



**T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***CANDIDA PARAPSILOSIS* KOMPLEKSİNE AİT SUŞLARIN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE ANTİFUNGAL DİRENÇ
PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Caner YÜRÜYEN

Tez Danışmanı

Prof. Dr.Gülden ÇELİK

İstanbul-2016



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

***CANDIDA PARAPSILOSIS* KOMPLEKSİNE AİT SUŞLARIN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE ANTİFUNGAL DİRENÇ
PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Caner YÜRÜYEN

Tez Danışmanı

Prof. Dr.Gülden ÇELİK

İstanbul-2016

ÖNSÖZ

Tıpta uzmanlık eğitimim boyunca akademik bir çalışma ortamı sunan Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Uzmanlık eğitimim boyunca meslek etiği ve pratiğine dair kendisinden çok şey öğrendiğim, tez hazırlama sürecinde her zaman yanımda olan, emeğini ve zamanını esirgemeyen, bilgi, görüş ve deneyimleri ile bana ışık tutan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülden Çelik'e,

Mikrobiyolojiyi ve mikolojiyi bana sevdiren, hiçbir konuda yardımlarını benden esirgemeyen, tezimin oluşup gelişmesinde büyük payı olan değerli hocam Prof. Dr. Zayre Erturan'a,

Kendisiyle çalışma fırsatı bulmaktan onur duyduğum, bilgi ve deneyimini örnek almaya çalıştığım Sayın Prof. Dr. Arif Kaygusuz'a,

Tez çalışması sırasında önerileri ile bana yol gösteren, özellikle deneyin dizileme aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Kenan Midilli ve Uz. Dr. Mert Kuşkucu'ya,

Tıpta uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca ideal bir çalışma ortamı sunan, her fırsatta laboratuvar tecrübesinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. Yeşim Gürol'a,

Tez çalışması için gerekli olan referans suşları sağlayan Sayın Prof.Dr. Faruk Aydın ve Sayın Prof.Dr. Hossein Mirhendi'ye,

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve tanımaktan büyük mutluluk duyduğum tüm doktor, biyolog ve teknisyen arkadaşlarıma,

YetiŒmemde büyük emekleri olan, hayatım boyunca iyi ve kötü günümde hep yanımda olan, desteklerini esirgemeyen değerli eŒime ve aileme,
en içten duygularıyla teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr.Caner Yürüyen



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	IV
İÇİNDEKİLER	VI
KISALTMALAR	VIII
ŞEKİLLER	IX
TABLolar	X
ÖZET	XI
SUMMARY	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	4
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Taksonomi.....	5
2.2. Fenotipik özellikler ve identifikasyon.....	5
2.3. Epidemiyoloji.....	10
2.4. Moleküler epidemiyoloji	11
2.5. Klinik özellikleri	12
2.6. Patojenite ve virulans özellikleri	13
2.7 Antifungal duyarlılık	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1 Suşların seçilmesi	19
3.2 DNA izolasyonu ve PCR	20
3.3 Restriksiyon ve elektroforez	21
3.4 Antifungal duyarlılık deneyinin uygulanması	22

3.5 Dizileme ve filogenetik ağaç oluşturulması	23
4. BULGULAR	24
4.1 <i>Candida parapsilosis</i> kompleks suşlarının identifikasyon sonuçları	24
4.2 <i>Candida parapsilosis</i> kompleks suşlarının antifungal duyarlılık sonuçları	24
4.3 Dizileme sonuçları	26
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
7. KAYNAKLAR	33
8. EKLER	44
8.1 Özgeçmiş	44
8.2 Etik kurul kararı	45

KISALTMALAR

AFLP: Amplified fragment length polymorphism

ATCC: American type culture collection

BLAST: Basic local alignment search tool

CECT: İspanyol Kùltür Koleksiyonu

CLSI: Clinical and laboratory standarts institute

DBD : Doza bağlı duyarlı

Dİ : Dirençli

DNA: Deoksiribonùkleik asit

DU: Duyarlı

EPIC: Exon-primed Intron-crossing

EUCAST: European committee on antimicrobial susceptibility testing

ITS: Internal transcribed spacer

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon

OD: Orta duyarlı

PCR: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)

RAPD: Random amplified polymorphic DNA

RFLP: Restriction fragment length polymorphism

SADH: Sekonder alkol dehidrojenaz

SDA: Sabouraud dekstrozu agar

ŞEKİLLER

Sayfa No

- Şekil 2.1:** *C.parapsilosis*'in oda sıcaklığında 24-48 saat inkübasyonundan sonra mısır-unlu agarda gözlenen hafif olarak eğrilen ve septalarında blastokonidyum kümeleri görülen psödohifler7
- Şekil 2.2:** Dünya'da 1991'den 2008'e kadar kan örneklerinden izole edilen toplam 18454 *Candida* türünün dağılım oranları.....10
- Şekil 3.1:** 716 baz çiftlik ürünün BanI restriksiyon enzimi ile restriksiyondan sonra oluşan patternler. Soldan sağa 100 baz çiftlik ladder, *C.orthopsilosis*, *C.parapsilosis* sensu stricto , *C.metapsilosis* (60 bp'lik son band gözüküyor).....21
- Şekil 4.1:** 21,23,81 ve 2 numaralı suşların referans suşlarla (2 adet *C.parapsilosis* ATCC 22019 , *C.metapsilosis* J 96/0161 ve *C.orthopsilosis* J 98/226) ITS bölgesi dizileme sonuçlarına göre Neighbor-Joining yöntemi kullanılarak filogenetik ağaçta oluşturdukları kümelene.....26

TABLULAR

Sayfa No

Tablo 2.1: <i>Candida parapsilosis</i> kompleksin değişik karbonhidratları asimilasyon ve fermentasyon yeteneği.....	8
Tablo 2.2: <i>Candida parapsilosis</i> kompleksin diğer fenotipik özellikleri.....	9
Tablo 2.3: <i>C.parapsilosis</i> için EUCAST versiyon 8.0 MİK eşik değerleri.....	18
Tablo 2.4: <i>C.parapsilosis</i> için CLSI 2008 ve 2012 MİK eşik değerleri.....	18
Tablo 3.1: <i>C.parapsilosis</i> suşlarının örneklere göre dağılımı.....	19
Tablo 3.2: Amplifikasyon karışımı.....	20
Tablo 3.3: PCR'in döngü özellikleri.....	21
Tablo 3.4: Vitek 2™ AST-YS06 kart içeriği.....	22
Tablo 4.1: 94 <i>C.parapsilosis</i> sensu stricto suşu arasında aynı MİK profiline sahip suşlar, bunların toplam içindeki yüzdesi ve MİK değerleri (µg/ml).....	24
Tablo 4.2: Deneyde kullanılan antifungallere karşı direnç izlenen suşlar ve ölçülen MİK değerleri (µg/ml).....	25
Tablo 5.1: <i>C.parapsilosis</i> kompleksi içerisinde yer alan türlerin dağılımını inceleyen araştırmaların sonuçları.....	28
Tablo 5.2: : <i>C.parapsilosis</i> için sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Vitek 2 ile yapılan duyarlılık sonuçlarının karşılaştırıldığı araştırmalar.....	31

ÖZET

***Candida parapsilosis* kompleksine ait suşlarının moleküler karakterizasyonu ve antifungal direnç profilinin belirlenmesi**

Amaç: Bu projenin amacı mayaların sebep olduğu sistemik mikozlarda en sık görülen etkenler arasında yer alan *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının moleküler karakterizasyonu ile tür ayrımının yapılması ve bu türlerin antifungal duyarlılıklarının belirlenmesidir.

Gereç ve yöntemler: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi ve Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarına 2009-2015 yılları arasında gönderilen klinik örneklerden izolen edilen ve bioMérieux ID 32C veya Vitek 2™ YST maya identifikasyon sistemleri ile *Candida parapsilosis* kompleks olarak tanımlanan 95 suş çalışmaya dahil edilmiştir. Moleküler karakterizasyon SADH gen bölgesinin PCR-RFLP yöntemi ile incelenmesi ile sağlanmıştır. İdentifikasyon aşamasında problem yaşanan ya da identifikasyonundan şüphe edilen suşlara ve referans suşlara ITS bölgesi dizilemesi uygulanmıştır. Antifungal duyarlılık deneyi Vitek 2™ AST-YS06 kitleri yapılmıştır.

Bulgular: Çalışılan 95 suşun 94 tanesi *C.parapsilosis* sensu stricto olarak saptanırken sadece bir tanesi *C.orthopsilosis* olarak saptanmıştır. *C.orthopsilosis*'in identifikasyonu deneyde kullanılan yöntemle elde edilemediği için identifikasyon dizileme ile sağlanmıştır. *C.orthopsilosis* denen en antifungallerin tamamına duyarlı saptanırken, *C.parapsilosis* sensu stricto'lar arasında bir suş amfoterisin B'ye, bir suş flukonazole, bir diğeri ise hem flukonazole hem de vorikonazole dirençli saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmada sadece bir *C.orthopsilosis* saptanması ve hiç *C.metapsilosis* saptanmaması bu türlerin nadir rastlanan türler olduğunu göstermektedir. *C.orthopsilosis*'in identifikasyonunda, PCR-RFLP yönteminin yetersiz kalması bu yöntemin daha çok suşla test edilmesi gerekliliğini göstermektedir. *C.parapsilosis* sensu stricto dışında kalan türlerin sayıları yetersiz olduğundan antifungal duyarlılık açısından karşılaştırma yapılamamıştır. Bununla birlikte *C.parapsilosis* sensu stricto'lar arasında flukonazol ve amfoterisin-B'ye karşı dirençli suşların varlığı antifungal direnç konusunda dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir. Bu türlerin identifikasyonu için genetik yöntemler kullanılarak yapılan çalışmaların rutin laboratuvar şartlarında anlamı tartışmalıdır. Yine de bu üç türün izolasyon

oranları ve antifungal duyarlılıkları epidemiyolojik açıdan türlerin gösterdiği değişikleri takip edebilmek adına izlenmelidir.



ABSTRACT

Molecular characterization of isolates belonging to *Candida parapsilosis* species complex and determination of their antifungal resistance profiles

Objective: This project's objective was to differentiate among species of *Candida parapsilosis* complex, which is one of the leading causes of systemic mycoses, through molecular characterization and was to determine their antifungal resistance pattern.

Materials and Methods: The 95 isolates, which were identified as *Candida parapsilosis* complex with bioMérieux ID 32C and Vitek 2™ YST yeast identification systems in clinical laboratories of İstanbul University İstanbul Medical Faculty and Yeditepe University Medical Faculty between 2009-2015, were included in this project. Molecular characterization was achieved with PCR-RFLP method of SADH gene region of isolates. Isolates whose experiment was not successful or isolates whose identifications were doubtful were checked with ITS region sequencing along with type strains. Antifungal susceptibility testing was done with Vitek 2™ AST-YS06 card.

Results: Out of 95 isolates 94 were identified as *Candida parapsilosis* sensu stricto and only one isolate was identified as *C.orthopsilosis* and it was achieved through sequencing as PCR-RFLP method didnt yield any result. *C.orthopsilosis* was susceptible against all tested antifungal agents. One isolate among *C.parapsilosis* sensu stricto isolates was found resistant to amphotericin B, one to fluconazole and another one to both fluconazole and voriconazole.

Conclusions: Isolation rates of *C.orthopsilosis* and *C.metapsilosis* in this study shows that they are rare species. Due to the fact that PCR-RFLP was unsuccessful in identifying *C.orthopsilosis* more studies with this method and more isolates should be conducted. Unfortunately it was not possible to compare antifungal susceptibility patterns of different species given their isolation rates. However, resistance against fluconazole and amphotericin B among *C.parapsilosis* sensu stricto isolates shows the need to be careful about antifungal susceptibility. As a result it can be stated doing molecular identification tests for these species in a routine laboratory practice becomes arguable. Nevertheless following their isolation rates and antifungal resistance patterns holds its value for epidemiologic purposes.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Mantar kaynaklı enfeksiyon hastalıkları 1980'lerden beri özellikle bağışıklık sistem bozukluğu olan bireylerde giderek artmaktadır ¹. Geniş sprektrumlu antibiyotiklerin giderek artan biçimde kullanılması, sitotoksik kemoterapi uygulamaları ve sayısı artan organ nakilli hastalarda bozulan doğal ve hücresele bağışıklık sistemleri yüzünden mantar enfeksiyonu riski yükselmiştir ¹.

Fırsatçı mantarların sayısı her geçen yıl artsa da halen insanlarda en sık hastalık oluşturan cins *Candida*'dır. İnvazif kandidiyazis, bağışıklık sistem bozukluğu olan bireylerin yanı sıra mukozal kolonizasyonu olan, kateter kullanılan, total parenteral olarak beslenen ve gastrointestinal sistem cerrahisi geçiren, kronik böbrek yetmezliği sebebiyle diyalize giren ve uç yaş gruplarında olan farklı risk faktörlerine sahip hasta gruplarında da giderek artan sayıda karşımıza çıkmaktadır ¹.

Candida cinsinin neden olduğu dolaşım yolu enfeksiyonları hastanede kalış süresini uzatan, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip enfeksiyonlardır ^{2,3}. Bu enfeksiyonlar Amerika Birleşik Devletleri'nde hastane kaynaklı dolaşım yolu enfeksiyonları içinde dördüncü sırada yer almaktadırlar ^{4,3,5}. Etken olan *Candida* türleri içinde *C.albicans* dışı türlerin payı artmaktadır. Dünyanın birçok ülkesinde *Candida parapsilosis* kompleks kan kültürlerinden en sık izole edilen *C.albicans* dışı tür haline gelmiştir ³⁻⁶.

Candida parapsilosis kompleksin izolasyon sıklığının artması bir tesadüf değildir. İnsan cildinde komensal olarak bulunan bu tür, hastane ortamında enfeksiyon kontrol kurallarına uyulmadığı takdirde çok rahat bir biçimde yayılmaktadır. Total parenteral beslenme sıvılarında çoğalabilmekte, kateter ve girimşel tıpta kullanılan diğer aletlerin üzerinde biyofilm oluşturmakta ve böylece duyarlı birçok kişiyi kolaylıkla enfekte etmektedir ⁴. Bu durumdan özellikle başta yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde tedavisi yapılan bebekler olmak üzere genel durumu zaten iyi olmayan hasta grupları etkilenmektedir ^{2,7}.

