadır. *C. parapsilosis* Kuzey Afrika’da en sık; Hong Kong, Hindistan ve Yeni Zelanda’da çalışmamızla benzer olarak ikinci en sık etken olarak belirlenmiştir (96). Japonya’da çok merkezli, 2003-2014 yıllarını kapsayan, Kakeya ve ark. tarafından yapılan 12 yıllık bir çalışmada *C. albicans* %39.5 oranla bizim çalışmamıza benzer oranla en sık saptanan kandidemi etkeni olmuştur. Bunu *C. parapsilosis* (%23.3), *C. glabrata* (%13.2) ve *C. tropicalis* (%7.1) izlemektedir. Çalışma değerlendirilirken zaman dilimi olarak ikiye ayrılmış ve son altı yılda *C. albicans* insidansındaki azalma ve *C. glabrata* insidansındaki artış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). *C. parapsilosis* oranında belirli bir artış belirlense de anlamlı bulunmamıştır (97). Japonya ve Çin’den yapılan farklı çalışmalarda *C. albicans* (%36, %44.9) en sık izole edilen tür iken, *C. parapsilosis* (%26, %20) albicans-dışı

en sık saptanan tür olmuştur. Her iki çalışmada da bulgularımızla benzer olarak albicans-dışı türlerin oranı daha yüksek bulunmuştur (98, 99).

Kandidemi epidemiyolojisindeki değişikliğin en önemli nedenlerinden biri profilaktik veya ampirik tedavi için artmış antifungal kullanımıdır (59). İtalya’da yapılan 2011-2016 yılları arası kandidemi epizodlarının incelendiği farklı bir çalışmada, *C. albicans*’dan (%43.63) sonra, *C. parapsilosis* %40.85 gibi yüksek bir oranla ikinci sırada yer almaktadır. Sonrasında sırasıyla *C. glabrata* (%6.86) ve *C. tropicalis* (%5.56) türleri gelmektedir. *C. parapsilosis*, kateter ilişkili kandidemilerde daha yüksek oranda (%51.53) saptanmıştır ve yoğun bakım ünitelerinde en sık izole edilen etken olmuştur (%15.4). Yoğun bakım ünitelerindeki artmış flukonazol kullanımının, *C. parapsilosis* gibi biyofilm üreten *Candida* popülasyonda yüksek bir artışa neden olduğunu düşünmektedirler (7).

Tüm *Candida* enfeksiyonlarının yaklaşık yarısı genellikle yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastalarda görülmektedir ve *Candida* tür dağılımı hastaların komorbiditelerine göre değişkenlik göstermektedir (100, 101). *C. parapsilosis*’in en sık izole edilen tür olduğu, Brezilya’da kandidemi hastalarıyla yapılan bir çalışmada, albicans-dışı türler %72 oranında oluca yüksek bir oranda saptanmış ve kandidemi oranları yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda daha yüksek belirlenmiştir (102). Doğan ve ark.nın 342 kandidemi hastasıyla yapmış oldukları çalışmalarında, *C. parapsilosis* kandidemisi olan 91 hastanın 48’inin (%53) yoğun bakım ünitelerinde takip edildiği saptanmıştır (103). Benzer şekilde Kazak ve ark.nın çalışmasında *C. parapsilosis* kandidemisi servislere göre yoğun bakım birimlerinde anlamlı yüksek bulunmuştur (104). Biz de çalışmamızda bu sonuçlara benzer olarak hastaların %50’sinin yoğun bakım ünitelerinde takip edildiğini belirledik. Eliakim-Raz ve ark. tarafından 2007-2014 dönemleri arasındaki kandidemi hastalarının incelendiği bir çalışmada, *C. albicans* (%41.1) en sık saptanan tür olmuştur. Sonrasında sırasıyla *C. glabrata* (%23.7), *C. parapsilosis* (%15.2) ve *C. tropicalis* (%13.6)’in izole edildiği çalışmada; literatürden farklı olarak *C. parapsilosis* kandidemisinin, yoğun bakım ve cerrahi birimlerle karşılaştırıldığında dahili birimlerde daha sık izole edildiği belirlenmiştir (105).

Ülkemizden kandidemi etkenleriyle yapılan çalışmalarda, ilk beş *Candida* türünün *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* olduğu ve merkezler arasında sıklıkların değiştiği gözlemlenmektedir. Doğan ve ark.nın İstanbul, Ankara ve Kocaeli şehirlerini kapsayan çok merkezli çalışmalarında *C. albicans* %47, *C. parapsilosis* %27, *C. tropicalis* %10 ve *C. glabrata* %8 sıklıkta bulunmuştur (103). Arıkan-Akdağlı ve ark.nın yapmış oldukları, Türkiye’den ilk çok merkezli antifungal duyarlılığın değerlendirildiği çalışmada, 1991 kandidemi etkeni arasında (1997-2017) *C. parapsilosis* kompleks türü (n=575) *C. albicans*’dan sonra en sık izole edilen tür olmuştur (106). Bursa’da üniversite hastanesinde 1996-2012 yılları arasındaki kandidemi izolatlarının değerlendirildiği çalışmada, *C. albicans* (n=465, %43.8) en sık izole edilen tür olmuştur. Sonrasında sırasıyla *C. parapsilosis* (n=281, %26.5), *C. tropicalis* (n=89, %8.4) ve *C. krusei* (n=62, %5.8) gelmektedir. *C. parapsilosis* izolatları erişkinlere göre çocuklarda anlamlı yüksek bulunmuştur (104). Yeşilkaya ve ark nın 2007-2014 arası 183 kandidemi epizodunu değerlendirdikleri çalışmalarında en sık türler sırasıyla *C. albicans* (%54.6) *C. glabrata* (%19.1), *C. tropicalis* (%10.9) ve *C. parapsilosis* (%6) olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da *C. glabrata* ve *C. albicans* maligniteli hastalarda daha sık gözlenmiştir (53). Konya’da yapılan bir çalışmada kandidemi hastalarında en sık belirlenen türler *C. albicans*, (%47.5) *C. glabrata* (%18.0), *C. parapsilosis* (%14.0) ve *C. tropicalis* (%12.0) olmuştur (107). Özcan ve ark.nın 2016 yılında, çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 297 *Candida* izolatıyla yapmış oldukları çalışmada, kan örneklerinde çalışmamıza benzer olarak *C. parapsilosis* (15/78) *albicans*-dışı türlerden en sık izole edilen etken olmuştur (55). Aydın’da 2011 yılında yapılan çalışmada RAPD-PCR ile 46 kandidemi suşunun 18’i *C. parapsilosis*, 17’si *C. albicans*, beşi *C. glabrata* ve dördü *C. tropicalis* olarak tanımlanmıştır (108).

Türkiye’den yapılan çalışmalarda en sık saptanan türün genellikle *C. albicans* olduğu görülmektedir. Farklı olarak Ordu’da 2015-2017 yılları arasında çeşitli klinik örneklerin dahil edildiği çalışmada, kan örneklerinden en sık *C. parapsilosis* (n=21,%43) izole edilmiştir. Sonrasında sırasıyla *C. albicans* (%32.5), *C. tropicalis* (%12.2) ve *C. lusitaniae* (%8.1) gelmektedir ve kandidemi olguları yoğun bakım ünitelerinde daha yüksek belirlenmiştir (109). Benzer şekilde

İzmir’de yapılan bir çalışmada *C. parapsilosis* kan örneklerinden en sık izole edilen tür olmuştur. Suşların invaziv prosedürlerin yaygın olarak uygulandığı yoğun bakım ünitelerinden daha sık izole edilmiş olmasının, bunun nedeni olabileceğini düşünmektedirler (110).

C. parapsilosis kompleks tür ayrımının yapılması, türlerin farklı virülans özellikleri ve antifungal duyarlılıkları olması nedeniyle önem kazanmaktadır (25, 36, 37, 111). *C. parapsilosis* kompleks türleri konvansiyonel metodlarla birbirinden ayırt edilememektedir. Tür ayrımının yapılması için SADH PCR-RFLP, AFLP ve ITS bölgesinin sekanslanması yöntemleri yapılan çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerdir (41, 112, 113).

Gonçalves ve ark.nın 2010 yılında Brezilya’da ITS sekanslama yöntemini kullanarak 141 kan örneğiyle yaptıkları çalışmada, *C. parapsilosis* sensu stricto % 88, *C. orthopsilosis* %9 ve *C. metapsilosis* %3 sıklıkta bulunmuştur (114). İspanya’da Miranda-Zapico ve ark. 2011 yılında SADH PCR yöntemini kullanarak 128 kan örneğinin 125’ini (%97,7) *C. parapsilosis* sensu stricto, ikisini (%1,6) *C. orthopsilosis* ve birini (%0,7) *C. metapsilosis* olarak tanımlamışlardır (115). Canton ve ark. İspanya’da kandidemi hastalarından izole edilen 364 *C. parapsilosis* kompleks suşuyla yaptıkları çalışmalarında %90.7 *C. parapsilosis*, %8.2 *C. orthopsilosis* ve %1.1 *C. metapsilosis* belirlemişlerdir (112). Portekiz’de yapılan bir çalışmada *C. parapsilosis* kompleks izolatlarının 49’u *C. parapsilosis* sensu stricto, dördü *C. orthopsilosis* ve ikisi *C. metapsilosis* olarak tanımlanmıştır (92). Romeo ve ark. İtalya’da 2012 yılında yenidoğanlardan izole edilen 97 suşu %96.9 (n=94) *C. parapsilosis* sensu stricto ve %3.1 (n=3) *C. orthopsilosis* olarak tanımlamış, *C. metapsilosis* izole edememişlerdir (116). Trabasso ve ark. 2015 yılında kan kültürlerinden izole edilen 36 *C. parapsilosis* kompleks suşunu *Loop aracılı izotermal amplifikasyon* (topoizomerase II bölgesi) yöntemiyle 31 (%86,1) *C. parapsilosis* sensu stricto, 4 (%11,1) *C. orthopsilosis* ve 1 (%2,8) *C. metapsilosis* olarak tanımlamışlardır (117).

Ülkemizden Dalyan Cilo ve ark. tarafından *C. parapsilosis* kompleks olarak tanımlanan 118 kan örneğinin dahil edildiği çalışmada, SADH PCR-RFLP yöntemi kullanılarak izolatların hepsi *C. parapsilosis* sensu stricto olarak tanımlanmıştır (118). Yürüyen ve ark. tarafından 2016 yılında yapılan çalışmada çeşitli klinik

örneklerden izole edilen 95 *C. parapsilosis* kompleks izolatı SADH PCR-RFLP metoduyla çalışılmıştır. Bir izolat *C. orthopsilosis*, 94 izolat *C. parapsilosis* sensu stricto olarak belirlenmiştir. *C. orthopsilosis* olarak tanımlanan izolat çalışmaya dahil edilen 33 kan örneğinden biridir ve tanımlanması için dizileme yöntemi kullanılmıştır (119). Otuz dört kan örneği ile birlikte toplam 42 *C. parapsilosis* kompleks örneğinin dahil edildiği Kayseri’den yapılan bir çalışmada, DNA dizi analizi kullanılarak 41 suş *C. parapsilosis* sensu stricto ve bir suş *C. orthopsilosis* olarak belirlenmiştir. *C. orthopsilosis* olarak belirlenen suş el tırnak örneğinden izole edilmiştir (120).

