

Yoğun Bakım Ünitesi Hastaları Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Candida parapsilosis* Suşlarının Mini Epidemiler Bakımından Araştırılması

Efdal OKTAY, Harun GÜLBUDAK, Didem ÖZGÜR, Feza OTAĞ

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda kateterizasyona bağlı olarak gelişen fungal enfeksiyonlar arasında en sık kan dolaşımı enfeksiyonları görülmektedir. *Candida albicans* endojen kaynaklı olmasından dolayı nozokomiyal fungal enfeksiyonlarda ilk sırada yer almaktadır. Antifungal tedaviye daha zor yanıt veren *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* gibi *albicans*-dışı *Candida* türleriyle karşılaşma oranı hızla artmaktadır. Bu çalışmada, nozokomiyal potansiyeli bulunduğu bilinen *C. parapsilosis* suşlarının klonal yakınlıklarının rep-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic Element-Polimeraz Zincir Reaksiyonu, bioMerieux, Fransa) DiversiLab® yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ocak 2012 ve Haziran 2013 yılları arasında santral venöz kateterden alınan kan örneklerinden izole edilen 33 *C. parapsilosis* suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Klasik yöntemlerle tür tanısı yapılan suşların klonal ilişkileri rep-PCR DiversiLab® sistemi ile belirlenmiştir.

Bulgular: Rep-PCR DiversiLab® sistemi ile yapılan klonal ilişki analizi sonucunda üç (A-C) farklı klon tespit edilmiş, A klonunun (%87.8, n=29) baskın tip olduğu belirlenmiştir. B klonuna ait 3 suş, C klonunda ise bir suş saptanmıştır. A klonu, reanimasyon ünitesi örneklerinin %48.2'sinden, pediatri yoğun bakım ünitesi örneklerinin %20.6'sı, cerrahi yoğun bakım ünitesi örneklerinin %17.2'sinden dahilîye yoğun bakım ünitesi örneklerinin %13.7'sinden izole edilmiştir. İlk ve son suşun izolasyon tarihleri arasında on sekiz aylık süre olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: *C. parapsilosis* suşlarının servisler arası transfer edilen hastalar ve çapraz bulaşlar sonucu yayıldığı düşünülmüştür. Çalışmada kullanılan rep-PCR DiversiLab® sisteminin epidemiyolojik çalışmalarda ve enfeksiyon kontrolünde kullanılabilecek kolay uygulanabilen, hızlı ve başarılı bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır. Suşların hastane ortamındaki dağılımının klonal ilişki göstermesi, enfeksiyon kontrol önlemlerinin önemini bir kez daha vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: *Candida parapsilosis*, Nozokomiyal fungal enfeksiyon, rep-PCR DiversiLab®

SUMMARY

Investigating of *Candida parapsilosis* Strains Isolated from Blood Cultures of Patients in Intensive Care Unit in Terms of Mini-Epidemics

Objective: Bloodstream infections are seen the most common fungal infections which is caused by catheterization in the hospitalized patients in intensive care units. *Candida albicans* is the first nosocomial fungal infection owing to endogenous origin. Incidence of non-*albicans* *Candida* species (*Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*) that have antifungal treatment problems, are increasing rapidly. The aim of this study was to determine the clonal relationship between strains of *C. parapsilosis* by using rep-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic Element-Polymerase Chain Reaction, bioMerieux, Fransa) DiversiLab® method.

Materials and Methods: A total of 33 *C. parapsilosis* strains isolated from blood samples obtained from central venous catheter between January 2010-June 2013 were included in the study. Clonal relationships of *Candida parapsilosis* strains which were type diagnosed by the conventional methods were determined by rep-PCR DiversiLab® system.

Results: Rep-PCR DiversiLab® analysis have shown the presence of three clones (A-C). Clone A was found to be the dominant type. Twenty nine (87.8%) of the 33 *C. parapsilosis* strains belonged to clone A, 3 (9.0%) to clone B, one strains to clone C. Clone A was isolated from 48.2%, 20.6%, 17.2%, 13.7% of the samples sent from reanimation unit, pediatric intensive care unit, surgical intensive care unit, internal diseases intensive care units, respectively. Eight month interval has been found between first and last isolations.

