

Önem Kazanan Patojen: *Candida kefyri* (*Kluyveromyces marxianus*)

Emerging Pathogen: *Candida kefyri* (*Kluyveromyces marxianus*)

Tuğba ÇUHADAR¹, Ayşe KALKANCI¹

¹ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

¹ Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 24.05.2017 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 29.09.2017

ÖZ

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarında dikkat çekici bir şekilde 2016 yılında %5.3, 2017 yılında %9.3 oranında *Candida kefyri* izolasyonu yapılmış ve iki kat artış izlenmiştir. Bu çalışma, *C.kefyri* türünü, tür özelliklerini, antifungal duyarlılık ve in vitro virülans faktörlerini incelemeyi amaçlamıştır. *Candida* türlerinin tanımlanmasında çimlenme borusu oluşturma, mısır unu-tween 80 agarda morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi ve karbonhidrat asimilasyonuna dayalı ID32C maya tanımlama sistemi kullanılmıştır. Çalışmada fungal rRNA'nın 5.8S ile 18S bölümleri arasındaki ITS1 gen bölgesini çoğaltan ITS1 ve ITS4 primerlerinin kullanıldığı DNA dizi analizi uygulanmıştır. Antifungal duyarlılık "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" tarafından önerilen M27A3 buyyon mikrodilüsyon yöntemine göre yapılmıştır. Amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve itrakonazol için minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri elde edilmiştir. MİK dağılımı, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ile geometrik ortalama (GM) hesaplanmıştır. Virülans faktörlerinden kazeinaz, salgısal aspartil proteinaz, esteraz ve fosfolipaz varlığı in vitro olarak araştırılmıştır. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarında 2016 yılında çeşitli klinik örneklerden 865 adet *Candida* izolatu tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bu izolatlardan 46 (%5.3)'sı *C.kefyri* olarak tanımlanmıştır. 2017 yılının ilk dört ayında 320 adet *Candida* cinsi içinde 30 (%9.3) *C.kefyri* izolatu tanımlanmıştır. Mısır unu agarda tipik morfoloji göstermeyen 10 adet izolat seçilmiştir. Bu seçilen 10 izolattan dokuzu ID32C maya tanımlama sisteminde ve DNA dizi analizi ile *C.kefyri* olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan 46 izolatu birinde amfoterisin B MİK değeri 2 µg/ml, birinde flukonazol MİK değeri 8 µg/ml olarak bulunmuştur. 2017 yılında izole edilen 30 izolattan birinde flukonazol MİK değeri 8 µg/ml olarak bulunmuştur. Çalışmada yer alan izolat grubunda belirgin bir antifungal direnç saptanmamıştır. *C.kefyri* olarak tanımlanan dokuz izolattan, birinde kazeinaz ve sekiz izolatta fosfolipaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. Belirgin bir direnç göstermeyen ve

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Ayşe Kalkancı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 06500, Ankara, Türkiye.

Tel (Phone): +90 312 202 4629, **E-posta (E-mail):** aysekalkanci@gmail.com

virülans faktörü olarak en fazla fosfolipaz aktivitesi içeren, bu *Candida* türünün, neden daha sık enfeksiyon etkeni olarak görülmeye başladığı daha ayrıntılı olarak araştırılmalıdır.

Anahtar sözcükler: *Candida kefyr*; insidans; antifungal duyarlılık; virülans; dizi analizi.