Her ne kadar daha önceden genetik çeşitliliği bilinse de *C.parapsilosis*, 2005 yılına kadar bünyesinde fenotipik olarak birbirinden ayıramayan alt türleri(grupları) barındıran bir tür kompleksi olarak kabul edilmiştir. Tavanti ve ark.'nın 2005 yılında yaptığı genetik çalışmalar sonucu bu tür kompleksi üç farklı türe ayrılmıştır; *C.parapsilosis sensu stricto*, *C.metapsilosis* ve *C.othropsilosis* ⁸. Bu üç tür birbirinden ayrıldıktan sonra türlerin epidemiyolojisi, virulans özellikleri, antifungal direnç özellikleri ve izolasyon sıklıkları ile

ilişkin çok sayıda makale yazılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucu *C.parapsilosis* sensu stricto'nun üç kardeş tür içinde en sık rastlanana olduğu ve bu türler arasında virulans ve antifungal direnç açısından anlamlı farklar olabileceği anlaşılmıştır. Ayrıca tür dağılımının coğrafi faktörlerden etkilendiği gösterilmiştir^{9,10,11,12,13,14,15}.

Bu çalışmanın amacı ülkemiz coğrafyasında izole edilen *C.parapsilosis* kompleksine ait türlerin genetik yöntemlerle dağılım oranlarını ortaya koymak ve aralarında tedaviyi etkileyebilecek antifungal direnç farkı olup olmadığını göstermektir. Böylece ülkemiz açısından kandidemilerin *C. albicans* dışı en önemli etkeni olan bu tür hakkında epidemiyolojik bilgi elde edilmiş olurken profilaktik ya da ampirik antifungal tedavi için oluşturulabilecek bir rehber katkı sağlamış olacaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Taksonomi

Bünyesinde yaklaşık 200 kadar farklı tür barındıran *Candida* cinsi, mantarlar alemi içinde yer alan ascomycota bölümüne ait Saccharomycetales takımına bağlı bir cinstir. Filogenetik çalışmalar *Candida* cinsine bağlı birçok türün aslında morfolojik olarak birbirinden ayrılamayan ve filogenetik açıdan yakın olan türler içeren tür kompleksleri olduğunu ortaya koymuştur¹⁶. *Candida parapsilosis* de içinde üç farklı grup olan bir tür kompleksi olarak kabul edilmekte iken, Tavanti ve ark.'ının genotipik yöntemlerle yaptıkları çalışmada bu tür kompleksini oluşturan grupların bağımsız birer tür olarak kabul edilebilecek kadar birbirinden farklı olduklarını ispatlamışlardır⁸. Böylece yeni kabul edilen türler grup I için *Candida parapsilosis*(sensu stricto), grup II için *Candida orthopsilosis*, grup III için *Candida metapsilosis* olarak adlandırılmışlardır⁸.

2.2. Fenotipik özellikler ve identifikasyon

Candida parapsilosis komplekse ait türler beyaz-krem rengi, üzerileri düzgün kimi zaman dantelimsi bir görünüm sergileyen koloniler oluştururlar^{17 18}. Rutin primer besiyerinde maya hücreleri oval şekildedir (2,5-4 X 3-8 µm)¹⁸. Tomurcuklanan(blastokonidiya oluşturan) bu hücreler özellikle antimikrobiyal bir maddeye maruz kaldıklarında pleomorfik şekillerde izlenebilirler¹⁶. Mısır-unlu besiyerinde oda sıcaklığında 72 saatte blastokonidiya tek ya da küçük gruplar halinde pseudohifler boyunca izlenebilirler (şekil 2.1)^{16,18}. Göreceli olarak kısa olan bu psedohifler eğri büğrü yapıları ile göze çarparlar. Bu türde dev hücreler olarak adlandırılan büyük hif elemanları görülebilmektedir¹⁸.



Şekil 2.1: C.parapsilosis'in oda sıcaklığında 24-48 saat inkübasyonundan sonra mısır-unlu agarda gözlenen hafif olarak eğrilen ve septalarında blastokonidyum kümeleri görülen psödohifler ¹⁶

Mayaların kesin tür tayini için, çoğu kez biyokimyasal özelliklerini değerlendirebilecek testler uygulanarak manuel veya otomatize cihazlarla okunmaktadır. Oksijen varlığında, belirli bir karbonhidratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneğini ölçen karbonhidrat asimilasyon testleri, mayaların identifikasyonunda kullanılan esas yöntemdir ¹⁶. Karbonhidrat asimilasyon testlerini kullanan çok sayıda ticari kit mevcuttur. Asimilasyon testleri dışında değişik karbonhidratları fermentasyon yeteneği, üreaz veya fenol oksidaz gibi değişik enzimleri üretebilme yeteneği, %0.1 sikloheksimid varlığında üreyebilme özelliği gibi farklı fenotipik özelliklerin değerlendirilmesi identifikasyona yardımcı olmaktadır. Fenotipik yöntemler türler arasında ve içinde mevcut olan varyasyonlar yüzünden kimi zaman yetersiz olsalar da günlük rutin mikrobiyoloji laboratuvarları için önemli bir yere sahiptirler.

Candida parapsilosis kompleksine ait bazı fenotipik özellikler tablo 2.1 ve 2.2 'de gösterilmiştir ^{16,18}

Tablo 2.1: *Candida parapsilosis* kompleksin değişik karbonhidratları asimilasyon ve fermentasyon yeteneği ^{16,17}

Asimilasyon				Fermentasyon	
Glukoz	+	Eritritol	-	Glukoz	+
Maltoz	+	Ribitol	+,y	Maltoz	-
Sukroz	+	Galaktitol	-	Sukroz	-
Laktoz	-	D-Mannitol	+	Laktoz	-
D-Glukonat	+,y	D-Glucitol	+	Galaktoz	-
DL-Laktat	-	Sorboz	+,y	Trehaloz	-
2-K-D-Glukonat	+	Melezitoz	+	Laktoz	-
D-Glukuronat	-	L-Arabinoz	+	Galaktoz	-
Galaktoz	+	D-Arabinoz	-	Trehaloz	-
Melibiyoz	-	D-Riboz	d		
Sellobiyoz	-	L-Ramnoz	-		
N-A-D-Glukozamin	+	Çözünebilen nişasta	-		
α-M-D-Glukozid	+	Raffinoz	-		
Inositol	-	Trehaloz	+		
D-Ksiloz	+	D-Glukozamin	d		
Dulcitol	-	Gliserol	+		

+ Pozitif, - Negatif, d Değişken, y Yavaş

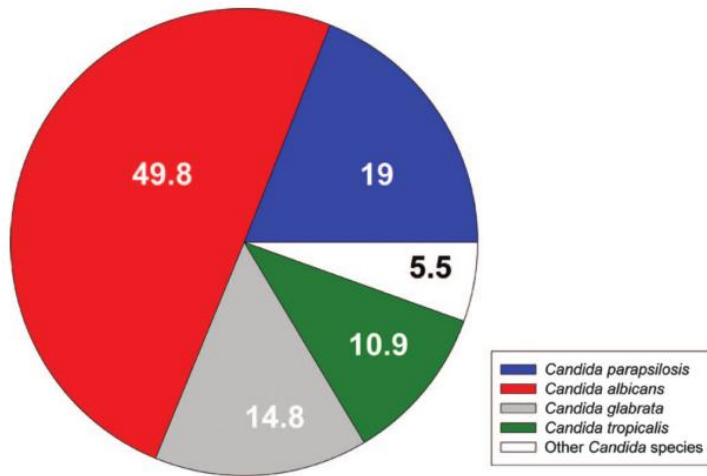
Tablo 2.2: *Candida parapsilosis* kompleksin diğer fenotipik özellikleri ^{16,17}

Germ tube oluşumu	-
37°C'de üreme	+
Kapsül, çini mürekkebi ile boyanma	-
Klamidospor oluşumu	-
Yalancı veya gerçek hif oluşturma	+
Sıvı besiyerinde zar oluşturma	-
Üreaz	-
KNO ₃ kullanımı	-
Fenol oksidaz	-
Askospor oluşumu	-
%0.1 Sikloheksimid varlığında üreme	-

+ Pozitif, - Negatif

2.3. Epidemiyoloji

Sağlıklı kişilerin florasında bulanabilen *Candida parapsilosis* kompleks ilk defa 1928 yılında tanımlanmıştır¹⁹. Bu mantar 1990'lara dek klinik olarak önemi çok az olan patojenitesi düşük bir tür olarak kabul edilmekle birlikte, günümüzde hastanede yatan hastalarda *C.albicans*'ın ardından izole edilen en sık ikinci tür haline gelmiştir⁴. Artemis Disk antifungal surveyans çalışmasının sonuçlarına göre *Candida parapsilosis* kompleks , tüm vücut bölgelerinden izole edilen ve patojen kabul edilen *Candida* suşları içinde dünya genelinde %6.6 ile en sık dördüncü etken olmuştur⁵. Aynı çalışmada ülkemizde izolasyon sıklığı %7.8 olarak belirlenmiştir⁵. Çalışmada dermatoloji servisi, izolasyon oranı en yüksek servis olurken yenidoğan bakım ünitelerindeki yüksek izolasyon oranları da dikkat çekmekte ve diğer çalışmalarla uyum içindedir^{5,7,20}. *Candida parapsilosis* kompleks, en sık olarak kan ve cilt-yumuşak doku örneklerinden izole edilmiş ve farklı servisler arasında antifungal duyarlılık anlamında fark görülmemiştir⁵. Ülkemizde Ece ve ark.'ının Ege bölgesinde yaptıkları çalışmada *Candida parapsilosis* kompleks %28.4'lük oranı ile en sık izole edilen ikinci *Candida* türü olmuştur²¹.



Şekil 2.2 : Dünya'da 1991'den 2008'e kadar kan örneklerinden izole edilen toplam 18454 *Candida* türünün dağılım oranları⁴

Candida parapsilosis kompleks, doğal çevrede bolca bulunan bir mayadır. Hastane ortamında cansız yüzeylerde bulunabilmesi ile diğer *Candida* türlerinden ayrılır³. *Candida parapsilosis* enfeksiyonlarının çoğunun dış kaynaklı (eksojen) olması bu bulguyu desteklemektedir. Sağlık çalışanlarının tırnak altı boşluklarını kolonize edebiliyor olması özellikle hastane enfeksiyon kontrol kurallarına dikkat edilmediğinde *C.parapsilosis*

enfeksiyonunun hastanede yayılımını kolaylaştırmaktadır²². Hastane ortamında yayılan *C.parapsilosis* hiperalimentasyon solüsyonlarını, intravasküler cihazları, oftalmik yıkama solüsyonlarını kontamine etmekte ve cansız yüzeylerde biyofilm oluşturabilme yeteneği sayesinde daha kolay enfeksiyona sebep olmaktadır. Yaygın ve uygunsuz antifungal kullanımı, el hijyenine dikkate edilmemesi, kateter bakımına yeteri kadar özen gösterilmemesi ciddi hastalığı olan duyarlı bireylerde özellikle yoğun bakım şartlarında salgınlar oluşmasına yol açmıştır⁵. *C.parapsilosis* fungemisi ile ilişkili olan risk faktörleri yenidoğan yaş grubu, organ nakledilmiş olma, antifungal kullanımı ve parenteral beslenme olarak sıralanabilir²⁰. Bu tür ile oluşan invazif enfeksiyonların mortalite oranı %30 ile *C.albicans* ve diğer sık rastlanan *Candida* türlerinin gerisinde kalsa da artan izolasyon sıklığı daha etkin önlemler alınması gerekliliğini göstermektedir^{3,4,23}.

2.4. Moleküler Epidemiyoloji

İzoenzim analizi, Deoksiribonükleik asit'in (DNA) internal transcribed space(ITS) bölgesinin dizilenmesi, Random amplified polymorphic DNA (RAPD) profillemesi, Restriction fragment length polymorphism (RFLP) tiplendirme, multilokus enzim elektroforezi ve multilokus dizi tiplemesi ile *Candida parapsilosis* kompleks'in üç farklı genetik gruptan oluştuğu gösterilmiştir^{8,24,25}. Tavanti ve ark.'ı 2005 yılında kendi bulgularını ve diğer literatur bilgisini dikkate alarak bu grupların yeni birer tür olarak kabul edilmesini önermişlerdir⁸. Buna göre *C.parapsilosis* sensu stricto ya da sadece *C.parapsilosis*, *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis* olarak kabul edilen türler ile ilgili takip eden yıllarda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalarda *C.parapsilosis* sensu stricto'yu oluşturan suşların diğer iki türe göre oldukça klonal bir yapıya sahip oldukları farkedilmiş ve bu yüzden bu türün görece daha yeni bir tür olduğu sonucuna varılmıştır^{8,24}. *C.orthopsilosis*'in genetik popülasyon yapısının oluşumunda hem klonal çoğalmanın hem de rekombinasyonun rol aldığı ve *C.orthopsilosis* suşlarının genetik açıdan daha heterojen bir yapıya sahip oldukları gösterilmiştir²⁶. Mitokondriyal DNA dizilemesi yöntemi ile *C.metapsilosis*'in ortak bir atadan *C.orthopsilosis* ve *C.parapsilosis* sensu stricto ayrılmadan önce oluştuğu, daha eski bir tür olduğu ve insan vücudu yerine çevre şartlarına daha iyi adapte olduğu sonucuna varılmıştır^{8,3,27}.

C.parapsilosis kompleksi oluşturan türler birbirinden ayrıldıktan sonra epidemiyolojik çalışmalar yeniden gözden geçirilmiş ve yeni türleri dikkate alan yeni çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar ve elde edilen sonuçlarla ilgili detaylı bilgi bu tezin tartışma kısmında verilecektir.

2.5. Klinik Özellikleri

Candida parapsilosis kompleks, onikomikoz gibi yüzeysel enfeksiyonlardan endokardit gibi invazif sistemik enfeksiyonlara kadar uzanan geniş bir yelpazede hastalık oluşturabilmektedir.

Fungemi

Epidemiyoloji bölümünde bahsettiğimiz gibi *C.parapsilosis* kompleks, *C.albicans*'ın ardından en sık fungemi etkeni olan tür haline gelmiştir. *C.albicans*'ın aksine *C.parapsilosis* enfeksiyonları genelde eksojen kaynaklıdır. Genellikle enfeksiyon öncesi kolonizasyon görülmemektedir^{3,20}. Çok sayıda araştırma *C.parapsilosis* kompleks içinde yer alan türlerin farklı yaş gruplarında fungemi etkeni olabileceklerini, *C.parapsilosis* kompleksin özellikle yenidoğan yaş grubunda *C.albicans*'ın önüne geçerek baskın tür haline geldiğini, türler arasında en sık *C.parapsilosis* sensu stricto izole edilirken en az oranda *C.metapsilosis*'in izole edildiğini ortaya koymuştur^{2,7,20,28-31}. Fungemi oluşmasında etkili olan risk faktörlerinin farklı *C.parapsilosis* kompleks türleri için farklı olabileceği ve *C.orthopsilosis*'in daha çok bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde etken olduğu öne sürülmüştür³⁰.