Conclusion: As a result; it is contemplated that *C. parapsilosis* strains were scattered as a result of cross transmission and patient transfer among clinics. The rep-PCR DiversiLab® system which was used in this study has been evaluated as a rapid, easily applicable and successful procedure for epidemiological studies. Clonal distribution of strains in the hospital environment emphasizes the significance of infection control measures.

Keywords: Nosocomial fungal infection, *Candida parapsilosis*, rep-PCR DiversiLab®

Alındığı tarih: 16.06.2015

Kabul tarihi: 04.12.2015

Yazışma adresleri: Efdal Oktay, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34. Cadde, Çiftlikköy Kampüsü, Mersin e-posta: efdaloktay@gmail.com

GİRİŞ

Son yıllarda modern tedavi yaklaşımlarının gelişmesi, kemoterapi ve diğer immünespresif tedavi alan hastaların sayısının artması, transplantasyon cerrahisinin gelişmesi, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'de yatan hasta sayısının artması ve hastalara uygulanan invazif işlemler nedeniyle albicans-dışı *Candida* (ADC) türlerinin neden olduğu enfeksiyonların sıklığında belirgin bir artış görülmüştür⁽¹⁻³⁾.

Son epidemiyolojik verilere göre *Candida albicans* en sık etken olarak kalırken, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* ve *Candida tropicalis* gibi türlerin prevalansında artış olmasıyla *C. albicans* enfeksiyon insidansı göreceli olarak azalmıştır^(4,5). Türkiye'de *C. parapsilosis*, *C. albicans*'tan sonra sıklıkla kandidemi yapan türdür. *C. parapsilosis* daha çok deri ve mukozadan kaynaklanan kandidemiye yol açmaktadır. Bu tür, kateter ve implantlarda biyofilm oluşturma ve hastane ortamında kalıcılığı yanında bebek ve yenidoğan enfeksiyonlarıyla bilinmektedir⁽⁶⁾. Bir ünite kan kültürlerinde *C. parapsilosis* üremesi enfeksiyon kontrolünün eksikliği yönünden bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde görülen kan dolaşım sistemi kandidozlarında *Candida* türleri ya enfeksiyon etkeni ya da kolonizan olarak karşımıza çıkmaktadır⁽⁶⁻⁸⁾. Yoğun bakım üniteleri gibi riskli hastaların yattığı birimlerde, enfeksiyonların 1/3'ünden fazlası çapraz bulaşmayla meydana gelirken; kontrol önlemlerinin yetersizliği hâlinde bu oran daha da yükselmektedir⁽⁹⁾. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda yayılımın kontrol edilmesi ve gerekli önlemlerinin alınması için epidemiyolojik çalışmalar önemlidir. Bunun için kolay uygulanabilen, ayırım gücü yüksek moleküler yöntemler tercih edilmelidir. Bu yöntemlerle izole edilen suşların genetik ilişkilerinin varlığı, etkenin kaynağı ve bulaş yolları saptanabilmektedir^(7,10).

Çalışmamızda, hastanemiz YBÜ hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *C. parapsilosis* suşlarının olası mini epidemiler bakımından genetik yakınlıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

ve bunun için ticari bir sistem olan yarı-otomatik rep-PCR DiversiLab® (bioMeriëux, Fransa) sistemi kullanılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

1. Candida Suşlarının Seçimi

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde Ocak 2012 - Haziran 2013 tarihleri arasında yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların santral venöz kateterinden alınan kan (SVK) kültürlerinden izole edilen 33 *C. parapsilosis* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. *C. parapsilosis*'in çalışma suşu olarak belirlenmesi, hastanemizdeki 9 yıllık maya profilinde SVK kültürlerinde en sık izole edilen maya türünün *C. parapsilosis* olmasına dayanmaktadır⁽¹¹⁾. Bir ünite aynı zaman diliminde yatan hastalardan izole edilmiş olan *C. parapsilosis* suşları hastane enfeksiyonu etkeni olabileceği düşünülerek seçilmiştir. Hastayı temsil eden tek suşun seçiminde, kültür için gönderilen eşzamanlı her iki şişesinde birden *C. parapsilosis* üremesine ve ardışık en az 3 kan örneğinden izole edilmiş olmasına dikkat edilmiştir.