ABSTRACT

In the central microbiology laboratory of Gazi University Hospital *Candida kefyr* was isolated from different clinical samples as 5.3% in 2016 and in 2017 this rate increased to 9.3% which was nearly two-fold and this has drawn our attention. The aim of this study was to evaluate the special characteristics, antifungal susceptibility and virulence properties of *C.kefyr* species. Germ tube, corn meal-tween 80 agar morphology and carbohydrate assimilation profiles on ID32C yeast identification system were used for the diagnosis of *Candida* species. In this study, DNA sequencing was performed using ITS1 and ITS4 primers amplifying fungal gene between 5.8S and 18S regions of rRNA. Antifungal susceptibility was performed using M27A microdilution method recommended by Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Minimum inhibitory concentration (MIC) values for amphotericin B, fluconazole, voriconazole and itraconazole were determined. MIC distribution, MIC₅₀ and MIC₉₀ values and geometric mean (GM) were detected. The existence of virulence factors caseinase, secreted aspartyl proteinase, esterase and phospholipase were investigated in vitro. A total of 865 *Candida* species were isolated from different clinical samples in the central microbiology laboratory of Gazi University Hospital in 2016. Among them, 46 (5.3%) were *C.kefyr*. In the first four months of 2017, 30 (9.3%) *C.kefyr* were identified among 320 *Candida* isolates. Ten isolates which have shown atypical morphology on corn meal agar were selected. Among these 10 isolates, nine of them were identified as *C.kefyr* by using ID32C system and DNA sequencing method. Amphotericin B MIC value was 2 µg/ml for one isolate, and fluconazole MIC value was 8 µg/ml for another isolate among 46 isolates. Among the 30 isolates of the year 2017, one of them presented MIC value for fluconazole as 8 µg/ml. No marked antifungal resistance was detected in our isolate group. Caseinase was positive in one *C.kefyr* isolate, and phospholipase were positive in eight of nine isolates. As a result, the reason of increase in the incidence of this *Candida* species, which does not show significant resistance and presents mostly phospholipase activity as a virulence factor, should be investigated in more detail.

Keywords: *Candida kefyr*; incidence; antifungal susceptibility; virulence; sequencing.

GİRİŞ

Klinik mikoloji laboratuvarlarında giderek daha çok sayıda *Candida* türü etken olarak tanımlanmaktadır. Bu artışın nedenleri; altta yatan hastalıklara sahip hasta sayısının artması, hastanede uzun yatış süreleri, girişimsel tıbbi yöntemlerin artmış olması ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı nedeniyle normal floranın değişmesidir¹. Mantarlarda tür tanımı için kullanılan klasik yöntemlere ek olarak kütle spektrometresi, dizi analizi gibi yeni ve ileri düzey tanımlama yöntemlerinin kullanılıyor olması da farklı *Candida* türlerinin artışının başka bir sebebi olabilir. Bu yöntemler sayesinde önceki yıllarda tanımlanmadığımız türler artık tanımlanabilir hale gelmiştir².

Anabilim dalımız mikrobiyoloji merkez laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida kefyr* türü mayaların *Candida* cinsi içindeki artışı dikkatimizi çekmiştir. *C.kefyr*, teleomorf (eşeyli) ismi ile *Kluyveromyces marxianus* türü maya, "kefir" olarak isimlendirilen çok eski bir probiyotiktir. İlk kez 1909 yılında Jörgensen tarafından izole edilmiştir. *Saccharomyces*'e benzerliği nedeniyle, aynı cins sanılarak, *S.marxianus* olarak

isimlendirilmiştir. Daha sonra farklı bir cins olduğu anlaşılmış ve son olarak *Kluyveromyces* cinsi içerisinde yer almıştır. Bu cins içinde 15 ayrı tür ve yedi varyete bulunmaktadır. *K.marxianus* türü, 2003 yılında Kurtzman tarafından ve 2007 yılında Lachance tarafından “tip tür” olarak önerilmiştir³.

DNA dizi analizi bulguları ve mikrobiyoloji merkez laboratuvarlarına hızla yerleşmekte olan kütle spektrometresi “Matrix-assisted laser desorption/ionization-Time of Flight (MALDI-TOF)” sistemlerinin bilgi bankaları *C.kefyr* yerine, eşeyli üreme formu olmasına rağmen *K.marxianus* tanımını verebilmektedir. Bunun nedeni, veri kütüphaneleri oluşturulurken, eşeyli formun bilgisinin girilmiş olmasındandır. Bu durum, klinik laboratuvarlar için sorun oluşturabilmektedir⁴.

Bu çalışmanın amacı, klinik örnekler içinde *C.kefyr* izolasyon sıklığını belirlemek ve bir artış varsa bunu vurgulamak, tür tanımında dikkat edilmesi gereken morfolojik özellikleri ve virülans faktörlerini, antifungal duyarlılık ve direnç özelliklerini göstermektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Anabilim dalımız laboratuvarında 2016 yılında ve 2017 yılının ilk dört ayında tür düzeyinde *C.kefyr* olarak tanımlanan mayaların, bütün tanımlanan *Candida* cinsi içindeki oranı hesaplandı. Geniş bir literatür taraması yapılarak Türkiye ve dünyadan çeşitli merkezlerde *C.kefyr* veya *K.marxianus* olarak tanımlanan mayaların tüm *Candida* cinsi içindeki oranları hesaplandı.