Endokardit

C.parapsilosis kompleks *C.albicans*'dan sonra en sık ikinci fungal endokardit etkenidir³². *C.parapsilosis* endokarditi için en sık ratlanan üç risk faktörü prostetik kalp kapakçıkları, intravenöz madde kullanımı ve intravenöz parenteral beslenmedir³². Aort kapağı en sık etkilenen kapaktır³. Tedavisi güçtür ve ölümcül olabilen komplikasyonları önlemek adına uzun süreli tedavi ve cerrahi gerekebilmektedir^{3,4,32}.

Peritonit

Özellikle periton diyalizi uygulanan hastalarda diyalizattaki yüksek glukoz konantrasyonu ve diyaliz kateteri bu hastaları *C.parapsilosis* kompleks türleri için uygun bir hedef haline getirmiştir^{3,4}. Bu hastalarda *C.parapsilosis* kompleks türlerine bağlı peritonitin prognozunun kötü olması diğer *Candida* türlerine göre daha yoğun bir antifungal terapi gerektirmesine neden olmaktadır^{3,4}.

Artrit

C.parapsilosis'e bağlı artrit ender görülen bir hastalıktır ve daha çok eklem protezleri ile ilişkilidir. Protez uygulanması ile ilişki *C.parapsilosis* enfeksiyonu, *C.parapsilosis* kompleksin cansız yüzeyle adhezyon kabiliyetinden kaynaklanmaktadır^{3,4}.

Pankreatit, endoftalmit, menenjit gibi invazif sistemik enfeksiyonlar çok daha az sıklıkla olmakla birlikte bildirilmektedir^{3,4}.

Yüzeyel ve mukozal enfeksiyonları

C.parapsilosis kompleks türleri onikomikoz oluşturan *Candida* türleri arasında *C.albicans*'dan sonra en sık izole edilen türlerdir. *C.parapsilosis* kompleks tırnak altı boşluğundaki mikrofloranın bir yesi olduğundan gerçekten hastalık etkeni olup olmadığı zaman zaman tartışılmakla birlikte özellikle distal tırnak mikozlarında etken olarak tanımlandığı yayınlar mevcuttur^{3,4}. Daha önce geçirilmiş travmaya bağlı oluşmuş distrofik tırnak ve toprak ile yakın temas onikomikoz açısından risk faktörleri olarak kabul edilmektedir³³. *C.parapsilosis* , yüzeyel enfeksiyonlar arasında onikomikoz dışında kulak mikozlarından da sorumlu tutulmuştur^{4,34}.

C.parapsilosis kompleksi oluşturan her üç tür de oral kavite mukozal yüzeyinden izole edilmiřtir³⁵. Bununla birlikte en sık oluşturduğu mukozal enfeksiyon vajinittir. Yine de *C.parapsilosis* komplekse bağlı vajinit sık rastlanan bir enfeksiyon değildir^{3,4}. *C.parapsilosis* kompleksi oluşturan her üç tür de vajinit etkeni olabilmektedir³⁶. Ender olarak üriner sistem enfeksiyonu etkeni olan *C.parapsilosis* kompleks türleri daha çok kateter ile ilişkili enfeksiyonlarda etken olarak bulunmuşlardır^{3,4}.

2.6. Patojenite ve Virulans zellikleri

Candida parapsilosis kompleks günümüzün en önemli hastane kaynaklı enfeksiyon etkenlerinden biri haline gelmiştir. Bu mantar fungemi, endokardit, septik artrit, endoftalmit, peritonit, pankreatit ve menenjit gibi yüksek morbidite ve mortalite oranları ile seyreden hastalıklara sebep olmaktadır⁴. Bu virulans özelliği birçok faktöre bağlıdır. Bunlar hidrolitik enzim üretimi, hemolizin aktivitesi, katalaz üretimi, pseudohif oluşumu, cansız yüzeyle adhezyon ve biyofilm oluşturma yeteneği, hücre yüzeyinde çok fonksiyonlu karbonhidrat birimleri barındırma ve hücre yüzey hidrofobitesisi olarak sayılabilir. *C.parapsilosis* kompleksine ait türlerin kesin olarak tanımlandığı 2005 yılından beri türlerin virulansı ile

ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların önemli olanlarından kısaca bahsedilmesi türlerle ait virulans özelliklerinin anlaşılması açısından önem taşımaktadır.

Trevino-Rangel ve ark.'nın yaptıkları çalışmada her üç tür için ikişer suş kullanarak suşların in vivo patojeniteleri karşılaştırılmıştır. Deney, farelerin kullanıldığı hayvan deneyi modeli ile yapılmıştır. Patojenitede rolu olduğu düşünülen aspartil proteinaz, esteraz, fosfolipaz ve hemolizin aktiviteleri ölçülmüştür. Bu ölçümlerde in vitro koşullarda önemli farklar tespit edilmiş olsa da deney hayvanının dokusundaki fungal yük hesaplanarak yapılan in vivo deney sonuçlarında türler arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu yüzden Trevino-Rangel ve ark.'ı bu üç türün patojenik potansiyelinin immun-kompetan bireylerde farksız olduğu sonucuna varmışlardır³⁷.

Nemeth ve ark.'ı *C.parapsilosis* kompleks türlerini pseudohif oluşumu, ekstraselüler lipaz ve proteinaz üretimi açısından incelemişlerdir. Türler aynı zamanda makrofaj tarafından öldürülmeye direnç, makrofaja zarar verebilme kabiliyeti ve *G.mellonella* larvasında ölümcül enfeksiyon oluşturabilme potansiyeli açısından incelenmişlerdir. *C.parapsilosis* sensu stricto türü hem makrofaj tarafından öldürülmeye en dirençli hem de en sitotoksik tür olarak saptanmıştır. Lipaz ve pseudohif üretiminin öldürülmeye direnç gelişiminde önemli olduğu tespit edilmiştir. Tüm patojenite faktörleri birlikte değerlendirildiğinde grubun en az virulan türünün *C.metapsilosis* olduğu ve virulans konusunda suş bazında ciddi varyasyon olduğu tespit edilmiştir³⁸.

Bertini ve ark.'ı *C.parapsilosis* kompleks türlerini bukkal epitele adhezyon özellikleri, fosfotazın adhezyona etkisi ve in vivo hayvan deneyi ile oluşturulan vajinal kandidiyazisteki patojenik potansiyelleri açısından karşılaştırmıştır. Her ne kadar adhezyon kapasitesi suşa bağımlı olsa da genel olarak en yüksek adhezyon gösteren *C. parapsilosis* sensu stricto olurken en düşük adhezyon gösteren *C.metapsilosis* olmuştur. Adhezyon yeteneği ile fosfataz seviyeleri arasında bir bağ kurulamamıştır. Her üç türün de vajinit yapabildiği gösterilmiş ancak *C.metapsilosis*'in aralarında en az patojen tür olduğu belirlenmiştir³⁹.

Abi-chacra ve ark.'ı *C.parapsilosis* kompleks türlerinin hidrolitik enzim üretimini, hemolitik aktivitelerini, katalaz üretimini, hücre yüzeyi karbonhidrat ünitelerini, hücre yüzeyi hidrofobisitesini, cansız yüzeylere yapışabilme yeteneğini, biyofilm oluşturma kabiliyetini araştırmışlardır. Bu çalışmada yer alan suşların çoğunun fitaz ve esteraz , tamamının proteaz ve katalaz ürettiği ve tamamının zayıf hemolitik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Tüm suşların hücre yüzeyinde multifonksiyonal karbonhidrat birimleri saptanmış ve tüm suşlarda

artmış hücre yüzey hidrofobisitesi görülmüştür. Filamentasyonun cansız yüzeylere adhezyon ile pozitif korrelasyon içinde olduğu tespit edilmiş ve adhezyonda suşa bağlı varyasyon görülmüştür. Tüm türler benzer morfolojik yapıda biyofilm oluşturmuşlardır⁴⁰.

Trevino-Rangel ve ark.'nın yaptıkları başka bir çalışmada in vitro koşullarda üç türün aspartil proteinaz, fosfolipaz, esteraz ve hemolizin aktiviteleri ölçülmüştür. Tüm enzimler tüm türlerde değişik oranlarda var olmakla birlikte aspartil proteinaz üreten suş oranı çok düşük(%17) bulunmuş, *C.orthopsilosis* suşlarının hemolitik aktivitelerinin daha fazla olduğu görülmüş ve hemokültürden izole edilen suşlarla fosfolipaz enzim üretimi arasında ilişki bulunmuştur⁴¹.

Orsi ve ark.'ı *C.parapsilosis* kompleks türlerine ait suşların mikrogial hücrelerle olan etkileşimlerini fagositoz ve patojenite açısından inceledikleri çalışmalarında *C.metapsilosis*'e ait suşların en az virulans gösteren suşlar olduklarını göstermişlerdir⁴².

Abdul Lattif ve ark.'ı *C.parapsilosis* kompleks türlerinin biyofilm özelliklerini inceledikleri çalışmalarında her üç türe ait suşların, suşa bağlı biçimde metabolik aktiviteleri değişse de benzer biyokütle, yüzey topografisi ve üç boyutlu yapıya sahip biyofilm tabakaları oluşturduklarını gösterilmiştir⁴³. Melo ve ark.'ı da yaptıkları çalışmada *C.parapsilosis* kompleks türlerinin hepsinin biyofilm oluşturabileceğini göstermişler ve triazol grubu antifungallerin biyofilm üzerine etkisiz iken amfoterisin-B'nin etkili olduğunu saptamışlardır⁴⁴.

Gacser ve ark.'ı yeniden yapılandırılmış insan dokusu modeli- insan ağız içi epiteli- ile yaptıkları çalışmada daha önceki çalışmalara benzer *C.metapsilosis*'in en az virulan tür olduğunu , lipaz ve aspartik proteinazın patojeniteye katkıda bulduklarını göstermişlerdir⁴⁵.

Sonuç olarak tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında, birbirlerine çok yakın türler olsalar bile suş bazında gözlenebilen farklılıkları aklımızdan çıkarmadan en az virulan türün *C.metapsilosis*, en virulanın ise *C.parapsilosis* senu stricto olduğunu söyleyebiliriz. Bu durum *C.metapsilosis*'in klinik örneklerden çok az oranda izole edilmesini açıklayabilir.

2.7. Antifungal Duyarlılık

İnvazif Kandidiyazis tedavisinde kullanılan sistemik antifungaller dört ana grupta toplanırlar: polienler(amfoterisin B) , triazol, ekinokandinler ve flusitozin. Azol grubundaki bileşikler lanosterol 14 α -demetilaz enzimini inhibe ederek ergosterol sentezini bozarlar. Bu hücre membranının yapı ve işlevinin bozulmasına yol açar. Ekinokandinler 1,3- β -d-glucan sentaz enzimini inhibe ederek mantar hücre duvar sentezini bozarlar. Amfoterisin B mantar hücre membranındaki sterollere bağlanır ve membranın yapı ve işlevini bozarak hücre ölümüne yol açar. Flusitozin ise primidin metabolizmasını bozarak nükleik asit sentezini ve dolayısıyla protein sentezini engelleyerek etki eder ⁴⁶.

Candida türleri için kullanılmak üzere standardize edilmiş sıvı mikrodilüsyon duyarlılık testleri amfoterisin B, flusitozin, flukonazol, itrakonazol için 1997'den, vorikonazol için 2002'den , ekinokandinler için ise 2004'den bu yana mevcuttur ^{47,48} ve bu yöntemi esas alan otomatize sistemler geliştirilmiştir. Altın standart kabul edilen bu yönteme ek olarak agar difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleri oluşturulmuştur. Tüm bu yöntemler kullanılarak elde edilen bulgular ve eşlik eden klinik araştırma sonuçları ile önce cins düzeyinde sonra tür düzeyinde klinik ve epidemiyolojik antifungal eşik değerleri belirlenmiştir. *Candida parapsilosis* için belirlenen değerlere geçmeden önce konu ile ilgili terimleri tanımlamak yararlı olacaktır.

Sokak tipi terimi, söz konusu antifungal için kazanılmış ya da mutasyonla oluşmuş herhangi bir direnç mekanizması taşımayan suşlar için kullanılır. Epidemiyolojik eşik değeri sokak tipinin duyarlı olduğu en yüksek minimum inhibitör konsantrasyon(MİK) değerini gösterir ⁴⁹. Klinik eşik değeri ise suşları söz konusu antifungal ile tedavi edilebilir(duyarlı) ya da tedavi edilemez(dirençli) olarak kategorize eder ⁴⁹. Bir türe ait suşlarda epidemiyolojik eşik değerin izlenmesi, genelde epidemiyolojik eşik değerden yüksek olan klinik eşik değeri kullanıldığında gözden kaçabilen direnç mekanizmalarının tespitinde ve takibinde daha duyarlı bir yöntemdir ⁴⁹⁻⁵¹. Buna göre bir suş , MİK değeri klinik eşik değerin altında kalmakla birlikte ya da bir başka deyişle tedavi edilebilirliği sürmesine rağmen dirence veya azalmış duyarlılığa yol açan bir mekanizmaya sahip olabilmektedir.

Bir diğer konu ise oluşturulacak klinik eşik değerin, sokak tipi popülasyonunu bölmeyecek tarzda oluşturulmasıdır. Antifungal maddeler için eşik değerler oluşturulurken önce cins düzeyinde çalışmalar yapılmıştır ^{48,52-54}. Bu çalışmalarda heterojen yapıda bir popülasyona sahip olan *Candida* cinsi için önerilen klinik eşik değerler bu cinsi oluşturan tüm

türler için geçerli olmamıştır. Bazı sokak tipi suşların değişik antifungallere karşı duyarlılığı araştırıldığında klinik eşik değere yakın suşların rastgele farklı kategorilerde(duyarlı-dirençli) sınıflandırıldığı görülmüş ve bunu önlemek adına Avrupa antimikrobiyal duyarlılık deneyleri komitesi (EUCAST) ve Klinik ve Laboratuvar standartları enstitüsü(CLSI)-Amerika Birleşik Devletleri, tür düzeyinde eşik değerleri belirleme yoluna gitmişlerdir ⁵⁵⁻⁵⁷.