2. Suşların Tanımlanması

Otomatize kan kültür sisteminde (BACTEC) takip edilen ve pozitif sinyal ile sistemden çıkarılan şişelerden hazırlanan Gram preparatlarda maya hücrelerinin görülmesi ile Sabouraud dekstroz agar (SDA) ve kromojenik substratlı (CHROMagar-Candida) besiyerlerine pasajlanarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. SDA besiyerinde üreyen maya kolonilerinin tür tanılarının yapılmasında konvansiyonel yöntemler (Tween-80'li mısır unlu jelozda gerçek/yalancı hifler ile klamidospore varlığı, kromojenik agardaki pigmentleri, insan serumunda çimlenme borusu oluşumu) ile ticari kit (API ID 32°C, bioMeriëux, Fransa) kullanılmıştır⁽¹²⁾. Tüm suşlar PCR çalışması yapıncaya kadar %10 gliserollü buyyonda -30°C'de saklanmıştır.

3. Klonal ilişkilerin araştırılması

Tüm suşlar, ticari PCR karışımı ve mikro akış-

kan jel elektroforezi bulunan rep-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic Element-Polimeraz Zincir Reaksiyonu) DiversiLab® (bioMérieux, Fransa) sisteminde çalışılmıştır.

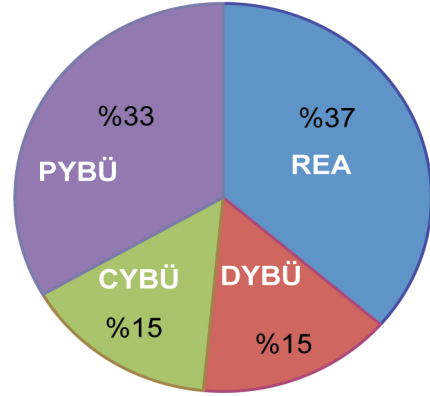
DNA izolasyonu, “UltraClean™ Microbial DNA Isolation Kit” (MoBio Laboratories, ABD) kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmıştır. DNA miktarları nanodrop cihazı ile ölçülerek 35 ng/µl olacak şekilde seyreltilmiştir. DNA amplifikasyonu, *Candida* DNA parmak izi kiti (DiversiLab®, DNA Fingerprinting Kit, bioMérieux, Fransa) kullanılarak yapılmıştır. Termal döngü parametreleri, başlangıç denatürasyonu 94°C’de 2 dk, 35 döngüdeki denatürasyon 94°C’de 30 sn, primer bağlanması 50°C’de 30 sn, zincir uzaması 70°C’de 90 sn. son uzama 70°C’de 3 dk şeklinde uygulanmıştır. Elektroforez işlemi, DiversiLab® DNA LabChip Kit’i (bioMérieux, Fransa) ile Agilent 2100 bioanalyzer (Agilent Technologies Inc, ABD) cihazında yapılmıştır.

Rep-PCR parmak izi sonuçları internet tabanlı DiversiLab® analiz programı (bioMérieux, Fransa) ile elde edilmiştir. Örneklerin benzerliklerinin belirlenmesi ve dendogram oluşturmak için Pearson korelasyon katsayısı ve UPGMA (aritmetik ortalama kullanarak ağırlıksız gruplama) yöntemi kullanılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde %95’in üzerinde benzerlik gösteren suşlar ana klon, ana klon içerisinde %97’nin üzerinde benzerlik gösteren suşlar alt tip (ayrıt edilemez) olarak kabul edilmiştir. Benzerlik oranları %95’in altında (> 2 bant farkı) olan suşlar farklı klon olarak değerlendirilmiştir⁽¹³⁾.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan hastaların 23’ü (%69.7) erkek, 10’u (%30.3) kadın, yaş ortalaması 37.9 (1 ay-87 yıl) ve en sık *C. parapsilosis* izole edilen yaş grubu 0-20 yaş grubu (13 hasta, %39.3) olarak saptanmıştır. Hastanede yatış süresi ortalama 44 gün (6-156 gün) olarak belirlenmiştir.