Candida türlerinin tanımlanmasında çimlenme borusu oluşturma, mısır unu-tween 80 agarda morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi ve karbonhidrat asimilasyonuna dayalı ID32C maya tanımlama sistemi (bioMérieux, Fransa) kullanıldı. Mısır unu-tween 80 agardaki morfolojik özellikleri 48 ve 96. saatte ayrıntılı olarak incelendi ve fotoğrafları kayıt edildi.

Sabouraud dekstroz agarda üremiş *Candida* kolonilerinin genomik DNA'larının elde edilmesi için proteinaz K ve fenol-kloroform-izoamil alkol yöntemi kullanıldı. Fungal rRNA'nın 5.8S ile 18S bölümleri arasındaki ITS1 gen bölgesinin çoğaltılması için ITS1 5'-CTT GGT CAT TTA GAG GAAGTA-3' ve ITS4 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3' primerleri kullanıldı. “Cycle Sequencing” basamağının ardından, ABI Prism™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazında kapiller elektroforez yapıldı. İki primer ile iki kez dizileme gerçekleştirildi. Elde edilen DNA dizileri “National Center for Biotechnology Information” BLAST sistemi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) kullanılarak tanımlandı. Tür tanımında klasik tanımlama ve ID32C sistemi sonuçları dizi analizi sonuçlarıyla doğrulandı⁵.

Antifungal duyarlılık “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” tarafından önerilen M27A3 buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle gerçekleştirildi⁶. Yuvarlak tabanlı mikropoplaklarda MOPS ile tamponlanmış RPMI 1640 besiyeri kullanıldı. Amfoterisin B için 16-0.03 µg/ml, flukonazol için 128-0.25 µg/ml, vorikonazol için 64-0.125 µg/ml, itra-

konazol için 16-0.03 µg/ml arasındaki ilaç konsantrasyonları test edildi. Amfoterisin B için üremenin olmadığı ilk kuyucuk, azoller için üremenin kontrole göre %50 azaldığı ilk kuyucuk minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri olarak belirlendi. MİK dağılımı, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ile geometrik ortalama (GM) hesaplandı.

Kazeinaz, salgısal aspartil proteinaz (SAP), esteraz ve fosfolipaz gibi virülans faktörlerinin varlığı araştırıldı⁷. Kazeinaz varlığını göstermek için süt tozu içeren besiyeri, salgısal aspartil proteinaz varlığını göstermek için sığır serum albumin içeren besiyeri, esteraz aktivitesi için tween 80'li agar, fosfolipaz varlığını araştırmak için yumurta sarılı agar kullanıldı. Besiyerlerine 10⁶ hücre/ml içeren *C.kefyri* süspansiyonundan 50 µl damlatıldı ve oda sıcaklığında 2-7 gün bekletildi. Kazeinaz için koloni etrafında buğu şeklinde bir hat, SAP için koloni etrafında şeffaf bir halka, esteraz için koloni etrafında baloncuklu mat bir hat, fosfolipaz için koloni etrafında koyu ve mat bir hat oluşumu arandı.