C.parapsilosis klinik eşik değerleri EUCAST VE CLSI'ya göre sırasıyla tablo 2.3 ve 2.4'de verilmiştir. EUCAST ve CLSI referans yöntemleri arasında farklar mevcuttur. EUCAST, besiyerinde daha yüksek oranda glukoz kullanımını ve inokulumun daha yüksek konsantrasyonda olmasını önermekte, CLSI tarafından önerilen iki gün sonra yapılacak görsel okuma yerine daha kısa inkübasyon süresi ve spektrofotometrik okuma yapılmasını tavsiye etmektedir. Yapılan çalışmalar EUCAST'ın önerisini destekler şekilde flukonazol, amfoterisin B, ekinokandinler ve vorikonazol sonuçlarının 24 saat sonunda değerlendirilebileceğini göstermiştir ⁵⁸.

C.parapsilosis kompleksini oluşturan türler için ayrı bir eşik değer tablosu bulunmamaktadır. Bununla birlikte her bir türün antifungal duyarlılıklarının araştırıldığı çalışmalar olmuştur. Bu çalışmalara bu tezin tartışma kısmında yer verilecektir.

EUCAST versiyon 8.0'da kaspofungin için MİK değerleri belirtilmeyip anidulafungin ve mikafungine duyarlı olanların kaspofungine duyarlı , anidulafungin ve mikafungine orta derece duyarlı olanların kaspofungine orta derece duyarlı kabul edilmesini önerilmiştir. Amfoterisin B için EUCAST tarafından eşik değer 1 µg/mL olarak kabul edilmiştir. CLSI ise eşik değer vermeyip epidemiyolojik veriler göz önüne alınarak 1 µg/mL'nin kabul edilebileceğini belirtmiştir.

Tablo 2.3: *C.parapsilosis* için EUCAST versiyon 8.0 MİK eşik değerleri⁵⁹

ANTİFUNGAL	MiK eşik değerleri mg/L	
	<i>C.parapsilosis</i>	
	Duyarlı(Du)≤	Dirençli(Di)>
Amfoterisin B	1	1
Anidulafungin	0.002	4
Kaspofungin	–	–
Flukonazol	2	4
İtrakonazol	0.12	0.12
Mikafungin	0.002	2
Posakonazol	0.06	0.06
Vorikonazol	0.12	0.12

Tablo 2.4: *C.parapsilosis* için CLSI 2008 ve 2012 MİK eşik değerleri

ANTİFUNGAL***	MiK eşik değerleri mg/L		
	<i>C.parapsilosis</i> ****		
	Du≤	Orta Duyarlı (OD)	Di≥
Amfoterisin B	–	–	–
Anidulafungin*	2	4	8
Kaspofungin*	2	4	8
Flukonazol*	2	4	8
İtrakonazol**	0.125	0.25-0.5	1
Mikafungin*	2	4	8
Posakonazol	–	–	–
Vorikonazol*	0.12	0.25-0.5	1
Flusitozin**	4	8-16	32

* CLSI 2012 M27 S4 MİK eşik değerleri⁶⁰

** CLSI 2008 M27 S3 MİK eşik değerleri⁵⁴

*** Azol grubu antifungallerinde ara eşik değer : DBD(doza bağlı duyarlı)

****: *Candida* cinsi için belirlenmiş Flusitozin ve İtrakonazol değerleridir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1 Suşların seçilmesi

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi ve Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarına 2009-2015 yılları arasında gönderilen klinik örneklerden izolen edilen ve bioMérieux ID 32C veya Vitek 2™ YST maya identifikasyon sistemleri ile *Candida parapsilosis* kompleks olarak tanımlanan 95 suş çalışmaya dahil edilmiştir. Suşlar çalışma başlayana kadar %3 gliserol içeren Brain Heart İnfüzyon sıvı besiyeri içerisinde -80°C'de bekletilmiştir. Suşlar saflık kontrolü için Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) ve CHROMA Agar *Candida* besiyerine pasajlanarak ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Çalışmada kullanılan suşların örneklere göre dağılımı tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Çalışmada referans suşlar olarak; *C.parapsilosis* Amerikan Kültür Koleksiyonu (ATCC) 22019, *C. metapsilosis* ATCC 96144 ve *C.orthopsilosis* ATCC 96139, *C.metapsilosis* İspanyol Kültür Koleksiyonu(CECT) J960161 ve *C.orthopsilosis* CECT J98226 standart suşları kullanılmıştır.

Tablo 3.1: *C.parapsilosis* suşlarının örneklere göre dağılımı

Örnek	C.parapsilosis kompleks (n)
Kan	33
İdrar	19
Balgam	17
Ağız Sürüntüsü	8
Cerahat	4
Göz ile ilişkili örnekler	3
Trakeal Aspirat	2
Dermatolojik örnek	2
Kateter	2
Rektal Sürüntü	2
Derin Boğaz Sürüntüsü	1
Periton Sıvısı	1
Bilinmeyen	1

3.2 DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Başlangıçta DNA izolasyonunun, standardizasyonunun sağlanmış olması nedeniyle ticari DNA izolasyon kiti ile yapılması planlanmış olmakla birlikte, daha sonra tek koloni PCR yöntemi⁶¹ kolaylığı ve fiyat avantajı nedeniyle tercih edilmiştir. Bu yöntemde tek bir maya kolonisi direkt PCR karışımı içine katılmaktadır.

PCR ile amplifiye edilen bölge *C.parapsilosis* kompleksine ait türlerde ortak bulunan sekonder alkol dehidrojenaz(SADH) gen bölgesidir. Bu bölge Tavanti ve ark.'nın tanımladığı⁸ Fwd, 5-GTTGATGCTGTTGGATTGT- ve Rev, 5-CAATGCCAAATCTCCCAA-3 dizilerine sahip primerler aracılığı ile amplifiye edilmiştir. Amplifikasyon karışımı tablo 3.2'de görülmektedir. Örneklerin hepsi primer konsantrasyonu ve PCR döngü özellikleri aynı kalarak Thermo Scientific marka SYBR Green/ROX master miksi kullanılarak tekrar çalışılmıştır.

Tablo 3.2: Amplifikasyon karışımı

Bileşen	Miktar
Taq DNA Polymerase (5 U/ μ L)	0.125 μ L
10X tampon çözelti (NH ₄) ₂ SO ₄ (polimeraz kiti içinde)	2.5 μ L
25 mM MgCl ₂	1.5 μ L
10 mM dNTP	0.5 μ L
25 μ M primer-forward	0.5 μ L
25 μ M primer-reverse	0.5 μ L
Kalıp DNA(maya suspansiyonu)	2 μ L
Su	17.375 μ L
Toplam	25 μ L

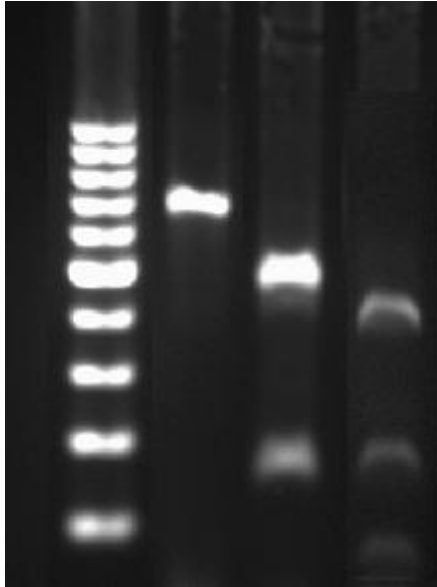
Biorad T100 termal döngü cihazında gerçekleştirilen PCR'ın döngü özellikleri tablo 3.3'de görülmektedir.

Tablo 3.3: PCR'ın döngü özellikleri

Döngü Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre(dakika)
1	95	4
40	95	0.5
	50	1
	72	1.5
1	72	5
1	12	∞

3.3 Restriksiyon ve elektroforez

PCR ile elde edilen 716 baz çiftlik ürün %1.7'lik agaroz jelde yapılan elektroforez ile gösterildikten sonra, 5 µL PCR ürünü, 8 µL su, 0.5 µL BanI restriksiyon enzimi(New England Biolabs) ve 1.5 µL kit içerisinde bulunan tampon çözeltiden oluşan 15 µL'lik karışım 1 saatlik süre boyunca 37 derecede inkübe edilmiştir. Elde edilen restriksiyon ürünleri %1.7'lik agaroz jel kullanılarak restriksiyon patternlerine göre birbirlerinden ayrılmıştır. Ayırışmanın sonunda beklenen görüntü aşağıda şekil 3.1'de gösterilmiştir. BanI ile bir restriksiyon noktası olan *C. parapsilosis* sensu stricto 521 ve 196 baz çiftlik iki parçaya ayrılır. BanI ile restriksiyon noktası olmayan *C.orthopsilosis* parçalanmaz. BanI ile üç restriksiyon noktası olan *C.metapsilosis* 370,188,93 ve 60 baz çiftlik dört parçaya ayrılır. Standart suşlar olan ATCC 22019, ATCC 96139 ve ATCC 96144 sırasıyla *C. parapsilosis* sensu stricto, *C. orthopsilosis* ve *C. metapsilosis* için kontrol amaçlı kullanılmıştır.



Şekil 3.1: 716 baz çiftlik ürünün BanI restriksiyon enzimi ile restriksiyondan sonra oluşan patternler. Soldan sağa 100 baz çiftlik ladder, *C.orthopsilosis*, *C.parapsilosis* sensu stricto, *C.metapsilosis* (60 bp'lik son band gözükmemektedir)

3.4 Antifungal duyarlılık deneyinin uygulanması

Suşların antifungal duyarlılık deneyleri Vitek 2™ AST-YS06 (BioMérieux) mayalar için antifungal duyarlılık deney kitleri ile yapılmıştır. Standart kontrol suşları olarak *C. parapsilosis* ATCC 22019 and *C. krusei* ATCC 6258 kullanılmıştır. Vitek 2™ AST-06 kiti içinde yer alan antifungaller amfoterisin B, flusitozin, kaspofungin, flukonazol, vorikonazol'dur. Kit içeriğindeki antifungallerin MİK aralıkları tablo 3.4'de görülmektedir. Vitek 2™ antifungal duyarlılık deneyi için önce her suşun 2.0 McFarland standart yoğunluğunda süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan 280 µL alınarak 3 ml'lik %0.45'lik steril tuzlu suya aktarılıp testin çalışma dilüsyonu sağlanmıştır. Çalışma dilüsyonundaki süspansiyon cihaza yüklenerek test çalışılmıştır. Vitek 2™ ile sonuç alınamayan bir suş için Etest agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Etest agar difüzyon testi %2 glukoz ile zenginleştirilmiş RPMI 1640 agar besiyeri kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar, suşun 0.5 McFarland standart yoğunluğunda hazırlanan süspansiyonu ile inokule edilen besiyerleri 35°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir. Etest ile yapılan deneyde Vitek 2™ AST-YS06 kiti içindeki aynı antifungaller değerlendirilmiştir. Elde edilen antifungal duyarlılık deney sonuçları EUCAST ve CLSI kriterlerine göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Tablo 3.4: Vitek 2™ AST-YS06 kart içeriği

Antifungal madde	MİK değer aralığı*	
	S	R
	≤	≥
Amfoterisin B	0.25	16
Kaspofungin	0.25	4
Flukonazol	1	64
Flusitozin	1	64
Vorikonazol	0.12	8

* Tüm değerler µg/ml cinsinden verilmiştir.

3.5 Dizileme ve filogenetik ağaç oluşturulması

Dizileme ve filogenetik ağaç oluşturulması bütün sonuçlar elde edildikten sonra PCR-RFLP ve antifungal duyarlılık deneyleri sonuçlarında aşağıda sıralanmış olan sorun veya uyumsuzluk saptanan dört suş için uygulanmıştır. Bu dört suş ve referans suşların ITS (internal transcribed spacer) bölgeleri daha önce literatürde tanımlandığı gibi amplifiye edildikten⁶² sonra PCR ürünleri “Roche High Pure PCR Product Purification” kiti kullanılarak purifiye edilmiştir. Purifikasyon işleminden sonra Dye-Terminator yöntemi ile çift yönlü DNA dizi analizine tabi tutulmuştur. DNA dizi analizleri AppliedBiosystems Big Dye v1.1 (AppliedBiosystems, Foster City, USA) kiti kullanılarak yapıldı ve veriler AppliedBiosystems Sequencing Analysis v5.3.1 yazılımı ile değerlendirilmiştir.

Dizileme yapılan suşların özellikleri şunlardır:

- PCR’da ürün edilemeyen ve Vitek 2™ YST maya identifikasyon kiti ile net bir identifikasyon sağlanamayan bir suş,
- PCR ile *C.parapsilosis* sensu stricto olarak tanımlanan ancak ekinokandin MİK’leri düşük olduğundan *C.metapsilosis* ya da *C.orthopsilosis* olabileceği düşünülen⁶³ üç suş.

Bu dört suş ve referans suşların dizileme sonuçları ve suşlar arasındaki evrimsel ilişki MEGA6⁶⁴ programı aracılığı ile Neighbor-Joining yöntemi⁶⁵ kullanılarak araştırılmıştır. Bootstrap testinde ilişkili kökenlerin birlikte gruplandığı çoklu ağaca ait yüzdeler dalların yanında yazılmıştır⁶⁶. Ağaç , dal uzunlukları için filogenetik ağaçta evrimsel mesafeleri hesaplamakta kullanılan aynı birimler kullanılarak ölçeklendirilmiştir. Evrimsel mesafeler maksimum kompozit olasılık metodu ile hesaplanmıştır⁶⁷. İncelenen sekiz nükleotid dizisinde boşluk veya eksik data içeren alanlar çıkarılmıştır. Son data kümesinde toplam 441 pozisyon yer almıştır.

4.BULGULAR

4.1 *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının identifikasyon sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 95 suşun 94 tanesi *C.parapsilosis* sensu stricto olarak tanımlanırken sadece bir tanesi *C.orthopsilosis* olarak tanımlanmıştır. *C.orthopsilosis* olarak tanımlanan suş için yapılan PCR-RFLP deneyi ile sonuç elde edilemediğinden, identifikasyon dizileme ile yapılmıştır. *C.orthopsilosis* suşu kan örneğinden izole edilmiştir.