C. parapsilosis suşlarının 12 (%36.3)’si reanimasyon (REA)’da yatan hastalardan, 21 (%63.6)’i ise diğer servislerden izole edilmiştir. Suşların diğer servislerdeki dağılımı; dahiliye yoğun bakım ünitesi (DYBÜ) 5 (%15.1), cerrahi yoğun bakım ünitesi (CYBÜ) 5 (%15.1), pediatri yoğun bakım ünitesi (PYBÜ) 11 (%33.4) şeklindedir (Şekil 1).

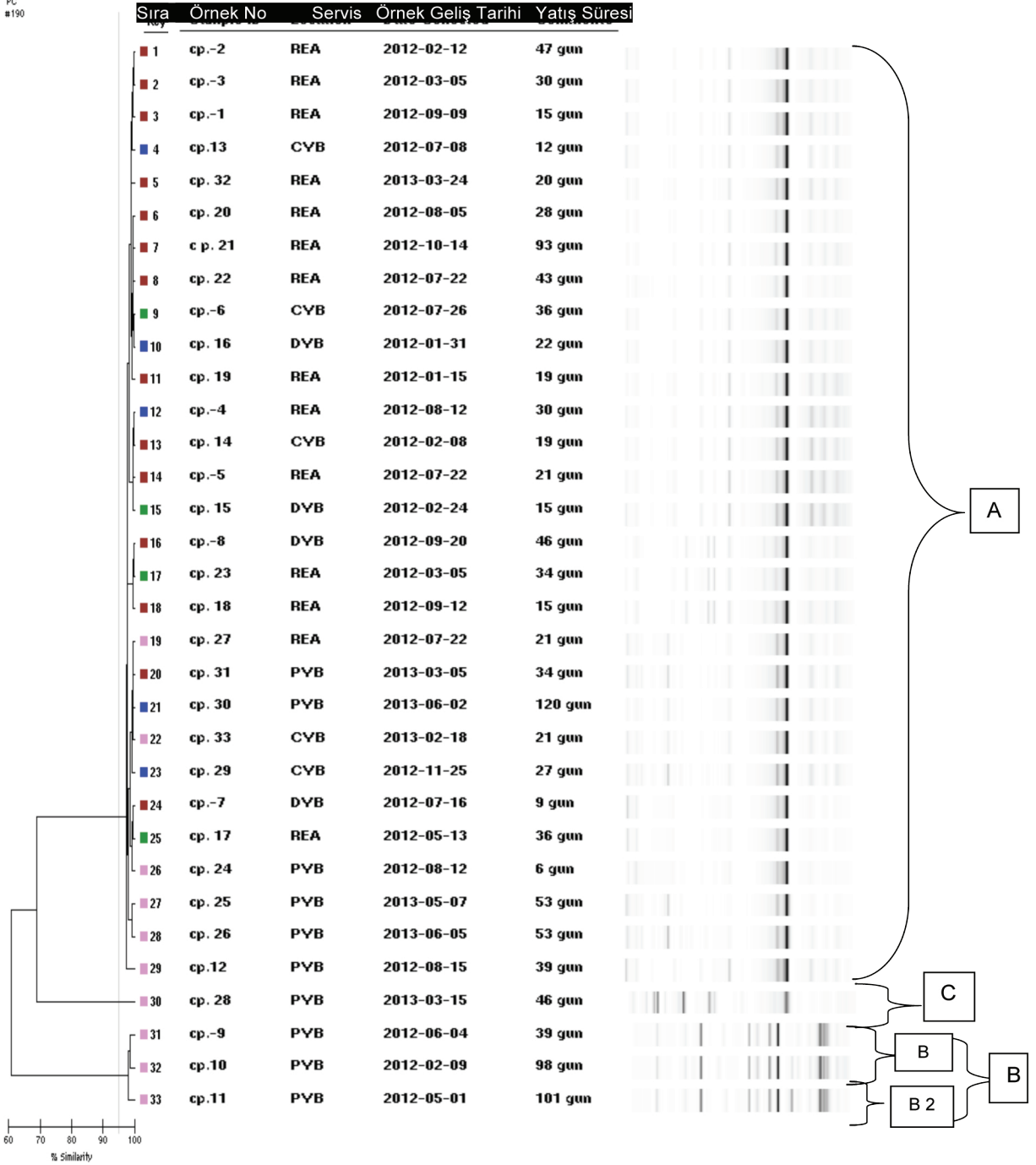


Şekil 1. *Candida parapsilosis* suşlarının servislere göre dağılım oranı.