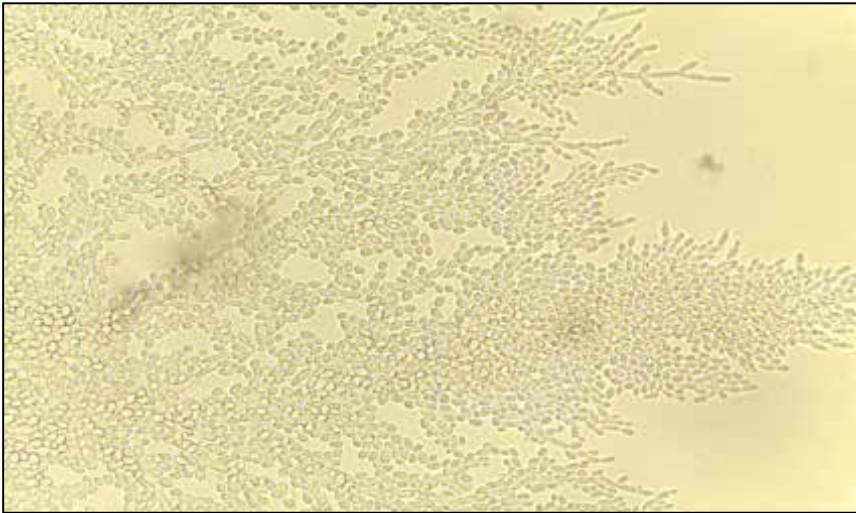
BULGULAR

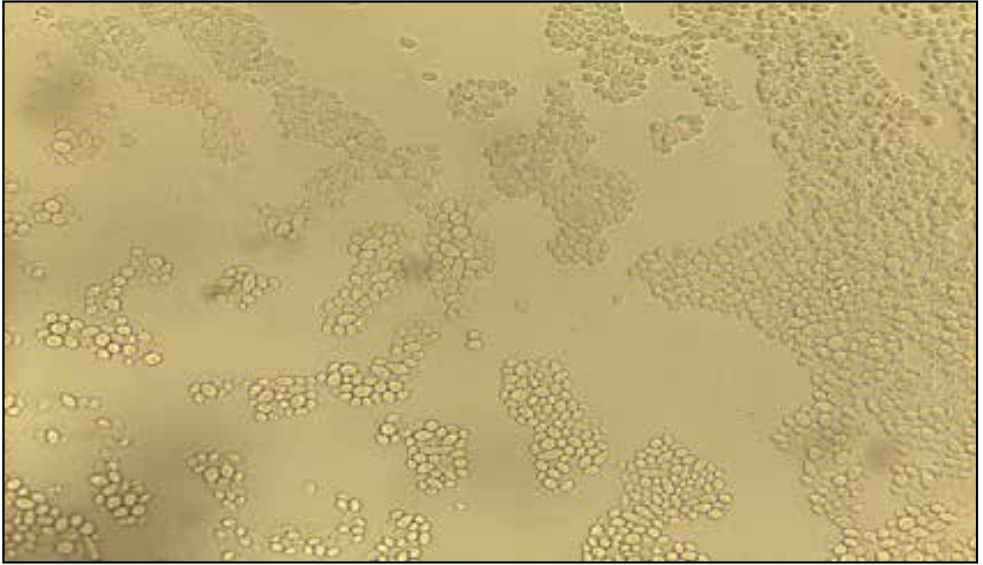
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarında 2016 yılında çeşitli klinik örneklerden 865 adet *Candida* izolatı tür düzeyinde tanımlanmıştır [425 izolat *C.albicans* (%49.1), 122 izolat *C.glabrata* (%14.1), 91 izolat *C.tropicalis* (%10.5), 46 izolat *C.kefyri* (%5.3), 43 izolat *C.parapsilosis* (%4.9), 24 izolat *C.krusei* (%2.7)]. *C.kefyri* izolasyon oranı 2016 yılında %5.3 olarak hesaplanmıştır. *C.kefyri* izole edilen örneklerin 31'i idrar, yedisi endotrakeal aspirat (ETA), beşi kan ve birer tanesi safra sıvısı, periton sıvısı ve yara örneğidir. Çalışmanın 2017 yılının ilk dört ayında belirlenen 320 adet *Candida* cinsi içinde 178 (%55.6) izolat *C.albicans*, 42 (%13.1) izolat *C.glabrata*, 31 (%9.6) izolat *C.tropicalis*, 30 (%9.3) izolat *C.kefyri*, 15 (%4.6) izolat *C.parapsilosis*, 9 (%2.8) izolat *C.krusei* olarak tanımlanmıştır. Aynı dönemde *C.kefyri* izolasyon sıklığı %9.3 olarak hesaplanmıştır. *C.kefyri* izole edilen örneklerin dokuzu idrar, dokuzu kan, altısı ETA, biri safra sıvısı örneği olarak belirlenmiştir. Çalışmada her iki dönem göz önüne alındığında, 2017 yılında belirgin bir yükselme gözlenmektedir. Literatür taraması sonuçları Tablo I'de gösterilmiştir.