4.2 *Candida parapsilosis* kompleks suşlarının antifungal duyarlılık sonuçları

C.parapsilosis kompleksine ait suşların tür düzeyinde identifikasyonu tamamlandıktan sonra bu suşların antifungal duyarlılık deneyleri yapılmıştır. Tablo 4.1’de 94 *C.parapsilosis* sensu stricto suşu arasında aynı MİK profiline sahip suşlar ve bunların toplam içindeki yüzdesi MİK değerleri ile birlikte görülmektedir.

Tablo 4.1: 94 *C.parapsilosis* sensu stricto suşu arasında aynı MİK profiline sahip suşlar, bunların toplam içindeki yüzdesi ve MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)

<i>C.parapsilosis</i> sensu stricto n (%)	Amfoterisin B	Kaspofungin	Flukonazol	Flusitozin	Vorikonazol
8 (8,5)	$\leq 0,25$	$\leq 0,25$	≤ 1	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	$\leq 0,25$	$\leq 0,25$	2	≤ 1	$\leq 0,12$
12 (12,8)	$\leq 0,25$	0,5	≤ 1	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	$\leq 0,25$	0,5	2	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	$\leq 0,25$	0,5	8	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	$\leq 0,25$	0,5	24	≤ 1	0,25
12 (12,8)	$\leq 0,25$	1	≤ 1	≤ 1	$\leq 0,12$
2 (2,1)	$\leq 0,25$	1	2	≤ 1	$\leq 0,12$
3 (3,2)	0,5	$\leq 0,25$	≤ 1	≤ 1	$\leq 0,12$
19 (20,2)	0,5	0,5	≤ 1	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	0,5	0,5	2	≤ 1	$\leq 0,12$
27 (28,7)	0,5	1	≤ 1	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	0,5	1	2	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	0,5	2	2	≤ 1	$\leq 0,12$
2 (2,1)	1	1	≤ 1	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	1	1	2	≤ 1	$\leq 0,12$
1 (1,1)	4	0,5	2	≤ 1	$\leq 0,12$

Suşların tamamı CLSI M27-S3'de verilen eşik değerlere göre flusitozine duyarlı bulunmuştur. EUCAST versiyon 8.0'de flusitozin için eşik değer bulunmadığından bu antifungal için değerlendirme yapmak mümkün olmamıştır. Suşların tamamı CLSI M27-S4'de verilen eşik değerlere göre kaspofungine duyarlı bulunmuştur. EUCAST versiyon 8.0'de kaspofungin'in değerlendirilmesi mikafungin ve anidulafungin sonuçlarına bağlanmıştır. Kullanılan kit içinde bu antifungaller yer almadığından, EUCAST versiyon 8.0'in önerdiği şekilde kaspofungin sonuçlarının değerlendirilmesi mümkün olmamıştır.

Suşlar arasında hem EUCAST versiyon 8.0 hem de CLSI M27- S4 kriterlerine göre flukonazola dirençli iki adet suş bulunmuştur. Bu suşlardan bir tanesinin aynı zamanda vorikonazole dirençli olduğu görülmüştür. Hem vorikonazole hem de flukonazole dirençli bulunan bu suşun antifungal duyarlılık deneyinden Vitek 2™ sistemi kontrol kuyusunda yeterli üreme olmaması sebebiyle sonuç alınamamış ve deney Etest yöntemi ile yapılmıştır.

Amfoterisin B için elde edilen MİK değerleri incelendiğinde EUCAST versiyon 8.0 kriterlerine göre bir tane suşun Amfoterisin B'ye dirençli olduğu görülmüştür. CLSI kriterlerinde Amfoterisin B için eşik değer bulunmadığından bu antifungal için değerlendirme yapmak mümkün olmamıştır. Deneyde kullanılan antifungallere karşı direnç izlenen suşlar ve llen MİK değerleri tablo 4.2'de gösterilmektedir.

Tablo 4.2: Deneyde kullanılan antifungallere karşı direnç izlenen suşlar ve llen MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)

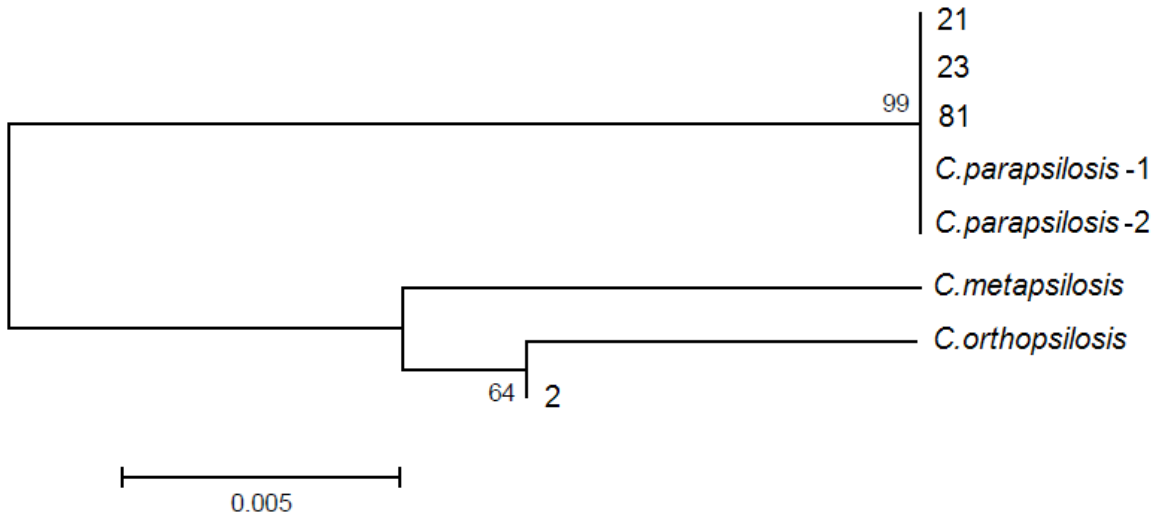
Suş No	rnek Türü	Amfoterisin B	Kaspofungin	Flukonazol	Flusitozin	Vorikonazol
8	Kan	4	0,5	2	≤ 1	$\leq 0,12$
69	Kan	$\leq 0,25$	0,5	24	≤ 1	0,25
70	İdrar	$\leq 0,25$	0,5	8	≤ 1	$\leq 0,12$

C.orthopsilosis suşu tüm antifungallere duyarlı bulunmuştur. Amfoterisin B, kaspofungin, flukonazol, flusitozin ve vorikonazol için MİK değerleri sırasıyla $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$, $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$, $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ve $\leq 0,12 \mu\text{g/ml}$ olarak llmştr.

4.3 Dizileme sonuçları

Materyal-metodun 3.5 no'lu kısmında özellikleri verilen suşların ve referans suşların ITS bölgelerinin dizilenerek elde edilmiş olan veriler ve suşlar arasındaki evrimsel ilişki MEGA6⁶⁴ programı aracılığı ile Neighbor-Joining yöntemi⁶⁵ kullanılarak incelenmiştir. Dal uzunluğu toplamı 0.04196465 olan optimal ağaç şekil 4.1'de gösterilmektedir.

Filogenetik ağaç ve evrimsel mesafeler göz önüne alınarak, ekinokandin MİK değerleri düşük saptanan 3 suşun PCR-RFLP sonuçlarının doğru olduğu ve bu suşların *C.parapsilosis* sensu stricto oldukları doğrulanmıştır. Fenotipik yöntemlerle kesin olarak tanımlanamayan ve PCR'ndan ürün elde edilemeyen 2 numaralı suşun ise *C.orthopsilosis* referans suşu(J98/226) ile yakın ilişkide olduğu görülmüştür. Bu suşun ITS bölge dizisi Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) ile incelendiğinde bu dizi ile %100 örtüşen bir adet ve %99 oranında örtüşen çok sayıda *C.orthopsilosis* dizisi bulunduğu için, bu suşun tanımlanması *C.orthopsilosis* olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1: 21,23,81 ve 2 numaralı suşların referans suşlarla (2 adet *C.parapsilosis* ATCC 22019 , *C.metapsilosis* J 96/0161 ve *C.orthopsilosis* J 98/226) ITS bölgesi dizileme sonuçlarına göre Neighbor-Joining yöntemi kullanılarak filogenetik ağaçta oluşturdukları kümelene

5.TARTIŞMA

C.albicans dışı mayalara bağlı enfeksiyonların sıklığının arttığı günümüzde enfeksiyon etkeni olabilecek türlerin doğru identifikasyonunun önemi artmıştır. Tür düzeyinde doğru identifikasyonun söz konusu etkenin antifungal duyarlılığı hakkında ön bilgi vereceği göz önüne alınırsa doğru identifikasyonun önemi daha iyi anlaşılır⁶⁸. Tavanti ve ark.'larının⁸ ITS1 dizilemesi farklılıklarına göre *C.parapsilosis* grup II ve III'ü *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis* olarak tanımlamalarının ardından yapılan çalışmalar, bu türlerin patojenitelerinin ve antifungal duyarlılıklarının farklı olabileceğini göstermiştir. Bunun üzerine bu türlerin doğru identifikasyonu için alternatif yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır. Kullanılmış olan yöntemler kısaca şöyle sıralanabilir:

1. Farklı gen bölgelerini hedef alan PCR-RFLP deneyleri^{8,68-70}
2. Loop aracılı izotermal amplifikasyon(topoizomeraz II bölgesi)⁷¹
3. RPS0 intronunun spesifik PCR amplifikasyonu⁷²
4. Mitokondriyal DNA'yı hedef alan gerçek-zamanlı Taqman PCR⁷³
5. SADH bölgesinin gerçek-zamanlı PCR ve melting curve analizi⁷⁴
6. Kapiller elektromigrasyon tekniği⁷⁵
7. Intein bölgelerinin çoğaltılıp dizilenerek ayrımı⁷⁶
8. Ekson-primed Intron-crossing(EPIC); intron uzunluk polimorfizmi; PCR⁷⁷
9. Türe özgü moleküler beacon kullanılan gerçek-zamanlı PCR⁷⁰
10. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) ile genotipleme²⁶
11. ITS2 bölgesinin bir bölümünün piro-dizilenmesi(pyrosequencing)⁷⁸

Farklı yöntemleri kullanarak *C.parapsilosis* tür kompleksini oluşturan türlerin dağılımını inceleyen araştırmaların sonuçları tablo 5.1'de görülmektedir. Toplam 5263 suşun araştırıldığı bu çalışmaların sonucunda *C.parapsilosis* sensu stricto'nun % 90.86'lık oranı ile en sık rastlanan tür olduğu ve onu % 6.86 ile *C.orthopsilosis* ve % 2.28 ile *C.metapsilosis*'in ile takip ettiği görülmektedir. En önemli örnek türlerinden olan hemokültür örneklerinde yine *C.parapsilosis* sensu stricto %87.05 ile ilk sırada yer almaktadır ve onu aynı sırayla *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis* takip etmektedir.

Tablo 5.1: *C.parapsilosis* kompleksi içerisinde yer alan türlerin dağılımını inceleyen araştırmaların sonuçları

ARAŞTIRMA,YAZAR VE YILI	ÜLKE	ÖRNEK TÜRLERİ	TOPLAM SUŞ SAYISI	P* n (%)	O* n (%)	M* n (%)
Tosun et al. 2013 ⁷⁹	Türkiye	Çeşitli Klinik Örnekler	42	38 (90,5)	1 (2,4)	3 (7,1)
Trevino-Rangel et al. 2012 ⁸⁰	Meksika	Çeşitli Klinik Örnekler	344	311 (90,4)	29 (8,4)	4 (1,2)
Garcia-Effron et al. 2012 ⁸¹	İspanya	Hemokültür	293	218 (74,4)	69 (23,5)	6 (2,1)
Güler et al. 2011 ¹²	Türkiye	Çeşitli Klinik Örnekler	68	67 (98,5)	1 (1,5)	0 (0)
Miranda-Zapico et al. 2011 ⁸²	İspanya	Hemokültür	128	125 (97,7)	2 (1,6)	1 (0,7)
Miranda-Zapico et al. 2011 ⁸²	İspanya	Çeşitli Klinik Örnekler	329	310 (94,2)	9 (2,7)	10 (3,1)
G.Thierry et al. 2010 ⁸³	Fransa	Hemokültür	27	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Canton et al. 2011 ⁸⁴	İspanya	Hemokültür	364	330 (90,7)	30 (8,2)	4 (1,1)
Feng et al. 2012 ⁸⁵	Çin	Yüzeyel Mikoz	198	191 (96,5)	2 (1)	5 (2,5)
Lockhart et al. 2008 ¹⁵	Global	Çeşitli Klinik Örnekler	1929	1778 (92,2)	117 (6)	34 (1,8)
de Toro et al. 2011 ⁸⁶	İspanya	Çeşitli Klinik Örnekler	122	111 (91)	10 (8,2)	1 (0,8)
Chen et al. 2010 ¹¹	Tayvan	Çeşitli Klinik Örnekler	97	81 (83,5)	7 (7,2)	9 (9,3)
Gonçalves et al. 2010 ⁸⁷	Brezilya	Hemokültür	141	124 (87,9)	13 (9,2)	4 (2,9)
P.Silva et al. 2009 ⁸⁸	Portekiz	Çeşitli Klinik Örnekler	169	160 (94,7)	4 (2,4)	5 (2,9)
Tee Tay et al. 2009 ⁸⁹	Malezya	Hemokültür	41	29 (70,7)	10 (24,4)	2 (4,9)
Gomez-Lopez et al. 2008 ⁹⁰	İspanya	Hemokültür	87	76 (87,4)	5 (5,7)	6 (6,9)
Romeo et al. 2012 ¹⁰	İtalya	Hemokültür	97	94 (96,9)	3 (3,1)	0 (0)
P.Ge et al. 2012 ¹³	Çin	Çeşitli Klinik Örnekler	57	41 (71,9)	0 (0)	16(28,1)
Borghi et al. 2011 ⁹¹	İtalya	Çeşitli Klinik Örnekler	138	131 (94,9)	5 (3,6)	2 (1,5)
Mirhendi et al. 2010 ⁹²	Danimarka	Hemokültür	79	75 (95)	2 (2,5)	2 (2,5)
Asadzadeh et al. 2009 ⁹³	Kuveyt	Çeşitli Klinik Örnekler	114	109 (95,6)	5 (4,4)	0 (0)
Tavanti et al. 2005 ⁸	Global	Çeşitli Klinik Örnekler	27	20 (74,1)	7 (25,9)	0 (0)
Mohammadi et al. 2013 ⁶⁹	İran	Çeşitli Klinik Örnekler	112	94 (83,9)	18 (16,1)	0 (0)
Trabasso et al. 2015 ⁷¹	Brezilya	Hemokültür	36	31 (86,1)	4 (11,1)	1 (2,8)
Hays et al. 2011 ⁷⁴	Fransa	Çeşitli Klinik Örnekler	116	114 (98,3)	2 (1,7)	0 (0)
del Pilar Vercher et al. 2011 ⁷²	İspanya	Hemokültür	38	29 (76,3)	5 (13,2)	4 (10,5)
Borman et al. 2009 ⁷⁸	Global	Çeşitli Klinik Örnekler	70	68 (97,2)	1 (1,4)	1 (1,4)

*P: *C.parapsilosis*, O: *C.orthopsilosis*, M: *C.metapsilosis*

Tablo 5.1'deki çalışmalar incelendiğinde en çok tercih edilen yöntemin PCR-RFLP olduğu görülmüştür. Referans yöntem olan ITS bölge dizilemesi PCR-RFLP'den sonra en çok tercih edilen ikinci yöntem olmuştur. Bazı çalışmalarda PCR-RFLP, ITS bölgesi dizilemesi ile eş zamanlı yapılmış, bazılarında ise daha az izole edilen türler olan *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis*'in identifikasyonunun doğrulanması amacıyla kullanılmıştır^{8,10,79,82,84,92,93}.