Rep-PCR DiversiLab® yöntemi ile 3 farklı klon (A-C) belirlenmiştir. A ana klonu *C. parapsilosis*’lerin 29 (%87.8)’unun toplandığı en büyük klon olarak tespit edilmiştir (Şekil 2). B klonunda 3 suş (%9.1), C klonunda 1 (%3.1) suş kümelenmiştir. A klonunu oluşturan *C. parapsilosis* suşu, REA (n: 14), DYB (n: 4), CYB (n: 5), PYB (n: 6)’nde Ocak-2012 ve Haziran 2013 tarihleri arasında varlığını sürdürmüştür. B klonundaki 3 suş, PYBÜ’de Şubat-2012 ile Haziran-2012 tarihleri arasında varlığını sürdürmüştür. C klonundaki tek suş ise Mart-2013 tarihinde PYBÜ’de yatan hastadan izole edilmiştir (Tablo 1).

TARTIŞMA

Son yıllarda *Candida* türlerinin neden oldukları enfeksiyonlarda artış olmakla birlikte, bu enfeksiyonlara neden olan türlerin çeşitliliğinde de değişiklikler görülmeye başlanmıştır. Endojen kaynaklı olması nedeniyle, hâlâ nozokomiyal fungal enfeksiyonlarda ilk sırayı *C. albicans* almasına rağmen, antifungal tedaviye daha zor

Diversilab v3.4
PC
#190Şekil 2. Rep-PZR analizi sonucunda *Candida parapsilosis* klonlarına ait dendrogram.

yanıt verdiği bilinen *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* gibi ADC türleriyle karşılaşma oranı hızla artmaktadır^(7,8,10,14).

Ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çeşitli çalışmalarda YBÜ'de yatan hastaların kan örneklerinden izole edilen maya mantarlarından

C. albicans'ın en sık saptanan tür olduğu dikkati çekmektedir. ADC türleri içinde en sık saptananlar ise *C. parapsilosis*, *C. glabrata* veya *C. tropicalis*'tir^(6,10,14-18). *Candida* türlerinin sıklık sıralaması, çalışmanın yapıldığı hasta grubunun özelliklerine, hastanenin özelliklerine ve coğrafi lokalizasyona göre değişiklik

Tablo 1. *Candida parapsilosis* suşlarının aylara ve servislere göre dağılımı, A, B, C: Rep PCR klonları.

HASTA		2012												2013											
NO	E/K	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	E									A															
1	E									A															
2	E			A																					
2	E			A																					
3	K									A															
4	E								A																
5	K					A																			
6	E												A												
7	E									A															
8	K			A																					
9	E	A																							
10	E								A																
11	E								A																
12	E								A																
13	K			A																					
14	E			A																					
15	E									A															
16	K									A															
17	E	A																							
18	E			B																					
19	K								B																
20	E								A																
21	E							B																	
22	E									A															
23	E									A															
24	E																								
25	K																								
26	E									A															
27	E																								
28	K																								
29	K																								
30	E																								
31	E																								
32	K																								
33	E																								