Mısır unu-tween 80 agarda tipik *C.kefyri* morfolojisi Resim 1'de gösterilmektedir. İzolatlarda oval ve iri maya hücreleri ve blastokonidyalar gözlenmiştir. Yalancı hif yanında toplanan iri, içleri kısmen granüllü, oval maya hücreleri suda yüzen tomruk görüntüsünde izlenmiştir. Tipik morfoloji göstermeyen izolatların oval olmayan, yuvarlak yapısı ve yalancı hif oluşturmadıkları için *Saccharomyces* olabileceği düşünülenleri atipik izolat olarak adlandırılmıştır. Bu izolatlardan birine ait morfoloji Resim 2'de gösterilmiştir. 2016 yılına ait 46 izolat ile 2017 yılı ilk dört ayına ait 25 izolat için MİK aralığı, geometrik ortalama (GM) MİK değeri, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Tablo II'de gösterilmiştir. Sadece tek bir izolatta MİK değeri 2 µg/ml olduğu için, amfoterisin B dirençli kabul edilmiştir. 2016 yılı için amfoterisin B direnç oranı %2.1 (1/46), hem 2016 hem de 2017 birlikte ele alındığında %1.4 (1/71) olarak hesaplanmıştır. 2016 yılından 2017 yılına geçildiğinde flukonazol için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinin belirgin yükseldiği görülmüştür. 2016 yılında

Tablo 1. Candida kefir İzolasyon Sıklığı

	Oran	Yüzde	Örnekler	Tanımlama sistemi	Kaynak
Gazi Tıp 2016	46/865	5.3	İdrar, ETA, kan, safra, periton, yara	Mısır unu-Tw80 ID32C	Bu çalışma
Gazi Tıp 2017 (ilk 4 ay)	25/266	9.3	İdrar, kan, ETA, Safra	Mısır unu-Tw80 ID32C	Bu çalışma
Konya, Türkiye	10/200	0.5	-	ID32C Dizi analizi	8
Ankara, Türkiye	9/140	6.4	-	Mısır unu-Tw80 ID32C	9
Adana, Türkiye	9/280	3.2	Kan	VITEK	10
Ankara, Türkiye	8/57	14	Kan	Phoenix™	11
İzmir, Türkiye	3/83	3.6	Kan	Mısır unu-Tw80 ID32C Kromojenik agar	12
Erzurum, Türkiye	3/90	3.3	Kan	API20CAux	13
Kayseri, Türkiye	3/175	1.7	Kan	VITEK	14
Paris, Fransa, 12 yıl	69/310	22.2	Kan	Dizi analizi	15
Kanada, 10 yıl	1/266	0.4	Kan	Mısır unu-Tw80 Kromojenik agar	16
Tunus	2/423	0.4	Kan, steril sıvılar, ETA, deri, GİS	Kromojenik agar MALDI-TOF Dizi analizi	17

**Resim 1. Mısır unu-tween 80 agarda tipik Candida kefir morfolojisi.**



Resim 2. Mısır unu-tween 80 agarda tanımlanamayan, atipik *Candida kefyr* morfolojisi.

Tablo II. Antifungal Duyarlılık Sonuçları

Yıl	İzolasyon Sayısı	Antifungal	MİK aralığı		Yıl	İzolasyon Sayısı	Antifungal	MİK aralığı	
			GM	MİK ₅₀				GM	MİK ₉₀
2016 yılı (46 izolat)	AmB		MİK aralığı	0.03-2 µg/mL	2017 yılı (30 izolat)	AmB		MİK aralığı	0.03-0.5 µg/mL
			GM	0.26 µg/mL				GM	0.14 µg/mL
			MİK ₅₀	0.25 µg/mL				MİK ₅₀	0.125 µg/mL
			MİK ₉₀	0.5 µg/mL				MİK ₉₀	0.5 µg/mL
	Flukonazol		MİK aralığı	0.25-8 µg/mL		Flukonazol		MİK aralığı	0.25-8 µg/mL
			GM	0.52 µg/mL				GM	1.16 µg/mL
			MİK ₅₀	0.25 µg/mL				MİK ₅₀	2 µg/mL
			MİK ₉₀	0.5 µg/mL				MİK ₉₀	4 µg/mL
	Vorikonazol		MİK aralığı	0.125-0.5 µg/mL		Vorikonazol		MİK aralığı	0.125-2 µg/mL
			GM	0.14 µg/mL				GM	0.37 µg/mL
			MİK ₅₀	0.125 µg/mL				MİK ₅₀	0.125 µg/mL
			MİK ₉₀	0.25 µg/mL				MİK ₉₀	0.5 µg/mL
	İtrakonazol		MİK aralığı	0.03-0.06 µg/mL		İtrakonazol		MİK aralığı	0.03-0.5 µg/mL
			GM	0.03 µg/mL				GM	0.06 µg/mL
			MİK ₅₀	0.03 µg/mL				MİK ₅₀	0.03 µg/mL
			MİK ₉₀	0.06 µg/mL				MİK ₉₀	0.125 µg/mL