Bu tezde en sık kullanılan PCR-RFLP yöntemi olan, SADH gen bölgesinin çoğaltılıp BAN I restriksiyon enzimi ile kesilerek oluşan band paterninin değerlendirilmesi esasına dayanan yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem uygulanması kolay, ucuz ve görece hızlı bir yöntemdir. Ancak her yöntemin olduğu gibi bu yöntemin de olumsuz yanları mevcuttur. Konvansiyonel PCR'in optimizasyonu zaman almakta, deney boyunca birden fazla basamakta el ile yapılması gereken işler hata olasılığını artırmaktadır. Yine de bu yöntem temel PCR ve elektroforez cihazlarına sahip laboratuvarların uygulayabileceği bir yöntemdir. Bu yöntemin kullanıldığı bu tez çalışmasında *C.orthopsilosis* referans suşlarının ve sonradan dizileme ile *C.orthopsilosis* olduğu ortaya konan 2 no'lu örneğe ait suşun PCR'ı sorunlu gerçekleşmiş ve reaksiyonlarda ürün elde edilememiştir. Bunun sebebi olarak kullanılan primerlerin hedef bölgedeki polimorfizmden dolayı hedefe bağlanamadıkları ve bu yüzden ürün oluşturulmadığı düşünülmüştür. *C.orthopsilosis*'in geniş bir genetik çeşitliliğe sahip olması polimorfizmi açıklayabilir^{26,94}.

Yapılan genetik çalışmaların çeşidi ve sayısı arttıkça *C.parapsilosis* kompleks türleri hakkında daha fazla bilgi edinilmiştir. Tür içi genetik değişkenlik diğer *Candida* türlerine göre daha az bulunmuştur⁹⁴. Özellikle en sık rastlanan tür olan *C.parapsilosis* sensu stricto'nun klonal yapısı dikkat çekmekte ve daha yeni evrilmiş bir tür olduğunu düşündürmektedir^{8,26}. Yine de çevre örneklerinin de incelemeye alındığı bir çalışmada insandaki klonal yayılımının aksine beklenmedik bir genetik çeşitlilik ile karşılaşmış ve türün doğal habitatı ile ilgili sorular oluşmuştur⁹⁵. *C.parapsilosis* sensu stricto'nun aksine *C.orthopsilosis*'in daha geniş bir genetik çeşitliliğe sahip olduğu gösterilmiştir^{26,96} ve en azından 2 farklı alt tür barındırdığı ortaya konmuştur^{96,97}. *C.metapsilosis*'in izolasyon sıklığının az olması yapılan çalışmalardan net bir sonuç almayı zorlaştırmış ancak insanlardan az sayıda izole edilmesi çevresel bir tür olduğunu düşündürmüştür^{3,8,27}.

Türlerin coğrafi dağılımı oranlarında uzak doğu ülkeleri hariç belirgin bir farklılık görülmemiştir^{11,13}. Bu ülkelerde saptanmış olan artmış *C.metapsilosis* oranının daha fazla çalışma ile araştırılması gerekmektedir. Ülkemiz coğrafyasında yapılmış olan iki çalışmada bu tezdekine benzer sonuçlar elde edilmiştir^{12,79}. Buna göre ülkemiz coğrafyasında *C.parapsilosis* sensu stricto, %90'ın üzerindeki izolasyon oranı ile en sık izole edilen türdür. Ancak daha kesin veriler elde etmek için daha fazla moleküler yöntemin kullanıldığı çalışmalara gereksinim vardır.

C.parapsilosis kompleksi oluşturan üç türün doğru identifikasyonunun tedaviyi yönlendirebilmesi olasılığı nedeniyle aralarında antifungal duyarlılık farkı olup olmadığını araştıran çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda özellikle ekinokandin grubu antifungaller üzerinde durulmuştur. Bunun nedeni, *C.parapsilosis* tür kompleksini oluşturan her üç türe ait glukon sentaz enzimi katalitik subunitesi FKS1p'in 660.pozisyonundaki

prolin'in alanin ile değişimi ve bu yüzden ekinokandinlere karşı doğal olarak oluşan azalmış duyarlılıktır⁹⁸⁻¹⁰⁰. Mutant glukon sentazın ekinokandinlere olan duyarlılığı 1000 kata kadar azalabilmektedir⁹⁸. Ekinokandinlerle yapılan in vitro deneylerde varılan ortak sonuç *C.parapsilosis* sensu stricto'nun diğer iki türe göre daha yüksek MİK değerlerine sahip olduğudur¹⁰⁰⁻¹⁰². Fungisidal aktivite çalışmalarında Canton ve ark.'ları¹⁰³ *C.parapsilosis* sensu stricto'ya karşı fungisidal aktivite gözlemlememişlerken, Varga ve ark.'ları⁶³ *C.parapsilosis* sensu stricto'nun en az fungisidal aktivite gözlenen tür olduğunu belirtmişlerdir. Hatta bu sonuçlara dayanılarak MİK değerlerinin düşük bulunması durumunda, identifikasyonun *C.orthopsilosis* veya *C.metapsilosis* olabileceğinin düşünülmesi gerektiği önerilmiştir⁶³. Bu tezde de MİK değerleri düşük ($\leq 0,25 \mu\text{g/mL}$) saptanan toplam 9 suşun 3 tanesi rastgele seçilerek ITS bölgesi dizilenmiştir. Ancak suşların *C.parapsilosis* sensu stricto olarak doğru bir şekilde identifiye edildiği görülmüştür. Ekinokandin etkinliği ile ilgili bir başka çalışmada Spreghini ve ark.'ları revize CLSI kriterlerine göre üç türün de ekinokandinlere duyarlı olduğunu, ekinokandin aktivite sırasının kaspofungin>mikafungin>anidilofungin olduğunu, in vivo koşullarda ise kaspofunginin en etkin antifungal olduğunu bildirmişlerdir¹⁰².

Bu tez için incelenen suşlar arasında kaspofungine dirençli bir izolat bulunamamıştır. Sadece bir suшта ölçülen MİK değeri $2 \mu\text{g/ml}$ olarak bulunurken, diğer tüm suşların ölçülen MİK değerleri $1 \mu\text{g/ml}$ ve altı olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar literatur ile uyumlu olsa da *C.parapsilosis* kompleks enfeksiyonlarında ekinokandin kullanılacaksa hastanın daha önce antifungal almış olup olmaması gibi klinik faktörler göz önüne alınmalı ve özellikle rekürren suşlar antifungal direnç gelişimi açısından izlenmelidir. Tedavi altında direnç gelişiminin izlendiği vakalar bildirilmiştir^{104,105}.

Azol grubu antifungaller içinde vorikonazol ve posakonazol her üç türe karşı iyi etki göstermektedir¹⁰⁶. Flukonazol için sonuçlar biraz daha tartışmalıdır. *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis*'e ait flukonazol MİK'lerinin *C.parapsilosis* sensu stricto'ya göre daha yüksek oldukları ve bu yüzden daha az duyarlı kabul edilebileceklerini savunan araştırmalar mevcuttur^{6,15,26,90,106}. Bu tez için incelenen suşlar arasında bir suş hem flukonazole hem de vorikonazol'e dirençli bulunurken, bir diğeri sadece flukonazole dirençli bulunmuştur. Literatürde azollere karşı direnç ender de olsa bildirilmiştir^{84,104,107-110}. Direnç mekanizmalarının *C.albicans*'dakine benzer şekilde hedef enzimin sentezinden sorumlu gende mutasyon ve dışı atım pompalarının sentezinden sorumlu genin aşırı ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir^{107,108,110}. Direncin gelişmesinin uzun süreli tedavi ya da profilaksinin sonucu olduğu düşünülmüştür^{104,108,109}. *C.parapsilosis* suşlarında vorikonazol direnci çok ender gözleendiği için, dirençli suşun EUCAST önerisinde olduğu gibi referans bir merkeze gönderilmesi planlanmıştır⁵⁹.

Flusitozin üç türe de etkili olsa da antifungal olarak kullanımı giderek azalmaktadır¹⁰⁶. Literatur ile uyumlu olarak bu tezdeki izolatların hepsi flusitazine duyarlı bulunmuştur. *C.parapsilosis* kompleksi oluşturan türlerin Amfoterisin B duyarlılığının değerlendirildiği değişik çalışmalarda, *C.parapsilosis* sensu stricto MİK değerleri *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis*'e göre daha yüksek ölçülmüş ve bazılarında *C.parapsilosis* suşları arasında

Amfoterisin B'ye dirençli olanlar bulunmuştur^{15,84,88,90,106}. Bu tezdeki suşlar arasında sadece bir tanesi amfoterisin B'ye dirençli olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada Vitek 2™ AST-YS06 (BioMérieux) antifungal duyarlılık kartları kullanılmıştır. Vitek 2™ sistemi hızlı ve doğru sonuç veren, yapılan deneyin tekrarlanabilirliği son derece iyi olan ve MİK sonucunu objektif olarak değerlendiren bir sistem olduğu için tercih edilmiştir. Vitek sonuçları ile altın standart yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yönteminin saptayacağı MİK değerlerini güvenle öngörülebilir. Literatürdeki yayınlar da bunu destekler biçimdedir. *C.parapsilosis* için sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile Vitek 2 sonuçlarının karşılaştırıldığı araştırmalar tablo 5.2 'de görülebilir. Tablodaki bilgiler doğrultusunda hem esansiyel hem de kategorik uyuşma açısından çok başarılı bir korelasyon olduğu söylenebilir. Vitek 2'nin zayıf yanı olarak belirtilen ekinokandin grubu antifungal duyarlılık deney sonuçlarında bu gruba ait eşik değerler türe özgü olarak değiştirildikten sonra büyük oranda düzelme sağlanmıştır. Bu düzelme tablo 5.2 'deki mikafungin sonuçlarında görülebilir. Vitek 2™ sistemi ile sonuç alınamayan bir suş için Etest kullanılmıştır. Etest, Vitek 2™ sistemine alternatif olarak laboratuvarlar arası tekrar edilebilirliği çok iyi ve altın standart yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile uyumu daha önce gösterilmiş bir yöntem olduğu için tercih edilmiştir¹¹¹⁻¹¹⁴.

Tablo 5.2: *C.parapsilosis* için sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Vitek 2 ile yapılan duyarlılık sonuçlarının karşılaştırıldığı araştırmalar

Yazarın ismi ve yayın yılı	Test edilen antifungal madde	Esansiyel uyuşma %	Kategorik uyuşma %	Çok Büyük Hata %	Büyük Hata %	Küçük Hata %
<i>Pfaller 2007</i> ⁴⁷	Flukonazol	95.3	97.7	0	0	2.3
<i>Pfaller 2007</i> ¹¹⁵	Vorikonazol	100	100	0	0	0
	Amfoterisin B	100	*	*	*	*
	Flusitozin	100	100	0	0	0
<i>Pfaller 2013</i> ¹¹⁶	Flukonazol	*	93	0	2.3	4.7
	Vorikonazol	*	100	0	0	0
<i>Peterson 2011</i> ¹¹⁷	Kaspofungin	98.8	100	0	0	0
	Mikafungin**	93.9	84.1	15.9	0	0
	Mikafungin***	93.9	84.2	1.2	0	14.6
<i>Bourgeois 2010</i> ¹¹⁸	Flukonazol	95.4	100	0	0	0
	Vorikonazol	100	100	0	0	0
	Amfoterisin B	86.4

*Değerlendirilmemiş

**Eski eşik değere göre (duyarlı, $\leq 2\mu\text{g/ml}$; duyarlı değil, $\geq 4\mu\text{g/ml}$)

*** Yeni eşik değere göre (duyarlı, $\leq 2\mu\text{g/ml}$; orta duyarlı $4\mu\text{g/ml}$; duyarlı değil, $\geq 4\mu\text{g/ml}$)

6. SON DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

C.parapsilosis tür kompleksinin ve özellikle genetik temelli çalışmalardan anlaşıldığı üzere *C.parapsilosis* sensu stricto'nun *C.albicans* dışında kalan ve enfeksiyon sebebi olan fungal etkenler içerisinde sıklığını artırması klinikte dikkat çekmesine neden olmuştur. Hastane ortamında ekzojen bir patojen olarak kolay yayılması, genel durumu kötü ve daha fazla girişimsel işleme maruz kalan hastalarda daha kolay ve daha morbid enfeksiyonlar oluşturması, bir hastane enfeksiyonu etkeni olarak global anlamda ünlenmesine neden olmuş ve hakkında yapılan araştırmaların sayısı artmıştır.

Bu çalışma dahil yapılan çalışmaların ortak sonucu *C.parapsilosis* sensu stricto'nun ortalama %90 olan izolasyon sıklığı ile üç tür arasında açık ara en sık izole edilen tür oluşudur. *C.parapsilosis* sensu stricto üç tür arasında insan vücudunda en kolay yayılan, antifungallere, özellikle ekinokandinlere daha kolay direnç geliştirebilen ve en virulan tür olduğundan bu sonuç kaygı vericidir. Tedavide kullanılmakta olan antifungal maddelere doğal direnci bulunmaması bir avantaj olarak görülebilmekle birlikte ekinokandin grubu ile tedavilerde hastalar yakından izlenmeli ve gerekirse antifungal duyarlılık deneyleri yeni alınan örneklerden elde edilen suşlarla tekrar edilmelidir.