göstermektedir. Birçok çalışmada, kandidemi etkenlerinde belirgin derecede bir değişiklik olduğu ve ADC'lere bağlı kandidemi oranının yaklaşık %50'lere ulaştığı belirtilmektedir^(14,16). SENTRY programına göre ABD'deki kandidemilerin %44'ü, Latin Amerika ülkelerindeki kandidemilerin %59'u, Avrupa ve Kanada'daki kandidemilerin ise %47'sinden ADC'ler sorumlu tutulmuştur⁽¹⁴⁾. Singhi ve ark.⁽¹⁹⁾ yalnızca PYBÜ ünitesini dâhil ettikleri çalışmada, ADC'ye bağlı kandidemi oranı %70.3 ve en sık etken olarak *C. tropicalis* (%48.4)'i bildirmişlerdir. Çalışmamızda PYBÜ'de *C. parapsilosis*'in etken olduğu kandidemi oranı %33.4 olarak bulunmuştur. İspanya'da yapılan beş yıllık retrospektif bir çalışmada ise, ADC'lere bağlı kandidemi oranını (%64.2), *C. albicans*'a bağlı kandidemi oranından (%35.8) daha fazla bulmuşlardır. Ayrıca çalışmada, en sık kandidemi etkeni olarak *C. parapsilosis* (%41.5) saptanmıştır⁽²⁰⁾. Otağ ve ark.'nın⁽¹⁰⁾ yaptığı çalışmada, kandidemilerin %76.2'sinden ADC'ler sorumlu tutulmuştur ve kandidemi etkenleri arasında *C. parapsilosis* ilk sırada yer almıştır.

İmmünsüpresif hastalarda santral venöz kateter ve kalıcı kateterin uzun süre kullanılması *C. parapsilosis* enfeksiyon riskini arttırmaktadır. *C. parapsilosis* türlerinin yüksek glukoz ve lipid konsantrasyonları içeren besiyerlerinde üretildiklerinde biyofilm oluşturdıkları gözlenmiştir. Bu durum parenteral beslenen hastaların kan dolaşımını enfeksiyonlarındaki yüksek prevalansla ilişkilendirilmiştir⁽²¹⁾. *C. parapsilosis*'in, plastik medikal aletlere karşı seçiciliği, üriner kateter ve damar yolu kateterlerinde kolonize olması biyofilm oluşturma yeteneğine bağlı olduğu belirtilmiştir⁽²²⁾. İspanya'da yapılan bir çalışmada⁽²³⁾, 72 *C. parapsilosis* enfeksiyonlu hastada vasküler kateterizasyon (%97), antibiyotik tedavisi (%91), ameliyat geçmişi (%46), immünsüpresif tedavi (%38), malignite (%27), transplantasyon (%16), nötropeni (%12), kolonizasyon (%11) risk faktörleri olarak sıralanırken, Brezilya'da 2002-2003 yılları arasında rapor edilen 64 *C. parapsilosis* fungemili olguda primer risk faktörleri nötropeni, santral venöz kateter (SVK) kullanımı ve kanser kemoterapisi olduğu bildirilmiştir⁽²⁴⁾. Çalışmamızda, TPN

(%90.9), SVK varlığı (%84.8) ve antibiyotik kullanımını (%66.6) olarak tespit edilen risk faktörleri yaklaşık beş yıl önce hastanemizde yapılan başka bir çalışmanın bulgularıyla benzerdir⁽⁸⁾.

Hastane enfeksiyonları ve salgınlarında suşlar arasındaki klonal ilişkinin saptanması, bulaş kaynağının tespit edilmesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması açısından önem taşımaktadır^(7,25). Rep-PCR DiversiLab® sisteminin klinik örneklerde sık karşılaşılan *Candida* türlerinin (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. tropicalis*) suş seviyesinde ayırımında ve identifikasyonunda başarılı olduğu bildirilmiştir⁽¹³⁾.

Tayvan'da yapılan bir çalışmada, 53 *C. albicans* suşunun genotiplendirilmesinde, PFGE (Pulsed-field gel electrophoresis) yöntemiyle 38 farklı klon, rep-PCR yöntemiyle 31 farklı klon saptanmıştır. PFGE'nin ayırım gücünün yüksek olduğu belirlenmiştir⁽²⁶⁾. Çin'de yapılan bir çalışmada, MLST (Multilokus Sekans Tiplendirme) ve rep-PCR yöntemleri karşılaştırılmış. Otuz dört *C. glabrata* suşunda 17 farklı klon tespit edilmiş, istatistiksel analizler sonucunda rep-PCR'in ayırım gücü yüksek bulunmuştur⁽²⁷⁾.