flukonazol için $MİK_{50}$ değeri 0.25 µg/ml iken, 2017 yılında 2 µg/ml'ye, $MİK_{90}$ değeri 2016 yılında 0.5 µg/ml iken, 2017 yılında 4 µg/ml'ye yükselmiştir. Atipik olarak ayrılan on izolatta kazeinaz, SAP, esteraz ve fosfolipaz aktivitesi araştırılmıştır. *C.kefyr* olarak tanımlanan dokuz izolattan birinde kazeinaz pozitif bulunmuştur. İzolatların hiçbirinde SAP aktivitesi ve esteraz aktivitesi bulunmamıştır. İzolatların bir tanesi hariç tamamında fosfolipaz aktivitesi pozitif bulunmuştur.

TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, klinik örneklerden izole edilme sıklığının arttığını düşündüğümüz *C.kefyr* izolatlarımızdan başlayarak, bu türün Türkiye'de ve dünyada izole edilme sıklığını, tür tanımı sırasında belirginleşen özelliklerini, antifungal duyarlılıklarını, virülans özelliklerini sunmaktır. Laboratuvarımızda 2016 yılında %5.3 olan *C. kefyr* izolasyon sıklığının, 2017 yılının ilk dört ayında %9.3'e yükselmesi dikkatimizi çekmiştir. Mısır unu-tween 80 agarda atipik morfoloji gösteren *C.kefyr* izolatlarının varlığının tespit edilmesi nedeniyle, bazı izolatlar seçilerek dizi analizi ile tür tanımı doğrulanmıştır. Mısır unu-tween 80 agarda bazı *C.kefyr* izolatlarının yalancı hif oluşturmadığı ve tür tanımının yapılmadığı görülmüştür.

Ülkemizde son yıllarda yapılmış çalışmalar tarandığında, *C.kefyr* türünün klinik örneklerden izolasyon sıklığı %0.5 ile %14 arasında bulunmuştur (Tablo I). Başka ülkelerden yapılan bildirimlerde *C.kefyr* izolasyon sıklığı %0.4 ile %22.2 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir (Tablo I). Bu çalışmalardan %22.2 ile en fazla sıklığın gözlendiği Fransa'da yapılan çalışma 12 yıllık bir süreyans çalışmasının sonucu olup, sadece kan örneklerini sunmaktadır¹⁵. Kanada'da yine kan örnekleri ile yapılan 10 yıllık çalışmada ise %0.4'lük *C.kefyr* izolasyon sıklığı bildirilmiştir¹⁶.