Bu ve diğer çalışmalarda elde edilen *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis* izolasyon sıklıklarını, daha önemlisi bu çalışmalarda antifungal duyarlılık açısından *C.orthopsilosis* ve *C.metapsilosis* ile *C.parapsilosis* sensu stricto arasında anlamlı fark bulunamadığını göz önüne alırsak, bu türlerin identifikasyonu için genetik yöntemler kullanılarak yapılan çalışmaların rutin laboratuvar şartlarında anlamı olmayacağı görülmektedir. Yine de bu üç türün izolasyon oranları ve antifungal duyarlılıkları epidemiyolojik açıdan türlerin gösterdiği değişiklikleri takip edebilmek adına izlenmelidir. Aslında *C.parapsilosis* kompleksin izolasyonu ile farkına varılması gereken en önemli nokta hastane enfeksiyon kontrol önlemlerinin takibinde bir eksiklik olduğu ve düzeltici eylemlerin gerekliliğidir.

7. KAYNAKLAR

1. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(1):133-163. doi:10.1128/CMR.00029-06.
2. González GM, Treviño-Rangel RDJ, Palma-Nicolás JP, et al. Species distribution and antifungal susceptibility of bloodstream fungal isolates in paediatric patients in Mexico: A nationwide surveillance study. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(12):2847-2851. doi:10.1093/jac/dkt283.
3. Van Asbeck EC, Clemons K V, Stevens DA. Candida parapsilosis: a review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility. *Crit Rev Microbiol.* 2009;35(4):283-309. doi:10.3109/10408410903213393.
4. Trofa David, Gacser Attila NJD. Candida parapsilosis: An emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(4):606-625. doi:10.1128/CMR.00013-08.
5. 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):842-849. doi:10.1128/JCM.02122-07.
6. Van Asbeck E, Clemons K V., Martinez M, Tong AJ, Stevens D a. Significant differences in drug susceptibility among species in the Candida parapsilosis group. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;62(1):106-109. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.019.
7. Miranda LDN, Rodrigues EC a., Costa SF, et al. Candida parapsilosis candidaemia in a neonatal unit over 7 years: a case series study. *BMJ Open.* 2012;0:e000992. doi:10.1136/bmjopen-2012-000992.
8. Tavanti A, Davidson AD, Gow N a R, 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):284-292. doi:10.1128/JCM.43.1.284.
9. Treviño-Rangel RDJ, Garza-González E, González JG, Bocanegra-García V, Llaca JM, González GM. Molecular characterization and antifungal susceptibility of the Candida parapsilosis species complex of clinical isolates from Monterrey, Mexico. *Med Mycol.* 2012;50(7):781-784. doi:10.3109/13693786.2012.675526.
10. 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. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2011.12.002.

11. Chen YC, Lin YH, Chen KW, Lii J, Teng HJ, Li SY. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis sensu stricto*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010;68(3):284-292. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2010.07.004.
12. Cebeci Güler N, Tosun I, Bayramoğlu G, Buruk K, Aydın F. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida parapsilosis* Kompleks Türlerinin (*C.parapsilosis sensu stricto*, *C.metapsilosis* ve *C.orthopsilosis*) Genotipik Olarak Tanımlanması ve Dağılımlarının Belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2011;45(4):723-728.
13. Ge YP, Boekhout T, Zhan P, et al. Characterization of the *Candida parapsilosis* complex in East China: species distribution differs among cities. *Med Mycol*. 2012;50(1):56-66. doi:10.3109/13693786.2011.591440.
14. Szenzenstein J, Gácsér A, Grózer Z, et al. Differential Sensitivity of the Species of *Candida parapsilosis Sensu Lato* Complex Against Statins. *Mycopathologia*. 2013;176(3-4):211-217. doi:10.1007/s11046-013-9689-1.
15. Lockhart SR, Messer S a., Pfaller M a., 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):2659-2664. doi:10.1128/JCM.00803-08.
16. Howell SA, Hazen KC. *Candida*, *Cryptococcus*, and other Yeasts of Medical Importance, " Versalovic J, Carroll KC, Jorgensen JH, Funke G, Landry ML, Warnock DW(eds): In: *Manual of Clinical Microbiology 10.digital Ed.*". Vol 2; 115.sec. ASM Press, Washington 2011
17. Ellis D, Davis S, Alexiou H, Handke R, Bartley R. *Descriptions of Medical Fungi*. 2nd editio.; Published by Authors. 2007.
18. Larone DH. *Medically Important Fungi*. 5th editio.; ASM Press, Washington. 2011.
19. Ashford B. Certain Conditions of the Gastro-Intestinal Tract in Porto Rico and Their Relation to Tropical Sprue. *Am J Trop Med Hyg*. 1928;8(507-538).
20. Almirante B, Rodríguez D, Cuenca-Estrella M, 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. doi:10.1128/JCM.44.5.1681.
21. Ece G, Samlioglu P, Akkoçlu G, Atalay S, Kose S. The evaluation of the distribution of yeast like fungi "Candida species" at a tertiary care center in western Turkey. *Int J Med Sci*. 2012;9(7):617-620. doi:10.7150/ijms.4707.
22. Weems JJ. *Candida parapsilosis*: Epidemiology, Pathogenicity, Clinical Manifestations, and Antimicrobial Susceptibility. *Clin Infect Dis*. 1992;14(3):756-766. doi:10.1093/clinids/14.3.756.

23. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004-2008. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74(4):323-331. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.10.003.
24. Lin D, Wu LC, Rinaldi MG, Lehmann PF. Three distinct genotypes within *Candida parapsilosis* from clinical sources. *J Clin Microbiol*. 1995;33(7):1815-1821.
25. Roy B, Meyer S a. Confirmation of the distinct genotype groups within the form species *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol*. 1998;36(1):216-218.
26. Tavanti A, Hensgens L a M, 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):1455-1462. doi:10.1128/JCM.00243-07.
27. Kosa P, Valach M, Tomaska L, Wolfe KH, Nosek J. Complete DNA sequences of the mitochondrial genomes of the pathogenic yeasts *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*: Insight into the evolution of linear DNA genomes from mitochondrial telomere mutants. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(8):2472-2481. doi:10.1093/nar/gkl327.
28. Ruiz LDS, Khouri S, Hahn RC, et al. Candidemia by Species of the *Candida parapsilosis* Complex in Children's Hospital: Prevalence, Biofilm Production and Antifungal Susceptibility. *Mycopathologia*. 2013;175(3-4):231-239. doi:10.1007/s11046-013-9616-5.
29. Oliveira VKP, Paula CR, Colombo AL, et al. Candidemia and death by *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in neonates and children. *Pediatr Neonatol*. 2014;55(1):75-76. doi:10.1016/j.pedneo.2013.07.006.
30. Constante CC, Monteiro AA, Alves SH, et al. Different risk factors for candidemia occur for *Candida* species belonging to the *C. parapsilosis* complex. *Med Mycol*. 2014;52(April):403-406. doi:10.1093/mmy/myt034.
31. Martí-Carrizosa M, Sánchez-Reus F, March F, Coll P. Fungemia in a Spanish hospital: the role of *Candida parapsilosis* over a 15-year period. *Scand J Infect Dis*. 2014;46:454-461. doi:10.3109/00365548.2014.900190.
32. Garzoni C, Nobre V a, Garbino J. *Candida parapsilosis* endocarditis: a comparative review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26(12):915-926. doi:10.1007/s10096-007-0386-1.
33. Gautret P. Case Report and Review . Onychomycosis due to *Candida parapsilosis*. *Mycoses*. 2000;43:433-435.
34. Vennewald I, Schönlebe J, Klemm E. Mycological and histological investigations in humans with middle ear infections. *Mycoses*. 2003;46(1-2):12-18. doi:10.1046/j.1439-0507.2003.00835.x.

35. Chaves GM, Diniz MG, da Silva-Rocha WP, et al. Species Distribution and Virulence Factors of *Candida* spp. Isolated from the Oral Cavity of Kidney Transplant Recipients in Brazil. *Mycopathologia*. 2013;175(3-4):255-263. doi:10.1007/s11046-013-9640-5.
36. Zhu Y, Shan Y, Fan S, Li J, Liu X. *Candida* parapsilosis Sensu Stricto and the Closely Related Species *Candida* orthopsilosis and *Candida* metapsilosis in Vulvovaginal Candidiasis. *Mycopathologia*. 2014;179(1-2):111-118. doi:10.1007/s11046-014-9821-x.
37. Trevino-Rangel RDJ, Rodriguez-Sanchez IP, Elizondo-Zertuche M, et al. Evaluation of in vivo pathogenicity of *Candida* parapsilosis, *Candida* orthopsilosis, and *Candida* metapsilosis with different enzymatic profiles in a murine model of disseminated candidiasis. *Med Mycol*. 2014;52(3):240-245. doi:10.1093/mmy/myt019.
38. Németh T, Tóth A, Szenzenstein J, et al. Characterization of Virulence Properties in the *C. parapsilosis* Sensu Lato Species. *PLoS One*. 2013;8(7):e68704. doi:10.1371/journal.pone.0068704.
39. Bertini A, De Bernardis F, Hensgens L a M, 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. doi:10.1016/j.ijmm.2012.12.006.
40. Abi-chacra É a., Souza LOP, Cruz LP, et al. Phenotypical properties associated with virulence from clinical isolates belonging to the *Candida* parapsilosis complex. *FEMS Yeast Res*. 2013;13(8):831-848. doi:10.1111/1567-1364.12092.
41. 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;51:331-335. doi:10.3109/13693786.2012.712724.
42. Orsi CF, Colombari B, Blasi E. *Candida* metapsilosis as the least virulent member of the “*C. parapsilosis*” complex. *Med Mycol*. 2010;48(8):1024-1033. doi:10.3109/13693786.2010.489233.
43. Lattif AA, K. Mukherjee P, Chandra J, et al. Characterization of biofilms formed by *Candida* parapsilosis, *C. metapsilosis*, and *C. orthopsilosis*. *Int J Med Microbiol*. 2010;300(4):265-270. doi:10.1016/j.ijmm.2009.09.001.
44. Melo AS, Bizerra FC, Freymüller E, Arthington-Skaggs B a, Colombo AL. Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida* spp. isolates, including strains of the *Candida* parapsilosis complex. *Med Mycol*. 2011;49(3):253-262. doi:10.3109/13693786.2010.530032.
45. Gácsér A, Schäfer W, Nosanchuk JS, Salomon S, Nosanchuk JD. Virulence of *Candida* parapsilosis, *Candida* orthopsilosis, and *Candida* metapsilosis in reconstituted human tissue models. *Fungal Genet Biol*. 2007;44(12):1336-1341. doi:10.1016/j.fgb.2007.02.002.

46. Warnock DW. Antifungal Agents," Versalovic J, Carroll KC, Jorgensen JH, Funke G, Landry ML, Warnock DW(eds): In: *Manual of Clinical Microbiology 10.digital Ed.*". Vol 2. 126.section.ASM Press, Washington,2011.
47. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 yeast susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing fluconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol.* 2007;45(3):796-802. doi:10.1128/JCM.01986-06.
48. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, et al. In vitro susceptibility of invasive isolates of *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin: Six years of global surveillance. *J Clin Microbiol.* 2008;46(1):150-156. doi:10.1128/JCM.01901-07.
49. Espinel-Ingroff A, Pfaller M, Cantón E, Pemán J. Emerging resistance to azoles and echinocandins: Clinical relevance and laboratory detection. *Curr Fungal Infect Rep.* 2010;4(3):186-195. doi:10.1007/s12281-010-0026-6.
50. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for the echinocandins and *Candida* spp. *J Clin Microbiol.* 2010;48(1):52-56. doi:10.1128/JCM.01590-09.
51. Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Bustamante B, et al. Multilaboratory study of epidemiological cutoff values for detection of resistance in eight *Candida* species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2006-2012. doi:10.1128/AAC.02615-13.
52. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. In vitro activities of anidulafungin against more than 2,500 clinical isolates of *Candida* spp., including 315 isolates resistant to fluconazole. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5425-5427. doi:10.1128/JCM.43.11.5425-5427.2005.
53. CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. *M27 A3.* 2008.
54. CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. *M27 S3.* 2008.
55. Arendrup MC, Kahlmeter G, Rodriguez-Tudela JL, Donnelly JP. Breakpoints for susceptibility testing should Not divide wild-type distributions of important target species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(4):1628-1629. doi:10.1128/AAC.01624-08.
56. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: Integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resist Updat.* 2011;14(3):164-176. doi:10.1016/j.drup.2011.01.004.

57. Pfaller MA, Andes D, Arendrup MC, et al. Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* spp. revisited: Review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(3):330-343. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2011.03.002.
58. Johnson EM, Cavling-Arendrup M. Susceptibility Test Methods: Yeasts and Filamentous Fungi, "Jorgensen J, Pfaller M, Carroll K, et al.(eds.): In: *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed." Vol 2; 131.Sec. ASM Press. Washington,2015
59. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Antifungal Agents Breakpoint tables for interpretation of MICs: Version 8.0. *Eucast*. 2015.
60. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast. *M27-S4*. 2012.
61. Mirhendi H, Diba K, Rezaei a, Jalalizand N, Hosseinpur L, Khodadadi H. Colony-PCR is a rapid and sensitive method for DNA amplification in yeasts. *Iran J Public Health*. 2007;36(1):40-44. <http://diglib.tums.ac.ir/pub/index.asp>.
62. White TJ, Bruns S, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Vol ; 1990:315-322. doi:citeulike-article-id:671166.
63. Varga I, Sóczó G, Kardos G, et al. Comparison of killing activity of caspofungin against *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62(6):1466-1468. doi:10.1093/jac/dkn403.
64. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski a., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol Biol Evol*. 2013;30(12):2725-2729. doi:10.1093/molbev/mst197.
65. Saitou N, Nei M. The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Mol Biol Evol*. 1987;4(4):406-425. doi:citeulike-article-id:93683.
66. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution (N Y)*. 2010;39(4):783-791. doi:10.2307/2408678.
67. Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(30):11030-11035. doi:10.1073/pnas.0404206101.
68. Cornet M, Sendid B, Fradin C, Gaillardin C, Poulain D, Nguyen HV. Molecular identification of closely related *Candida* species using two ribosomal intergenic spacer fingerprinting methods. *J Mol Diagnostics*. 2011;13(1):12-22. doi:10.1016/j.jmoldx.2010.11.014.
69. Mohammadi R, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, et al. Molecular identification and distribution profile of *Candida* species isolated from Iranian patients. *Med Mycol*. 2013;51(6):657-663. doi:10.3109/13693786.2013.770603.