Çalışmamızda, *C. parapsilosis* kompleks tür ayrımında referans yöntemlerle kıyaslandığında doğruluk oranı oldukça yüksek olan ve hızlı sonuç veren MALDI Biotyper ile, *C. parapsilosis* kompleks kandidemisi olan hastalardan izole edilen suşların hepsi *C. parapsilosis* sensu stricto olarak tanımlanmıştır. Tür kompleksi içindeki diğer iki tür, kandidemi izolatlarından tanımlanamasa da, 2014-2018 yılları arasında izole edilen 227 *C. parapsilosis* kompleks suşunun, sekizi (%3.5) *C. orthopsilosis* ve ikisi (%0.9) *C. metapsilosis* olarak tanımlanmıştır. *C. orthopsilosis* suşları en sık tırnak (n=3) kültürlerinden izole edilmiştir, sonrasında sırasıyla idrar (n=2), kulak (n=2) ve pü (n=1) kültürleri gelmektedir. *C. metapsilosis* suşları idrar ve pü kültürlerinden birer adet izole edilmiştir.

Bruker, MALDI Biotyper CA Sistemi olarak adlandırılan kültürde üretilmiş mikroorganizmaların tanımlanması için 2005 yılında bir sistem geliştirmeye başlamış ve 2013 yılında *Food&Drug Administration* (FDA) onayı almıştır. MALDI Biotyper identifikasyon için kapsamlı bir veritabanına sahiptir ve ayrıca mantarlar için özgül Filamentöz Mantar Kütüphanesi de bulunmaktadır. 2018 yılında FDA tarafından *C. parapsilosis* kompleks tür ayrımının yapılmasında MALDI Biotyper kullanımı için onay verilmiştir (121).

2014 yılında Tayvan’da iki farklı MALDI-TOF sistemi ve iki konvansiyonel fenotip metodu karşılaştırıldığı bir çalışmada, doğrulama için rDNA gen sekans analizi kullanılarak 200 klinik örnek identifiye edilmiştir. Tüm mayalar için MALDI Biotyper doğru identifikasyon oranı %92.5 ile tüm yöntemler içinde en yüksek bulunmuştur. Ayrıca doksan *C. parapsilosis* kompleks (*C. orthopsilosis* n=30, *C. metapsilosis* n=30) kan izolatının hepsi MALDI Biotyper ile doğru

tanımlanmıştır (122). ITS rDNA sekans analizinin referans yöntem olarak kullanıldığı, iki farklı MALDI-TOF yönteminin karşılaştırıldığı farklı bir çalışmada *C. parapsilosis* kompleks olarak tanımlanan 52 klinik izolatin (*C. parapsilosis* sensu stricto (n=15), *C. orthopsilosis* (n=22) ve *C. metapsilosis* (n=15)) 51'i (%98) MALDI Biotyper tarafından doğru tanımlanmıştır. Sadece bir *C. metapsilosis* izolatu tanımlanamamıştır (123). Yetmiş yedi klinik ve 25 referans *C. parapsilosis* kompleks suşuyla yapılan bir çalışmada MALDI-TOF MS yöntemiyle tür düzeyinde %100 doğru tanımlama yapılmıştır (124).

Yapılan çalışmaların ve bizim çalışmamızın sonuçlarına göre, kan örneklerinden *C. parapsilosis* sensu stricto türünün yüksek oranlarda en sık izole edilen tür olduğunu ve *C. orthopsilosis* (daha sık olmak üzere) ve *C. metapsilosis* türlerinin daha az oranlarda izole edilebildiğini görmekteyiz. İnvaziv enfeksiyonlarda *C. parapsilosis* sensu stricto suşlarının baskın şekilde izole edilmesinin, bu türün virülansının yüksek olması ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

İnvaziv mantar enfeksiyonlarının tedavisi için yeni antifungal ajanların kullanımına ek olarak, antifungal duyarlılık testi alanı son yıllarda büyük ölçüde ilerleme kaydetmiştir. Antifungal duyarlılık testleri için pratik, güvenilir ve tekrarlanabilir laboratuvar yöntemlerine ilgi artmaktadır (69). Bu çalışmada antifungal duyarlılığın değerlendirilmesi için Sensititre YeastOne YO10 paneli kullanılmıştır. Bir izolat için çoklu antifungal duyarlılık değerlendirebilen, uygulanması ve yorumlanması kolay ve hızlı/zamanında sonuç alma avantajlarına sahip bir yöntem olduğu için tercih edilmiştir. Çalışmamızda altın standart sıvı mikrodilüsyon yöntemlerinden biriyle karşılaştırma yapamamak da, önceki çalışmalarda uyum sonuçlarının yüksek bulunduğunu görmekteyiz (125, 126, 127).

Aigner ve ark.nın EUCAST sıvı mikrodilüsyon yöntemini referans aldıkları çalışmalarında, SYO ekinokandin MİK (µg/ml) sonuçları değerlendirilmiştir. Anidulafungin ve mikafungin (24 saat) için esansiyel uyum sırasıyla %92 ve %92, kategorik uyum %93 ve %97 olarak belirlenmiştir. Kaspofungin için esansiyel uyum %98, CLSI kategorik uyum ise (EUCAST klinik eşik değeri olmadığı için) %99 bulunmuştur. Kaspofungin, SYO ile *C. parapsilosis* izolatlarında, anidulafungin ve mikafunginden 4 kat daha düşük MIC₉₀ değerleri göstermiştir.

EUCAST broth mikrodilüsyon yöntemiyle de, kaspofungin MIC₉₀ değerleri anidulafunginden daha düşük bulunmuştur (125). Pfaller ve ark.nın CLSI sıvı mikrodilüsyon yöntemini referans alarak SYO ekinokandin uyumunu değerlendirdikleri çalışmada, *C. parapsilosis* (n=90) izolatlarında kaspofungin ve mikafunginde kategorik uyuma %100, anidulafunginde %96.7 olarak belirlenmiştir. Çok büyük hata ve büyük hata saptanmayıp, anidulafungin için %3.3 minör hata belirlenmiştir (128).

Profilaktik veya ampirik tedavi için artmış antifungal kullanımının diğer etkisi, antifungal ilaçlara karşı duyarlılığı azalmış veya dirençli mantar patojenlerinin ortaya çıkmasıdır (59). Direnç, doğal olarak daha az duyarlı suşların seçimiyle veya tedavi sırasında duyarlı suşlarda kazanılmış ilaç direncinin ortaya çıkmasıyla meydana gelebilmektedir (129).

Antifungal duyarlılık testlerini gerçekleştirmenin amacı, etken-antifungal ajan kombinasyonu için klinisyene duyarlılık veya direnç fenotipi hakkında eyleme geçirilebilir veriler üretmektir (69). Antifungal duyarlılık çalışılan merkezlerde, kullanılan yöntem ve direnç fenotipini yorumlamada referans alınan rehberler (CLSI/EUCAST) arasında farklılıklar bulunmaktadır. Türkiye’de ve diğer ülkelerde son yıllarda yapılmış olan antifungal duyarlılık çalışmaları ve kendi çalışmamızın verileri **Tablo 5.1**’de özetlenmiştir.

Tablo 5.1. *C.parapsilosis* kompleks izolatlarının çeşitli çalışmalardaki antifungal direnç verileri

Araştırma, Yazar ve Yılı	Ülke	<i>C. parapsilosis</i> izolat sayısı (n)	Çalışılan Yöntem	Referans rehber	FZ (%)	VOR (%)	IZ (%)	PZ (%)	MF (%)	CAS (%)	AND (%)	AMB (%)	FC (%)
Mesini et al. 2020 (86)	İtalya	194	SYO	CL M27 S3	33	18.2	-	-	0	0	0	-	-
Lindberg et al 2019 (59)	İsveç	29	SYO	EU (v 7.2)	0	0	3	3	0 (R) 100 (I)	-	0 (R) 100 (I)	0 ²	0 ²
				CL M27 S3/S4	0	0	3		0	0	0		
Pfaller et al. 2019 (6)	ABD (çok merkezli, SENTRY)	2433	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4	3.9	-	-	-	0	0	0.1	-	-
İsrail et al. 2019 (130)	İsrail	133-135	E test	CL M60	37.8 ¹	28.2 ¹	-	-	0	-	-	0 ²	-
Xiao et al. 2018 (99)	Çin (çok merkezli)	1425	Disk difüzyon	CL M60	4	2.2	-	-	-	-	-	-	-
Hirano et al. 2018 (98)	Japonya	33	ASTY	CL M27 S4	9 (R) 3 (DBD)	3.4 (R) 3.4 (DBD)	-	-	3 (R) 6 (I)	-	-	0 ²	-
Teo et al. 2017 (90)	Singapur	35	SYO	CL M27 S4	2.9 (DBD)	0	0 ²	0 ²	0	0	0	20 ²	0 ²
Yen Tan et al. 2016 (131)	Asya-Pasifik bölgesi (çok merkezli)	Belirtilmemiş	SYO	CL M27 S4	2.2 (R) 3 (DBD)	0 (R) 8 (DBD)	-	-	0 (R) 0.8(I)	0	0	0 ²	-
Eliakim-Raz et al. 2016 (105)	İsrail	18	E test	NCCLS M27-A	11.2	0 ³	5.6	-	-	11.2	11.2	0 ³	-
Posteraro et al. 2015 (132)	İtalya	156-262	SYO	CL M27 S4	2.3 (R) 4.6 (DBD)	0 (R) 0.8 (DBD)	0 ²	0 ²	0	0	0	0 ²	1.9 ²
Pfaller et al. 2015 (96)	ABD (çok merkezli, SENTRY)	88	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4	5.7	1.1	-	1.1 ²	0	0	0	-	-
Faria-Ramos et al. 2014 (92)	Portekiz (çok merkezli)	55	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4 EU (v 7.2)	4 4	0 24	- -	16 ² 44	0 16	22 -	0 0	0 ² 0	2 ² -
Orasch et al. 2013 (88)	İsviçre (çok merkezli)	59	SYO	EU (v 6.1) CL 2012 (S4) CL 2008 (S3)	15.3 ¹ 15.3 ¹ 3.4 ¹	1.7 ¹ 1.7 ¹ 0	- - -	- - -	- - -	- 0 0	- - -	- - -	- - -
Chen et al. 2013 (133)	Tayvan	58	VITEK2 YST	CL 2010	7 ¹	-	-	-	-	-	-	-	-

Araştırma,Yazar ve Yılı	Ülke	C. parapsilosis izolat sayısı (n)	Çalışılan Yöntem	Referans rehber	FZ (%)	VOR (%)	IZ (%)	PZ (%)	MF (%)	CAS (%)	AND (%)	AMB (%)	FC (%)
Doğan et al. 2020 (103)	Türkiye (çok merkezli)	91	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4	13 (R) 9 (DBD)	0 (R) 10 (DBD)	-	0 ²	-	0	-	0 ²	-
Arikan-Akdağlı et al. 2019 (106)	Türkiye (çok merkezli)	575	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4	7.7 (R) 3.3 (DBD)	0 (R) 2.1 (DBD)	0.2 ²	3.5 ²	0 (R) 0.2(I)	-	-	0 ²	-
Dalyan Cilo ve ark. 2019 (118)	Türkiye, Bursa	118	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S3	26.3 (R) 0.8 (DBD)	0 (R) 1.7 (DBD)	0.8 ²	15.3 ²	-	-	0 (R) 0.8 (I)	0 ²	-
Haciseyitoğlu et al. 2019 (134)	Türkiye, İstanbul	18 (salgın izolatları)	E Test	CL M27 S4	16.7 (R) 11.1 (I)	0	-	-	-	0	-	0	-
Hilmioğlu-Polat et al. 2018 (135)	Türkiye, İzmir	170	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4	9.1	4.5	-	-	-	0	0	-	-
Sütçü et al. 2017 (136)	Türkiye, İstanbul	13 (pediatrik hasta izolatları)	E Test	CL M27 S3/S4	0	0	-	-	-	10	0	0	0
Calgın et al. 2017 (109)	Türkiye, Ordu	28	VITEK2	Belirtilmemiş	0	0	-	-	25 ¹	0	-	5.5 ¹	0
Dagi et al. 2016 (107)	Türkiye, Konya	28	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4	0	0	-	0 ⁴	-	0	0	0 ⁴	-
Karabıçak ve ark. 2016 (137)	Türkiye, THSK Mikoloji Referans Laboratuvarı	31	Sıvı mikrodilüsyon	CL M27 S4	6.5	0	3.2 ²						
Kazak et al. 2014 (104)	Türkiye, Bursa	126	Belirtilmemiş	CL M27 S3	18.2	0	0.8 ²	-	-	-	-	0 ²	-
Bizim çalışmamız, 2020	Türkiye, Antalya	96	SYO	EU (v 10.0) CL M27 S3 CL M27 S4 CL M60	6.3 (R) 2.1 (I) 4.2 (R) 2.1 (DBD) 6.3 (R) 2.1 (DBD) 6.3 (R) 2.1 (DBD)	3.1 (R) 3.1 (I) 2.1 2.1 (R) 4.2 (DBD) 2.1 (R) 4.2 (DBD)	3.1 0 (R) 3.1 (DBD) 0 ²	3.1 - 0 ²	0 0 0 0	0 0 0 0	0 1 0 (R) 1 (I) 0 (R) 1 (I)	0 - 0 ² 0 ²	- 0 11.5 ² 11.5 ²

AND: Anidulafungin, MF: Mikafungin, CAS: Kaspofungin, FC: Flusitozin, PZ: Posakonazol, VOR: Vorikonazol, IZ: İtrakonazol, FZ: Flukonazol, AMB: Amfoterisin B, SYO: Sensititre YeastOne, CL: CLSI, EU: EUCAST, R: Dirençli, DBD: Doza bağlı duyarlı, I: Orta duyarlı, THSK: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu.

¹: Doza bağlı duyarlı, orta duyarlı ve dirençli sonuçlar birlikte verilerek, 'duyarlı değil' kategorisi raporlanmıştır.

²: ECV değeri kullanılarak vahşi tip/vahşi olmayan tip şeklinde raporlanmıştır. Tabloda vahşi olmayan tiplerin yüzdesi verilmiştir.

³: Eşik değeri bulunmayan amfoterisin B ve vorikonazol için ≤1 µg/ml değerleri kullanılmıştır.

⁴: Posakonazol için vorikonazol eşik değerleri, Amfoterisin B için ≤1 µg/ml değerleri kullanılmıştır

Yapılan çalışmalarda flukonazol direncinin %0-37.8 gibi geniş bir aralıkta değiştiği görülmektedir (59, 130). Yüksek flukonazol direncinin (%37.8) saptandığı çalışmada, doza bağlı duyarlı suşlar da duyarlı olmayan kategoride değerlendirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca artmış flukonazol kullanımının bölgesel dirençli klonlara neden olabileceğini ve bu klonların nozokomiyal bulaş sonucu yüksek direnç oranlarına neden olmuş olabileceğini düşünmektedirler (130). Türkiye’de Dalyan Cilo ve ark. tarafından yapılan çalışmada, benzer şekilde yüksek flukonazol direncinin nedeninin dirençli suşların horizontal geçişine bağlı olabileceğini düşünseler de ileri çalışma yapılamamıştır (118).

Çok merkezli çalışmalarda bölgeler ve merkezler arası farklılıklar bulunmaktadır. Pfaller ve ark. tarafından ABD’de yapılan SENTRY çalışmasında genel flukonazol direnci %3.9 olarak belirlenirken, Asya-Pasifik bölgesinde %0.6, Avrupa ve Latin Amerika’da sırasıyla %4.6 ve %4.3 gibi daha yüksek oranlarda saptanmıştır (6). Arıkan Akdağlı ve ark.nın Türkiye’de yapmış oldukları toplam 12 merkezin katıldığı çalışmada flukonazol direnci ortalama %7.7 bulunmuştur fakat merkezler arasında %0-47.1 arasında değişen flukonazol direnci belirlenmiştir (106).

Çalışmamızda en yüksek direnç oranları flukonazol için belirlenmiştir. Değerlendirme yaptığımız farklı referans yöntemlere göre direnç yüzdelerinde büyük fark saptanmamıştır. Genel anlamıyla en düşük direnç yüzdeleri CLSI M27 S3’e göre yapılan değerlendirmede görülmüştür. EUCAST (v 10.0), CLSI M27 S4 ve CLSI M60 arasında flukonazol için direnç farkı belirlenmezken, diğer azol grubu antifungallerde rehberlerdeki klinik eşik değerlerin ve klinik eşik değer yokluğunda epidemiyolojik eşik değerlerin farklı olması nedeniyle çok büyük olmasa da fark bulunmuştur. Portekiz’de 2014 yılında yapılan çalışmada CLSI ve EUCAST rehberlerine göre ayrı ayrı değerlendirilen antifungal duyarlılık sonuçlarına göre, klinik eşik değerlerin bazı antifungallerde daha düşük olması nedeniyle genel olarak EUCAST değerlendirmesinde direnç oranları oldukça yüksek bulunmuştur (92).

EUCAST (v 10.0)’a göre üç (%3.1) suşumuzda paneldeki tüm antifungal ajanlara çapraz direnç saptanmıştır. CLSI M27 S4 ve CLSI M60’a göre iki suşumuzda (%2.1) flukonazol ve vorikonazol çapraz direnci belirlenmiştir. Benzer

şekilde Xiao ve ark. çalışmalarında %2.2 ve Orash ve ark. bir izolatta (1/59) flukonazol ve vorikonazol çapraz direnci belirlemişlerdir (88, 99). Çalışmamızda dirence neden olabilecek gen bölgesi moleküler çalışmaları yapılamamıştır fakat *C. parapsilosis* izolatlarının flukonazol direncinin araştırıldığı bir çalışmada, *ERG11* mutasyonlarının sık görülen bir neden olduğu gösterilmiştir (138).

Flukonazol direnç oranlarımız Türkiye verileriyle karşılaştırıldığında, hiç direnç saptanmayan merkezler hariç genel olarak düşük bulunmuştur. Direncin saptanmadığı çalışmalardaki izolat sayılarının bizim çalışmamızdan az olması dikkat çekicidir. Suşlarımızın yarısının yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastalardan izole edildiği düşünülecek olursa, hastanemizde horizontal geçişi engelleyecek enfeksiyon kontrol önlemlerinin iyi uygulandığı sonucuna varılabilir. Hastanemizde *C. parapsilosis* kandidemisinde tedavide flukonazol en sık tercih edilen antifungal ajandır. Direnç oranlarımız Türkiye genelinden düşük olsa da ilk seçenek olarak flukonazol tedavisi başlanan hastalarda, tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi için suşların flukonazol duyarlılığının çalışılmasının uygun olduğunu düşünmekteyiz.

Flukonazol dirençli izolatlarda, vorikonazol ve posakonazol yüksek in vitro aktiviteleri nedeniyle tedavide daha başarılı seçeneklerdir (107). Türkiye’de ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda vorikonazol, posakonazol ve itraconazol direncinin, flukonazol direncinden daha az oranlarda olduğu görülmektedir. Flukonazolün artmış kullanımının bu sonuca neden olduğu düşünülebilir. Farklı olarak Lindberg ve ark. itraconazol ve posakonazol direncini; Faria-Ramos ve ark. vorikonazol ve posakonazol direncini flukonazol direncinden daha yüksek belirlemişlerdir (59, 92). Çalışmamızda vorikonazol, itraconazol ve posakonazol dirençli izolatların aynı zamanda flukonazole de dirençli olduğu göz önüne alındığında, özellikle flukonazole dirençli izolatlarda tedavide diğer azol grubu antifungal ajanlar kullanılacaksa, bu antifungaller için antifungal duyarlılık testlerinin çalışılması uygun tedavi açısından önem kazanmaktadır.

Ekinokandinler ile tedavi edilen hastalarda, azoller ve polyenler ile karşılaştırıldığında, enfeksiyon şiddeti ve mortalite riski daha düşük görünmektedir. İnvaziv kandidiyazın önemli bir nedeni olan *C. parapsilosis*, *FKS1* geninde β -1,3-glukan sentazını kodlayan bir polimorfizme sahiptir ve bu da ekinokandinlerin in

vitro MİK değerlerinin daha yüksek olmasına neden olmaktadır (139). Çalışmaların genelinde ekinokandinlere yüksek direnç oranları saptanmamıştır. Calgin ve ark.nın çalışmasında orta duyarlı bulunan (n=5) sonuçların dirençli (n=7) kategorisinde raporlanması mikafungin direncinin yüksek saptanmasına neden olmuştur (109). Direnç için FKS gen bölgesinin araştırıldığı bazı çalışmalarda mutasyon belirlenememiştir (6, 90).

EUCAST (v 10.0) 2020 yılında yapılan son güncellemesinde, ekinokandin grubu antifungal ajanların klinik eşik değerlerini *C. parapsilosis* duyarlı izolatları için 0.002 mg/L değerinden; anidulafungin için 4 mg/L, mikafungin için 2 mg/L değerlerine yükselterek orta duyarlı kategorisini kaldırmıştır. EUCAST (v 9.0)'a göre orta duyarlı olan izolatların hepsi yeni güncellemeye göre duyarlı kategorisine geçmiştir. Lindberg ve ark.nın 2019 yılında yapmış oldukları çalışmada mikafungin ve anidulafungin sonuçları EUCAST eski versiyona göre %100 orta duyarlı bulunurken, CLSI'a göre duyarlı olmayan suş saptanmamıştır (59). Çalışmamızda tüm suşlarımız EUCAST (v 9.0)'a göre mikafungin, anidulafungin ve kaspofungine orta duyarlı iken, EUCAST tarafından yapılan son güncelleme ile (v 10.0) hepsi duyarlı kategorisine geçmiştir ve ekinokandin grubunda duyarlılık kategorisinde CLSI ile uyum artmıştır. CLSI M27 S4 ve CLSI M60'a göre sadece bir suşumuz orta duyarlı olarak belirlenmiştir.

Hastanemizde kan örneklerinden izole edilen *C. parapsilosis* izolatlarının ekinokandin grubu antifungal ajanlara direnç oranlarının düşük saptanması nedeniyle, fakat kandidemi öncesinde ekinokandinlere maruziyetin, *C. parapsilosis* kandidemisine yol açma ihtimali de akıldan çıkarılmayarak (86, 90, 140), tedavide güvenle kullanılabileceği düşüncesi oluşmuştur.

Çalışmamızda amfoterisin B MİK değer aralıkları Asya-Pasifik bölgesinden yapılan bir çalışmayla benzer olarak 0.25–1.0 mg/L olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada MİK₅₀ 0.5 mg/L ve MİK₉₀ 1.0 mg/L olarak belirlenmiştir (131). CLSI rehberlerinde amfoterisin B için klinik eşik değerler bulunmadığından çalışmalardaki veriler epidemiyolojik eşik değerlere göre raporlanmıştır. Çalışmamızda vahşi tip olmayan suş bulunmayıp, EUCAST'e göre hepsi duyarlı olarak belirlenmiştir. Tüm çalışmalardan farklı olarak Teo ve ark. çalışmalarında amfoterisin B için %20 vahşi olmayan tip belirlemişlerdir (90). Hastanemizde *C.*

parapsilosis kandidemisinde tedavide flukonazolden sonra en sık tercih edilen antifungal ajanın amfoterisin B olduğu göz önüne alınırsa, suşlarımızın vahşi tip olması nedeniyle, düşüncemiz amfoterisin B'nin tedavide uygun hastalarda tercih edilebileceği yönündedir.

Flusitozin kandida menenjitisi ya da endokardit hastalarında kombinasyon tedavisinde nadir olarak kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda 5-flusitozin ile ilgili fazla veri bulunmamaktadır. CLSI M27 S4 ve CLSI M60 rehberlerinde klinik eşik değeri bulunmadığından kullanılan ECV'ye göre, incelediğimiz çalışmalar içinde en yüksek vahşi olmayan tip bizim çalışmamızda izole edilmiştir.

Kandidemi ile ilişkili risk faktörlerinin belirlenmesi, ölüm oranlarının azaltılmasına, önlemlerin tanımlanmasına ve antifungal tedavinin erken başlatılmasına yardımcı olabilmektedir (141).

Yapılan çalışmalara benzer olarak, çalışmamızda *C. parapsilosis* kandidemisi olan hastaların daha yüksek oranda erkek hastalar olduğunu görmekteyiz (84, 86). Fransa'da yapılan malignitesi olan ve olmayan hastaların karşılaştırıldığı bir çalışmada *C. parapsilosis* ile enfekte olanlar, çoğunlukla erkek ve daha genç yaşta olan hastalar olarak bulunmuştur (140).

Çalışmamızda kateter ilişkili kandidemi oranımız %23.9 olup bazı çalışmalardan düşük olarak belirlenmiştir (84, 142). İtalya'da, Soldini ve ark. tarafından 190 *C. parapsilosis* sensu stricto izolatı ile yapılan çalışmada %47.9 hasta kateter ilişkili kandidemi olarak belirlenmiştir. İzolatları biyofilm üretme yeteneklerine göre yüksek, orta ve düşük olarak üç gruba ayırıp, yüksek ve orta grubu birlikte değerlendirerek, düşük biyofilm üreten izolatlarla karşılaştırmışlardır. Çalışmada yüksek/orta biyofilm üreten *C. parapsilosis* izolatları ile enfekte olan hastalarda kateter ile ilişkili enfeksiyon istatistiksel olarak anlamlı yüksek (%58.5/%34.5) saptanmış ve bu izolatlarla enfekte olmanın mortaliteyi (%57.5/%33.3) artırdığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda santral venöz kateter %64.6 hastada bulunmasına rağmen, kateter ilişkili kandidemi oranı bu çalışmadan farklı olarak daha düşük oranda belirlenmiştir (142). Çalışmamızdaki izolatların biyofilm üretme yeteneğini bilmesek de bahsedilen çalışmaya göre hem kateter ilişkili kandidemi oranımızın düşük olması hem de

mortalite oranımızın (%34.4) bu çalışmanın düşük biyofilm üreten izolatlarıyla benzer olması, bize izolatlarımızın büyük çoğunluğunun düşük biyofilm üretme yeteneğinde olduğunu düşündürmüştür.

Çalışmamızda en sık saptanan risk faktörü %83.3 ile kandidemi öncesi geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı olmuştur. Benzer şekilde çoğu çalışmada geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı en sık saptanan risk faktörlerindendir (46, 84, 86). Yapar ve arkadaşlarının İzmir’de yoğun bakımdaki kandidemi hastalarında yapmış oldukları çalışmalarında antibiyotik kullanımına ek olarak, kontrol grubuna kıyasla trakeotomi, femoral arter kateterizasyonu, kan transfüzyonu, TPN ve abdominal cerrahi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (143). Bir diğer çalışmada santral venöz katater, parenteral nütrisyon, cerrahi operasyon ve mekanik ventilasyon antibiyotik kullanımına ek olarak kandidemiye zemin hazırlayan en sık risk faktörleri arasında bulunmuştur (102).

Çalışmamızda saptanan diğer risk faktörleri üriner kateterizasyon (%65.6) ve SVK (%64.6) gibi invaziv prosedürlerin varlığıdır. Benzer şekilde birçok çalışmada SVK sık belirlenen risk faktörleri arasındadır (46, 86, 102).

C. parapsilosis kandidemisinde TPN kullanımının yüksek olduğu birçok çalışmada (%43-64.4) gösterilmiştir (46, 84, 86, 133). Fakat bizim çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak TPN kullanımı %16.7 hastada belirlenmiştir. Klinik özelliklerin retrospektif incelenmesi nedeniyle verilerimizde eksiklik olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızdaki diğer risk faktörleri %40.6 immunsupresan kullanımı, %38.5 steroid kullanımı ve %32.3 kandidemi öncesi antifungal kullanımı olarak belirlenmiştir. Almirante ve ark.nın çalışmasında çalışmamıza benzer olarak vasküler kateter ve kandidemi öncesi antifungal kullanımı ile *C. parapsilosis* kandidemisi arasında anlamlı ilişki belirlenmiştir, ek olarak transplantasyon hastalarında ve yenidoğan döneminde de anlamlı bulunmuştur (16).

Çalışmamızda tedavi almayıp (%20.8) sağkalan yedi hastamız vardır. Dört hastanın ardışık kan kültürleri steril sonuçlanmıştır. Fraser ve ark.nın yapmış oldukları çalışmalarında; %72.6 (77/106) kandidemi hastasının tedavi aldığını,

tedavide tekli amfoterisin B veya amfoterisin B/flusitozin kombinasyonu kullanıldığını ve ortalama tedavi süresini 20 ± 17 gün olarak belirlemişlerdir. Sağkalım oranı ile, antifungal tedavinin toplam dozu veya süresi ile anlamlı bir ilişki gösterilmemiştir. Tedavi almadan sağkalan 11 hastanın kandidemi süresi, diğer hastalara göre anlamlı derecede kısa bulunmuştur (144).

İnvaziv kandidiyaz, özellikle kandidemi, hasta yönetimi ve sağlık maliyetleri açısından halk sağlığı sistemi üzerinde önemli bir yük oluşturmaktadır, her epizod yaklaşık 40.000–92.000 ABD dolarına mal olmaktadır. Mortalite oranları farklı hasta gruplarında değişmekte ve bazı hasta gruplarında yüksek mortaliteye neden olabilmektedir. Erken mortalite (1-7 gün) uygun antifungal tedavi ve santral venöz kateterlerin erken çıkarılması gibi faktörlerle ilişkiliyken, geç mortalite (8-30 gün) genellikle konağa bağlı faktörlerle ilişkilidir ve mortalite oranları farklıdır. Antifungal tedaviye geç başlanması veya etkin olmayan bir ajanın kullanımı mortalite üzerine olumsuz etkilidir. Bu durumların en aza indirilmesi kandidemiye bağlı mortaliteyi azaltmaya yardımcı olmaktadır (8, 91, 100).

Mortalite oranlarının değerlendirildiği farklı çalışmalarda, *C. parapsilosis* kompleks kandidemisinde 30 günlük mortalite oranları diğer türlerle kıyaslandığında daha düşük bulunmuştur (%22-%32.4) (86, 92, 94, 133, 145). Bir çalışmada *C. albicans* kandidemisine göre erken mortalite oranı da daha düşük saptanmıştır (84). Japonya’da yapılan bir çalışmada *C. parapsilosis* kandidemisi için santral venöz kateterin çekilmesi ve cerrahi servisler düşük mortaliteyle ilişkili bulunmuştur (98). Soldini ve ark. ilk antifungal tedavinin azol grubu ajanlardan tercih edilmesinin ve ilk 48 saatten sonra başlatılmasının mortaliteyi anlamlı derecede artırdığını bulmuşlardır (142).

Çalışmamızda 30 günlük mortalite oranının (%34.4) literatürdeki bazı çalışmalardan yüksek, bazılarında ise daha düşük olduğu belirlenmiştir (94, 142, 146). Erken mortalite oranı %18.8, geç mortalite oranı ise %15.6 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda invaziv prosedürlerin ve terapötik yaklaşımların mortalite üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Altmış beş yaşın üzerindeki hastalar, yoğun bakım hastaları, kandidemi öncesi antibiyotik kullanımı ve üriner kateter uygulanması ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlenmiştir

($p<0,05$). Bu faktörlerin hepsinin mortaliteyi artırdığı saptanmıştır. Çalışmamızda kandidemili hastalarda tedavi alanlar ile almayanlar arasında ölüm ve sağ kalım oranlarına bakıldığında tedavi almayanlarda daha yüksek ölüm oranları (%60) görülse de istatistiksel olarak fark belirlenmemiştir ve tedavide tercih edilen antifungal ajanlar ile mortalite arasında ilişki saptanmamıştır.

Lin ve ark.nın 77 *C. parapsilosis* kandidemisini inceledikleri çalışmalarında bizim çalışmamıza benzer olarak erkekler (%58) daha yüksek oranda enfekte olmuşlardır ve 18 yaşın altında olan hastalarda sağkalım oranları iyi ve anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızdan farklı olarak tek değişkenli analizlerinde yoğun bakım ünitesinde takip edilmenin hastalarda sağkalım üzerine olumlu etki ettiğini belirlemişlerdir. Bizim çalışmamıza benzer olarak TPN, SVK varlığı, kemoterapi, diabetes mellitus, steroid kullanımı, KOAH, nötropeni, abdominal cerrahi ve tedavide kullanılan antifungal ajanlar ile mortalite arasında anlamlı ilişki belirlenmemiştir. Malignite ve metastatik solid tümör ile mortalite arasında anlamlı ilişki bulunmuş, mortaliteyi artıran etkenler olduğu belirlenmiştir (146).