C.kefyr'in, amfoterisin B için genellikle yüksek $MİK$ değerleri gösterdiği farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada belirgin bir direnç görülmemiştir. 2016 yılından 2017 yılına geçildiğinde flukonazol için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerinin belirgin olarak yükseldiği görülmektedir. Çeşitli çalışmalarda *C.kefyr* için antifungal duyarlılık sonuçları araştırılmıştır. Dağı ve arkadaşlarının⁸ 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada 10 *C.kefyr* izolatının üç tanesinde amfoterisin B için $MİK$ değeri 2 µg/ml bulunmuştur. Yiğit ve arkadaşlarının¹³ çalışmasında test edilen üç *C.kefyr* izolatında saptanan amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazol $MİK$ değerleri düşük olarak saptanmıştır. Bu iki çalışma referans yöntem ile yapılmış olduğu için sonuçları bizim çalışmamız ile karşılaştırılabilir. EUCAST önerilerine göre, flukonazol ve vorikonazol $MİK$ değerlerinin sunulduğu Minea ve arkadaşlarının¹⁸ çalışmasında da dirençli izolat tanımlanmamıştır. Fekkar ve arkadaşları¹⁹ 2013 yılında *C.kefyr* izolatlarında ekinokandin direncinin hızla arttığını ve bu direncin FKS mutasyonları ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ekinokandin duyarlılığı çalışılmamış olduğu için bu sonuçlar karşılaştırılamamıştır. Espinel-Ingroff ve arkadaşları²⁰ tarafından 2014 yılında yayımlanan bir makalede, 36 *C.kefyr* izolatı için 8 µg/ml ve altında flukonazol $MİK$ değerleri elde edildiği bildirilmiştir. Bu izolatların posakonazol ve vorikonazol

için MİK değerleri de düşük bulunmuştur. Örnek olarak verilen çalışmalarda görüldüğü üzere, *C.kefyr* izolatları için belirgin ve sabit bir direnç sorunundan bahsedilememektedir.

Çalışmamızda, *C.kefyr* izolatlarında belirgin bir fosfolipaz pozitifliği görülmüştür. Çalışılan dokuz izolattan sekizinde fosfolipaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. Bu izolatların elde edildiği klinik örnekler hem invaziv hem de invaziv olmayan örnekler olduğu için, virülansın invazyon ile ilişkisi gösterilememiştir. Onun dışında bir virülans özelliği belirgin olarak saptanmamıştır. Bu izolatlar düşük virülans göstermiştir. Bu tür ile yapılmış virülans çalışmaları kısıtlıdır. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* izolatlarının virülans özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, Atalay ve arkadaşları⁷ dört adet *C.kefyr* izolatının hiç birinde esteraz, proteinaz, fosfolipaz ve biyofilm özelliği göstermemişlerdir. Virülans faktörlerinin 10 izolatta çalışılmış olması bu konuda kesin sonuçlar elde etmemizi engellemiştir. Çok sayıda *C.kefyr* izolatı ile yapılacak çok merkezli bir çalışma bu eksiği giderecektir. Tek merkezden yapılmış olan bu bildirim, bu konuda bir ön bilgi oluşturur niteliktedir.

“Kefir” çok eski dönemlerden beri bilinen probiyotik bir yiyecektir. Bir probiyotik maya olmakla birlikte, *C.kefyr* kandidemi etkeni de olabilen bir türdür. Bu çalışmada da 2016 yılında beş, 2017 yılında dokuz fungemi etkeni izolat bulunmaktadır. *C.kefyr* normal flora elemanı olarak yer almaktadır. Uygun koşullarda translokasyonla kana geçtiği düşünülmektedir. *C.kefyr* mısır unu-tween 80 agarda kolayca isimlendirilememekte ve tipik özellikleri bulunmamaktadır. Bu nedenle karbonhidrat asimilasyonuna dayalı bir sistemle veya iyi bir otomatize sistemle tanımlanmalıdır. *C.kefyr* izolatları ID32C sisteminde kolaylıkla ve doğru olarak tanımlanmaktadır. Tanımlanan izolatların DNA dizi analizi bilgisi eşeyli form olan *K.marxianus* olarak kayıt edilmiştir. Benzer karışıklık, MALDI-TOF bilgi bankası için de geçerli olabilmektedir. Bu nedenle tür tanımı eşeyli isim olarak değil, düzeltilerek eşeysiz isim olan *C.kefyr* olarak bildirilmelidir.

Bu çalışmada, izolasyon sıklığı 2016 yılında %5.3 iken, 2017 yılının ilk dört ayında %9.3'e yükselen *C.kefyr* türünün morfolojik özellikleri, antifungal duyarlılık sonuçları ve virülans özellikleri sunulmuştur. Belirgin bir direnç göstermeyen ve virülans faktörü olarak sadece fosfolipaz aktivitesi içeren, probiyotik özelliği olan bu *Candida* türünün, neden daha sık enfeksiyon etkeni olarak görülmeye başladığı daha ayrıntılı olarak araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Dufresne SF, Marr KA, Sydnor E, et al. Epidemiology of *Candida kefyr* in patients with hematologic malignancies. J Clin Microbiol 2014; 52(6): 1830-7.
2. Cornely OA, Lass-Flörl C, Lagrou K, Arsic-Arsenijevic V, Hoenigl M. Improving outcome of fungal diseases: Guiding experts and patients towards excellence. Mycoses 2017; 60(7): 420-5.
3. Lachance MA. Current status of *Kluyveromyces* systematics. FEMS Yeast Res 2007; 7(5): 642-5.
4. Taj-Aldeen SJ, AbdulWahab A, Kolecka A, Deshmukh A, Meis JF, Boekhout T. Uncommon opportunistic yeast bloodstream infections from Qatar. Med Mycol 2014; 52(5): 552-6.
5. Alanio A, Desnos-Ollivier M, Garcia-Hermoso D, Bretagne S. Investigating clinical issues by genotyping of medically important fungi: Why and how? Clin Microbiol Rev 2017; 30(3): 671-707.

6. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard. Third Edition M27A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
7. Atalay MA, Koc AN, Demir G, Sav H. Investigation of possible virulence factors in *Candida* strains isolated from blood cultures. Niger J Clin Pract 2015; 18: 52-5.
8. Dagi HT, Findik D, Senkeles C, Arslan U. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from bloodstream infections in Konya, Turkey. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2016; 15: 36.
9. Karabıçak N, Alem N. *Candida* türlerinin triazol duyarlılık profilleri: Antifungal direncin belirlenmesinde yeni CLSI türe özgü klinik direnç sınır değerleri ve epidemiyolojik eşik değerlerinin uygulanması. Mikrobiyol Bul 2016; 50(1): 122-32.
10. Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A. Kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının ve antifungal duyarlılıklarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. ANKEM Derg 2015; 29(3): 105-13.
11. Yılmaz G, Çiftçioğlu A, Gündüz M, Özen M, Sarıcaoğlu EM, Akan H. Kandidemi saptanan hematolojik kanserli hastalarda etken dağılımı ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. Klimik Derg 2015; 28(3): 117-21.
12. Yapar N, Pullukcu H, Avkan-Oguz V, et al. Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: a multicenter case-control study. Med Mycol 2011; 49(1): 26-31.
13. Yiğit N, Aktaş E. Activities of amphotericin B, fluconazole and voriconazole against *Candida* bloodstream isolates determined by broth microdilution and disk diffusion methods. Turk Hij Den Biyol Derg 2014; 71(3): 131-40.
14. Mutlu Sarıgül F, Koç AN, Karagöz S. Kan kültürlerinden izole edilen maya türlerinin VITEK 2 sistemi ile tanımlanması ve antifungal duyarlılıkları. Harran Üniv Tıp Fak Derg 2015; 12(2): 261-8.
15. Bretagne S, Renaudat C, Desnos-Ollivier M, Sitbon K, Lortholary O, Dromer F; French Mycosis Study Group. Predisposing factors and outcome of uncommon yeast species-related fungemia based on an exhaustive surveillance programme (2002-14). J Antimicrob Chemother 2017; 72(6): 1784-93.
16. Al-Rawahi GN, Roscoe DL. Ten-year review of candidemia in a Canadian tertiary care centre: predominance of non-albicans *Candida* species. Can J Infect Dis Med Microbiol 2013; 24(3): e65-8.
17. Eddouzi J, Lohberger A, Vogne C, Manai M, Sanglard D. Identification and antifungal susceptibility of a large collection of yeast strains isolated in Tunisian hospitals. Med Mycol 2013; 51(7): 737-46.
18. Minea B, Nastasa V, Kolecka A, et al. Etiologic agents and antifungal susceptibility of oral candidosis from Romanian patients with HIV-infection or type 1 diabetes mellitus. Pol J Microbiol 2016; 65(1): 123-9.
19. Fekkar A, Meyer I, Brossas JY, et al. Rapid emergence of echinocandin resistance during *Candida kefyr* fungemia treatment with caspofungin. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(5): 2380-2.
20. 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): 2006-12.