Çalışmamızda, 33 *C. parapsilosis* suşunun klonal ilişkileri rep-PCR DiversiLab® yöntemi ile araştırılmıştır. Rep-PCR analizi sonucunda, 33 *C. parapsilosis* suşundan 3 farklı klon (A-C) elde edilmiştir. A klonu 29 (%87.8) *C. parapsilosis* suşunun kümelendiği en büyük klonu oluşturmuştur. A ana klonundaki ilk suş Ocak-2012 tarihinde REA'da son suş ise Haziran-2013 tarihinde PYBÜ'de yatan hastadan izole edilmiştir. Bu klondaki suşların %48.2'si REA, %20.6'sı PYBÜ, %17.2'si CYBÜ, %13.7'si DYBÜ'de yatan hastalardan izole edilmiştir. Elde edilen veriler ile hastanemizdeki *C. parapsilosis* suşlarının büyük oranda klonal ilişkili dağılım göstererek A klonunda kümelendiği, A klonundaki suşların erişkin ve pediatri yoğun bakım ünitelerinde yayıldığı ve bu klondaki suşların çalışmanın yapıldığı 18 ay boyunca hastanedeki varlığını sürdürdüğü görülmüştür. B klonunda kümelenen 3 suş 5 ay boyunca PYBÜ'de varlığını sürdürmüştür. Hastanede hastaların servisler arası transferleri, hastalar ve

sağlık personeli aracılığıyla gerçekleşen çapraz bulaşlar sonucu suşların hastane içerisinde kolayca yayıldığı ve uzun süre varlığını sürdürdüğü yine ortaya konmuştur.

Çalışmamızın en önemli sınırlamaları, örnek sayısının az olması (n=33), SVK örneklerinden izole edilen suşları kapsaması ve rep-PCR DiversiLab® sistemi ile *Candida* türlerinin klonal ilişkisinin analizi ile ilgili verilerin az olmasıdır. *Candida parapsilosis*'in el florasında bulunması, biyofilm oluşturarak biyomedikal aletlere kolayca tutunması bu türü ADC türleri arasında en fazla nozokomiyal enfeksiyon potansiyeli olan tür hâline getirmektedir. *C. parapsilosis*'in yoğun bakım ünitelerinde uzun süre yaygın olmasının temeli budur. Sonuç olarak, *C. parapsilosis* suşlarının hastane ortamındaki dağılımının klonal ilişki göstermesi, enfeksiyon kontrol programlarının önemini bir kez daha vurgulamış ve rep-PCR DiversiLab® sisteminin moleküler epidemiyolojik çalışmalarda başarıyla kullanılabilceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Soll DR. The ins and outs of DNA fingerprinting the infectious fungi. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13:332-70. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.13.2.332-370.2000>
2. Samaranyake LP, Fidel PL, Naglik JR, et al. Fungal infections associated with HIV infection. *Oral Dis* 2002; 8(Suppl 2):S151-60. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1601-0825.8.s2.6.x>
3. Hagerty JA, Ortiz J, Reich D, Manzarbeitia C. Fungal infections in solid organ transplant patients. *Surg Infect (Larchmt)* 2003; 4:263-71. <http://dx.doi.org/10.1089/109629603322419607>
4. Bassetti M, Righi E, Costa A, et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infect Dis* 2006; 6:21. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-6-21>
5. Colombo AL, Perfect J, DiNubile M, et al. Global distribution and outcomes for *Candida species* causing invasive candidiasis: results from an international randomized doubleblind study of caspofungin versus amphotericin B for the treatment of invasive candidiasis. *Eur J Clin Microbiol* 2003; 22:470-4. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-003-0973-8>
6. Yüksekaya Ş, Fındık D, Arslan U. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların idrarlarından izole edilen *Candida* türlerinin moleküler epidemiyolojisi ve antifungal duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45:137-49.
7. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9:499-511.
8. Horasan EŞ, Ersöz G, Gökse M, et al. Increase in *Candida parapsilosis* fungemia in critical care units: a 6-years study. *Mycopathologia* 2010; 170:263-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-010-9322-5>
9. Ergüt Sezer B, Arman D. Yoğun bakım ünitesinde gelişen fungal enfeksiyonlar. *Yoğun Bakım Dergisi* 2010; 9:121-8.
10. Otağ F, Aslan G, Şen S, Özturhan H, Emekdaş G. 2003-2005 süresinde klinik örneklerden izole edilen maya türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksi Derg* 2005; 19:435-43.
11. Gülbudak H, Oktay E, Direkel Ş, Elçi K, Emekdaş G, Otağ F. Bir üniversite hastanesinde mayaların 9 yıllık profili. I. Ulusal Mikoloji Günleri Simpozyum Kitabı, Erzurum: Türkiye, 2014; 19.
12. Neppelenbroek KH, Seô RS, Urban VM, et al. Identification of *Candida* species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques. *Oral Dis* 2014; 20:329-44. <http://dx.doi.org/10.1111/odi.12123>
13. Wise MG, Healy M, Reece K, et al. Species identification and strain differentiation of clinical *Candida* isolates using the DiversiLab system of automated repetitive sequence-based PCR. *J Med Microbiol* 2007; 56:778-87. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.47106-0>
14. Pfaller MA, Castanheira M, Messer AS, Moet GJ, Jones RN. Variation in *Candida* spp. distribution and antifungal resistance rates among bloodstream infection isolates by patient age: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008-2009). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 68:278-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.06.015>
15. Erdem F, Tuncer Ertem G, Oral B, Karakoç E, Demiröz AP, Tülek N. *Candida* türlerine bağlı nozokomiyal enfeksiyonların epidemiyolojik ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46:637-48.
16. Knoke M, Schulz K, Bernhardt H. Dynamics of *Candida* isolations from humans from 1992-1995 in Greifswald, Germany. *Mycoses* 1997; 40:105-10. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.1997.tb00197.x>
17. Da Silva EH, Ruiz Lda S, Matsumoto FE, et al. Candiduria in a public hospital of São Paulo (1999-2004): characteristics of the yeast isolates. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007; 49:349-53. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652007000600003>
18. Jain N, Kohli R, Cook E, Gialanella P, Chang T, Fries BC. Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73:1697-703. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02439-06>
19. Singhi SC, Reddy TC, Chakrabarti A. Candidemia in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2004; 5:369-74. <http://dx.doi.org/10.1097/01.PCC.0000123550.68708.20>
20. Durân MT, Velasco D, Canle D, Moure R, Villanueva R. Antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolates from blood cultures in a five-year period (1997-2001). *Enferm Infect Microbiol Clin* 2003; 21:488-92.
21. Nosek J, Holesova Z, Kosa P, Gacser A, Tomaska L. Biology and genetics of the pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. *Curr Genet* 2009; 55:497-509. <http://dx.doi.org/10.1007/s00294-009-0268-4>
22. Trofa D, Gacser A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21:606-25. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00013-08>
23. Almira 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; 44:1681-5. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.44.5.1681-1685.2006>
24. Brito LR, Guimarães T, Nucci M, et al. Clinical and microbiological aspects of candidemia due to *Candida parapsilosis* in Brazilian tertiary care hospitals. *Med Mycol* 2006; 44:261-6. <http://dx.doi.org/10.1080/13693780500421476>
25. Gülay Z, Ergon C, Özkütük A, Yücesoy M, Biçmen M. Anestezi yoğun bakım ünitesinde hastalarından izole edilen *Candida albicans* suşlarının antifungal ajanlara duyarlılığı ve moleküler epidemiyolojik izlemi. *Mikrobiyol Bul* 2002; 36:309-16.
26. Chen KW, Lo HJ, Lin YH, Li SY. Comparison of four molecular typing methods to assess genetic relatedness of *Candida albicans* clinical isolates in Taiwan. *J Med Microbiol* 2005; 54:249-58. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.45829-0>
27. Zhang W, Zheng B, Ying C, Wang Y, Zhang H, Yang J. Application of rep-PCR in genotyping of *Candida glabrata*. *J Zhang Jiao Univ Med Scien* 2012; 32:886.