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Çalışmamızda klinik veriler retrospektif olarak incelenmiştir. Çalışmamız tek merkezli olup, identifikasyon için moleküler yöntemlerle ve antifungal duyarlılık için referans yöntemlerle doğrulama yapılamasa da çoğu merkez tarafından kullanılan güncel, doğruluk oranları yüksek yöntemler tercih edilmiştir.

6. SONUÇLAR

1. Hastanemizde 2014-2018 yılları arasında *C. parapsilosis* kompleks (%18.8) türlerinin neden olduğu kandidemilerin *C. albicans*'dan sonra en sık saptanan tür olduğu görülmüştür. Sonrasında *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. krusei* en sık izole edilen türlerdir. Albicans-dışı *Candida* türlerinin oranının (%60) *C. albicans*'dan daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
2. MALDI-TOF MS yöntemiyle tiplendirmesi yapılan kandidemi etkeni *C. parapsilosis* kompleks izolatlarının hepsi *C. parapsilosis* sensu stricto olarak tanımlanmıştır. Kandidemi izolatlarından diğer iki tür izole edilemese de, beş yıllık süreçte izole edilen tüm *C. parapsilosis* kompleks (n=227) suşlarının, sekizi (%3.5) *C. orthopsilosis* ve ikisi (%0.9) *C. metapsilosis* olarak tanımlanmıştır. *C. orthopsilosis* suşları tırnak (n=3), idrar (n=2), kulak (n=2) ve pü (n=1) kültürlerinden izole edilmiştir. *C. metapsilosis* suşları idrar ve pü kültürlerinden birer adet izole edilmiştir.
3. Antifungal duyarlılık sonuçlarında EUCAST (v 10.0)'a göre ekinokandin grubu antifungal ajanlar ve amfoterisin B'ye direnç saptanmamıştır. Flukonazol direnci %6.3, vorikonazol, itraconazol ve posakonazol direnci %3.1 olarak belirlenmiştir. Ayrıca %2.1 flukonazole, %3.1 vorikonazole orta duyarlı suş belirlenmiştir.
4. CLSI M27 S3'e göre flusitozin ve ekinokandin grubu antifungal ajanlardan mikafungin ve kaspofungin direnci görülmemiştir. Anidulafungine sadece bir izolat duyarlı değil olarak saptanmıştır. Flukonazol direnci %4.2, vorikonazol direnci %2.1 olarak belirlenmiştir. İtraconazole direnç belirlenmezken % 3.1 izolat doza bağlı duyarlı bulunmuştur.
5. CLSI M27 S4 ve CLSI M60 rehberlerine göre mikafungin ve kaspofungin direnci belirlenmezken, bir suş anidulafungin orta duyarlı olarak belirlenmiştir. %6.3 flukonazol, %2.1 vorikonazol direnci saptanmıştır. Ayrıca %2.1 flukonazole, %4.2 vorikonazole doza bağlı duyarlı suş belirlenmiştir. Amfoterisin B, posakonazol ve itraconazol klinik eşik değerleri bulunmadığından değerlendirme için epidemiyolojik eşik değerler kullanılmıştır. Bu değerlere göre Amfoterisin B, posakonazol ve itraconazol

için tüm suşlar vahşi tip olarak belirlenmiştir. Flusitozin için %11.5 vahşi olmayan suş tespit edilmiştir.

6. EUCAST (v 10.0)'a göre 3 suшта tüm azollere çapraz direnç belirlenirken, CLSI M27 S3, CLSI M27 S4 ve CLSI M60'a göre 2 suшта flukonazol ve vorikonazol çapraz direnci saptanmıştır.
7. Antifungal sonuçların değerlendirildiği tüm rehberlere göre en yüksek direnç flukonazolde görülmüştür. Direnç oranlarımız Türkiye ortalamasından düşük bulunmuştur.
8. Hastalarımızın çoğunluğu (%63.5) erkektir ve yaş aralığı 0-97 arasında değişen tüm hastaların yaş ortalaması $40,75 \pm 28,73$ olarak belirlenmiştir. Hastaların yarısı (n=48) yoğun bakım birimlerinde takip edilmiştir ve kateter ilişkili kandidemi 23 (%23.9) hastada görülmüştür. Kandidemili hastaların %22.9'una kandidürinin eşlik ettiği belirlenmiştir.
9. Kandidemiye neden olan risk faktörleri incelendiğinde en sık risk faktörünün bir veya daha fazla geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı (%83.3) olduğu görülmüştür. Sonrasında üriner kateter varlığı (%65.6), santral venöz kateter varlığı (%64.6) ve immünsupresif tedavi (%40.6) saptanmıştır. Malignite varlığı (%30.2) en sık saptanan altta yatan hastalık olarak belirlenmiştir.
10. Kandidemi için antifungal tedavi alan hastaların oranı %79.2'dir ve ortalama tedavi süreleri $15,89 \pm 14,88$ gündür. Tedavi için en sık tercih edilen antifungal ajan %47.9 ile flukonazol olmuştur. Tedavide kullanılan antifungal ajanların mortalite ile ilişkisi değerlendirildiğinde; hiçbir antifungal grup ile mortalite arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
11. Tedavi alan hastalarda mortalite %48.7 olarak belirlenirken, tedavi almayanlarda bu oran %60'a yükselmiştir fakat istatistiksel olarak fark belirlenmemiştir.
12. Kandidemiyle ilişkili 30 günlük mortalite %34.4 (33/96) olarak hesaplanmıştır. Erken mortalite %18.8 (18/96), geç mortalite %15.6 (15/96) olarak belirlenmiştir. Altmış beş yaşın üzerinde olmanın, yoğun bakım ünitesinde takip edilmenin, kandidemi öncesi antibiyotik kullanımının ve

üriner kateter uygulanmasının mortaliteyi artırdığı istatistiksel olarak belirlenmiştir ($p<0,05$).



7. ÖZET

***Candida parapsilosis* Kompleks Türlerinin Etken Olduğu Kandidemiler: Epidemiyolojisi ve Suşların Antifungal Duyarlılıkları**

İnvaziv fungal enfeksiyonların sıklığı giderek artmakta ve *Candida* türleri invaziv fungal enfeksiyonların en sık nedeni olarak görülmektedir. Son yıllarda invaziv kandidiyaz epidemiyolojisinin değiştiği, albicans-dışı *Candida* türlerinin daha sık izole edildiği bildirilmektedir. Kandidemi etkenleri arasında *C. parapsilosis* en sık izole edilen ikinci veya üçüncü tür olarak görülmektedir.

Bu çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde 2014-2018 yılları arasında kandidemi etkeni *Candida parapsilosis* kompleks suşları MALDI-TOF MS yöntemiyle tiplendirilmiş, antifungal duyarlılıkları ve kandidemili hastaların klinik özellikleri belirlenmiştir.

Doksan altı *C. parapsilosis* kompleks kandidemi suşu değerlendirilmiştir. Kandidemi etkenleri arasında *C. parapsilosis* kompleks izolatları %18.8 ile ikinci en sık izole edilen tür olmuştur. Suşların hepsi MALDI-TOF MS ile *C. parapsilosis* sensu stricto olarak tanımlanmıştır. EUCAST (v 10.0), CLSI M27 S4 ve CLSI M60 rehberlerine göre flukonazol direnci %6.3, doza bağlı duyarlılık oranları %2.1 olarak belirlenmiştir. CLSI M27 S3'te direnç oranı daha düşük olup, %4.2 olarak bulunmuştur. Antifungal ajanlar içerisinde en yüksek direnç flukonazol için belirlenmiştir. EUCAST (v 10.0)'a göre üç suшта tüm azollere; CLSI M27 S3, CLSI M27 S4 ve CLSI M60'a göre iki suшта flukonazol ve vorikonazole çapraz direnç saptanmıştır. Ekinokandin ve amfoterisin B direnci saptanmamıştır. %11.5 suşumuz flusitozin için vahşi olmayan tip olarak belirlenmiştir. Hastaların yarısı (n=48) yoğun bakım birimlerinde takip edilmiştir ve %23.9 kandidemi kateter ilişkili olarak kabul edilmiştir. Kandidemi için en sık risk faktörleri bir veya daha fazla geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı (%83.3), üriner kateter varlığı (%65.6), santral venöz kateter varlığı (%64.6) ve immünsupresif tedavi (%40.6) olarak belirlenmiştir. Kandidemi için antifungal tedavi alan hastaların oranı %79.2, en sık kullanılan ajan flukonazol ve kandidemiyle ilişkili 30 günlük mortalite %34.4 (33/96) olarak saptanmıştır. Tek değişkenli analizlerde 65 yaşın üzerinde olmanın, yoğun bakım ünitesinde takip edilmenin, kandidemi öncesi geniş spektrumlu

antibiyotik kullanımının ve üriner kateter uygulanmasının mortaliteyi artırdığı istatistiksel olarak belirlenmiştir ($p<0,05$).

Sonuç olarak *C. parapsilosis* kompleks kandidemilerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda *C. parapsilosis* sensu stricto dışındaki kriptik türlerle enfeksiyonun olmadığı saptanmıştır. *C. parapsilosis* sensu stricto izolatlarında görülen başta flukonazol olmak üzere, azol grubu antifungal direnci nedeniyle dikkatli olunmalı ve uygun antifungal tedavinin verilebilmesi için duyarlılık testlerinin çalışılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Candida parapsilosis* kompleks, kandidemi, epidemiyoloji, antifungal duyarlılık, Sensititre YeastOne

8. ABSTRACT

Candidemias Caused by *Candida parapsilosis* Complex Species: Epidemiology and Antifungal Susceptibility of Strains

The frequency of invasive fungal infections is gradually increasing and *Candida* species are seen as the most common cause of invasive fungal infections. In recent years, it has been reported that the invasive candidiasis epidemiology has changed and non-albicans *Candida* species have been isolated more frequently. Among the causative agents of candidemia, *C. parapsilosis* is seen as the second or third most frequently isolated species.

In this study, *Candida parapsilosis* complex strains, which were the cause of candidemia in 2014-2018, were identified at Akdeniz University Hospital by MALDI-TOF MS method, antifungal susceptibilities of strains and the clinical features of patients with candidemia were determined.

Ninety six candidemic strains of *C. parapsilosis* complex were evaluated. Among the causative agents of candidemia, *C. parapsilosis* complex isolates were the second most frequently isolated species with 18.8%. All strains were defined as *C. parapsilosis* sensu stricto by MALDI-TOF MS. According to EUCAST (v 10.0), CLSI M27 S4 and CLSI M60 guidelines, fluconazole resistance was 6.3% and susceptible-dose dependent rates were 2.1%. Resistance rate was lower in CLSI M27 S3 and was found as 4.2%. Among the antifungal agents the highest resistance rate was determined for fluconazole. According to CLSI M27 S3, CLSI M27 S4 and CLSI M60, cross resistance was found in two strains against fluconazole and voriconazole; according to EUCAST (v 10.0) in three strains against all azoles. Echinocandin and amphotericin B resistance were not detected. The 11.5% strain was determined to be non-wild type for flucytosine. Half of the patients (n=48) were followed up in intensive care units and 23.9% was accepted as catheter related candidemia. The most common risk factors for candidemia were one or more broad-spectrum antibiotics usage (83.3%), urinary catheter (65.6%), central venous catheter (64.6%) and immunosuppressive therapy (40.6%). Antifungal therapy receiving rates for candidemia is 79.2%, the most commonly used agent was fluconazole and 30-day mortality associated with candidemia was detected as

34.4% (33/96). It was statistically determined that being over 65 years old, follow-up in the intensive care unit, broad-spectrum antibiotic usage before candidemia and urinary catheter implementation increased mortality by univariate analysis ($p < 0.05$).

As a result, in our study that we evaluated *C. parapsilosis* complex candidemia, it was found that there was no infection with cryptic species other than *C. parapsilosis* sensu stricto. Caution should be exercised due to the azol group antifungal resistance in *C. parapsilosis* sensu stricto isolates, mainly fluconazole, and susceptibility testings should be performed to provide appropriate antifungal therapy.

Key words: *Candida parapsilosis* complex, candidemia, epidemiology, antifungal susceptibility, Sensititre YeastOne

9. KAYNAKLAR

1. Schmiedel Y, Zimmerli S. Common invasive fungal diseases: an overview of invasive candidiasis, aspergillosis, cryptococcosis, and *Pneumocystis* pneumonia. *Swiss Med Wkly* 2016; 146: w14281.
2. Arendrup MC. Epidemiology of invasive candidiasis. *Current Opinion in Critical Care* 2010; 16: 445–52.
3. Candell FJ, Pacheco CP, Ruiz-Camps I, Maseda E, Sánchez- Benito MdR, Montero A, et al. Update on management of invasive candidiasis. *Rev Esp Quimioter* 2017; 30(6): 397-406.
4. Antinori S, Milazzo L, Sollima S, Galli M, Corbellino M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: A narrative review. *European Journal of Internal Medicine* 2016; 34: 21–28
5. Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Cortes J, Zurita J, et al. Epidemiology of Candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey. *PLoS ONE* 2013; 8(3): e59373.
6. Pfaller MA, Diekema DJ, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RM. Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for *Candida* Species From 1997–2016. *Open Forum Infectious Diseases* 2019; 6(S1): 79–94.
7. Brunetti G, Navazio AS, Giuliani A, Giordano A, Proli EM, Antonelli G et al. *Candida* blood stream infections observed between 2011 and 2016 in a large Italian University Hospital: A time-based retrospective analysis on epidemiology, biofilm production, antifungal agents consumption and drug-susceptibility. *PLoS ONE* 2019; 14(11): e0224678.
8. Warris A, Pana ZD, Oletto A, Lundin R, Castagnola E, Lehrnbecher T, et al. Etiology and Outcome of Candidemia in Neonates and Children in Europe An 11-year Multinational Retrospective Study. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2020; 39(2): 114-120.
9. 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.

10. Lockhart SR, Messer SA, Pfaller MA and 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.
11. Feng X, Ling B, Yang G, Yu X, Ren D, Yao Z, et al. Prevalence and Distribution Profiles of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* Responsible for Superficial Candidiasis in a Chinese University Hospital. Mycopathologia 2012; 173: 229–34.
12. Bassetti M, Righi E, Montravers P and Cornely OA. What has changed in the treatment of invasive candidiasis? A look at the past 10 years and ahead. J Antimicrob Chemother 2018; 73 Suppl 1: i14–i25.
13. Knoke M, Bernhardt H. The first description of an oesophageal candidosis by Bernhard von Langenbeck in 1839. Mycoses 2016; 49: 283–87.
14. McCullough MJ, Ross BC, Reade PC. *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. Int J Oral Maxillofac Surg 1996; 25: 136-144.
15. Barnett JA. A history of research on yeasts 8: taxonomy. Yeast 2004; 21: 1141–93.
16. Barnett JA. A history of research on yeasts 12: medical yeasts part 1, *Candida albicans*. Yeast 2008; 25: 385–417.
17. Trofa D, Gacser A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an Emerging Fungal Pathogen. Clin Microbiol Rev 2008; 21(4): 606-625.
18. Nosek J, Holesova Z, Kosa P, Gacser A, Tomaska L. Biology and genetics of the pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. Curr Genet 2009; 55: 497–509.
19. Howell SA, Hazen KC, Brandt ME. *Candida*, *Cryptococcus*, and other Yeasts of Medical Importance. Brandt ME, Johnson EM (eds): *Manual of Clinical Microbiology* Vol 2. 117.section 11.digital Ed. Washington, ASM Press, 2015, 1984-2014.
20. Başustaoğlu A. Tıbbi Mikrobiyoloji, 6.Baskı. 2010, Ankara, Atlas Kitapçılık (Patrick R. Murray. Medical Microbiology, 6th edition).

21. Çerikçioğlu N. *Candida* Türleri. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 3.Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 2411-26.
22. Kidd S, Halliday C, Alexiou H, Ellis D. Descriptions of Medical Fungi, 3th edition, Adelaide, Newstyle Printing, 2016; 34-50.
23. Sariguzel FM, Berk E, Koc AN, Sav H, Demir G. Investigation of the relationship between virulence factors and genotype of *Candida spp.* isolated from blood cultures. J Infect Dev Ctries 2015; 9(8):857-864.
24. 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): 206–16.
25. Ge YP, Lu GX, Shen YN, Liu WD. In Vitro Evaluation of Phospholipase, Proteinase, and Esterase Activities of *Candida parapsilosis* and *Candida metapsilosis*. Mycopathologia 2011; 172: 429–38.
26. Noori M, Dakhili M, Sepahvand A, Davari N. Evaluation of esterase and hemolysin activities of different *Candida* species isolated from vulvovaginitis cases in Lorestan Province, Iran. Curr Med Mycol 2017, 3(4): 1-5
27. Peter G, Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L and Kullberg BJ . Invasive candidiasis. Nature 2018; 4: Article number: 18026.
28. Tóth R, Nosek J, Mora-Montes HM, Gabaldon T, Bliss JM, Nosanchuk JD, et al. *Candida parapsilosis*: from genes to the bedside. Clin Microbiol Rev 2019; 32: e00111-18.
29. Tıbbi Mikrobiyoloji 2. İstanbul Tıp fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. 2002, İstanbul.
30. BBL™ CHROMagar™ *Candida* Medium, Instructions For Use - Ready To Use Plated Media. BD 2014. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9019>
31. Bouza E, Almirante B, Rodríguez JG, Garnacho-Montero J, Salavert M, Muñoz P, et al. Biomarkers of fungal infection: Expert opinion on the current situation. Rev Esp Quimioter 2020; 33(1): 1-10.
32. Kwon-Chung, Bennett JE. Medical Mycology. 1st ed. Pennsylvania, Lea&Febiger, 1992; Chapter 13: 280-336

33. Seyedmousavi S, İlkit M, Durdu M, Ergin Ç, Polat SH, Melchers W, ve ark. *Candida* ve Kandidoz: Epidemiyoloji, Tanı, Tedavi, Antifungal İlaç Direnci ve Konağın Genetik Yatkınlığında Güncel Durum. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2015; 45(1):1-11.
34. Lockhart SR, Messer SA, Pfaller MA, Diekema DJ. *Lodderomyces elongisporus* Masquerading as *Candida parapsilosis* as a Cause of Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol* 2008; 46(1): 374–6.
35. NCBI Taxonomy Browser, *Candida parapsilosis* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=766764>
36. Treviño-Rangel RDJ, González JG, González GM. Aspartyl proteinase, phospholipase, esterase and hemolysin activities of clinical isolates of the *Candida parapsilosis* species complex. *Med Mycol* 2013; 51: 331-5.
37. Bertini A, De Bernardis F, Hensgens LAM, Sandini S, Senesi S, Tavanti A. Comparison of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* adhesive properties and pathogenicity. *Int J Med Microbiol* 2013; 303(2): 98-103.
38. Larone DH. Medically Important fungi. 5th edition, Washington, ASM Press, 2011; 115-54.
39. Kurtzman CP, Fell JW. The Yeasts, A Taxonomic Study. 4th edition, Amsterdam, Elsevier Science B.V., 1998; 536-38.
40. Hensgens LAM, Tavanti A, Mogavero S, Ghelardi E, Senesi S. AFLP genotyping of *Candida metapsilosis* clinical isolates: Evidence for recombination. *Fungal Genetics and Biology* 2009; 46; 750–8.
41. 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.
42. Carolis ED, Hensgens LAM, Vella A, Posteraro B, Sanguinetti M, Senesi S, et al. Identification and typing of the *Candida parapsilosis* complex: MALDI-TOF MS vs. AFLP. *Medical Mycology* 2014; 52: 123–30.
43. Li MC, Chang TC, Chen HM, Wu CJ, Su SL, Lee SSJ, et al. Oligonucleotide Array and VITEK Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight

- Mass Spectrometry in Species Identification of Blood Yeast Isolates. *Front. Microbiol* 2018; 9(51): 1-7
44. Weems JJ. *Candida parapsilosis*: Epidemiology, Pathogenicity, Clinical Manifestations, and Antimicrobial Susceptibility. *Clin Infect Dis* 1992; 14(3): 756-66.
 45. 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.
 46. Dotis J, Prasad PA, Zaoutis T, Roilides E. Epidemiology, Risk Factors and Outcome of *Candida parapsilosis* Bloodstream Infection in Children. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31(6): 557–60
 47. Sun M, Chen C, Xiao W, Chang Y, Liu C and Xu Q. Increase in *Candida Parapsilosis* Candidemia in Cancer Patients. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2019, 11(1): e2019012.
 48. Thomaz DY, de Almeida JN Jr, Lima GME, Nunes MO, Camargo CH, Grenfell RC, et al. An Azole-Resistant *Candida parapsilosis* Outbreak: Clonal Persistence in the Intensive Care Unit of a Brazilian Teaching Hospital. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2997.
 49. Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Barnes R, Hu B, Veselov AV, et al. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study: A 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5848-59.
 50. Pfaller MA. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol* 2010; 48 (4): 1366–77.
 51. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, et al. Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*: A global assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol* 2008;46(3):842-9.

52. Pfaller MA, Carvalhaes C, Messer SA, Rhomberg PR, Castanheira M. Activity of a Long-Acting Echinocandin, Rezafungin, and Comparator Antifungal Agents Tested 2 against Contemporary Invasive Fungal Isolates: SENTRY Program 2016-2018. *Antimicrob. Agents Chemother* 2020; doi:10.1128/AAC.00099-20.
53. Yeşilkaya A, Azap Ö, Aydın M, Akçıl Ok M. Epidemiology, species distribution, clinical characteristics and mortality of candidaemia in a tertiary care university hospital in Turkey, 2007-2014. *Mycoses* 2017; 60: 433-9.
54. Kolak ÇÇ, Erman-Daloğlu A, Özhak B, Ögünç D, Günseren F. Epidemiology of candidemia, antifungal susceptibilities of *Candida* species and their impact on mortality in adult patients admitted to Akdeniz University Hospital. *Klimik Derg* 2019; 32(3): 250-8.
55. Özcan N, Ezin Ö, Akpolat N, Bozdağ H, Mete M, Gül K. Klinik örneklerde saptanan *Candida* türlerinin MALDI-TOF MS ile tiplendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2016; 43 (3): 390-4.
56. Caggiano G, Lovero G, Giglio OD, Barbuti G, Montagna O, Laforgia N, et al. Candidemia in the Neonatal Intensive Care Unit: A Retrospective, Observational Survey and Analysis of Literature Data. *BioMed Research International* 2017, Article ID 7901763, 12 pages
57. Xiao Z, Wang Q, Zhu F, An Y. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and mortality risk factors of candidemia among critically ill patients: a retrospective study from 2011 to 2017 in a teaching hospital in China. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 2019; 8: 89
58. Santolaya ME, Thompson L, Benadof D, Tapia C, Legarraga P, Corte's C, et al. A prospective, multi-center study of *Candida* bloodstream infections in Chile. *PLoS ONE* 2019; 14(3): e0212924
59. Lindberg E, Hammarström H, Ataollahy N, Kondori N. Species distribution and antifungal drug susceptibilities of yeasts isolated from the blood samples of patients with candidemia. *Scientific Reports* 2019; 9: 3838.
60. Jain AG, Guan J, D'souza J. *Candida parapsilosis*: An Unusual Cause of Infective Endocarditis. *Cureus* 2018;10(11): e3553.

61. Garzoni C, Nobre VA, Garbino J. *Candida parapsilosis* endocarditis: a comparative review of the literature. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26(12): 915-26.
62. Fang H, Huang L, Zhang R, Xie D, Sun H, Zeng V, et al. Recurrent arthritis caused by *Candida parapsilosis*: a case report and literature review. BMC Infectious Diseases 2019; 19:631.
63. Alastruey-Izquierdo A, Melhem MSC, Bonfietti LX, Rodriguez-Tudela JL. Susceptibility test for fungi: clinical and laboratorial correlations in medical mycology. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2015; 57(Suppl 19): 57-64.
64. Arendrup MC, Meletiadis J, Mouton JW, Lagrou K, Hamal P, Guinea J. EUCAST Definitive Document E.DEF 7.3.1- Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts.2017.http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_E_Def_7_3_1_Yeast_testing_definitive.pdf
65. Sanguinetti M, Posteraro B. New approaches for antifungal susceptibility testing. Clinical Microbiology and Infection 2017; 23: 931.
66. EUCAST Antifungal agents Breakpoint Tables for Interpretation of MICs. 2020. Version 10.0.
http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Clinical_breakpoints/Antifungal_breakpoints_v_9.0_180212.pdf
67. Johnson EM, Cavling-Arendrup M. Susceptibility Test Methods: Yeasts and Filamentous Fungi. In: Brandt ME, Johnson EM (eds): *Manual of Clinical Microbiology* Vol 2. 131.section 11.digital Ed. Washington, ASM Press, 2015, 2255-81.
68. Wayne PA. CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute). Performance standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 1st edition M60. 2017.
69. Sanguinetti M, Posteraro B. Susceptibility Testing of Fungi to Antifungal Drugs. Journal of Fungi 2018; 4: 110.
70. Hu Z, Zhang J, Chen Z, Jin Z, Leng P, Zhou J, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric identification and antifungal susceptibility analysis of *Candida* species isolated from patients with

- invasive yeast infections in five university hospitals. *Brazilian Journal of Microbiology* 2019; 50: 99–105.
71. Roberto AEM, Xavier DE, Vidal EE, Vidal CFdL, Neves RP, Lima-Neto RGd. Rapid Detection of Echinocandins Resistance by MALDI-TOF MS in *Candida parapsilosis* Complex. *Microorganisms* 2020; 8: 109.
 72. Nami S, Aghebati-Maleki A, Morovati H, Aghebati-Maleki L. Current antifungal drugs and immunotherapeutic approaches as promising strategies to treatment of fungal diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2019; 110: 857–68.
 73. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 2016; 62. DOI: 10.1093/cid/civ933
 74. Pfaller MA. Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *The American Journal of Medicine* 2012; 125: 3-13
 75. Cowen LE, Sanglard D, Howard SJ, Rogers PD, Perlin DS. Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015 ;5: a019752
 76. Warnock DW. Antifungal Agents. In: Brandt ME, Johnson EM (eds). *Manual of Clinical Microbiology* Vol 2. 129.section 11.digital Ed. Washington, ASM Press, 2015, 2223-35.
 77. Perlin DS. Mechanisms of Resistance to Antifungal Agents. In: Brandt ME, Johnson EM (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, Vol 2, 130.section, 11.digital Ed. Washington, ASM Press, 2015, 2236-54.
 78. Tripathi N, Watt K, Benjamin DK. Treatment and Prophylaxis of Invasive Candidiasis. *Semin Perinatol* 2012; 36(6): 416–23.
 79. Fernández-Ruiz M, Aguado JM, Almirante B, Lora-Pablos D, Padilla B, Puig-Asensio M, et al. Initial Use of Echinocandins Does Not Negatively Influence Outcome in *Candida parapsilosis* Bloodstream Infection: A Propensity Score Analysis. *Clinical Infectious Diseases* 2014; 58: 1413-21.
 80. Schulthess B, Brodner K, Bloemberg GV, Zbinden R, Böttger EC, Hombach M. Identification of Gram-Positive Cocci by Use of Matrix-Assisted Laser

- Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: Comparison of Different Preparation Methods and Implementation of a Practical Algorithm for Routine Diagnostics. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013; 51(6): 1834–40.
81. Sensititre YeastONE for *in vitro* diagnostic use. https://www.academia.edu/4315423/SENSITITRE_YEASTONE_For_in_vitro_Diagnostic_Use
 82. Sensititre YeastONE plate format. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/MBD/Specification-Sheets/Sensititre-YO10-Layout.pdf>
 83. Pfaller MA, Diekema DJ. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida spp.* by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. *J Clin Microbiol* 2012; 50(9): 2846–56
 84. Almirante B, Rodriguez D, Cuenca-Estrella M, Almela M, Sanchez F, Ayats J, Alonso-Tarres C, et al. Epidemiology, Risk Factors, and Prognosis of *Candida parapsilosis* Bloodstream Infections: Case-Control Population-Based Surveillance Study of Patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 2006; 44(5): 1681–85.
 85. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for antifungal susceptibility testing as recommended by EUCAST. Version 1.0, 2015. <http://www.eucast.org>. https://www.aspergillus.org.uk/sites/default/files/pictures/Lab_protocols/QC_AFST_v_1.0_2015.pdf
 86. Mesini A, Mikulska M, Giacobbe DR, Puente FD, Gandolfo N, Codda G, et al. Changing epidemiology of candidaemia: Increase in fluconazole-resistant *Candida parapsilosis*. *Mycoses* 2020; 63: 361–368.
 87. 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): 309–317. 10.1086/421946.
 88. Orasch C, Marchetti O, Garbino J, Schrenzel J, Zimmerli S, Muhlethaler K et al. *Candida* species distribution and antifungal susceptibility testing according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and new vs. old Clinical and Laboratory Standards Institute clinical breakpoints: a 6-year

- prospective candidaemia survey from the fungal infection network of Switzerland. Clin Microbiol Infect 2014; 20: 698–705.
89. Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, Fuursted K, Johansen HK, Kjældgaard P, et al. National Surveillance of Fungemia in Denmark (2004 to 2009). J Clin Microbiol 2011; 49(1): 325–34.
 90. Teo JQM, Candra SR, Lee SJY, Chia SYH, Hui Leck H, Tan AL, et al. Candidemia in a major regional tertiary referral hospital – epidemiology, practice patterns and outcomes. Antimicrobial Resistance and Infection Control. 2017; 6:27.
 91. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. Clin Microbiol Infect 2014; 20 (Suppl. 6): 5–10
 92. Faria-Ramos I, Neves-Maia J, Ricardo E, Santos-Antunes J, Silva AT, Costa-de-Oliveira S, et al. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014; 33: 2241–47
 93. Doi AM, Pignatari AC, Edmond MB, et al. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. PLoS One 2016; 11:e0146909.
 94. Medeiros MAPd, Melo APVd, Bento AdO, Souza LBFCd, Neto FdAB, Garcia JB-L, et al. Epidemiology and prognostic factors of nosocomial candidemia in Northeast Brazil: A sixtyyear retrospective study. PLoS ONE 2019; 14(8): e0221033.
 95. Braga PR, Cruz IL, Ortiz I, Barreiros G, Nouér SA, Nucci M. Secular trends of candidemia at a Brazilian tertiary care teaching hospital. Braz J Infect Dis. 2018; 22(4): 273–277.
 96. Pfaller MA, Messer SA, Jones RN and Castanheira M. Antifungal susceptibilities of *Candida*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus* from the Asia and Western Pacific region: data from the SENTRY antifungal surveillance program (2010–2012). The Journal of Antibiotics 2015; 68: 556–561
 97. Hiroshi Kayeka, Yamada K, Yanahigara K, Tateda K, Maesaki S, Takesue Y, et al. National trends in the distribution of *Candida* Species causing Candidemia

- in Japan from 2003-2014: A report by the Epidemiological Investigation Committee for Human Mycoses in Japan. *Med Mycol J.* 2018; 59(1): 19-22.
98. Hirano R, Sakamoto Y, Kitazawa J, Yamamoto S, Kayaba H. Epidemiology, practice patterns, and prognostic factors for candidemia; and characteristics of fourteen patients with breakthrough *Candida*. *Infection and Drug Resistance* 2018;11: 821–33.
 99. Xiao M, Sun Z-Y, Kang M, Guo D-W, Liao K, Chen SC-A, et al. Five-year national surveillance of invasive candidiasis: species distribution and azole susceptibility from the China Hospital Invasive Fungal Surveillance Net (CHIF-NET) study. *J Clin Microbiol* 2018; 56: e00577-18.
 100. Kullberg BJ, Verweij PE, Akova M, Arendrup MC, Bille J, Calandra T, et al. European Expert Opinion on the Management of Invasive Candidiasis in Adults. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(Suppl.5): 1–12
 101. Pulcrano G, Iula DV, Vollaro A, Tucci A, Cerullo M, Esposito M, et al. Rapid and reliable MALDI-TOF mass spectrometry identification of *Candida* non-albicans isolates from bloodstream infections. *Journal of Microbiological Methods.* 2013; 94: 262–66.
 102. Medrano DJA, Brilhante RSN, Cordeiro RA, Rocha MFG, Rabenhorst SHB, Sidrim JJC. Candidemia in A Brazilian Hospital: The Importance Of *Candida Parapsilosis*. *Rev. Inst. Med. Trop.* 2006; 48(1): 17-20.
 103. Ozlem Dogan, Yesilkaya A, Menekşe Ş, Güler Ö, Karakoc Ç, Çınar G, et al. The Effect of initial antifungal therapy mon fatality among the patients with Blood Stream Infections with different *Candida* species and resistance to antifungal agents: A multicenter observational study of the Turkish Fungal Infections Study Group. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2020.
 104. Kazak E, Akın H, Ener B, Sığırlı D, Özkan O, E. Gürcüoğlu E, et al. An investigation of *Candida* species isolated from blood cultures during 17 years in a university hospital. *Mycoses*, 2014;57: 623–29.
 105. Eliakim-Raz N, Babaoğlu R, Yahav D, Yanai S, Shaked H, Bishara J. Epidemiology, microbiology, clinical characteristics, and outcomes of candidemia in internal medicine wards—a retrospective study. *International Journal of Infectious Diseases* 2016; (52): 49–54.

106. Arikan-Akdoglu S, Gülmez D, Doğan Ö, Çerikçioğlu N, Doluca Dereli M, Birinci A, et al. First multicentre report of in vitro resistance rates in candidaemia isolates in Turkey. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2019; 18: 230–34.
107. Turk Dagi H, Findik D, Senkeles C, Arslan U. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from bloodstream infections in Konya, Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2016; 15: 36.
108. Gültekin B, Eyigör M, Tiryaki Y, Kırdar S, Aydın N. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Suşlarında Antifungal Duyarlılığın ve Bazı Virülans Faktörlerinin Araştırılması ve RAPD-PCR ile Genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(2): 306-317
109. Calgin 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.
110. Ece G. Distribution of Yeast-Like Fungi at a University Hospital in Turkey. *Jundishapur J Microbiol*. 2014; 7(12): e13141.
111. Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Rodriguez D, Almirante B, Pahissa A, Rodriguez-Tudela JL, et al. Prevalence and susceptibility profile of *Candida metapsilosis* and *Candida orthopsilosis*: Results from population-based surveillance of candidemia in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 1506-9.
112. Cantón E, Pemán J, Quindós G, et al. Prospective multicenter study of the epidemiology, molecular identification, and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* isolated from patients with candidemia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(12):5590-6.
113. Borman AM, Linton CJ, Oliver D, Palmer MD, Szekely A, Odds FC. Pyrosequencing Analysis of 20 Nucleotides of Internal Transcribed Spacer 2 Discriminates *Candida parapsilosis*, *Candida metapsilosis*, and *Candida orthopsilosis*. *J Clin Microbiol* 2009; 47(7): 2307–10.
114. Gonçalves SS, Amorim CS, Nucci M, Padovan AC, Briones MR, Melo AS, Colombo AL, et al. Prevalence rates and antifungal susceptibility profiles

- of the *Candida parapsilosis* species complex: Results from a nationwide surveillance of candidaemia in Brazil. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(7):885-7.
115. Miranda-Zapico I, Eraso E, Hernández-Almaraz JL, López-Soria LM, Carrillo-Muñoz AJ, Hernández-Molina JM, et al. Prevalence and antifungal susceptibility patterns of new cryptic species inside the species complexes *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata* among blood isolates from a Spanish tertiary hospital. *J Antimicrob Chemother.* 2011; 66(10): 2315-22.
 116. Romeo O, Delfino D, Costanzo B, Cascio A, Criseo G. Molecular characterization of Italian *Candida parapsilosis* isolates reveals the cryptic presence of the newly described species *Candida orthopsilosis* in blood cultures from newborns. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;72(3):234-238.
 117. Trabasso P, Matsuzawa T, Fagnani R, Muraosa Y, Tominaga K, Resende MR, et al. Isolation and Drug Susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu lato and other Species of *C. parapsilosis* complex from Patients with Blood Stream Infections and Proposal of a Novel LAMP Identification Method for the Species. *Mycopathologia.* 2015; 179(1-2): 53-62.
 118. Dalyan Cilo B, Ağca H, Ener B. Kan Örneklerinden İzole Edilen *Candida parapsilosis* Kompleks Suşlarının Tür Düzeyinde Tanımlanması ve Antifungal Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg* 2019; 49(2): 61-66.
 119. Yürüyen C. *Candida Parapsilosis* Kompleksine Ait Suşların Moleküler Karakterizasyonu ve Antifungal Direnç Profilinin Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İstanbul, 2016.
 120. Çakır N. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida parapsilosis* kompleks Türlerinin Dağılımlarının Belirlenmesi, Antifungal Duyarlılıklarının ve Virülans Faktörlerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, 2019.
 121. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-TOF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *J. Fungi* 2019;5: 4.
 122. Chao Q-T, Lee T-F, Teng S-H, Peng L-Y, Chen P-H, Teng L-J, et al. Comparison of the accuracy of two Conventional Phenotypic Methods and two

- MALDITOF MS Systems with That of DNA Sequencing Analysis for Correctly Identifying Clinically Encountered Yeasts. PLoS ONE 2014; 9(10): e109376.
123. Haas M, Frederic Grenouillet F, Loubersac S, Ariza B, Pepin-Puget L, Alvarez-Moreno CA. 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. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2016; 86: 385–6.
 124. Quiles-Melero I, García-Rodríguez J, Gómez-López A, Mingorance J. Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2012) 31:67–71.
 125. Aigner M, Erbeznik T, Gschwentner M, Lass-Flörl C. Etest and Sensititre YeastOne susceptibility testing of echinocandins against *Candida* species from a single center in Austria. Antimicrob Agents Chemother 2017; 61: e00512-17.
 126. García-Agudo L, García-Martos P, Martos-Cañadas J, Aznar-Marín P, Marín-Casanova P, Rodríguez-Iglesias M. Evaluation of the Sensititre YeastOne microdilution method for susceptibility testing of *Candida* species to anidulafungin, caspofungin, and micafungin. Rev Esp Quimioter 2012; 25(4): 256-60.
 127. Espinel-Ingroff A, Pfaller M, Messer SA, Knapp CC, Holliday N, Killian SB, et al. Multicenter Comparison of the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel with the NCCLS M27-A2 Reference Method for Testing New Antifungal Agents against Clinical Isolates of *Candida* spp. J Clin Microbiol 2004; 42(2): 718–21.
 128. Pfaller MA, Chaturvedi V, Diekema DJ, Ghannoum MA, Holliday NM, Killian SB, et al. Comparison of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of the echinocandins against *Candida* spp., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values unit. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2012;73: 365–8.

129. Perlin DS, Shor E, Zhao Y. Update on Antifungal Drug Resistance. *Curr Clin Micro Rpt* 2015; 2: 84–95.
130. Israel S, Amit S, Israel A, Livneh A, Nir-Paz R and Korem M. The Epidemiology and Susceptibility of Candidemia in Jerusalem, Israel. *Front. Cell. Infect. Microbiol* 2019; 9: 352.
131. Tan TY, Hsu LY, Alejandria MM, Chaiwarith R, Chinniah T, Chayakulkeeree M, et al. Antifungal susceptibility of invasive *Candida* bloodstream isolates from the Asia-Pacific region. *Medical Mycology* 2016; 54: 471–77.
132. Posteraro B, Spanu T, Fiori B, De Maio F, De Carolis E, Giaquinto A, et al. Antifungal susceptibility profiles of bloodstream yeast isolates by Sensititre YeastOne over nine years at a large Italian teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 3944 –55.
133. Chen LY, Kuo SC, Wu HS, Yang SP, Chan YJ, Chen LK, et al. Associated clinical characteristics of patients with candidemia among different *Candida* species. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2013; 46: 463e468
134. Hacıseyitoğlu D, Cag Y. An outbreak of candidemia due to *Candida parapsilosis* in an adult intensive care unit. *Le Infezioni in Medicina* 2019; 4: 403-409.
135. Hilmioğlu-Polat S, Sharifynia S, Öz Y, Aslan M, Gündoğdu N, Serin A, et al. Genetic Diversity and Antifungal Susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu stricto Isolated from Bloodstream Infections in Turkish Patients. *Mycopathologia* 2018; 183: 701–708.
136. Sütçü M, Acar M, Erköse Genç G, Kökçü İ, Aktürk H, Atay G, et al. Evaluation of *Candida* species and antifungal susceptibilities among children with invasive candidiasis. *Turk Pediatri Ars* 2017; 52: 145-53.
137. Karabıçak N, Alem N. *Candida* Türlerinin Triazol Antifungal Duyarlılık Profilleri: Antifungal Direncin Belirlenmesinde Yeni CLSI Türe Özgü Klinik Direnç Sınır Değerleri ve Epidemiyolojik Eşik Değerlerinin Uygulanması. *Mikrobiyol Bul* 2016; 50(1): 122-132.

138. Grossman NT, Pham CD, Cleveland AA, Lockhart SR. Molecular mechanisms of fluconazole resistance in *Candida parapsilosis* isolates from a U.S. surveillance system. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59:1030–37.
139. Chiotos K, Vendetti N, Zaoutis TE, Baddley J, Ostrosky-Zeichner L, Pappas P, et al. Comparative effectiveness of echinocandins versus fluconazole therapy for the treatment of adult candidaemia due to *Candida parapsilosis*: a retrospective observational cohort study of the Mycoses Study Group (MSG-12). *J Antimicrob Chemother* 2016; 71: 3536–39.
140. Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, Desnos-Ollivier D, Bretagne S, Dromer F, et al. The risk and clinical outcome of candidemia depending on underlying malignancy. *Intensive Care Med* 2017; 43: 652–62.
141. Tukenmez Tigen E, Bilgin H, Perk Gurun H, Dogru A, Ozben B, Cerikcioglu N, et al. Risk factors, characteristics, and outcomes of candidemia in an adult intensive care unit in Turkey. *American Journal of Infection Control* 2017; 45: e61-e63
142. Soldini S, Posteraro B, Vella A, De Carolis E, Borghi E, Falleni M, Losito AR, et al. Microbiologic and clinical characteristics of biofilm-forming *Candida parapsilosis* isolates associated with fungaemia and their impact on mortality. *Clinical Microbiology and Infection* 2018; 24: 771-77.
143. Yapar N, Akan M, Avkan-Oguz V, Ergon CM, Hancer M, Doluca M. Risk factors, incidence and outcome of candidemia in a Turkish intensive care unit: a five-year retrospective cohort study. *Anaesth, Pain & Intensive Care* 2014; 18(3): 265-71.
144. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, and Dunagan WC. Candidemia in a Tertiary Care Hospital: Epidemiology, Risk Factors, and Predictors of Mortality. *CID* 1992; 15: 414-21.
145. Wu P-F, Liu W-L, Hsieh M-H, Hii I-M, Lee Y-L, Lin Y-T, et al. Epidemiology and antifungal susceptibility of candidemia isolates of non-albicans *Candida* species from cancer patients. *Emerging Microbes & Infections* 2017; 6: e87.
146. Lin CC, Liu CP, Hsieh FC, Lee CM, Wang WS. Antimicrobial susceptibility and clinical outcomes of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in a

tertiary teaching hospital in Northern Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2015; 48: 552e558.