70. Garcia-Effron G, Canton E, Pemán J, Dilger A, Romá E, Perlin DS. Assessment of two new molecular methods for identification of *Candida parapsilosis* sensu lato species. *J Clin Microbiol.* 2011;49(9):3257-3261. doi:10.1128/JCM.00508-11.
71. Trabasso P, Matsuzawa T, Fagnani R, 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. doi:10.1007/s11046-014-9830-9.
72. Del Pilar Vercher M, García Martínez JM, Cantón E, et al. Differentiation of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, and *C. metapsilosis* by specific PCR amplification of the RPS0 intron. *Int J Med Microbiol.* 2011;301(6):531-535. doi:10.1016/j.ijmm.2011.02.001.
73. Souza ACR, Ferreira RC, Gonçalves SS, et al. Accurate identification of *Candida parapsilosis* (sensu lato) by use of mitochondrial DNA and real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2012;50(7):2310-2314. doi:10.1128/JCM.00303-12.
74. Hays C, Duhamel C, Cattoir V, Bonhomme J. Rapid and accurate identification of species belonging to the *Candida parapsilosis* complex by real-time PCR and melting curve analysis. *J Med Microbiol.* 2011;60(4):477-480. doi:10.1099/jmm.0.026633-0.
75. Horká M, Růžička F, Kubesová A, Němcová E, Šlais K. Separation of phenotypically indistinguishable *Candida* species, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* and *C. parapsilosis*, by capillary electromigration techniques. *J Chromatogr A.* 2011;1218(25):3900-3907. doi:10.1016/j.chroma.2011.04.057.
76. Prandini THR, Theodoro RC, Bruder-Nascimento ACMO, Scheel CM, Bagagli E. Analysis of inteins in the *Candida parapsilosis* complex for simple and accurate species identification. *J Clin Microbiol.* 2013;51(9):2830-2836. doi:10.1128/JCM.00981-13.
77. Feng X, Wu Z, Ling B, et al. Identification and Differentiation of *Candida parapsilosis* Complex Species by Use of Exon-Primed Intron-Crossing PCR. *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1758-1761. doi:10.1128/JCM.00105-14.
78. Borman AM, Linton CJ, Oliver D, et al. Pyrosequencing analysis of 20 nucleotides of internal transcribed spacer 2 discriminates *Candida parapsilosis*, *Candida metapsilosis*, and *Candida orthopsilosis*. *J Clin Microbiol.* 2009;47(7):2307-2310. doi:10.1128/JCM.00240-09.
79. Tosun I, Akyuz Z, Guler NC, et al. Distribution, virulence attributes and antifungal susceptibility patterns of *Candida parapsilosis* complex strains isolated from clinical samples. *Med Mycol.* 2013;51(5):483-492. doi:10.3109/13693786.2012.745953.
80. Treviño-Rangel RJ, Garza-González E, González JG, Bocanegra-García V, Llaca JM, González GM. Molecular characterization and antifungal susceptibility of the *Candida parapsilosis* species complex of clinical isolates from Monterrey, Mexico. *Med Mycol.* 2012:1-4. doi:10.3109/13693786.2012.675526.

81. Garcia-Effron G, Canton E, Pemán J, Dilger A, Romá E, Perlin DS. Epidemiology and echinocandin susceptibility of *Candida parapsilosis* sensu lato species isolated from bloodstream infections at a Spanish University Hospital. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(11):2739-2748. doi:10.1093/jac/dks271.
82. Miranda-Zapico I, Eraso E, Hernández-Almaraz JL, 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):2315-2322. doi:10.1093/jac/dkr298.
83. Thierry G, Morio F, Le Pape P, Gay-Andrieu F, Barre O, Miegerville M. Prévalence de *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* et de *C. metapsilosis* au sein des candidémies au CHU de Nantes et profil de sensibilité aux échinocandines par la méthode E-test[®]: étude rétrospective de cinq ans (2004-2009). *Pathol Biol.* 2011;59(1):52-56. doi:10.1016/j.patbio.2010.07.019.
84. 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):5590-5596. doi:10.1128/AAC.00466-11.
85. Feng X, Ling B, Yang G, Yu X, Ren D, Yao Z. Prevalence and Distribution Profiles of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* Responsible for Superficial Candidiasis in a Chinese University Hospital. *Mycopathologia.* 2012;173(4):229-234. doi:10.1007/s11046-011-9496-5.
86. De Toro Crespo M, Torres MJ, Maite R, Aznar J. Characterization of *Candida parapsilosis* complex isolates. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(3):418-424. doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03302.x.
87. Gonçalves SS, Amorim CS, Nucci M, 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):885-887. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.03020.x.
88. Silva AP, Miranda IM, Lisboa C, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Prevalence, distribution, and antifungal susceptibility profiles of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, and *C. metapsilosis* in a tertiary care hospital. *J Clin Microbiol.* 2009;47(8):2392-2397. doi:10.1128/JCM.02379-08.
89. Tay ST, Na SL, Chong J. Molecular differentiation and antifungal susceptibilities of *Candida parapsilosis* isolated from patients with bloodstream infections. *J Med Microbiol.* 2009;58(2):185-191. doi:10.1099/jmm.0.004242-0.
90. Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Rodriguez D, 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(4):1506-1509. doi:10.1128/AAC.01595-07.

91. Borghi E, Sciota R, Iatta R, Biassoni C, Montagna MT, Morace G. Characterization of *Candida parapsilosis* complex strains isolated from invasive fungal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;30(11):1437-1441. doi:10.1007/s10096-011-1242-x.
92. Mirhendi H, Bruun B, Schönheyder HC, et al. Molecular screening for *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* among Danish *Candida parapsilosis* group blood culture isolates: Proposal of a new RFLP profile for differentiation. *J Med Microbiol*. 2010;59(4):414-420. doi:10.1099/jmm.0.017293-0.
93. Asadzadeh M, Ahmad S, Al-Sweih N, Khan ZU. Rapid molecular differentiation and genotypic heterogeneity among *Candida parapsilosis* and *Candida orthopsilosis* strains isolated from clinical specimens in Kuwait. *J Med Microbiol*. 2009;58(6):745-752. doi:10.1099/jmm.0.008235-0.
94. Merseguel KB, Nishikaku AS, Rodrigues AM, et al. Genetic diversity of medically important and emerging *Candida* species causing invasive infection. *BMC Infect Dis*. 2015;15(57). doi:10.1186/s12879-015-0793-3.
95. Prysycz LP, Németh T, Gácsér A, Gabaldón T. Unexpected genomic variability in clinical and environmental strains of the pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. *Genome Biol Evol*. 2013;5(12):2382-2392. doi:10.1093/gbe/evt185.
96. Sai S, Holland LM, McGee CF, Lynch DB, Butler G. Evolution of Mating within the *Candida parapsilosis* Species Group. *Eukaryot Cell*. 2011;10(4):578-587. doi:10.1128/EC.00276-10.
97. Prysycz LP, Németh T, Gácsér A, Gabaldón T. Genome comparison of *Candida orthopsilosis* clinical strains reveals the existence of hybrids between two distinct subspecies. *Genome Biol Evol*. 2014;6(5):1069-1078. doi:10.1093/gbe/evu082.
98. Garcia-Effron G, Katiyar SK, Park S, Edlind TD, Perlin DS. A naturally occurring proline-to-alanine amino acid change in Fks1p in *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* accounts for reduced echinocandin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(7):2305-2312. doi:10.1128/AAC.00262-08.
99. Sanguinetti M, Posteraro P, Posteraro B. Echinocandin antifungal drug resistance in *Candida* species: A cause for concern? *Curr Infect Dis Rep*. 2010;12(6):437-443. doi:10.1007/s11908-010-0131-2.
100. Földi R, Kovács R, Gesztelyi R, et al. Comparison of In Vitro and Vivo Efficacy of Caspofungin Against *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* and *C. albicans*. *Mycopathologia*. 2012;174(4):311-318. doi:10.1007/s11046-012-9554-7.
101. Khan Z, Ahmad S, Joseph L, Chandy R, Theyyathel A. Comparative in vitro susceptibility of clinical isolates of *Candida parapsilosis* complex and other *Candida* species to caspofungin and anidulafungin by Etest. *J Chemother*. 2011;23(2):97-101.

102. Spreghini E, Orlando F, Tavanti A, et al. In vitro and in vivo effects of echinocandins against *Candida parapsilosis sensu stricto*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(9):2195-2202. doi:10.1093/jac/dks180.
103. Cantón E, Espinel-Ingroff A, Pemán J, Castillo L Del. In vitro fungicidal activities of echinocandins against *Candida metapsilosis*, *C. orthopsilosis*, and *C. parapsilosis* evaluated by time-kill studies. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(5):2194-2197. doi:10.1128/AAC.01538-09.
104. Moudgal V, Little T, Boikov D, Vazquez JA. Multiechinocandin- and Multiazole-Resistant *Candida parapsilosis* Isolates Serially Obtained during Therapy for Prosthetic Valve Endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(2):767-769. doi:10.1128/AAC.49.2.767.
105. Kabbara N, Lacroix C, De Latour RP, Socié G, Ghannoum M, Ribaud P. Breakthrough *C. parapsilosis* and *C. guilliermondii* blood stream infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients receiving long-term caspofungin therapy. *Haematologica.* 2008;93(4):639-640. doi:10.3324/haematol.11149.
106. Szabó Z, Szilágyi J, Tavanti A, et al. In vitro efficacy of 5 antifungal agents against *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* as determined by time-kill methodology. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;64(3):283-288. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.011.
107. Souza ACR, Fuchs BB, Pinhati HMS, et al. *Candida parapsilosis* resistance to fluconazole: Molecular mechanisms and in vivo impact in infected *Galleria mellonella* larvae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(10):6581-6587. doi:10.1128/AAC.01177-15.
108. Zhang L, Xiao M, Watts MR, et al. Development of fluconazole resistance in a series of *Candida parapsilosis* isolates from a persistent candidemia patient with prolonged antifungal therapy. *BMC Infect Dis.* 2015;15(340). doi:10.1186/s12879-015-1086-6.
109. Sarvikivi E, Lyytikäinen O, Soll DR, et al. Emergence of Fluconazole Resistance in a *Candida parapsilosis* Strain That Caused Infections in a Neonatal Intensive Care Unit Emergence of Fluconazole Resistance in a *Candida parapsilosis* Strain That Caused Infections in a Neonatal Intensive Care Unit. *J Clin Microbiol.* 2005;43(6):2729-2735. doi:10.1128/JCM.43.6.2729.
110. Silva a. P, Miranda IM, Guida a., et al. Transcriptional profiling of azole-resistant *Candida parapsilosis* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3546-3556. doi:10.1128/AAC.01127-10.
111. Matar MJ, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. Correlation between E-test, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(5):1647-1651. doi:10.1128/AAC.47.5.1647-1651.2003.

112. Pfaller MA., Messer SA., Bolmström A., Odds FC, Rex JH. Multisite reproducibility of the Etest MIC method for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. *J Clin Microbiol.* 1996;34(7):1691-1693.
113. Pfaller M A., Castanheira M, Diekema DJ, Messer SA., Moet GJ, Jones RN. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol.* 2010;48(5):1592-1599. doi:10.1128/JCM.02445-09.
114. Ranque S, Lachaud L, Gari-Toussaint M, et al. Interlaboratory reproducibility of etest amphotericin B and caspofungin yeast susceptibility testing and comparison with the CLSI method. *J Clin Microbiol.* 2012;50(7):2305-2309. doi:10.1128/JCM.00490-12.
115. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing amphotericin B, flucytosine, and voriconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol.* 2007;45(11):3522-3528. doi:10.1128/JCM.00403-07.
116. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Comparison of the Vitek 2 yeast susceptibility system with CLSI microdilution for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole against *Candida* spp., using new clinical breakpoints and epidemiological cutoff values. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;77(1):37-40. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.019.
117. Peterson JF, Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Riebe KM, Ledebor NA. Multicenter comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing caspofungin, micafungin, and posaconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol.* 2011;49(5):1765-1771. doi:10.1128/JCM.02517-10.
118. Bourgeois N, Dehandschoewercker L, Bertout S, Bousquet PJ, Rispaill P, Lachaud L. Antifungal susceptibility of 205 *Candida* spp. isolated primarily during invasive candidiasis and comparison of the Vitek 2 system with the CLSI broth microdilution and etest methods. *J Clin Microbiol.* 2010;48(1):154-161. doi:10.1128/JCM.01096-09.

8.EKLER

8.1. Özgeçmiş

Ad:	Caner
Soyad:	Yürüyen
Doğum Yeri:	Bursa
Doğum Tarihi:	21.04.1983
Görev Yeri:	Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
Yabancı Dil:	İngilizce, Almanca
E-Posta Adresi	caner.yuruyen@yeditepe.edu.tr

Tarih	Eğitim
1994-2002	İstanbul Lisesi
2002-2008	İ.Ü. Cerrahpaşa tıp fakültesi İng. bölümü
2012-2014	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
2014-	Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD
İş Tecrübesi	
2009-2011	İstanbul eğitim ve araştırma hastanesi-KBB kliniği asistan doktor
2012-2014	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD asistan doktor
2014-	Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD asistan doktor

8.2 Etik Kurul Kararı



Sayı : 37068608-6100-15-1027
Konu: Etik kurul Başvurusu hk.

08 / 04 / 2015

İlgili Makama (Sayın Dr. Caner Yürüyen)

Yeditepe Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmesi planlanan Dr. Caner Yürüyen'in sorumlu olduğu "**Candida parapsilosis kompleks suşlarının moleküler karakterizasyonu ve antifungal duyarlılığı**" isimli araştırma projesine ait KAEK Başvuru Dosyası (~~2/18~~ kayıt sayılı KAEK Başvuru Dosyası), Yeditepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 08-04 2015 tarihli toplantıda incelenmiştir.

Kurul tarafından yapılan inceleme sonucu, çalışmanın yapılmasında etik ve bilimsel açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir (Karar No: 55/465).

Bilginizi ve gereğini saygılarımla arz ederim.

Prof. Dr. Turgay ÇELİK
Yeditepe Üniversitesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı