Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

REVIEW ARTICLE

Cryptococcus and Cryptococcosis: Updates on Pathogenesis, Diagnosis and Treatment Strategies for HIV Infected Patients

Zainab Bandalizadeh[1],
Seyedmojtaba Seyedmousavi[2, 3, 4],
Willem J.G. Melchers[5],
Mahmoud Fami Zaghrami[6],
Ali Asghar Mostaed Rostami[7],
Tahereh Shokohi[8, 3]

[1] PhD Candidate in Medical Mycology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Director and principal investigator, Center of Expertise in Microbiology, Infection Biology and Antimicrobial Pharmacology, Tehran, Iran
[3] Principal investigator, Invasive Fungi Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran
[4] Research Scientist, Molecular Microbiology Section, Laboratory of Clinical Immunology and Microbilogy (LCIM), National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), National Institutes of Health (NIH), Bethesda, Maryland, United States of America
[5] Director of Medical Microbiology Laboratory and Principal Investigator, Department of Medical Microbiology, Center of Expertise in Mycology Radboudumc/CWZ, Nijmegen, Netherlands
[6] Undergraduate student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad Univesity, Babol Branch, Iran
[7] General Practitioner, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[8] Professor, Department of Medical Mycology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received March 26, 2017 ; Accepted June 25, 2018)

Abstract

Background and purpose: Cryptococcosis is a serious fungal infection in both huaman and animals caused by members of the *Cryptococcus neoformans*/ *Cryptococcus gattii* species complex. The main route of entry is respiratory tract. Meningitis is the most common clinical manifestation of cryptococcosis in immunocompromised patients and considered as one of AIDS defining illnesses. The known natural sources of the fungus are avian (pigeon, chicken, and other birds) excreta, dead plants and trees like *Eucalyptus*, *Pine*, and *Fig* species. *Cryptococcus neoformans*/ *Cryptococcus gattii* species complex have well defined virulence factors that help them to survive and multiply in macrophages and monocytes, escape into blood and disseminate throughut the body. Laboratory diagnosis of cryptococcosis is based on direct microscopy examination, fungal isolation, serology and molecular analysis of serum and cerebrospinal fluid. Amphhotercin B combined with other antifungals including 5-flourocytosisne and fluconazole monotherapy are used for treatment of cryptococcosis. Treatment in HIV infected patients consist of three phases including induction, consolidation and maintenance therapy. The preferred therapeutic regimen is combination therapy of antifungal and highly active antiretroviral therapy. In this article, we summarized recent studies on pathogenesis, diagnosis, and treatment of cryptococcosis in HIV infected patients.

Keywords: infection, cryptococcosis, pathogenesis, diagnosis, treatment, HIV

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (163): 144-172 (Persian).

*** Corresponding Author: Tahereh Shokohi-** Invasive Fungi Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran (E-mail: shokohi.tahereh@gmail.com)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

مـــروری

مجـلـــه دانـشـــگاه عـلـــوم پـزشـــکـــی مـــازنـــدران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۶۳ مرداد سال ۱۳۹۷ (۱۷۲-۱۴۴)

کریپتوکوکوس و کریپتوکوکوزیس: یافته های جدید راجع به پاتوژنز، تشخیص و استراتژی های درمانی در افراد با عفونت HIV

زینب بندلی زاده[۱]
سید مجتبی سید موسوی[۲،۳،۴]
ویلیام جیی.جی. ملچرز[۵]
محمود فمی زاغرمی[۶]
علی اصغر مستعد رستمی[۷]
طاهره شکوهی[۳،۸]

چکیده

سابقه و هدف: کریپتوکوکوزیس یک عفونت قارچی در انسان و حیوان می‌باشد که توسط مخمری از گونه‌های کمپلکس کریپتوکوکوس نئوفورمنس/ کریپتوکوکوس گتی ایجاد می‌شود. ارگانسیم از طریق استنشاق وارد ریه می‌گردد و شایع‌ترین فرم بالینی بیماری مننژیت است که اغلب در بیمارانی که دچار ضعف سیستم ایمنی شده‌اند، به ویژه در مبتلایان به ایدز رخ می‌دهد. فضولات پرندگان (کبوتر، مرغ ،پرستو و چکاوک) می‌توانند به عنوان منبع و مخزن کریپتوکوکوس مطرح باشند، هم‌چنین درختان بسیاری نظیر اکالیپتوس، صنوبر و انجیر به عنوان زیستگاه طبیعی ارگانسیم می‌باشند. این مخمر فاکتورهای ویرولانس متعددی دارد که می‌تواند به راحتی در سلول‌های ماکروفاژ و منوسیت میزبان زنده بماند، تکثیر نماید، وارد خون و سپس فضای سیستم عصبی مرکزی و دیگر اعضای بدن شود. تشخیص ارگانسیم با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی مستقیم، کشت، روش‌های سرولوژی و مولکولی بر روی نمونه‌های سرم و مایع مغزی نخاعی (CSF) قابل انجام می‌باشد.

درمان کریپتوکوکوزیس با استفاده از داروهای آمفوتریسین B به صورت ترکیبی با داروهای ضد قارچی دیگرمانند ۵ فلوروسیتوزین وفلوکونازول به صورت تکی در بیماران با عفونت HIV طی سه فاز مقدماتی، تحکیم و نگهداری به همراه درمان حمایتی ضد رتروویروسی خیلی فعال (HAART) با تاخیر زمانی بعد از داروی ضدقارچی توصیه می‌گردد. در مطالعه حاضر سعی شده است نقلی بر مطالعات اخیر درباره کریپتوکوکوزیس با تاکید بر پاتوژنز، تشخیص و استراتژی‌های درمانی در بیماران با عفونت HIV صورت گیرد.

واژه های کلیدی: کریپتوکوکوس، کریپتوکوکوزیس، پاتوژنز، تشخیص، درمان، اچ آی وی

مقدمه

کریپتوکوکوزیس در انسان و حیوانات مختلف توسط مخمر بازیدیومیست از جنس کریپتوکوکوس به ویژه از گونه‌های اصلی کریپتوکوکوس گتی و کریپتوکوکوس نئوفورمنس ایجاد می‌شود. عامل عمده عفونت کریپتوکوکال در سراسر جهان کریپتوکوکوس نئوفورمنس می‌باشد که اغلب بیماران با ضعف سیستم ایمنی نظیر HIV (۱)، به ویژه مبتلایان با تعداد لنفوسیت‌های T کم تر از ۱۰۰ عدد، مبتلایان به

مولف مسئول: طاهره شکوهی- ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: shokohi.tahereh@gmail.com
۱. دانشجوی دکترای قارچ شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. رئیس و محقق اصلی، مرکز تخصصی میکروبیولوژی، بیولوژی عفونت و داروهای ضد میکروبی ، تهران، ایران
۳. محقق اصلی، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دانشمند محقق، بخش میکروبیولوژی مولکولی، آزمایشگاه ایمونولوژی و میکروبیولوژی بالینی، انستیتو ملی بیماری های آلرژی و عفونی، انیستیتو ملی سلامت، بتسدا، مریلند، امریکا
۵. رئیس ومحقق آزمایشگاه میکروبیولوزی پزشکی، گروه میکروبیولوژی پزشکی، مرکز تخصصی قارچ شناسی رادبود/ سی وی زی، نایمخن، هلند
۶. دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران
۷. پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۸. استاد، گروه قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۱/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۱/۲۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۴/۴

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

بیماری‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی نظیر لنفوم‌ها، گیرندگان استروئیدها و بیماران دارای نقص در سیستم کمپلمان را گرفتار می کند(۲، ۳). این در حالی است که گونه کریپتوکوکوس گتی اغلب در افراد با سیستم ایمنی سالم و عمدتاً ساکن مناطق خاص با آب و هوای حاره و تحت حاره نظیر آسیای جنوب شرقی، کالیفرنیای جنوبی، برزیل، مرکز و جنوب اقیانوس آرام و آفریقای مرکزی ایجاد بیماری می نماید(۴). در عفونت با گونه گتی در مقایسه با نئوفورمنس علائم نورولوژیکی بیش‌تر مشاهده می‌گردد، هم چنین این گونه حساسیت کم‌تری نسبت به داروهای ضد قارچی از خود نشان می دهد در نتیجه نیاز به درمان موثرتر و قوی تری دارد(۵). کریپتوکوکوزیس با تنفس پروپاگول های قارچ از محیط آغاز می‌گردد که می تواند به شکل کلونیزاسیون در ریه و پنومونی محدود باشد و یا از طریق جریان خون وارد فضای سیستم عصبی مرکزی گشته و منجر به مننژیت و مننگوانسفالیت گردد(۶). بر اساس شواهد مستند تخمین زده شده است در سال، یک میلیون مننژیت کریپتوکوکال در بیماران با عفونت HIV شکل می‌گیرد که نزدیک به ۶۲۵۰۰۰ مرگ را در پی دارد(۷). با توجه درمان بسیار فعال ضد رترو ویروسی (HAART)[1] در کشورهای پیشرفته که به طور موثری مانع پیشرفت همانند سازی ویروس و افزایش سطح ایمنی مبتلایان به ایدز می‌شود، بروز عفونت کریپتوکوکوزیس در بیماران مستعد ابتلا نظیر گیرندگان پیوند، بدخیمی‌های خونی و مبتلایان به بیماری های اتوایمیون در حال افزایش می باشد(۸، ۹).

تشخیص مننژیت کریپتوکوکالی عموماً با تاخیر صورت می‌گیرد و این تاخیر در تشخیص، خصوصاً در افرادی که سیستم ایمنی سالم دارند نسبت به مبتلایان به ضعف سیستم ایمنی بیش‌تر دیده می شود. در مطالعات نشان داده شده که سردرد عمده ترین عارضه بالینی (۸۶/۲ درصد) و پس از آن به ترتیب استفراغ (۷۲/۳ درصد) و تب (۶۹ درصد) علائم عمده می باشند(۲، ۱۰). از سویی این علایم و نشانه ها در بسیاری از بیماری های دیگر نیز مشاهده می شود، بنابراین تشخیص صحیح و به هنگام با روش‌های معمول قارچ شناسی، نظیر آزمایشات میکروسکوپی، کشت، سرولوژی، بیولوژی و در صورت امکان مولکولی ضروری است.

تاریخچه

در سال ۱۸۹۴، Buschke و Busse در نمونه بیوپسی زن جوانی که مبتلا به عفونت استخوان بود، مخمرهایی شبیه به ساکارومایسس را گزارش نمودند و آن را شبه ساکارومایست [2]نامیدند(۱۱). بعد از آن‌ها در همان سال Sanfelice، مخمرهای مشابه را در آب میوه هلو شناسایی نمود و آن را ساکارومایسس نئوفورمنس نامید(۱۲). سرانجام در سال ۱۹۰۱، Jean-Paul Vaillemin نام ارگانیسم را به دلیل عدم تولید آسکوسپور که از مشخصات جنس ساکارومایسس می‌باشد، به کریپتوکوکوس نئوفورمنس که برگرفته از دیوار ضخیم و کپسول بزرگ است تغییر داد(۱۳).

در طول قرن بیستم و طی سال‌های ۱۹۵۰ الی ۱۹۶۸، توانستند با استفاده از آنتی سرم های خرگوش، ۴ سروتایپ کپسولی A تا Dرا در این ارگانیسم شناسایی نمایند(۱۴، ۱۵). در ایران اولین مورد کریپتوکوکوزیس در سال ۱۹۶۹ توسط خدادوست و همکاران شناسایی شد. در این گزارش از اسمیر و کشت مایع مغزی نخاعی یک زن ۳۶ ساله با علائم نورولوژیکی و فاکتورهای زمینه ای متعدد نظیر توبرکلوزیس، سیفلیس و آرتریت روماتوئید، مخمرهای کریپتوکوکوس رویت و درمان با آمفوتریسین B صورت گرفت. یک سال بعد بیمار با کاهش بینایی و ضایعات چشمی ناشی از آبسه های کریپتوکوکالی مراجعه و سرانجام به دلیل کریپتوکوکوزیس منتشره فوت شد(۱۶).

1. Highly active antiretroviral therapy

2. Saccharomyces-like

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

اپیدمیولوژی در جهان

کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گروبی (سروتایپ A) بیش ترین (۸۲ درصد) عامل کریپتوکوکوزیس در جهان است. مطالعات نشان داده‌اند کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته نئوفورمنس (سروتایپ D) مسئول ۲۰ تا ۳۰ درصد مننژیت کریپتوکوکال در شمال اروپا به ویژه در ایتالیا، دانمارک و فرانسه می‌باشد(۱۷-۱۹)، اما در نقاط دیگر جهان کم‌تر یافت می‌شود(۲۱،۲۰). اگر چه این دو زیر گونه به‌طور عمده در بیماران با نقص سیستم ایمنی ایجاد کریپتوکوکوزیس می نمایند، گزارشات مختلفی وجود دارد که نشان می‌دهد موارد کریپتوکوکوزیس با واریته گروبی در بیماران با سیستم ایمنی سالم در حال افزایش می باشد(۲۳،۲۲). مخزن محیطی این دو زیر گونه در طبیعت خاک، مواد در حال فساد و فضولات پرندگان می باشد(۲۴،۱۲). کریپتوکوکوس گتی عمدتاً در مبتلایان با سیستم ایمنی سالم ایجاد بیماری می نماید (۲۵-۲۷) و بیش‌تر از مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری نظیر تایلند(۲۸)، استرالیای شمالی(۳۰،۲۹) و نیوزیلند و گینه نو جدا شده است(۳۴- ۳۱). در مطالعات مولکولی اخیر نشان داده شده که کریپتوکوکوس گتی از نظر اپیدمیولوژی دارای ۴ زیرگونه می‌باشد(۳۵). زیرگونه VGI ک. گتی زیر گونه اصلی در استرالیا و زیرگونه VGII ک. گتی در افراد با ایمنی سالم در طغیان بریتیش کلمبیا، کانادا دیده شده است(۳۷،۳۶،۴). بین سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۰، ۲۱۸ مورد گزارش ابتلا به کریپتوکوکوزیس ناشی از ک. گتی در ونکور کانادا گزارش شده است(۳۸).

در سال ۲۰۰۶، گزارشات زیادی از ایسلند، ایالت واشینگتن و ایالات متحده آمریکا مشاهده شده است(۳۹) و در حال حاضر کریپتوکوکوس گتی در شمال غربی اقیانوس آرام اندمیک می‌باشد(۴). زیرگونه‌های VGIII و VG IV ک. گتی بیش‌تر در مبتلایان با ضعف سیستم ایمنی به ویژه در HIV مثبت‌ها دیده شده‌اند. این استرین‌ها در آمریکای شمالی و آفریقای جنوبی از ۲/۴ تا ۳۰ درصد کریپتوکوکوزیس در HIV مثبت‌ها، مشاهده شده است(۴۱،۴۰). در حقیقت بسیاری از آزمایشگاه‌ها، قادر به تشخیص وشناسایی دقیق گونه‌های کریپتوکوکوس نمی‌باشند و این می‌تواند دلیلی باشد که میزان بار قارچی کریپتوکوکوس گتی که منجر به بیماری در انسان می‌گردد، نامشخص مانده است(۳۵).

مخزن طبیعی کریپتوکوکوس گتی در محیط به طور دقیق و کامل مشخص نشده است. در استرالیا، هند و دیگر کشورهای آسیایی مخزن درختان اکالیپتوس می‌باشد(۴۲) و در بریتیش کلمبیا درختان غیر اکالیپتوس، خاک، هوا، آب شور و شیرین می‌تواند مخزن قارچ می‌باشد(۴). کشف این ارگانیسم از مناطق جغرافیایی متفاوت حاکی از انتشار در حال گسترش آن می‌باشد(۴۳). این گستردگی در انتشار می‌تواند به دلیل تغییرات آب و هوای زمین و یا ناشی از تغییراتی که در استفاده از زمین رخ داده است باشد(۴۴).

کریپتوکوکوزیس در ایران

در ایران مطالعات متعددی در خصوص نمونه‌های محیطی و حیوانی صورت گرفته است که وجود گونه‌های مختلف کریپتوکوکوس را در فضولات پرندگان و درختان اکالیپتوس نشان می‌دهد. در این مطالعه به مواردی از بررسی‌های صورت گرفته اشاره می‌شود. شکوهی و همکاران در سال ۲۰۱۱ به مطالعه بر روی تعداد ۴۰۰ نمونه تهیه شده از فضولات پرندگان در شهرهای مختلف استان مازندران پرداختند و نتیجه بررسی آن‌ها نشان داد ۵ درصد نمونه‌ها (۲۰ مورد) به کریپتوکوکوس نئوفورمنس آلوده بوده‌اند(۴۵).

در مطالعه ای، امیررجب و همکاران در شمال ایران نشان دادند که پرندگان مهاجر می توانند ناقل و مخزن مخمر از یک منطقه جغرافیایی به منطقه دیگر باشند، هم‌چنین بیان داشتند که فضولات پرندگان در مقایسه با ترشحات بینی و چینه دان آن‌ها فضای مناسب‌تری جهت

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

رشد و بقا ارگانیسم می‌باشد(۴۶). در مطالعه دیگری، هدایتی و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند از ۹۷ نمونه فضولات گرفته شده از لانه پرستوها، ۵/۲ درصد به مخمر کریپتوکوکوس نئوفورمنس آلوده بوده‌اند(۴۷). بینشیان و همکاران در پژوهشی در سال ۲۰۰۲ بر روی درختان اکالیپتوس (ساقه، گل و برگ‌ها) در گنبد و گرمسار نشان داد که درختان اکالیپتوس این مناطق می‌توانند به‌عنوان زیستگاه طبیعی کریپتوکوکوس مطرح باشند(۴۸).

پژوهش در زمینه آلودگی محیطی کریپتوکوکوس در ایران به اندازه قابل توجهی وجود دارد، در حالی که درخصوص آلودگی، اپیدمیولوژی و مشخصات مولکولی کریپتوکوکوزیس در انسان مطالعه اندکی صورت گرفته است. براساس جستجوهای صورت گرفته تنها دو پژوهش در این زمینه در ایران انجام شده است که به شرح ذیل می‌باشد:

در سال ۲۰۱۰، شاه حسینی و همکاران به مطالعه و بررسی بر روی سرم ۳۴ بیمار HIV مثبت مشکوک به کریپتوکوکوزیس پرداختند. در این پژوهش استخراج DNA از سرم با روش مولکولی به واسطه آزمون تکثیری هم دما حلقه LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification) صورت گرفت. نتیجه مطالعه آن‌ها نشان داد ۳ مورد (۱۱/۳ درصد) از بیماران HIV مثبت به کریپتوکوکوزیس ناشی از کریپتوکوکوس نئوفورمنس مبتلا بوده‌اند(۴۹).

در همان سال، بررسی دیگری توسط هاشمی و همکاران بر روی ۲۵ نمونه مایع مغزی نخاعی (CSF) بیمار مشکوک به مننژیت صورت گرفت. در این پژوهش از روش‌های میکروسکوپی با استفاده از مرکب چین، کشت و مولکولی بر روی DNA به دست آمده از کشت و DNA به دست آمده از CSF استفاده نمودند که نتیجه تحقیق آن ها نشان داد یک بیمار (۴ درصد) از ۲۵ بیمار مبتلا به مننژیت کریپتوکوکال بوده است(۵۰). موارد دیگر کریپتوکوکوزیس در ایران به صورت گزارش موردی بوده است که در جدول شماره ۱ به آن‌ها اشاره شده است.

ویژگی های مولکولی

در طول دو دهه گذشته، هتروژنسیتی ژنتیکی قابل توجهی در کمپلکس گونه های ک. نئوفورمنس/ ک. گتی به وسیله روش های مولکولی مشهود شده است(۵۱). این روش ها شامل موارد صفحه بعد می‌باشد:

جدول شماره ۱: موارد گزارش کریپتوکوکوزیس در ایران (۲۰۱۷-۱۹۹۶)

ردیف	نام نویسنده	استان /شهرستان	سن بیمار	جنس	فاکتور زمینه ای	تظاهر بالینی	علائم و نشانه ها	روش تشخیص	سال	رفرانس
۱	خدادوست	شیراز	۳۶	زن	لوپوس اریتماتوز	رتینیت	سردرد، تب، استفراغ، تاری دید، حالت تهوع	مرکب چین – کشت	۱۹۹۶	(۱۶)
۲	مقدمی	مازندران	۲۶	مرد	نا مشخص	مننژیت	سردرد، تب، حالت تهوع، بی قراری	مرکب چین – کشت	۱۹۸۸	(۵۲)
۳	عباسی	بابل	۴۷	مرد	ایمنوکامپوتنت	پنومونی	سرفه، کاهش وزن	هیستوپاتولوژی	۱۹۹۹	(۵۳)
۴	نخعی	هرمزگان	۲۸	زن	HIV، باردار	مننژیت	سردرد، استفراغ، تاری دید	مرکب چین	۲۰۱۰	(۵۴)
۵	شفقی	تهران	۲۱	مرد	فیبروز سیستیک، پیوند گیرنده ریه	پنومونی	-	لاتکس آگلوتیناسیون هیستوپاتولوژی	۲۰۱۰	(۵۵)
۶	قاسمیان	مازندران	۴۳	مرد	ایمنوکامپوتنت	مننژیت	سردرد، تب	مرکب چین – کشت	۲۰۱۱	(۲)
۷	رازین	تهران	۳۵	مرد	توبرکلوزیس	مننژیت	سردرد، تب	مرکب چین – کشت	۲۰۱۱	(۵۶)
۸	ساسان	مشهد	۱۳	مرد	سارکوئیوز	مننژیت	سردرد، تب، استفراغ	مرکب چین – کشت	۲۰۱۲	(۵۷)
۹	قراباغی	تهران	۲۵	زن	باردار	پنومونی	تب، سرفه، عرق شبانه	هیستوپاتولوژی ریه	۲۰۱۴	(۵۸)
۱۰	هاشمی	تهران	۶۰	مرد	ایمنوکامپوتنت	منتشره	کاهش وزن ، بی قراری، زخم های پوستی	مرکب چین – کشت هیستوپاتولوژی ریه	۲۰۱۴	(۵۹)
۱۱	سیروس	تهران	۴۲	مرد	سارکوئیدوز، توبرکلوزیس	مننژیت	سردرد، زخم های پوستی، کاهش شنوایی، گیجی	لاتکس آگلوتیناسیون	۲۰۱۴	(۶۰)
۱۲	بدلی	ساری	۴۹	زن	HIV	مننژیت	سردرد، سرفه، استفراغ، عرق شبانه، کاهش وزن	مرکب چین – کشت- PCR	۲۰۱۵	(۶۱)
۱۳	نبایی	تهران	۷۰	مرد	توبرکلوزیس	منتشره	سردرد، گیجی، استفراغ، کاهش وزن	مرکب چین- کشت خون	۲۰۱۵	(۶۲)
۱۴	آقازاده	تهران	۶۴	مرد	لوسمی حاد میلوئیدی، پیوند استم سل	مننژیت	سردرد، ضعف و ناتوانی جسمی	سرولوژی، PCR	۲۰۱۶	(۶۳)
۱۵	حقیقی	تهران	۶۸	زن	آرتریت روماتوئید	مننژیت	سردرد،کاهش شنوایی، تاری دید،عدم تعادل، ضعف اعصاب	مرکب چین – کشت	۲۰۱۶	(۶۴)
۱۶	اختیاری	تهران	۵۷	مرد	ایمنوکامپوتنت	اونیکومایکوز	هیپرکراتوز دیستال زیر ناخنی	مرکب چین – کشت- PCR	۲۰۱۷	(۶۵)
۱۷	قره بلغایی	تهران	۲۷	مرد	ایمنوکامپوتنت	اونیکومایکوز	پیگمنتیشن ناخن	مرکب چین – کشت	۲۰۱۷	(۶۶)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

مولتی لوکوس آنزیم تایپینگ[1] (۶۷)، پلی مورفیسم طول قطعه تقویت شونده[2] (AFLP) (۶۸)، انگشت نگاری با استفاده از پرایمرهای M13, (GACA)4 و [3] 5(GTG) (۶۹،۷۰)، تقویت تصادفی پلی مورفیک DNA[4] (۷۱)، فنوتایپینگ طیف سنجی طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز[5] (FTIR) (۷۲)، مولتی لوکوس میکروستلیت تایپینگ[6] (۷۳)، اثرانگشت پلی مورفیسم قطعات محدود شونده (RFLP)[7] بر پایه ژن های CAP10 (۷۴)، CAP59 (۷۵)، GEF1 (۷۶)، PLB1 (۷۷)، آنالیز سکانس تعداد زیادی از ژن‌ها [8](۷۸)، تنوع‌های توالی براساس تجزیه و تحلیل کل ژنوم (۷۹)، سکانس بین گونه ای ریبوزومال (IGS) (۸۰)، ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی (۸۱)، پروفایل اسپکتروفتومتری جرمی (MALDI-TOF MS)[9] (۸۲)، توزیع جغرافیایی و زیستگاه(۸۳)، الگوی حساسیت به داروهای ضد قارچی[10](۸۴)، القاء سیتوکین‌ها(۸۵)، پاتوفیزیولوژی(۸۶) و تظاهرات بالینی(۸۷).

در سال ۲۰۱۵، Hagen و همکاران بر اساس آنالیز فیلوژنتیک ۱۱۵ ایزوله، پیشنهاد تقسیم ک. نئوفورمنس را به دو زیرگونه و یک ژنوتیپ هیبریدی و ک.گتی را به پنج زیرگونه و چهار ژنوتیپ هیبریدی ارائه نمودند(۵۱) (جدول شماره ۲).

ولی در همان سال، Kwon - Chung و Varma ضمن بیان این که این نامگذاری جدید به دانش ما در خصوص تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی عوامل مسببه کریپتوکوکوزیس کمک می‌کند، ولی با توجه به این که اختلافات بیولوژیک زیادی در بین clade های مختلف وجود ندارد، جهت پرهیز از اسامی گونه های متنوع گیج کننده توصیه نمودند که از اصلاح کمپلکس گونه‌های کریپتوکوکوس نئوفورمنس (*Cryptococcus neoformans* species complex) و کمپلکس گونه‌های کریپتوکوکوس گتی (*C. gattii* species complex) استفاده گردد(۸۸).

در نهایت در سال ۲۱۰۷، Hagen و همکارانش نشان دادند که در کمپلکس‌های نئوفورمنس و گتی، تفاوت قابل توجهی از نظر فنوتیپی، اکولوژی و جغرافیایی وجود دارد که منحصر به هر زیرگونه می‌باشد و در تشخیص و تمیز بین آن‌ها دارای اهمیت می باشد. خلاصه‌ای از این مشخصات در جدول شماره ۳ بیان شده است(۸۹).

پتانسیل زئونوتیک

کریپتوکوکوس نئوفورمنس و کریپتوکوکوس گتی عامل عفونت در انسان و حیوان بوده و عفونت در هر دو ازطریق محیط و نه از طریق میزبان مبتلا کسب می گردد. مدفوع پرندگان خانگی به عنوان منبع احتمالی عفونت در افراد با ایمنی مختل قلمداد شده است(۹۰). موارد خوشه‌ای (Case clusters) از کریپتوکوکوزیس در افراد به دنبال قرارگرفتن در معرض میزان زیادی از فضولات پرنده گزارش شده است(۹۱،۹۲). با این حال هیچ شواهدی دال بر افزایش بروز کریپتوکوکوزیس فعال در این گروه وجود ندارد(۹۳). عفونت اکتسابی طبیعی در حیوانات (وحشی و اهلی) و انسان رخ می دهد. شواهدی از انتقال از یک پرنده (کلاغ زاغی) به انسان(۹۱) و دو مورد احتمالی از انتقال شخص به شخص گزارش شده است. بروز عفونت کریپتوکوکال با نژاد و سن مرتبط نیست. اگرچه در موقعیت‌های خاص، حیوانات بدون علامتی همچون کوآلا را یافته‌اند. به نظر می‌رسد که کریپتوکوکوس در محیط‌های خاص دست ساز بشر تکثیر یافته و شاید به عنوان زیستگاه طبیعی آن‌ها مطرح باشد(۹۴،۹۵).

1. multi-locus enzyme typing
2. amplified fragment length polymorphism (AFLP)
3. PCR-fingerprinting using M13, (GACA)4 and (GTG)5 primer
4. andom amplification of polymorphic DNA (RAPD)
5. Fourier transform infrared
6. multi-locus microsatellite typing
7. restriction fragment length polymorphism fingerprinting
8. sequence analysis
9. mass spectra generated by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI -TOF MS)
10. antifungal susceptibility

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

جدول شماره ۲: گونه ها و سروتیپ ها و زنوتیپ های کریپتوکوکوس بر اساس روش تاکسونومی رایج و پیشنهادی (۵۱).

نام رایج گونه ها	MLST Clade / AFLP-genotyping	PCR-fingerprinting/RFLP-genotyping	نام پیشنهادی گونه ها
Cryptococcus neoformans var. *grubii*	Clade F, AFLP1 Clade G, AFLP1A/VNB Clade H, AFLP1B	VNI VNII VNII	*C. neoformans*
Cryptococcus neoformans var. *neoformans*	Clade I, AFLP2	VNIV	*C. deneoformans*
Cryptococcus neoformans intervariety hybrid	AFLP3	VNIII	*neoformans* × C.*deneoformans* hybrid.*C*
Cryptococcus gattii	Clade D, AFLP4 Clade C, AFLP5 Clade A, AFLP6 Clade E, AFLP7 Clade B, AFLP10	VGI VGIII VGII VGIV VGIV/VGIIIc	*gattii.C* *C. bacillisporus* *C. deuterogattii* *C. tetragattii* *C. decagattii*
Cryptococcus neoformans var. *neoformans* × *Cryptococcus gatti* AFLP4/VGI hybrid	AFLP8	–	*deneoformans* × C.*gattii* hybrid.*C*
Cryptococcus neoformans var. *grubii* × *Cryptococcus gattii* AFLP4/VGI hybride	AFLP9	–	*neoformans* × C..*C* *gattii* hybrid
Cryptococcus neoformans var. *grubii* × *Cryptococcus gattii* AFLP6/VGII hybrid	AFLP11	–	*neoformans* × *C.C* *deuterogattii* hybrid

جدول شماره ۳: تفاوت های فنوتیپی، اکولوژی و جغرافیایی زیرگونه های کمپلکس نئوفورمنس و گتی بر اساس پیشنهادات جدید (۸۹).

مشخصات	ک. نئوفورمنس	ک. دنئوفورمنس	ک. باسیلیسپوروس	ک. گتی	ک. دوتروگتی	ک. تتراگتی	ک. دکاگتی
ژنوتیپ	AFLP1 / VNI, AFLP1A / VNB/ VNII, and AFLP1B / VNII	AFLP2 / VNIV	AFLP5 / VGIII	AFLP4 / VGI	AFLP6 / VGII	AFLP7 / VGIV	AFLP10
انتشار جغرافیایی	جهانی (آفریقا؟)	جهانی (اروپا ؟)	جهانی (کالیفرنیا ؟)	جهانی (آسیا، استرالیا و اروپا ؟)	جهانی (؟ در استرالیا، آمریکای شمالی و آمریکای جنوبی)	آفریقای جنوبی و هند	آمریکای لاتین
جایگاه اکولوژی	فضولات پرندگان خاک و درختان (۵۱، ۹۶، ۹۷)	فضولات پرندگان خاک و درختان (۵۱، ۹۶، ۹۷)	درختان	درختان (۵۱)	درختان	?	?
عفونت در حیوانات	پرندگان	?	؟ پستانداران	؟ پستانداران	؟ پستانداران	?	?
ایجاد رنگ در محیط کاناوانین گلایسین برم تیمول بلو (CGB)	زرد	زرد	آبی	آبی	آبی	آبی	آبی
نحوه رشد در شرایط دمایی (سانتی گراد)	؟ رشد در ۳۷ درجه (۹۹)	↓ رشد در ۳۷ درجه (۹۹)	↓ رشد در ۳۷ درجه (۹۹) ↓ رشد در ۳۷ درجه نسبت به ک. گتی، ک. دوتروگتی و ک. تتراگتی (۹۸)	↓ رشد در ۳۷ درجه (۹۹) رشد متوسط نسبت به ک. باسیلیسپوروس، ک. دوتروگتی و ک. تتراگتی (۹۸)	↓ رشد در ۳۷ درجه نسبت به ک. نئوفورمنس(۹۹) ؟ رشد در ۳۷ درجه نسبت به ک. گتی، ک. باسیلیسپوروس و ک. تتراگتی (۹۸)	↓ رشد در ۳۷ درجه نسبت به ک. گتی، ک. باسیلیسپوروس و ک. دوتروگتی (۹۸)	نا مشخص

پاتوژنز

بیماری‌زایی این قارچ تحت تاثیر سه فاکتور وضعیت دفاع میزبان، ویرولانس استرین کریپتوکوکوس و مقدار ارگانیسم وارد شده به بدن میزبان متغیر می‌باشد(۱۰۰).

عفونت با استنشاق بازیدیوسپورها، مخمرهای خشک شده و اسپورهای موجود در فضله پرندگان از جمله کبوتر و کلاغ زاغی، مخمرهای وجود در روی درختان و چوب‌های پوسیده به ویژه درختان اکالیپتوس، صنوبر و بلوط ایجاد می‌شود و به دنبال آن، عامل عفونت زا در آلوئول‌های ریه وارد شده و در شرایط pH نرمال رو به قلیایی و میزان دی‌اکسیدکربن فیزیولوژیک ریه ته نشین می‌گردد. ارگانیسم فاگوسیتوز شده در ماکروفاژ زنده مانده و تکثیر می‌یابد. در ریه افراد با سیستم ایمنی سالم بدون ایجاد عفونت زنده مانده، در حالی که در بیماران با سیستم ایمنی معیوب می‌تواند به شکل منتشر درآید، از ریه وارد خون و از آن جا به سمت مغز تهاجم برد و زندگی فرد را به مخاطره اندازد(۱۰۲،۱۰۱). در بیماران HIV مثبت، عموماً بروز به شکل مننژیت تحت حاد یا مننگوآنسفالیت همراه با تب بی قراری و سردرد می‌باشد، گاهی موارد عفونت جلدی اولیه نیز ممکن است با تلقیح قارچ به پوست در اثر تروما شکل گیرد(۱۰۱). از آن‌جایی که کریپتوکوکوس نئوفورمنس در مبتلایان به HIV انتشار وسیعی دارد، می توان مخمر را از نمونه‌های کلینیکی مختلف بیمار نظیر خون، مغز استخوان، تراشه زخم‌های جلدی، ترشحات تنفسی و یا ادرار و مدفوع جدا نمود(۱۰۴،۱۰۳). در موارد مننژیت تحت حاد یا مزمن، وضعیت هوشیاری بیمار ممکن است تحت تاثیر قرار گرفته و فراموشی و یا حتی کما نیز رخ دهد. در این نوع مننژیت، نشانه و علائم کلاسیک مننژیت نظیر سفتی گردن و فتوفوبی تنها در

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

یک سوم تا یک چهارم بیماران و حتی کم تر از آن در HIV مثبت‌ها رخ می‌دهد(۱۰۵). در کریپتوکوکوزیس، پنج عضو عمده بدن مشتمل بر ریه، سیستم عصبی مرکزی، پوست، پروستات و چشم، بیش‌ترین درگیری را دارند(۱۰۶) که به شرح ذیل بیان می‌شوند.

درگیری سیستم عصبی مرکزی

راه ورودی ارگانیسم به بدن، دستگاه تنفس بوده و ریه محل اولیه حضور مخمر می‌باشد، در صورت انتشار مخمر، به دلیل وجود مواد مغذی، سیستم اعصاب مرکزی، شایع‌ترین محل درگیری است و عمده‌ترین شکل عارضه به صورت مننژیت می‌باشد که در صورت عدم درمان مرگ را در پی دارد(۱۰۷،۱۰۰). تمامی ارگان‌های بدن از جمله حفره دهان، کبد، گره‌های لنفاوی و کلیه می‌توانند به شکل خارج ریوی درگیر شوند(۱۰۷). اگر چه نوروتروپیسم از ویژگی‌های شناخته شده مخمر جهت انتشار به سیستم عصبی مرکزی می‌باشد، دو مکانیسم دیگر در این انتقال نقش عمده‌ای دارند:

۱- اسب تورژان (Torjan horse): در این مکانیسم، ابتدا سلول‌های قارچی در خون یا در مجاورت اندوتلیال سل‌های عروق خونی فاگوسیت می‌شوند، سپس سلول‌های فاگوسیت‌کننده مخمرها را به درون پارانشیم حمل می‌کنند. کریپتوکوکوس یک پاتوژن داخل سلولی است و قادر است درون ماکروفاژها زنده و تکثیر داشته باشد(۱۰۸).

۲- ترانس سیتوز مستقیم (direct transcytosis): در این مکانیسم، سلول‌های قارچی به‌طور مستقیم و بدون حضور در سلول‌های فاگوسیت‌کننده به سلول‌های اندوتلیال مستقر در عروق مغز حمله می‌کنند. در حقیقت پاتوژن مستقیماً به مغز وارد می‌گردد(۱۰۹).

تمایل کریپتوکوکوس به مغز می‌تواند به توانایی ژنتیکی رشد آن در دمای بالاتر از ۳۷ درجه سانتی‌گراد به واسطه کلسینورین A[1] مرتبط باشد. هم‌چنین مطالعات مختلف نشان داده‌اند کلسینورین B نقش مهمی در ویرولانس و فعالیت ضد دارویی قارچ دارد(۱۱۰،۱۱۱).

درگیری پوست

پوست رایج ترین منطقه آلودگی خارج سیستم عصبی می‌باشد(۱۱۲). ضایعات می‌تواند با اشکال متفاوت یا مشابه سایر ضایعات درماتولوژیکی به ویژه شبیه به ضایعات پاپول‌های ناف دار مولوسکوم کونتاژیوزوم[2] و سارکومای کاپوزی[3] باشد(۱۱۳).

ضایعات پوستی ممکن است به شکل ضایعات آکنه، تومور، وزیکول پاپول، آبله، سلولیت، پورپورا، اولسر، تورم زیرجلدی یا گرانول‌های سطحی ظاهر شود و در مبتلایان به HIV، پاپول‌های ناف دار ایجاد شده به تشخیص افتراقی با پنی‌سیلیوز و هیستوپلاسموزیس کمک می‌کند(۱۱۴). این ضایعات جلدی به عنوان یک علامت هشدار دهنده می‌تواند مطرح باشد که ماه‌ها قبل از دیگر تظاهرات عفونت سیستمیک بروز می‌نماید و نشان‌دهنده یک بار قارچی بالا می‌باشد(۱۱۴،۱۱۵). جهت تشخیص دقیق، انجام بیوپسی و بررسی هیستوپاتولوژیکال ضروری می‌باشد(۶).

درگیری پروستات

پروستات عضوی است که مخمر کریپتوکوکوس در آن‌جا می‌تواند از دسترس سیستم ایمنی محفوظ بماند و به عنوان اندامی جهت مخفی شدن قارچ حتی بعد از درمان با آمفوتریسین B به ویژه در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی مطرح می‌باشد و می‌تواند منجر به عود بیماری گردد. در مطالعه Larsen نشان داده شده است آزمایش کشت ادرار پس از ماساژ پروستات تا ۲۹ درصد از نظر کریپتوکوکوس مثبت بوده است. بنابراین بهتر است در مبتلایان با ریسک بالا نظیر مبتلایان به HIV پس از انجام درمان برای اطمینان از ریشه‌کنی مخمر آزمایش کشت ادرار (پس از ماساژ پروستات) صورت گیرد(۱۱۶،۱۱۷).

1. calcineurin A

2. molluscum contagiosum
3. Kaposi sarcoma

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

فاکتورهای ویرولانس

خلاصه ای از فاکتورهای بیماری زایی شناخته شده کمپلکس گونه های ک. نئوفورمنس و ک. گتی در جدول شماره ۴ نشان داده شده است.

جدول شماره ۴: فاکتورهای ویرولانس شناخته شده کمپلکس گونه‌های ک.نئوفورمنس و ک. گتی(۱۱۸).

فاکتورهای ویرولانس	نقش آن در پاتوژنز
کپسول	ضد فاگوسیت، ایمنومدولاتوری، تهاجم داخل سلولی
لاکاز	مقابله با انفجار تنفسی
ملانین	مقاومت به کشتار اکسیداتیو، ضد فاگوسیتی، ایمونومدولاتورها، مقاومت به پپتیدهای ضدمیکروبی، مقاومت به داروهای ضدقارچی
فسفولیپاز	رشد داخل سلولی
پروتئاز	صدمه بافتی
اوره از	رشد داخل سلولی
فنوتیپ سوئیچینگ	فرار ایمنی
تیپ های جفتگیری	تنظیم فاکتورهای ویرولانس
کلسینورین و سیگنالینگ cAMP	تنظیم فاکتورهای ویرولانس
سوپراکسید دسموتاز	رشد داخل سلولی
سلول های تیتان پلی پلوئیدی	تولید آنویلوئید های مقاوم

عملکرد فاکتورهای ویرولانس در کریپتوکوکوس

۱-کپسول

اهمیت نقش کپسول مخمر در بیماری‌زایی زمانی مورد توجه قرار گرفت که مشاهده گردید واریته‌های بدون کپسول در انسان کم‌تر بیماری ایجاد می‌کنند(۱۱۸). کپسول نقش آنتی ژنیک دارد و ساختمان آن از دو ترکیب اصلی گلوکورونوزایلومانان (GXM) ۹۰ تا ۹۵ درصد و گالاکتوزایلومانان (GaLXM) در حدود ۵ درصد تشکیل شده است(۱۱۹).

در کریپتوکوکوس نئوفورمنس و کریپتوکوکوس گتی، ساختمان GXM از تکرار α-1,3- Mannose، B–D–xylopyransoyl، B–D–glucuronasoyl و شاخه‌های جانبی 6–O–acetyl branching و ساختمان GaLXM از یک α-1,6-galactan با شاخه‌های جانبی α – 1,4-Mannose , α–1,3—Mannose و B–3,1 galactose تشکیل شده‌اند(۱۲۰).

در ساختمان کپسول علاوه بر GXM و GaLXM پروتئین دیگری به نام مانوپروتئین (MP) نظیر MP99 و MP98 وجود دارد که میزان آن حدود یک درصد می‌باشد(۱۰۱). مانوپروتئین‌ها شامل بخش‌های ساختمانی نظیر منطقه N ترمینال، C ترمینال غنی از سرین/ ترئونین (S/T) و گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (GPI) می باشد که وقتی مانوزیله و گلیکوزیله شوند، موجب افزایش خواص آنتی‌ژنی کریپتوکوکوس و تحریک پاسخ T-cell های میزبان از طریق بلوغ و فعال سازی دندریتیک سل‌ها می‌شود(۱۲۲). ژن‌های متعددی در ساخت و عملکرد کپسول نقش دارند. در این میان، ۴ نوع ژن در مدل موشی که در ساختمان کپسول و در ویرولانس سروتایپ D نقش داشتند، از سال ۱۹۹۴ شناسایی شده اند. اولین ژن شناخته شده مرتبط با ساخت کپسول CAP59 می باشد که یک ترانس ممبر پروتئین خاصی را در پروسه ساخت گلیکوپروتئین اصلی کپسول GXM کد می‌کند(۱۲۳). دومین ژن مرتبط با ساخت کپسول CAP64 می‌باشد که با اثر بر استرین بدون کپسول منجر به کپسول دار شدن آن و عفونت کشنده در مدل موشی شد. ژن‌های CAP60 و CAP10 دو ژن دیگری هستند که در قرارگیری پروتئین بر روی غشای هسته و سیتوپلاسم نقش دارند(۱۲۴). هر چهار ژن مذکور در ساخت کپسول ضروری می‌باشند. ژن‌های دیگری نیز در ساخت کپسول نقش دارند که وجود آن ها نقش ضروری در ساخت کپسول ندارند، مانند CAS3 و CAS1 که در استیلاسیون GXM نقش داشته(۱۲۵) و یا ژن‌های دیگری نظیر UXS1، UGD1 و CAS31 که در گزیلاسیون GXM نقش دارند(۱۲۶). کپسول در بقای قارچ در سلول میزبان و ممانعت آن از فاگوسیته شدن توسط سلول‌های فاگوسیت کننده میزبان حتی در عدم حضور اپسونین نقش دارد. هم‌چنین باعث مقاومت قارچ در فاگوزوم‌ها می‌گردد(۱۲۷). مخمر در داخل ماکروفاژ، پلی‌ساکاریدهای کپسول را آزاد می‌سازد و تجمع این پلی‌ساکاریدها در وزیکول‌های اطراف فاگوزوم در سیتوپلاسم سلول میزبان منجر به نقص عملکرد و لیز ماکروفاژها می‌گردد(۱۰۲). کپسول، مهاجرت مخمر از فاگوسیت‌ها را مهار می‌سازد(۱۲۸)، مانع ترشح سیتوکین‌ها می‌گردد، منجر به مهار مستقیم تکثیر لنفوسیت‌های T (۱۲۹)، تحریک مدیاتورهای آپوپتوز ماکروفاژها از

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

طریـق لیگانـد fas و تـاخیر در بلـوغ و فعـال‌سـازی دندرتیک سل‌های انسان می‌شود(۱۳۰). تولید کپسـول در بدن میزبان تحت شرایطی نظیـر فشـار بـالای CO_2، فقـر آهن و pH خنثی تا قلیایی تحریک می‌گردد(۱۳۱). ایجاد شـرایط فـوق در آزمایشـگاه در محـیط DMEM[1] بـا افزایش سایز کپسول همراه بوده است(۱۳۲). سایز کپسول در ایزوله‌های محیطی نسبت به ایزوله های جـدا شـده از نمونه های کلینیکی کوچک تر می باشد. پارتیکل هـای عفونی برای ورود به ریه و عبور از راه های هـوایی بایـد کوچک تر از ۴ میکرومتـر (کپسـول کوچـک یـا بـدون کپسول) باشند(۶). میزان بالای آنتی‌ژن‌های پلی‌سـاکارید کپسول در CSF منجـر بـه تغییـر اسـمولالیتی و افـزایش فشار داخل جمجمه (Intracranial pressure)، سردرد و اختلال در بینایی در بیمار می‌گردد(۱۳۳).

۲- ملانین

توانـایی تولیـد ملانـین توسـط کریپتوکوکـوس نئوفـورمنس در سـال ۱۹۶۰ توسـط Staib کشـف شـد. ژن‌های سازنده لاکـاز LAC1 و LAC2 در سـاخت ملانـین نقش اساسی دارد. ملانین یک پیگمان هیـدروفوبیک بـا شـارژ منفـی و وزن مولکـولی بالاسـت کـه بـا پلیمریـزه شدن، ترکیبات فنلی توسط آنزیم لاکاز یا فنل اکسـیداز تولید می‌شود(۱۳۴). در محیط بیرون، ملانین در محافظت مخمـر در برابـر تـابش نـور UV، گرمـا و حـرارت بـالا، فلزات سنگین و یخ زدگـی نقـش دارد. در داخـل بـدن، ملانین نقش آنتی فاگوسیتیک داشـته و باعـث مقاومـت مخمر در برابر استرس‌های اکسیدایتو مـی شـود. ملانـین روی دیواره سلولی قرار دارد و در ضخیم شدن کپسـول و مقاومت در برابر داروهای ضد قارچی نقش دارد(۱۳۵).

Nosanchuk و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادنـد که مخمرهای موجود در بـدن انسـان کـه دارای ملانـین بوده‌انـد و کریپتوکوکـوس نئوفـورمنس کـه ژن ملانـین wild type داشته اند، ویرولانس بیش‌تری دارنـد(۱۳۶) و در مقایسه با آن‌هـایی کـه ملانـین تولیـد نمـی‌کننـد، در مقابل اکسیدانت‌هـا و داروهـای ضـد قـارچی حساسـیت کم‌تری را نشان می دهند(۱۳۷).

۳-توانایی رشد در درجه حرارت فیزیولوژیکی

توانـایی رشـد مخمـر در دمـای بـدن یـک فـاکتور ضروری ویرولانس برای کریپتوکوکوس نئوفـورمنس و کریپتوکوکوس گتی محسوب می‌شود. بـا وجـودی کـه بعضی از گونه‌ها از جمله *C.Podzolicus* توانـایی تولیـد کپسول و ملانین را دارند، به دلیل عـدم رشـد در دمـای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بدن، قـادر بـه بیمـاریزایی و ایجـاد عفونت نمـی‌باشـد. کریپتوکوکـوس نئوفـورمنس کـه از فضله پرندگان جدا شده اسـت، در بـدن پرنـده بـه دلیـل دمای بالای آن‌ها (۴۲°C-۴۰) قادر به ایجاد عفونت نمی باشد و این نکتـه بـر اهمیـت دمـای رشـد در بیمـاریزایی دلالت داشته که قابل توجه است(۱۳۸).

۴-آنزیم های خارج سلولی

آنزیم‌هایی که در ویرولانس کریپتوکوکوس نقـش دارند شـامل دی ان آز[2]، اسـید فسـفاتاز[3]، متالوپروتئـاز[4]، لاکاز[5]، گلوکوزیل سرامید سنتاز[6]، مانوزیـل ترانسـفراز[7]، فســفولیپاز B[8]، فســفولیپاز C[9]، اوره آز[10]، زایلوزیــل فسفوترانسفراز[11]، سوپراکسید دیسموتاز[12]می‌باشند. همه قارچ‌ها در سیکل زندگی در طبیعت، آنـزیم‌هـایی ترشـح و به‌وسیله آن‌ها ماکرومولکول‌هـای موجـود در طبیعـت را بـه منظور دریافت غذا تجزیه می‌کند(۱۳۹). کریپتوکوکوس نیـز از ایـن قاعـده مسـتثنی نمـی‌باشـد و آنـزیم‌هـایی از خانواده لیپاز، پروتئاز و دی ان آز را ترشح مـی‌کنـد. در حین عفونت نیز این آنزیم‌ها ترشح و در تجزیه بافت‌هـا،

1. Dulbecco's modified Eagle's medium

2. DNase
3. Acidphosphatase
4. Metalloprotease
5. Laccas
6. Glucosylceramid syntha
7. Mannosyl transferas
8. phospholipase B
9. phospholipase C
10. Ureas
11. Xylosyl phospho transferase
12. superoxiddismutase

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

حفظ و بقای قارچ و ممانعت از اثر پاسخ سیستم ایمنی نقش دارند(۱۴۰).

۴-۱: اوره آز

اوره آز آنزیمی است که از کریپتوکوکوس نئوفورمنس ترشح می شود و در طبیعت از فضولات پرندگان جدا شده است. آنزیم اوره آز جهت تجزیه کراتینین، گزانتین و اسید اوریک و رشد قارچ و بقای آن در چنین محیطی ضروری می‌باشد(۱۴۱). هم‌چنین این آنزیم، هیدرولیز اوره به آمونیاک و کارباماتا [1] را کاتالیز می‌کند. نقش اوره آز به عنوان یک فاکتور ویرولانس ثابت شده است. به‌طوری که استرین‌هایی که ژن URE1 آن‌ها ناک اوت شده، نسبت به استرین‌های نوع وحشی از بیماریزایی کم‌تری برخوردار بوده‌اند(۱۴۲). اوره آز در بدن انسان در فرار قارچ از ریه به سمت سد مغزی- خونی نقش دارد. اما جهت رشد قارچ در بدن ضروری نمی باشد. مقدار اوره آز در نمونه‌های کلینیکی متفاوت است و در بعضی موارد تا ۹۹/۶ درصد هم گزارش شده است، شایان ذکر است در بعضی از ایزوله‌ها اوره آز منفی هم وجود دارد(۱۴۳).

۴-۲: دی ان آز

این آنزیم احتمالاً DNA میزبانی را که در ترشح نوتروفیل‌ها به عنوان یک پاسخ ایمنی طبیعی نقش دارند، کاهش می‌دهد(۱۴۴). بررسی‌های مختلف بر روی کریپتوکوکوس نئوفورمنس ارتباط همکاری بین اوره آز و دی ان آز را ثابت کرده است. فعالیت دی ان آز در نمونه کلینیکی بیش‌تر از نمونه‌های محیطی کریپتوکوکوس می باشد و این نشان دهنده ویرولانس فاکتور بودن این آنزیم باشد(۱۴۵).

۴-۳-سوپراکسید دیسموتاز

(SOD) این آنزیم سوپراکسیدها را به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تجزیه می‌کند. در نتیجه شرایط رشد و زندگی مخمر در ماکروفاژهای سلول میزبان فراهم می‌گردد(۱۴۶). به این طریق مخمر از سوپراکسیدهای تولید شده در سیستم ایمنی میزبان محفوظ می‌ماند(۱۴۷). قابل ذکر است که تولید SOD در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیش‌تر می‌باشد و این امر می‌تواند در محافظت قارچ از سلول‌های دفاعی بدن میزبان نقش داشته باشد(۱۴۸).

۴-۴- فسفولیپازها

این آنزیم، فسفولیپیدهای غشای سلولی میزبان را تجزیه می‌کند و در اتصال قارچ به سلول میزبان نقش دارد. انواع آن شامل فسفولیپاز B، فسفولیپاز C، لیزوفسفولیپاز و استیل ترانسفراز می‌باشد(۱۴۹). فسفولیپاز B، فسفولیپیدهای سورفکتانت ریه و غشای پلاسمایی را هیدرولیز می‌کند(۱۵۰) و یکپارچگی دیواره سلولی را کاهش و بقای خود را حفظ می‌کند(۱۵۱) و کربن موردنیاز برای تغذیه مخمر را در طول عفونت فراهم می‌سازد(۱۵۲).

فسفولیپاز B در بقا و تکثیر مخمر درون ماکروفاژها و هم‌چنین تخریب دیواره سلولی و در نتیجه خروج قارچ از ماکروفاژها نقش دارد. در نتیجه استرین‌هایی که ژن PLB1 آن‌ها جهش و یا ناک اوت شده‌اند، توانایی کم‌تری در بقا درون ماکروفاژها دارند و تا ۵۰ درصد در تکثیر درون ماکروفاژی و خروج از آن ضعیف می‌شوند(۱۵۳). وجود فسفولیپاز C برای بروز فنوتیپ ویرولانس فاکتورهایی نظیر تولید ملانین، رشد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ترشح فسفولیپاز B و مقاومت در برابر داروهای ضد قارچی و هم‌چنین تنظیم هموستاز، تفکیک سلولی بعد از سیتوکیناز [2] و استحکام دیواره سلولی نقش دارد(۱۵۵،۱۵۴).

۴-۵-فسفاتاز

فسفاتازهای مترشحه از کریپتوکوکوس، گروه فسفات که در شکل‌گیری ساختمان پروتئین نقش مهمی

1. Carbamat

2. Cytokinesis

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

دارد را از بین می‌برند(۱۵۶). یک نوع اسید فسفاتازی که از مخمر ترشح می شود در اتصال آن به سلول و بافت میزبانی و در نتیجه ایجاد عفونت نقش بسزایی دارد. این نوع اسید فسفاتاز به واسطه ژن APH1 در کریپتوکوکوس نئوفورمنس وجود دارد. حیواناتی که با استرین aph1 Δ آلوده شدند در مقایسه با APH1(WT)[1]، بقای بیش‌تری داشتند(۱۵۷) و این می‌تواند به دلیل نقش این آنزیم در بیماری زایی قارچ باشد.

۴-۶-پروتئاز

پروتئازها باتجزیه پروتئین‌ها نقش مهمی در ویرولانس مخمر از جمله تهاجم، تجزیه بافتی و کسب مواد غذایی، کلونیزاسیون و تداخل در پاسخ دفاعی میزبان و نفوذ و ورود مخمر درون سلول‌های بافت میزبان دارند. مطالعات اخیر در مدل موشی، یک نوع متالوپروتئاز را در کریپتوکوکوس نئوفورمنس نشان داده‌اند که در تهاجم و نفوذ مخمر در سیستم عصبی مرکزی نقش مهمی دارد. مشاهده شده است که در مدل‌های in vitro، استرین‌های Δ mpr1 توانایی عبور از سد مغزی- خونی را ندارد(۱۵۸).

۴-۷-لاکاز

تولید ملانین به واسطه لاکاز (فنل اکسیداز)، یکی از فاکتورهای بیماری زایی مخمر صورت می‌گیرد. در کریپتوکوکوس، ملانیزه شدن زمانی رخ می دهد که کاتکول فنل ها یا آمینوفنل ها به وسیله آنزیم لاکاز به صورت اکسیداتیو پلیمریزه شوند و به شکل ملانین در دیواره سلولی ذخیره شوند(۱۵۹). ملانیزاسیون در محیط خارج از بدن و در محیط نایجرسیدآگار با قهوه ای نمودن کلنی مخمر به تشخیص کمک می‌کند. لاکاز در محیط بیرون در تجزیه لیگنین‌ها و تهیه مواد غذایی از آن‌ها توسط مخمر نقش دارد(۱۶۰).

تشخیص

در مننژیت کریپتوکوکالی، مقدار پروتئین CSF تا نیمی از سطح سرمی آن افزایش نشان می‌دهد و غلظت گلوکز CSF نرمال یا کمی پایین‌تر می‌باشد. هم‌چنین افزایش لوکوسیت‌ها به ویژه لنفوسیت‌ها وجود دارد که در بیماران غیر HIV و با ایمنی سالم مشاهده می‌گردد. در افراد HIV مثبت به دلیل ضعف سیستم ایمنی تعداد لوکوسیت‌ها خیلی کم‌تر و در مقابل تعداد مخمرهای کپسول دار در رنگ‌آمیزی گرم و مرکب چین از رسوب CSF بیش‌تر می‌باشد. فشار CSF نیز بالا می‌رود به طوری که در ۶۰ تا ۸۰ درصد بیماران بالاتر از ۲۵ سانتی‌متر آب می‌گردد(۱۶۱). امکان تشخیص آزمایشگاهی در بیماران مبتلا به HIV نسبت به مبتلایانی که غیر HIV و با سیستم ایمنی سالم هستند ازپیچیدگی کم‌تری برخوردار است، چرا که در بیماران HIV، تعداد مخمر زیادی در گسترش‌های رنگ شده CSF می‌توان مشاهده نمود و در نتیجه مشاهده میکروسکوپی و بررسی آنتی‌ژن و کشت از حساسیت بالایی در این بیماران برخوردار است. در حالی که در افراد با ایمنی سالم در بسیاری مواقع تست آنتی ژن و کشت منفی می‌باشد(۱۶۲). به همین دلیل میزان حجم CSF در هر بار نمونه‌برداری باید کافی (۲۰ تا ۳۰ میلی‌لیتر) باشد و از سویی نمونه‌گیری CSF طی چند مرحله و چند روز تکرار گردد(۱۶۳). سه روش تشخیص معمول در مننژیت کریپتوکوکالی در آزمایشگاه‌ها شامل ۱- آزمایش میکروسکوپی (مستقیم)، ۲- کشت و ۳- بررسی آنتی‌ژن (سرولوژی) است.

آزمایش میکروسکوپی

تشخیص مقدماتی کریپتوکوکوزیس با آزمایش میکروسکوپی مستقیم نمونه مایع مغزی نخاعی با رنگ‌آمیزی مرکب چین (India Ink) یا رنگ آمیزی‌های سریع (DiffQuik, Geimsa) در اسمیر نمونه‌های آسپیره و ترشحات بینی انجام می‌پذیرد(۱۶۴). در روش میکروسکوپی استفاده از رنگ مرکب چین (India Ink) جهت مشاهده سلول‌های مخمری از

1. Wild-type

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

رسوب CSF روش ساده‌ای می‌باشد. حساسیت این روش تا بیش‌تر از ۸۶ درصد بیان شده است. مرکب چین از حساسیت بالایی به ویژه در مواقعی که بار قارچ کم می‌باشد، برخوردار است. این روش به ویژه در قبل از بروز علائم تهاجمی قارچ و افرادی که تحت درمان با ART می باشد مفید است(۱۶۵).

کشت

چنان‌چه محیط های کشت و سوبسترای موجود در آن‌ها مناسب باشند، روش مفیدی جهت مشاهده حضور قارچ‌های پاتوژن می باشند. محیط های کشت مورد استفاده کریپتوکوکوس شامل سابورودکستروز آگار محتوی کلرامفنیکل بدون سیکلوهگزامید، محیط آگارخوندار و انکوباسیون در دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت می‌باشد. مخمر در مقابل حرارت بالا بسیار حساس است و در دمای ۴۰ تا ۴۲ درجه سانتی گراد قادر به رشد نمی باشد. کلنی‌های سفید خامه‌ای گاهی با هاله‌ای صورتی با سطحی صاف، مرطوب و موکوئیدی بعد از ۵ تا ۸ روز رشد می کند. محیط کشت اختصاصی ارگانیسم نایجر سید آگار[1] یا آگار دانه پرنده می‌باشد که محتوی ترکیبات دی فنولیک بوده و آنزیم لاکاز یا فنل اکسیداز مخمر موجب تشکیل ملانین و در نتیجه ظهور کلنی‌های قهوه‌ای رنگ در این محیط می‌شود. محیط کشت اختصاصی کاناوانین گلایسین تیمول بلو[2] برای تشخیص افتراقی کریپتوکوکوس نئوفورمنس از کریپتوکوکوس گتی استفاده می‌شود. پس از تلقیح مخمر، زمان انکوباسیون این محیط ۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در این محیط، کریپتوکوکوس گتی رنگ سبز محیط کشت را به رنگ آبی تبدیل می کند. باید توجه داشت که مخمرهای دیگری نظیر کریپتوکوکوس لارنتی و تریکوسپورون موکوئیدس نیز می‌توانند موجب تغییر رنگ این محیط کشت شوند (CGB- positive)، در حالی که هر دو این مخمرها از نظر تولید ملانین منفی می باشند. بنابراین تست CGB فقط برای تشخیص افتراقی کریپتوکوکوس گتی از کریپتوکوکوس نئوفورمنس مفید است. محیط کشت اوره آز نیز از محیط های اختصاصی می‌باشد. کریپتوکوکوس، اوره آز مثبت است و در محیط حاوی اوره با ایجاد کربنات آمونیوم (قلیائی)، رنگ محیط را از زرد به قرمز تغییر می‌دهد. کشت به عنوان یک روش استاندارد، معایبی نیز دارد، از جمله معایب کشت نیاز به وجود آزمایشگاه مجهز و سازمان دهی شده و زمان بر بودن آن می باشد و از معایب دیگر کشت، منفی کاذب آن در مواقعی است که بار قارچی پایین باشد که جهت حل این مشکل نیاز به مقدار بیش‌تری (۲۵ تا ۳۰ میلی‌لیتر) از CSF در هر بار نمونه گیری است(۱۶۶).

سرولوژی

بررسی آنتی ژن کریپتوکوکوس (CrAg) در CSF، سرم، پلاسما و خون کامل روش سریع و ارزانی می‌باشد که در صورت مثبت شدن در بیماران مشکوک به مننژیت، بررسی‌های دیگر CSF پیشنهاد می گردد(۱۶۷). تست آنتی ژن در سرم یک تست غربالگری اولیه مفید در تشخیص کریپتوکوکوزیس به ویژه در بیماران مبتلا به HIV می باشد(۱۶۸). سه روش برای تشخیص آنتی ژن کریپتوکوکوس شامل لترال فلواسی[3]، لاتکس آگلوتیناسیون[4] و آنزیم ایمونواسی[5] وجود دارد:

لترال فلواسی (LFA)

روشی سریع که بر اساس کروماتوگرافی روی نوار می‌باشد، قادر به شناسایی سریع کپسول پلی ساکاریدی با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال آنتی کریپتوکوکال کونژوگه علیه کریپتوکوکوس نئوفورمنس در سرم و

1. bird seed agar
2. Concanavine-glycin thymol blue aga

3. lateral flow assay (LFA)
4. latex agglutination (LA)
5. enzyme immunoassay(EIA)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

CSF می‌باشد(۱۶۹). استفاده از CrAg LFA در سرم روش غربالگری ساده و سریع در تشخیص کریپتوکوکوزیس قبل از بروز علایم مننژیت می‌باشد. زمانی که CSF از نظر کریپتوکوکوس مثبت باشد، حساسیت CrAg در خون بیش از ۹۹ درصد می‌باشد(۱۷۰). CrAg LFA در ادرار و بزاق مورد بررسی قرار گرفته است، ولی استفاده از این نمونه‌ها همانند سرم مورد تایید نمی باشد(۱۷۱).

لاتکس آگلوتیناسیون

در این روش، ذرات لاتکس با آنتی‌بادی پلی کلونال ضد آنتی ژن کریپتوکوکوکوس پوشیده شده که با آنتی ژن پلی ساکارید کریپتوکوکوس واکنش داده و منجر به آگلوتینه شدن قابل مشاهده می‌شود. این روش نیز سریع و ساده می باشد که بر روی نمونه سرم، پلاسما و CSF قابل انجام می‌باشد. این روش در مقایسه با روش لترال فلو دارای معایبی از جمله حساسیت کم تر و واکنش متقاطع با بعضی از فاکتورها از جمله آرتریت روماتوتید و بعضی باکتری ها و قارچ‌های دیگر می‌باشد. نتیجه این آزمون در فردی با روماتوئید فاکتور مثبت به صورت کریپتوکوکوزیس مثبت کاذب است. هم چنین شرایط انجام آزمایش، استریل بودن لوازم و مهارت فرد انجام دهنده بر نتیجه آزمایش اثر گذار خواهد بود(۱۷۲).

روش آنزیم ایمنو اسی (EIA)

این روش نیز در شناسایی آنتی ژن کریپتوکوکالی قابل استفاده می باشد که در مطالعات مختلف حساسیت کم تری نسبت به دو روش فوق نشان داده است(۱۷۳). این روش از ابزارهای سرولوژیک برای شناسایی آنتی‌ژن‌های پلی ساکارید کپسول C. neoformans در سرم و CSF است. در این روش چاهک‌های پلیت با آنتی‌بادی پلی‌کلونال آنتی‌کریپتوکوکال پوشیده شده و سیستم تشخیص بر اساس یک منوکلونال پراکسیداز متشکل از مونوکلونال است(۱۷۴).

شناسایی (1,3)-B-D-Glucan (BDG)

علاوه بر روش‌های اولیه ذکر شده، یکی از مارکرهای غیر اختصاصی که در عفونت قارچی در بیماران با نقص سیستم ایمنی افزایش می‌یابند، بتا دی گلوکان در CSF می‌باشد(۱۷۵). بررسی‌ها نشان دادند اندازه‌گیری BDG در قیاس با CrAg LFA، حساسیت ۸۹ درصد و اختصاصیت ۸۵ درصد داشته است. مقدار قابل تشخیص BDG در CSF با مقدار بار قارچی مثبت شده در کشت مرتبط می‌باشد و مقادیر بیش‌تر از 500 pg/ml با افزایش مرگ و میر در ارتباط است. اگر چه در تشخیص اولیه، ارزیابی BDG نسبت به CrAg در سطح پایین‌تری قرار دارد، ولی ممکن است به عنوان شاخص پیش‌آگهی مرگ و میر، نظارت بر پاسخ درمان و برای کمک به تفکیک عود بیماری در کشت مثبت (BDG مثبت) از سندرم التهابی بازسازی سیستم ایمنی[1](BDG منفی) در آینده راه‌گشا باشد. مزیت ارزیابی سطح BDG در CSF نسبت به CrAg این می‌باشد که بعد از گذشت ۴ روز از درمان ضد قارچی، سطح آن تا ۵۰ درصد کاهش می‌یابد، درحالی‌که تیتر آنتی ژن تا مدت‌ها بعد درمان نیز بالا می‌ماند(۱۷۶).

PCR (polymerase chain reaction)

باتوجه به حساسیت بالا، دسترسی گسترده و هزینه کم تست CrAg و قابل انجام بودن آزمایشات گفته شده، تشخیص مننژیت کریپتوکوکال بر پایه PCR گسترش زیادی ندارد، با این حال در افرادی که علائم مکرر یا عود مننژیت را نشان می‌دهند، آزمایش PCR با تعیین نوع گونه ممکن است به درمان بالینی کمک نماید.

سیستم Film Array: (Biofire Diagnostic, salt Lake city, Utah, USA)

این روش قادر به شناسایی کریپتوکوک‌ها با حساسیت ۱۰۰ درصد و ویژگی خاص می‌باشد. این سیستم توانایی تشخیص و تفکیک کریپتوکوکوس نئوفورمنس از کریپتوکوکوس گتی و قادر به تمایز بین

1. mmune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

عـود و IRIS مـی‌باشـد. سیسـتم Film Array یـک نـوع سیستم multiplex PCR با روش ساده و اتوماتیک است که در زمان کوتاه قادر بـه شناسـایی ۱۴ نـوع پـاتوژن در CSF می‌باشد(۱۷۷).

هیستوپاتولوژی

هیستوپاتولوژی برای بررسی حضور قارچ در مقاطع بافتی از طریق واکنش‌های بافتی در بافت درگیـر، بیـنش مفیدی را فراهم می‌سازد(۱۷۸). سلول‌های کریپتوکوکـال به سادگی در مقاطع بافتی ریه، مغز و کبـد بـا اسـتفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصـی نظیـر گومـوری متنـامین سـیلور (GMS)، پریودیک اسید شیف(PAS) و موسی‌کارمن‌مـایر و فونتاناماسون شناسایی می‌شوند. در رنگ‌آمیزی موسی کارمن، کپسول به رنگ قرمز و ملانـین قـارچ در رنـگ فونتاناماسون به رنگ قرمز قهوه‌ای دیـده مـی‌شـود(۱۶۳). در مقاطع رنگ شده با هماتوتوکسیلین ائوزین (H&E)، واکنش بافتی ضعیف رنگ می‌گیرد و تشخیص بسـتگی کامل به مشاهده کپسول کریپتوکوکال دارد.

درمان کریپتوکوکوزیس

براســـاس گایـــدلاین ۲۰۱۸ (۱۷۹)، درمـــان مـــوثر کریپتوکوکوزیس در بیماران با عفونت HIV در سه فـاز به شرح ذیل صورت می گیرد (جدول شماره ۵).

۱- فاز القاء یا مقدماتی (Induction)

۲- فاز تحکیم (consolidation)

۳- فاز نگهداری (maintenance)

جـدول شـماره ۵: خلاصـه رژیـم هـای درمـان ضـدقارچی منتژیـت کریپتوکوکال طی سه فاز (۱۷۹).

فاز	رژیم های درمان ضدقارچی
فاز مقدماتی	برای بالغین‌و نوجوانان و کودکان، یک دوره کوتاه (یک هفته) تزریق داخل رگی آمفوتریسین B داکسی کولات (یک میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن در روز) به همراه فلوسیتوزین (صد میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن در روز در چهار دوز در روز)، و به دنبال آن یک هفته فلوکونازول (۱۲۰۰ میلی گرم در روز برای بزرگسالان، ۱۲ میلی گرم در کیلوگرم در روز برای کودکان و نوجوانان تا حداکثر دوز ۸۰۰میلی گرم در روز) رژیم های القاء زیر به عنوان گزینه های جایگزین توصیه می شود: ۱-دو هفته فلوکونازول (۱۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم در روز برای بزرگسالان، ۱۲ میلی گرم / کیلوگرم در روز برای کودکان و نوجوانان +فلوسیتوزین (۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم در روز تقسیم به چهار دوز در روز) ۲-دو هفته آمفوتریسین B داکسی کولات یک میلی گرم / کیلوگرم در روز +فلوکونازول ۱۲۰۰ میلی گرم روزانه برای بزرگسالان، ۱۲ میلی گرم / کیلوگرم در روز برای کودکان و نوجوانان تا حداکثر ۸۰۰میلی گرم در روز.
فاز تحکیمی	فلوکونازول (۸۰۰میلی گرم روزانه برای بزرگسالان، ۶-۱۲ میلی گرم / کیلوگرم در روز، برای کودکان و نوجوانان تا حداکثر ۸۰۰میلی گرم در روز). این مرحله هشت هفته بعد از مرحله القاء ادامه دارد.
فاز نگهدارنده	فلوکونازول (۲۰۰ میلی گرم در روز برای بزرگسالان، ۶میلی گرم بر کیلوگرم در روز برای نوجوانان و کودکان). این دوره تا یک سال ادامه دارد.

فاز القا یا مقدماتی (Induction)

هـدف از ایـن مرحلـه، پاکسـازی CSF از سـلول مخمری می‌باشد. پاکسازی کمی به معنی فعالیـت قـارچ کشی اولیه (EFA)[1] می‌باشد که به میـزان پاکسـازی هـر یـک میلی‌لیتـر از CSF در یـک روز مـی باشـد. درمـان آهسته تر از این مقدار منجر به افـزایش مـرگ و میـر در طی ۲ تا ۱۰ هفته اول می گردد(۱۸۰). در این مرحله بـرای بزرگسالان، نوجوانـان و کودکـان، تزریـق داخـل رگـی آمفوتریسین ب deoxycholate به میزان یک میلی‌گـرم به ازای هر کیلو گرم وزن در روز همراه بـا فلوسـیتوزین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن (تقسیم شـده بـه چهـار دوز در روز) و بـه دنبـال آن یـک هفتـه فلوکونازول ۱۲۰۰ میلی‌گـرم در روز بـرای بزرگسـالان، ۱۲ میلـی‌گـرم در کیلـوگرم در روز بـرای کودکـان و نوجوانـان تـا حـداکثر دوز ۸۰۰ میلـی‌گـرم در روز، گزینه‌ای مناسب برای درمان منتژیـت کریپتوکوکـال در میان افـراد مبـتلا بـه HIV اسـت. در صـورت اسـتفاده از آمفوتریسین B لیپوزومال، مقدار ۳ تا ۶ میلی‌گرم کفایت می‌کند؛ با ایـن توضـیح کـه مقـدار ۳ میلـی‌گـرم آن اثـر مشابه داشته و عارضه نفروتوکسیسیتی کم‌تری نسبت بـه دزوکسـی کـولات دارد(۱۸۱). رژیـم‌هـای القـاء زیـر بـه عنوان گزینه‌های جایگزین توصیه می‌شود:

۱- دو هفته فلوکونازول ۱۲۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم در روز برای بزرگسـالان، ۱۲ میلـی‌گـرم / کیلـوگرم در روز برای کودکان و نوجوانان به همراه فلوسیتوزین ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در روز (تقسیم به چهار دوز در روز)

۲- دو هفته آمفوتریسـین B داکسـی کـولات یـک میلـی‌گـرم/کیلـوگرم در روز بـه همـراه فلوکونـازول ۱۲۰۰ میلی‌گرم روزانه برای بزرگسالان، ۱۲ میلـی‌گـرم/ کیلوگرم در روز برای کودکان و نوجوانـان تـا حـداکثر دوز ۸۰۰ میلی گرم در روز

عوارض جانبی آمفوتریسین B از جمله آنمی، نارسائی کلیوی، هایپوکالیمی، هایپو منیزیمـی و فلبیـت مـی‌باشـد که در حین مصرف باید به آن‌ها توجه شود(۱۸۲).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

تجویز اینترفرون گاما (INF Y-) در فاز مقدماتی مفید می‌باشد. به طوری که در مطالعه Jarvis و همکاران دیده شده است که تجویز دو دوز از اینترفرون گاما تا ۳۰ درصد، عاری شدن از ارگانیسم را افزایش می‌دهد(۱۸۳). پس از حداقل دو هفته از درمان موفق فاز مقدماتی (کشت منفی CSF)، می‌توان تجویز آمفوتریسین B و فلوسیتوزین متوقف و پس از آن درمان تحکیمی آغاز و به مدت ۸ هفته باید ادامه داشته باشد(۱۸۴). در مورد استفاده از تری آزول های جدید نظیر پوساکونازول و وریکونازول اطلاعات موجود کافی نمی‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند استفاده از آن ها در پروفیلاکسی تا ۵۰ درصد موفقیت آمیز بوده است. استفاده از وریکونازول همزمان با داروهای مهارکننده پروتئازها و efavirenz منع شده است(۱۸۵، ۱۸۶).

فاز تحکیمی (Consolidation)

در این مرحله فلوکونازول به میزان ۸۰۰ میلی‌گرم روزانه برای بزرگسالان، ۶-۱۲ میلی‌گرم/ کیلوگرم در روز برای کودکان و نوجوانان تا حداکثر ۸۰۰ میلی‌گرم در روز توصیه شده است. این مرحله هشت هفته بعد از مرحله مقدماتی ادامه دارد. اکثر گایدلاین ها شروع درمان تحکیمی را بعد از ۲ هفته از شروع درمان القایی اعلام کرده‌اند(۱۸۷). کشت نمونه پونکسیون لومبر بعد از دو هفته تا رسیدن به یک CSF استریل باید تکرار شود. پس از استریل شدن CSF (معمولاً بعد از ۱۰ تا ۱۴ روز)، مقدار تجویزی فلوکونازول از ۸۰۰ به ۴۰۰ میلی‌گرم در روز باید کاهش یابد.

فاز نگهدارنده (Maintenance)

بعد از درمان موفق در دو مرحله مقدماتی و تحکیمی، انتظار می رود کشت CSF بیمار منفی شود و در این زمان درمان نگهدارنده با فلوکونازول به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در روز برای بزرگسالان، ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز برای نوجوانان و کودکان توصیه می‌شود. درمان نگهدارنده تا یک سال ادامه دارد. در حقیقت بیمار از فاز حاد (ده هفته) وارد فاز مزمن می‌گردد. به منظور جلوگیری از عود مننژیت کریپتوکوکال، استفاده از فلوکونازول با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم موثرتر از استفاده از یک دوز ضعیف آمفوتریسین B می‌باشد(۱۸۸). در درمان کریپتوکوکوزیس لوکالیزه غیر مننژیتی، درمان با فلوکونازول ۸۰۰ میلی‌گرم در روز برای دو هفته و سپس ۴۰۰ میلی‌گرم در روز به مدت هشت هفته، پس از آن فلوکونازول ۲۰۰ میلی‌گرم در روز پیشنهاد می‌شود. در درمان کریپتوکوکوما براساس نظر متخصص، رژیم درمانی آمفوتریسین B وریدی و فلوسیتوزین خوراکی برای حداقل شش هفته، و پس از آن، تقویت و نگهدارنده با فلوکونازول (تمام دوزهای مشابه مننژیت کریپتوکوک) پیشنهاد می‌گردد. در درمان زنان باردار مبتلا به مننژیت کریپتوکوکالی و غیر مننژیتی، آمفوتریسین B توصیه می گردد. قرار گرفتن در معرض فلوسیتوزین و فلوکونازول در دوران بارداری با افزایش خطر ابتلا به نقص مادرزادی در مطالعات حیوانی و برخی مطالعات انسانی همراه بوده است. استفاده از فلوسیتوزین و فلوکونازول برای درمان بیماری کریپتوکوک در زنان باردار باید به صورت فردی با در نظر گرفتن منافع و آسیب بالقوه صورت گیرد.

زمان درمان HAART در مبتلایان مننژیت کریپتوکوکال

مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که در بیماران HIV مثبت مبتلا به مننژیت کریپتوکوکال، درمان با HAART باید به تاخیر افتد. حداقل زمان آغاز HAART دو هفته پس از شروع درمان مقدماتی می باشد و اگر مقدور باشد، این زمان به ۴ تا ۶ هفته افزایش یابد. چنان‌چه شروع HAART قبل از این زمان می‌باشد، پزشک باید بیمار را از نظر وجود علائم سندرم التهابی بازسازی سیستم ایمنی (IRIS) نظیر افزایش فشار جمجمه (ICP)، تحت مراقبت شدید قراردهد(۱۸۹، ۱۹۰).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با توجه به افزایش چشمگیر کریپتوکوکوزیس در اوایل دهه ۱۹۸۰ با شروع پاندمی ایدز و تبدیل شدن ایدز به عامل خطر عمده برای ابتلا به بیماری، لزوم درک عمیق‌تر از این پاتوژن‌های مرگبار در خصوص انواع مولکولی، مکانیزم‌های درگیر در پاتوژنز، تعاملات میزبان - قارچ و چالش‌ها در مقاومت اکتسابی در درمان‌های طولانی جهت کنترل ومدیریت این تهدید نوظهور و بهبود عواقب بالینی را بیش از پیش ضروری می‌باشد. لذا در مطالعه حاضر سعی شده است نقلی برمطالعات اخیر درباره کریپتوکوکوزیس با تاکید بر پاتوژنز، تشخیص و استراتژی‌های درمانی در بیماران با عفونت HIV صورت گیرد.

References

1. La Hoz RM, Pappas PG. Cryptococcal infections: changing epidemiology and implications for therapy. Drugs 2013; 73(6): 495-504.
2. Ghasemian R, Najafi N, Shokohi T. Cryptococcal meningitis relapse in an immunocompetent patient. Archives of Clinical Infectious Diseases 2011; 6(1): 51-55.
3. Chen J, Varma A, Diaz MR, Litvintseva AP, Wollenberg KK, Kwon-Chung KJ. *Cryptococcus neoformans* strains and infection in apparently immunocompetent patients, China. Emerg Infect Dis 2008; 14(5): 755-762.
4. Datta K, Bartlett KH, Baer R, Byrnes E, Galanis E, Heitman J, et al. Spread of *Cryptococcus gattii* into Pacific Northwest region of the United States. Emerging Infectious Diseases 2009; 15(8): 1185.
5. Newton PN, Thai LH, Tip NQ, Short JM, Chierakul W, Rajanuwong A, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of acetazolamide for the treatment of elevated intracranial pressure in cryptococcal meningitis. Clin Infect Dis 2002; 35(6): 769-772.
6. Casadevall A, Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. Washington, DC: ASM press; 1998.
7. Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. Aids 2009; 23(4): 525-530.
8. Bratton EW, El Husseini N, Chastain CA, Lee MS, Poole C, Stürmer T, et al. Correction: Comparison and Temporal Trends of Three Groups with Cryptococcosis: HIV-Infected, Solid Organ Transplant, and HIV-Negative/Non-Transplant. PloS one 2012; 7(10): 10.
9. Henao-Martinez AF, Beckham JD. Cryptococcosis in solid organ transplant recipients. Curr Opin Infect Dis 2015; 28(4): 300-307.
10. Shih CC, Chen YC, Chang SC, Luh KT, Hsieh WC. Cryptococcal meningitis in non-HIV-infected patients. Qjm 2000; 93(4): 245-251.
11. Busse O. Uber parasitare Zelleinschlusse und ihre Zuchtung. Zentralbl Bakteriol 1894; 16: 175-180.
12. Sanfelice F. Contributo alla morfologia e biologia dei blastomiceti che si sviluppano nei succhi di alcuni frutti. Ann Igien 1894; 4: 463-495.
13. Barnett JA. A history of research on yeasts 14: 1 medical yeasts part 2, *Cryptococcus neoformans*. Yeast 2010; 27(11): 875-904.
14. Evans EE. The antigenic composition of *Cryptococcus neoformans*. I. A serologic classification by means of the capsular and agglutination reactions. J Immunol 1950; 64(5): 423-430.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

15. Wilson D, Bennett JE, Bailey JW. Serologic grouping of Cryptococcus neoformans. Proc Soc Exp Biol Med 1968; 127(3): 820-823.
16. Khodadoust AA, Payne JW. Cryptococcal (torular) retinitis. A clinicopathologic case report. Am J Ophthalmol 1969; 67(5): 745-750.
17. Franzot SP, Salkin IF, Casadevall A. Cryptococcus neoformans var.grubii: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. J Clin Microbiol 1999; 37(3): 838-840.
18. Dromer F, Mathoulin S, Dupont B, Letenneur L, Ronin O, Group FCS. Individual and environmental factors associated with infection due to *Cryptococcus neoformans* serotype D. Clin Infect Dis 1996; 23(1): 91-96.
19. Tortorano AM, Viviani MA, Rigoni A, Cogliati M, Roverselli A, Pagano A. Prevalence of serotype D in *Cryptococcus neoformans* isolates from HIV positive and HIV negative patients in Italy. Mycoses 1997; 40(7-8): 297-302.
20. Antinori S. New insights into HIV/AIDS-associated cryptococcosis. ISRN AIDS 2013; 471363.
21. Kwon-Chung K, Bennett J. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. Am J Epidemiol. 1984; 120(1): 123-130.
22. Pappas PG, Perfect JR, Cloud GA, Larsen RA, Pankey GA, Lancaster DJ, et al. Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-negative patients in the era of effective azole therapy. Clin Infect Dis 2001; 33(5): 690-699.
23. Lui G, Lee N, Ip M, Choi K, Tso Y, Lam E, et al. Cryptococcosis in apparently immunocompetent patients. QJM 2006; 99(3): 143-151.
24. Velagapudi R, Hsueh Y-P, Geunes-Boyer S, Wright JR, Heitman J. Spores as infectious propagules of *Cryptococcus neoformans*. Infect Immun 2009; 77(10): 4345-4355.
25. Mitchell DH, Sorrell TC, Allworth AM, Heath CH, McGregor AR, Papanaoum K, et al. Cryptococcal disease of the CNS in immunocompetent hosts: influence of cryptococcal variety on clinical manifestations and outcome. Clin Infect Dis 1995; 20(3): 611-616.
26. Speed B, Dunt D. Clinical and host differences between infections with the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. Clin Infect Dis 1995; 21(1): 28-34.
27. Chen SC, Slavin MA, Heath CH, Playford EG, Byth K, Marriott D, et al. Clinical manifestations of Cryptococcus gattii infection: determinants of neurological sequelae and death. Clin Infect Dis 2012; 55(6): 789-798.
28. Sukroongreung S, Nilakul C, Ruangsomboon O, Chuakul W, Eampokalap B. Serotypes of *Cryptococcus neoformans* isolated from patients prior to and during the AIDS era in Thailand. Mycopathologia 1996; 135(2): 75-78.
29. Fisher D, Burrow J, Lo D, Currie B. Cryptococcus neoformans in tropical northern Australia: predominantly variant gattii with good outcomes. Aust N Z J Med 1993; 23(6): 678-682.
30. Ellis DH. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in Australia. J Clin Microbiol 1987; 25(2): 430-431.
31. Seaton R. The management of cryptococcal meningitis in Papua New Guinea. P N G Med J 1996; 39(1): 67-73.
32. Seaton R, Hamilton A, Hay R, Warrell D. Exposure to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*—a seroepidemiological study. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996; 90(5): 508-512.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

33. Laurenson I, Lalloo D, Naraqi S, Seaton R, Trevett A, Matuka A, et al. *Cryptococcus neoformans* in Papua New Guinea: a common pathogen but an elusive source. J Med Vet Mycol 1997; 35(6): 437-440.
34. Laurenson I, Trevett A, Lalloo D, Nwokolo N, Naraqi S, Black J, et al. Meningitis caused by *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* and var. *neoformans* in Papua New Guinea. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996; 90(1): 57-60.
35. Byrnes EJ, Bartlett KH, Perfect JR, Heitman J. Cryptococcus gattii: an emerging fungal pathogen infecting humans and animals. Microbes Infect 2011; 13(11): 895-907.
36. Kidd S, Hagen F, Tscharke R, Huynh M, Bartlett K, Fyfe M, et al. A rare genotype of Cryptococcus gattii caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101(49): 17258-17263.
37. Fraser JA, Giles SS, Wenink EC, Geunes-Boyer SG, Wright JR, Diezmann S, et al. Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. Nature 2005;437(7063): 1360-1364.
38. Bartlett KH, Cheng P-Y, Duncan C, Galanis E, Hoang L, Kidd S, et al. A decade of experience: *Cryptococcus gattii* in British Columbia. Mycopathologia. 2012; 173(5-6): 311-319.
39. Upton A, Fraser JA, Kidd SE, Bretz C, Bartlett KH, Heitman J, et al. First contemporary case of human infection with *Cryptococcus gattii* in Puget Sound: evidence for spread of the Vancouver Island outbreak. J Clin Microbiol 2007; 45(9): 3086-3088.
40. Steele KT, Thakur R, Nthobatsang R, Steenhoff AP, Bisson GP. In-hospital mortality of HIV-infected cryptococcal meningitis patients with *C. gattii* and *C. neoformans* infection in Gaborone, Botswana. Med Mycol 2010; 48(8): 1112-1115.
41. Litvintseva AP, Thakur R, Reller LB, Mitchell TG. Prevalence of clinical isolates of *Cryptococcus gattii* serotype C among patients with AIDS in Sub-Saharan Africa. J Infect Dis 2005; 192(5): 888-892.
42. Pfeiffer T, Ellis D. Environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from *Eucalyptus tereticornis*. J Med Vet Mycol 1992; 30(5): 407-408.
43. MacDougall L, Kidd SE, Galanis E, Mak S, Leslie MJ, Cieslak PR, et al. Spread of *Cryptococcus gattii* in British Columbia, Canada, and detection in the Pacific Northwest, USA. Emerg Infect Dis 2007; 13(1): 42-50.
44. Sloan DJ, Parris V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. Clin Epidemiol 2014; 6: 169-182.
45. Shokohi T, Afshari SAK, Aghili R, Badali H. Epidemiology and molecular characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated from pigeon excreta in Mazandaran province, northern Iran. J de Mycol Med 2012; 22(2): 160-166 (Persian).
46. Amirrajab N, Haghani I, Rasuli M, Shokohi T. MigratoryBirds as a Potential Reservoirs of *Cryptococcus neoformans*. International Journal of Environmental Research. 2016; 10(3): 459-464 (Persian).
47. Hedayati MT, Mayahi S, Fakhar M, Shokohi T, Majidi M. *Cryptococcus neoformans* isolation from swallow (Hirundo rustica) excreta in Iran. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2011; 53(3): 125-127.
48. Bineshian F, Zaini F. Study of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from Eucalyptus camaldulensis in some northern regions of Iran. Koomesh 2002; 3(1): 59-67 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

49. Shahhosseiny MH, Rezaei Amirabadi A, Vand Yousefi J, Ghahri M, Azadmanesh K, Moslemi E. LAMP detection of *Cryptococcus neoformans* in AIDS patients. Journal of Microbial World 2010; 2(4): 235-242 (Persian).
50. Hashemi SJ, Rezaei S, Ansari S, Daie R, Noorbakhsh F. Application of Polymerase Chain Reaction (PCR) In the diagnosis of neurocryptoccosis. Tehran Univ Med J 2011; 69(4): 231-236 (Persian).
51. Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polacheck I, Sionov E, et al. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/ *Cryptococcus neoformans* species complex. Fungal Genet Biol 2015; 78: 16-48.
52. Moghadami M, Kordbacheh P, Emami M. A case report of Cryptococcal meningitis. Iranian Journal of Public Health 1988; 17(1-4): 61-68 (Persian).
53. Abbasi A, Bidjani K. Pulmonary infection due to *Cryptococcus neoformans* in a patient without immunodeficiency: a case report. JBUMS 1999; 1(2): 54-56 (Persian).
54. Nakhayi AR, Eftekhaari TE, Montazerghaem H, Moosavy S, Madani A. A 28 years old woman with severe headache and few episodes of vomiting: A case report. Am J Infect Dis 2010; 6(4): 107-109.
55. Shafaghi S, Abdollah MP, Tabarsi P, Ghorbani F, Makki S, Vishteh HK, et al. Concomitant cryptococcosis and burkholderia infection in an asymptomatic lung transplant patient with cystic fibrosis. Int J Organ Transplant Med 2010; 1(4): 183-186.
56. Razin BN, Shoaei S-D, Family A, Nabavi M, Abbasi F. Mycobacterium tuberculosis and *Cryptococcus neoformans* co-infection meningitis in a young immuncompetent woman. Iran J Clin Infect Dis 2011; 6(2): 93-94 (Persian).
57. Sasan MS, Donyadideh N, Alborzi A. A case report of cryptococcal meningitis. Med J Mashhad Univ Med Sci 2012; 55(3): 190-194 (Persian).
58. Gharabaghi MA, Allameh SF. Primary pulmonary cryptococcosis BMJ Case Rep 2014; 2014: bcr2014203821.
59. Hashemi R, Majidi A, Tabatabaey A, Motamed H. Fatal disseminated Cryptococcus infection in an immunocompetent patient. Arch Clin Infect Dis 2014; 9(3): e20246.
60. Siroos B, Ahmadinejad Z, Tabaeizadeh M, Yaghoobi MH, Torabi A, Ghaffarpour M. Rare association of severe cryptococcal and tuberculosis in central nervous system in a case of sarcoidosis .Med J Islam Repub Iran 2014; 28(1): 22.
61. Badali H, Alian S, Fakhim H, Falahatinejad M, Moradi A, Mohammad Davoudi M, et al. Cryptococcal meningitis due to *Cryptococcus neoformans* genotype AFLP1/VNI in Iran: a review of the literature. Mycoses 2015; 58(12): 689-693.
62. Nabaei G, Afhami S. Disseminated cryptococcosis and active pulmonary tuberculosis co-infection in an otherwise healthy adult. Iran J Neurol 2015; 14(3): 174-176 (Persian).
63. Aghazadeh K, Nadji SA, Shokouhi S, Tabarsi P, Niyati R. Concurrent Presence of Cryptococcal Meningitis and Neoplastic Meningitis in a Recipient of Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Case Report. Arch Clin Infect Dis 2016; 11(2): e31067 (Persian).
64. Haghighi S, Ahadi MS, Moghadasi AN. Cryptococcal meningitis in a human immunodeficiency virus-negative patient with rheumatoid arthritis. Iran J Neurol 2016; 15(2):106-108 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

65. Ekhtiari M, Farahyar S, Falahati M, Razmjou E, Ashrafi-Khozani M, Ghasemi Z, et al. The first report of onychomycosis caused by Cryptococcus friedmannii (Naganishia friedmannii) a basidiomycetous yeast. Med Mycol Case Rep 2017; 15: 25-27.
66. Gharehbolagh SA, Nasimi M, Afshari SAK, Ghasemi Z, Rezaie S. First case of superficial infection due to *Naganishia albida* (formerly *Cryptococcus albidus*) in Iran: A review of the literature. Curr Med Mycol 2017; 3(2): 33-37.
67. Brandt ME, Bragg SL, Pinner RW. Multilocus enzyme typing of *Cryptococcus neoformans.* J Clin Microbiol 1993; 31(10): 2819-2823.
68. Meyer W, Gilgado F, Ngamskulrungroj P, Trilles L, Hagen F, Castañeda E, et al. Molecular typing of the *Cryptococcus neoformans/ Cryptococcus gattii* species complex In: *Cryptococcus*. Heitman J, Kozel T, Kwon-Chung K, Perfect J, Casadevall A (ed). Washington, DC. ASM Press; 2011. P: 327-357.
69. Meyer W, Mitchell TG, Freedman E, Vilgalys R. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. J Clin Microbiol 1993; 31(9): 2274-2280.
70. Viviani M, Wen H, Roverselli A, Caldarelli-Stefano R, Cogliati M, Ferrante P, et al. Identification by polymerase chain reaction fingerprinting of *Cryptococcus neoformans* serotype AD. J Med Vet Mycol 1997; 35(5): 355-360.
71. Aoki FH, Imai T, Tanaka R, Mikami Y, Taguchi H, Nishimura NF, et al. New PCR primer pairs specific for *Cryptococcus neoformans* serotype A or B prepared on the basis of random amplified polymorphic DNA fingerprint pattern analyses. J Clin Microbiol 1999; 37(2): 315-320.
72. Lemmer K, Naumann D, Raddatz B, Tintelnot K. Molecular typing of *Cryptococcus neoformans* by PCR fingerprinting, in comparison with serotyping and Fourier transform infrared-spectroscopy-based phenotyping. Med Mycol 2004; 42(2): 135-147.
73. Hagen F, Ceresini PC, Polacheck I, Ma H, Van Nieuwerburgh F, Gabaldón T, et al. Ancient dispersal of the human fungal pathogen *Cryptococcus gattii* from the Amazon rainforest. PloS one 2013; 8(8): e71148.
74. Raimondi A, Ticozzi R, Sala G, Grazia Bellotti M. Genotype-based differentiation of the *Cryptococcus neoformans* serotypes by combined PCR-RFLP analysis of the capsule-associated genes CAP10 and CAP59. Med Mycol 2007; 45(6): 491-501.
75. Enache-Angoulvant A, Chandenier J, Symoens F, Lacube P, Bolognini J, Douchet C, et al. Molecular identification of *Cryptococcus neoformans* serotypes. J Clin Microbiol 2007; 45(4): 1261-1265.
76. Feng X, Yao Z, Ren D, Liao W. Simultaneous identification of molecular and mating types within the *Cryptococcus* species complex by PCR-RFLP analysis. J Clin Microbiol 2008; 57(12): 1481-1490.
77. Casadevall A, Freundlich L, Marsh L, Scharff M. Extensive allelic variation in *Cryptococcus neoformans*. J Clin Microbiol 1992; 30(5): 1080-084.
78. Butler MI, Poulter RT. The PRP8 inteins in *Cryptococcus* are a source of phylogenetic and epidemiological information. Fungal Genetics and Biology 2005; 42(5): 452-463.
79. Billmyre RB, Croll D, Li W, Mieczkowski P, Carter DA, Cuomo CA, et al. Highly

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

recombinant VGII *Cryptococcus gattii* population develops clonal outbreak clusters through both sexual macroevolution and asexual microevolution. MBio. 2014; 5(4): e01494-14

80. Diaz MR, Fell JW. Use of a suspension array for rapid identification of the varieties and genotypes of the *Cryptococcus neoformans* species complex. J Clin Microbiol 2005; 43(8): 3662-3672.
81. Bennett J, Kwon-Chung K, Theodore T. Biochemical differences between serotypes of *Cryptococcus neoformans*. Sabouraudia 1978; 16(3): 167-174.
82. Firacative C, Trilles L, Meyer W. MALDI-TOF MS enables the rapid identification of the major molecular types within the *Cryptococcus neoformans/C. gattii* species complex. PLoS One 2012; 7(5): e37566.
83. Springer DJ, Chaturvedi V. Projecting global occurrence of *Cryptococcus gattii*. Emerg Infect Dis 2010; 16(1): 14-20.
84. Chowdhary A, Randhawa HS, Sundar G, Kathuria S, Prakash A, Khan Z, et al. In vitro antifungal susceptibility profiles and genotypes of 308 clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and Cryptococcus gattii serotype B from north-western India. J Clin Microbiol 2011; 60(7): 961-967.
85. Schoffelen T, Illnait-Zaragozi M-T, Joosten LA, Netea MG, Boekhout T, Meis JF, et al. *Cryptococcus gattii* induces a cytokine pattern that is distinct from other cryptococcal species. PloS one 2013; 8(1): e55579.
86. Capilla J, Maffei CM, Clemons KV, Sobel RA, Stevens DA. Experimental systemic infection with *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and *Cryptococcus gattii* in normal and immunodeficient mice. Med Mycol 2006; 44(7): 601-610.
87. Ngamskulrungroj P, Chang Y, Sionov E, Kwon-Chung KJ. The primary target organ of *Cryptococcus gattii* is different from that of *Cryptococcus neoformans* in a murine model. MBio 2012; 3(3): e00103-112.
88. Kwon-Chung KJ, Varma A. Do major species concepts support one, two or more species within Cryptococcus neoformans? FEMS Yeast Res 2006; 6(4): 574-587.
89. Hagen F, Lumbsch HT, Arsenijevic VA, Badali H, Bertout S, Billmyre RB, et al. Importance of resolving fungal nomenclature: the case of multiple pathogenic species in the *Cryptococcus* genus. mSphere 2017; 2(4): e00238-17.
90. Singh K, Ilkit M, Shokohi T, Tolooe A, Malik R, Seyedmousavi S. Cryptococcosis: Emergence of *Cryptococcus g*attii in Animals and Zoonotic Potential. In: Seyedmousavi S, de Hoog GS, Guillot J, Verweij PE, editors. Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals. 1st ed. Springer Nature, Switzerland; 2018.
91. Muchmore H, Rhoades E, Nix G, Felton F, Carpenter R. Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in the environment of three geographically associated cases of cryptococcal meningitis. N Engl J Med 1963; 268(20): 1112-1114.
92. Procknow JJ, Benfield JR, Rippon JW, Diener CF, Archer FL. Cryptococcal Hepatitis Presenting As A Surgical Emergency: First Isolation of *Cryptococcus neoformans* From Point Source in Chicago. JAMA 1965; 191(4): 269-274.
93. Levitz SM. The ecology of *Cryptococcus neoformans* and the epidemiology of

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

cryptococcosis. Rev Infect Dis 1991; 13(6): 1163-1169.

94. Malik R, Wigney D, Muir D, Love D. Asymptomatic carriage of *Cryptococcus neoformans* in the nasal cavity of dogs and cats. J Med Vet Mycol 1997; 35(1): 27-31.
95. Morera N, Hagen F, Juan-Sallés C, Artigas C, Patricio R, Serra JI, et al. Ferrets as sentinels of the presence of pathogenic *Cryptococcus* species in the Mediterranean environment. Mycopathologia 2014; 178(1-2): 145-151.
96. Criseo G, Bolignano M, De Leo F, Staib F. Evidence of canary droppings as an important reservoir of *Cryptococcus neoformans*. Zentralbl Bakteriol 1995; 282(3): 244-254.
97. Springer DJ, Ren P, Raina R, Dong Y, Behr MJ, McEwen BF, et al. Extracellular fibrils of pathogenic yeast *Cryptococcus gattii* are important for ecological niche, murine virulence and human neutrophil interactions. PLoS One 2010; 5(6): e10978.
98. Fernandes KE, Dwyer C, Campbell LT, Carter DA. Species in the *Cryptococcus gattii* complex differ in capsule and cell size following growth under capsule-inducing conditions. mSphere 2016; 1(6): e00350-16.
99. Thompson GR, Albert N, Hodge G, Wilson MD, Sykes JE, Bays DJ, et al. Phenotypic differences of *Cryptococcus* molecular types and their implications for virulence in a Drosophila model of infection. Infect Immun 2014; 82(7): 3058-3065.
100. Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS--100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. Clin Microbiol Rev 1995; 8(4): 515-548.
101. Pal M, Tesfaye S, Dave P. Cryptococcosis: An enigmatic mycosis of humans and animals. J Environ Occup Sci 2014; 3(1): 53-60.
102. Feldmesser M, Kress Y, Novikoff P, Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* is a facultative intracellular pathogen in murine pulmonary infection. Infect Immun 2000; 68(7): 4225-4237.
103. Bava AJ, Troncoso A. Detection of *Cryptococcus neoformans* in faecal matter: a novel presentation of disseminated cryptococcosis. J Infect Dev Ctries 2009; 3(7): 572-574.
104. Tanner DC, Weinstein MP, Fedorciw B, Joho KL, Thorpe J, Reller L. Comparison of commercial kits for detection of cryptococcal antigen. J Clin Microbiol 1994; 32(7): 1680-1684.
105. Tantisiriwat W, Powderly WG. Cryptococcal Infection. J Infect Dis Antimicrob Agents 2004; 21(1): 29-40.
106. Carroll SF, Guillot L, Qureshi ST. Overviews Mammalian Model Hosts of Cryptococcal Infection. Comp Med 2007; 57(1): 9-17.
107. Gazzoni AF ,Severo CB, Salles EF, Severo LC. Histopathology, serology and cultures in the diagnosis of cryptococcosis. Rev Inst Med trop S Paulo 2009; 51(5): 255-259.
108. Shi M, Li SS, Zheng C, Jones GJ, Kim KS, Zhou H, et al. Real-time imaging of trapping and urease-dependent transmigration of *Cryptococcus neoformans* in mouse brain. J Clin Invest 2010; 120(5): 1683-1693.
109. Desalermos A, Kourkoumpetis TK, Mylonakis E. Update on the epidemiology and management of cryptococcal meningitis. Expert Opin Pharmacother 2012; 13(6): 783-789.
110. Odom A, Del Poeta M, Perfect J, Heitman J. The immunosuppressant FK506 and its nonimmunosuppressive analog L-685,818 are toxic to *Cryptococcus neoformans* by inhibition of a common target protein. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(1): 156-161.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

111. Fox DS, Cruz MC, Sia RA, Ke H, Cox GM, Cardenas ME, et al. Calcineurin regulatory subunit is essential for virulence and mediates interactions with FKBP12–FK506 in *Cryptococcus neoformans*. Mol Microbiol 2001; 39(4): 835-849.
112. Piérard GE, Piérard-Franchimont C, Estrada JA, Rurangirwa A, Dosal FL. Cutaneous mixed infections in AIDS. Am J Dermatopathol 1990; 12(1): 63-66.
113. Murakawa GJ, Kerschmann R, Berger T. Cutaneous *cryptococcus* infection and AIDS: report of 12 cases and review of the literature. Arch Dermatol 1996; 132(5): 545-548.
114. Chipungu GA, Christians SJ, Oliver SP. Cutaneous cryptococcosis erroneously diagnosed as *Histoplasma capsulatum* infection. SAMJ: S Afr Med J 2008; 98(2): 85-86.
115. Thomas I, Schwartz RA. Cutaneous manifestations of systemic cryptococcosis in immunosupressed patients. J Med 2001; 32(5-6): 259-266.
116. Colombo F, Elsemann R, Conde A, Galafassi D, Gazzoni A. Updating: cryptococcosis diagnostic aspects. J AIDS Clin Res 2014; 5(12): 391.
117. Larsen RA, Bozzette S, McCutchan JA, Chiu J, Leal MA, Richman DD. Persistent *Cryptococcus neoformans* infection of the prostate after successful treatment of meningitis. Ann Intern Med 1989; 111(2): 125-128.
118. Alspaugh JA, Perfect JR, Heitman J. Signal Transduction Pathways Regulating Differentiation and Pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*. Fungal Genet Biol 1998; 25(1): 1-14.
119. Rakesh V, Schweitzer AD, Zaragoza O, Bryan R, Wong K, Datta A, et al. Finite-element model of interaction between fungal polysaccharide and monoclonal antibody in the capsule of *Cryptococcus neoformans*. J Phys Chem B 2008; 112(29): 8514-8522.
120. Vaishnav VV, Bacon BE, O'Neill M, Cherniak R. Structural characterization of the galactoxylomannan of *Cryptococcus neoformans* Cap67. Carbohydr Res 1998; 306(1): 315-330.
121. Huang C, Nong S-h, Mansour MK, Specht CA, Levitz SM. Purification and characterization of a second immunoreactive mannoprotein from *Cryptococcus neoformans* that stimulates T-cell responses. Infect Immun 2002; 70(10): 5485-5493.
122. Specht CA, Nong S, Dan JM, Lee CK, Levitz SM. Contribution of glycosylation to T cell responses stimulated by recombinant *Cryptococcus neoformans* mannoprotein. J Infect Dis 2007; 196(5): 796-800.
123. García-Rivera J, Chang YC, Kwon-Chung K, Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* CAP59 (or Cap59p) is involved in the extracellular trafficking of capsular glucuronoxylomannan. Eukaryot Cell 2004; 3(2): 385-392.
124. Chang Y, Kwon-Chung K. Isolation, characterization, and localization of a capsule-associated gene, CAP10, of *Cryptococcus neoformans*. J Bacteriol 1999; 181(18): 5636-5643.
125. Moyrand F, Chang YC, Himmelreich U, Kwon-Chung KJ, Janbon G. Cas3p belongs to a seven-member family of capsule structure designer proteins. Eukaryot Cell 2004; 3(6): 1513-1524.
126. Bar-Peled M, Griffith CL, Doering TL. Functional cloning and characterization of a UDP-glucuronic acid decarboxylase: the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* elucidates UDP-xylose synthesis. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98(21): 12003-12008.
127. Kozel T, Gotschlich E. The capsule of *cryptococcus neoformans* passively inhibits

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

phagocytosis of the yeast by macrophages. J Immunol 1982; 129(4): 1675-1680.

128. Ellerbroek PM, E Annemiek M, Hoepelman AI, Coenjaerts FE. Effects of the Capsular Polysaccharides of *Cryptococcus neoformans* on Phagocyte Migration and Inflammatory Mediators [General Articles]. Curr Med Chem 2004; 11(2): 253-266.
129. Yauch LE, Lam JS, Levitz SM. Direct inhibition of T-cell responses by the *Cryptococcus* capsular polysaccharide glucuronoxylomannan. PLoS pathogens. 2006; 2(11): e120.
130. Lupo P, Chang Y, Kelsall B, Farber J, Pietrella D, Vecchiarelli A, et al. The presence of capsule in *Cryptococcus neoformans* influences the gene expression profile in dendritic cells during interaction with the fungus. Infect Immun 2008; 76(4): 1581-1589.
131. Granger DL, Perfect JR, Durack D. Virulence of *Cryptococcus neoformans*. Regulation of capsule synthesis by carbon dioxide. J Clin Invest 1985; 76(2): 508-516.
132. Zaragoza O, Casadevall A. Experimental modulation of capsule size in *Cryptococcus neoformans*. Biol Proced Online 2004; 6(1): 10-15.
133. Denning DW, Armstrong RW, Lewis BH, Stevens DA. Elevated cerebrospinal fluid pressures in patients with cryptococcal meningitis and acquired immunodeficiency syndrome. Am J Med 1991; 91(3): 267-272.
134. Casadevall A, Rosas AL, Nosanchuk JD. Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. Curr Opin Microbiol 2000; 3(4): 354-358.
135. Rosas ÁL, Casadevall A. Melanization affects susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to heat and cold. FEMS Microbiol Lett 1997; 153(2): 265-272.
136. Nosanchuk JD, Rosas AL, Lee SC, Casadevall A. Melanisation of *Cryptococcus neoformans* in human brain tissue. Lancet 2000; 355(9220): 2049-2050.
137. Van Duin D, Casadevall A, Nosanchuk JD. Melanization of *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum* reduces their susceptibilities to amphotericin B and caspofungin. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(11): 3394-3400.
138. Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*: a sugar-coated killer with designer genes. FEMS Immunol Med Microbiol 2005; 45(3): 395-404.
139. Dos Reis Almeida FB, Pigosso LL, Damásio AR, Monteiro VN, Soares CM, Silva RN, et al. α-(1,4)-Amylase, but not α-and β-(1,3)-glucanases, may be responsible for the impaired growth and morphogenesis of *Paracoccidioides brasiliensis* induced by N-glycosylation inhibition. Yeast 2014; 31(1): 1-11.
140. Almeida F, Wolf JM, Casadevall A. Virulence-associated enzymes of *Cryptococcus neoformans*. Eukaryot Cell 2015; 14(12): 1173-1185.
141. Kwon-Chung K, Wickes BL, Booth J, Vishniac HS, Bennett JE. Urease inhibition by EDTA in the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. Infect Immun 1987; 55(8): 1751-1754.
142. Olszewski MA, Noverr MC, Chen G-H, Toews GB, Cox GM, Perfect JR, et al. Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system invasion. Am J Pathol 2004; 164(5): 1761-1771.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

143. Bava A, Negroni R, Bianchi M. Cryptococcosis produced by a urease negative strain of *Cryptococcus neoformans*. J Med Vet Mycol 1993; 31(1): 87-89.
144. Rocha J, Nascimento M, Decote-Ricardo D, Corte-Real S, Morrot A, Heise N, et al. Capsular polysaccharides from *Cryptococcus neoformans* modulate production of neutrophil extracellular traps (NETs) by human neutrophils. Sci Rep 2015; 5: 8008.
145. Sánchez M, Colom F. Extracellular DNase activity of *Cryptococcus neoformans* and Cryptococcus gattii. Rev Iberoam Micol 2010; 27(1): 10-13.
146. Cox GM, Harrison TS, McDade HC, Taborda CP, Heinrich G, Casadevall A, et al. Superoxide dismutase influences the virulence of *Cryptococcus neoformans* by affecting growth within macrophages. Infect Immun 2003; 71(1): 173-180.
147. Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect JR, Casadevall A. *Cryptococcus*: from human pathogen to model yeast. Washington: ASM press; 2010.
148. Jacobson ES, Jenkins ND, Todd JM. Relationship between superoxide dismutase and melanin in a pathogenic fungus. Infect Immun 1994; 62(9): 4085-4086.
149. Henry J, Guillotte A, Luberto C, Del Poeta M. Characterization of inositol phospho-sphingolipid-phospholipase C 1 (Isc1) in *Cryptococcus neoformans* reveals unique biochemical features. FEBS Lett 2011; 585(4): 635-640.
150. Santangelo R, Zoellner H, Sorrell T, Wilson C, Donald C, Djordjevic J, et al. Role of extracellular phospholipases and mononuclear phagocytes in dissemination of cryptococcosis in a murine model. Infect Immun 2004; 72(4): 2229-2239.
151. dos Reis Almeida FB, de Oliveira LL, de Sousa MV, Barreira MCR, Hanna ES. Paracoccin from *Paracoccidioides brasiliensis*; purification through affinity with chitin and identification of N-acetyl-β-D-glucosaminidase activity. Yeast 2010; 27(2): 67-76.
152. Wright LC, Santangelo RM, Ganendren R, Payne J, Djordjevic JT, Sorrell TC. Cryptococcal lipid metabolism: phospholipase B1 is implicated in transcellular metabolism of macrophage-derived lipids. Eukaryot Cell 2007; 6(1): 37-47.
153. Alspaugh JA. Virulence mechanisms and *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. Fungal Genet Biol 2015; 78: 55-58.
154. Lev S, Desmarini D, Li C, Chayakulkeeree M, Traven A, Sorrell TC, et al .Phospholipase C of *Cryptococcus neoformans* regulates homeostasis and virulence by providing inositol trisphosphate as a substrate for Arg1 kinase. Infect Immun 2013; 81(4): 1245-1255.
155. Chayakulkeeree M, Sorrell TC, Siafakas AR, Wilson CF, Pantarat N, Gerik KJ, et al. Role and mechanism of phosphatidylinositol specific phospholipase C in survival and virulence of *Cryptococcus neoformans*. Mol Microbiol 2008; 69(4): 809-826.
156. McConnell JL, Wadzinski BE. Targeting protein serine/threonine phosphatases for drug development. Mol Microbiol 2009; 75(6): 1249-1261.
157. Lev S, Crossett B, Cha SY, Desmarini D, Li C, Chayakulkeeree M, et al. Identification of Aph1, a phosphate-regulated, secreted, and vacuolar acid phosphatase in *Cryptococcus neoformans*. Mbio 2014; 5(5): e01649-1614.
158. Vu K, Tham R, Uhrig JP, Thompson GR, Pombejra SN, Jamklang M, et al. Invasion of the central nervous system by *Cryptococcus*

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

neoformans requires a secreted fungal metalloprotease. MBio 2014; 5(3): e01101-1114.

159. Bell AA, Wheeler MH. Biosynthesis and functions of fungal melanins. Annu Rev Phytopathol 1986; 24(1): 411-451.
160. Ikeda R, Sugita T, Jacobson ES, Shinoda T. Laccase and melanization in clinically important *Cryptococcus* species other than Cryptococcus neoformans. J Clin Microbiol 2002; 40(4): 1214-1218.
161. Graybill JR, Sobel J, Saag M, Van Der Horst C, Powderly W, Cloud G, et al. Diagnosis and management of increased intracranial pressure in patients with AIDS and cryptococcal meningitis. Clin Infect Dis 2000; 30(1): 47-54.
162. Berlin L, Pincus JH. Cryptococcal meningitis: false-negative antigen test results and cultures in nonimmunosuppressed patients. Arch Neurol 1989; 46(12): 1312-1316.
163. Bicanic T, Harrison TS. Cryptococcal meningitis. Br Med Bull 2004; 72(1): 99-118.
164. Kwon-Chung K, Varma A, Edman J, Bennett J. Selection of ura 5 and ura 3 mutants from the two varieties of *Cryptococcus neoformans* on 5-fluoroorotic acid medium. J Med Vet Mycol 1992; 30(1): 61-69.
165. Boulware DR, Rolfes MA, Rajasingham R, von Hohenberg M, Qin Z, Taseera K, et al. Multisite validation of cryptococcal antigen lateral flow assay and quantification by laser thermal contrast. Emerg Infect Dis 2014; 20(1): 45-53.
166. Boulware D. Prognosis and management of cryptococcal meningitis in patients with human immunodeficiency virus infection. Neurobehavioral HIV Medicine 2012; 4: 45-61.
167. Temstet A, Roux P, Poirot J, Ronin O, Dromer F. Evaluation of a monoclonal antibody-based latex agglutination test for diagnosis of cryptococcosis: comparison with two tests using polyclonal antibodies. J Clin Microbiol 1992; 30(10): 2544-2550.
168. Powderly WG, Cloud GA, Dismukes WE, Saag MS. Measurement of cryptococcal antigen in serum and cerebrospinal fluid: value in the management of AIDS-associated cryptococcal meningitis. Clin Infect Dis 1994; 18(5): 789-792.
169. McKenney J, Bauman S, Neary B, Detels R, French A, Margolick J, et al. Prevalence, correlates, and outcomes of cryptococcal antigen positivity among patients with AIDS, United States, 1986–2012. Clin Infect Dis 2014; 60(6): 959-965.
170. Leenders AC, Reiss P, Portegies P, Clezy K, Hop WC, Hoy J, et al. Liposomal amphotericin B (AmBisome) compared with amphotericin B both followed by oral fluconazole in the treatment of AIDS associated cryptococcal meningitis. AIDS 1997; 11(12): 1463-1471.
171. Dromer F, Bernede-Bauduin C, Guillemot D, Lortholary O, Group FCS. Major role for amphotericin B–flucytosine combination in severe cryptococcosis. Plos one 2008; 3(8): e2870.
172. Heelan J, Corpus L, Kessimian N. False-positive reactions in the latex agglutination test for *Cryptococcus neoformans* antigen. J Clin Microbiol 1991; 29(6): 1260-1261.
173. Sekhon A, Garg A, Kaufman L, Kobayashi G, Hamir Z, Jalbert M, et al. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for the detection of cryptococcal antigen. Mycoses 1993; 36(1-2): 31-34.
174. Saha D, Xess I, Jain N. Evaluation of conventional & serological methods for rapid diagnosis of cryptococcosis. Indian J Med Res 2008; 127(5): 483-488.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

175. Brouwer AE, Rajanuwong A, Chierakul W, Griffin GE, Larsen RA, White NJ, et al. Combination antifungal therapies for HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomised trial. Lancet 2004; 363(9423): 1764-1767.
176. Abassi M, Boulware DR, Rhein J. Cryptococcal meningitis: diagnosis and management update. Curr Trop Med Rep 2015; 2(2): 90-99.
177. Rhein J, Bahr NC, Hemmert AC, Cloud JL, Bellamkonda S, Oswald C, et al. Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. Diagn Microbiol Infect Dis 2016; 84(3): 268-273.
178. Chander G, Markham BL, Helder DL . Summary of current radiometric calibration coefficients for Landsat MSS, TM, ETM+, and EO-1 ALI sensors. Remote Sens Environ 2009; 113(5): 893-903.
179. WHO. Guidelines for the diagnosis, prevention, and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children, March 2018: supplement to the 2016 consolidated guidelines of the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Geneva, WHO. 2018.
180. Bicanic T, Muzoora C, Brouwer AE, Meintjes G, Longley N, Taseera K, et al. Independent association between rate of clearance of infection and clinical outcome of HIV-associated cryptococcal meningitis: analysis of a combined cohort of 262 patients. Clin Infect Dis 2009; 49(5): 702-709.
181. Hamill RJ, Sobel JD, El-Sadr W, Johnson PC, Graybill JR, Javaly K, et al. Comparison of 2 doses of liposomal amphotericin B and conventional amphotericin B deoxycholate for treatment of AIDS-associated acute cryptococcal meningitis: a randomized, double-blind clinical trial of efficacy and safety. Clin Infect Dis 2010; 51(2): 225-232.
182. Muzoora CK, Kabanda T, Ortu G, Ssentamu J, Hearn P, Mwesigye J, et al. Short course amphotericin B with high dose fluconazole for HIV-associated cryptococcal meningitis. J Infect 2012; 64(1): 76-81.
183. Jarvis JN, Meintjes G, Rebe K, Williams GN, Bicanic T, Williams A, et al. Adjunctive interferon-γ immunotherapy for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomized controlled trial. AIDS 2012; 26(9): 1105-1113.
184. Saag MS, Graybill RJ, Larsen RA, Pappas PG, Perfect JR, Powderly WG, et al. Practice guidelines for the management of cryptococcal disease. Clin Infect Dis 2000; 30(4): 710-718.
185. Pitisuttithum P, Negroni R, Graybill JR, Bustamante B, Pappas P, Chapman S, et al. Activity of posaconazole in the treatment of central nervous system fungal infections. J Antimicrob Chemother 2005; 56(4): 745-755.
186. Perfect JR, Marr KA, Walsh TJ, Greenberg RN, DuPont B, de la Torre-Cisneros J, et al. Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infections. Clin Infect Dis 2003; 36(9): 1122-1131.
187. Kambugu A, Meya DB, Rhein J, O'brien M, Janoff EN, Ronald AR, et al. Outcomes of cryptococcal meningitis in Uganda before and after the availability of highly active antiretroviral therapy. Clin Infect Dis 2008; 46(11): 1694-1701.
188. Saag MS, Cloud GA, Graybill JR, Sobel JD, Tuazon CU, Johnson PC, et al. A comparison of itraconazole versus fluconazole as maintenance therapy for AIDS-associated cryptococcal meningitis. Clinical Infectious

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:14 +0330 on Sunday November 18th 2018

Diseases 1999; 28(2): 291-296.

189. Zolopa AR, Andersen J, Komarow L, Sanne I, Sanchez A, Hogg E, et al. Early antiretroviral therapy reduces AIDS progression/death in individuals with acute opportunistic infections: a multicenter randomized strategy trial. PloS One 2009; 4(5): e5575.

190. Boulware DR, Meya DB, Muzoora C, Rolfes MA, Huppler Hullsiek K, Musubire A, et al. Timing of antiretroviral therapy after diagnosis of cryptococcal meningitis. N Engl J Med 2014; 370(26): 2487-2498.