

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PEDİATRİK ONKOLOJİ HASTALARINDA,
IMMY KİTİ İLE *CRYPTOCOCCUS* ANTİJEN
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Ahmet Çağrı BIKMAZ

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Prof.Dr. M. Macit İLKİT**

ADANA-2023

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PEDİATRİK ONKOLOJİ HASTALARINDA,
IMMY KİTİ İLE *CRYPTOCOCCUS* ANTİJEN
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Ahmet Çağrı BIKMAZ

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Prof.Dr. M. Macit İLKİT**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK 2020-13088 nolu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2023

KABUL ve ONAY

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Doktora Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan

“Pediatrik Onkoloji Hastalarında, IMMY Kiti ile *Cryptococcus* Antijen Varlığının
Araştırılması”

adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 14 / 12 / 2023

TEZ SINAV JÜRİSİ

Çukurova Üniversitesi
Başkan

Çukurova Üniversitesi
Üye

Çukurova Üniversitesi
Üye

Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Üye

Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve
edilmiştir.

sayılı kararı ile kabul

Prof. Dr. Behice DURGUN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 14/12/2023

Ahmet Çağrı BIKMAZ

TEŞEKKÜR

Doktora hayatımın her aşamasında desteklerini esirgemeyen, değerli bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, sayın Prof. Dr. M. Macit İLKİT ile Prof. Dr. Fügen YARKIN ve Prof. Dr. Fatih KÖKSAL hocalarım başta olmak üzere eğitim sürecime katkı sağlayan Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma, Çalışmamdaki kan serum örneklerinin temininde yardımcı olan Pediatrik Onkoloji Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr. İbrahim BAYRAM hocam ile tüm bölüm çalışanlarına, Akademik eğitim hayatım süresince koşulsuz olarak maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Canım aileme, bölümdeki çalışma arkadaşlarım ile Dr. Ayşe Sultan KARAKOYUN başta olmak üzere tüm asistanlara, TDK-2020-13088 No’lu proje olarak bu çalışmanın gerçekleştirilmesini sağlayan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü’ ne teşekkür ederim.

Ahmet Çağrı BIKMAZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL ve ONAY	i
ETİK BEYANI.....	ii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Cryptococcus'un Tarihçesi	4
2.2. Taksonomik Özellikleri	9
2.3. Virulans faktörleri.....	12
2.3.1. Polisakkarit kapsül	12
2.3.2. Hücre Duvarı.....	12
2.3.3. Melanin	13
2.3.4. Termotolerans	13
2.3.5. Üreaz aktivitesi	14
2.3.6. Titan hücreleri	14
2.3.7. Mannitol	14
2.3.8. İnositol	15
2.3.9. Biyofilm oluşumu	15
2.3.10. Fenotipik değişim.....	15
2.3.11. Demir ve Bakır kullanımı	15
2.3.12. Mat Lokusu	16
2.4. Ekoloji	18
2.5. Patogenez.....	19
2.6. Kriptokokkoz kliniği.....	20

2.6.1. Santral sinir sistemi tutulumu	20
2.6.2. Akciğer tutulumu	20
2.6.3. Deri tutulumu	21
2.6.4. Genitoüriner sistem tutulumu (Prostatit)	21
2.6.5. Göz tutulumu	22
2.6.6. IRIS	22
2.7. Pediatrik hastalarda <i>Cryptococcus</i> hastalığının yeri ve önemi	22
2.8. Epidemiyoloji	26
2.9. Kriptokokkoz'un tanısı	30
2.9.1. Görüntüleme	30
2.9.2. Lomber ponksiyon	30
2.9.3. Direkt bakı	31
2.9.4. Mantar kültürü	31
2.9.5. Seroloji.....	32
2.9.5.1. Lateral flow antijen Testinin Yapısı	33
2.9.6. Moleküler teknikler	37
2.9.7. Kütle spektrometresi.....	39
2.9.8. Histopatoloji	39
2.9.9. Antifungal duyarlılık testi.....	40
2.10. Tedavi	40
2.11. Korunma	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
3.1. Klinik Örneklerin Toplanması ve Saklanması	45
3.2. Hasta Bilgilerinin Toplanması	45
3.3. Serum Örneklerinin IMMY® CrAg - LFA lateral flow assay yöntemi kullanılarak <i>Cryptococcus</i> antijeni aranması	45
3.4. Etik onam.....	47
4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR	61
EKLER	77

EK-1. Etik Kurul Onayı.....	77
ÖZGEÇMİŞ	78



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 2.1. <i>Cryptococcus</i> 'un tarihçesindeki önemli noktalar	7
Tablo 2.2. <i>C. neoformans</i> ve <i>C. gattii</i> tür komplekslerinin terminolojik, taksonomik, moleküler, epidemiyolojik, genotip ve coğrafi dağılımı	11
Tablo 2.3. <i>Cryptococcus</i> türlerinde virülans faktörleri.....	17
Tablo 2.4. Dünya genelinde pediatrik onkoloji hastalarında bildirilen kriptokokkoz olguları	25
Tablo 2.5. Türkiye’de doğadan, ağaç ve güvercin dışkısı örneklerinden <i>Cryptococcus</i> izolasyonu ve prevalansını bildiren çalışmalar	27
Tablo 2.6. Kriptokokkoz tanısında kullanılan LA, LFA ve EIA ile mantar kültürünün duyarlılık ve özgüllüklerinin karşılaştırıldığı çalışmaların sonuçları	35
Tablo 2.7. <i>Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii</i> tür komplekslerinin tanımlanması ve genotiplendirilmesinde kullanılan moleküler yöntemlerin karşılaştırılması.	38
Tablo 2.8. <i>Cryptococcus</i> hastalığının çeşitli klinik şekillerine göre tedavisi	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 2.1. IMMY CrAg® LFA test kitinin dizaynı	34
Şekil 3.1. IMMY CrAg® LFA Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay kiti	46
Şekil 3.2. CrAg LFA negatif sonuçlar (159, 160 ile 167,168 no' lu örnekler)	46



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: santigrat derece
µL	: mikrolitre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome (Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu)
BOS	: Beyin-omurilik sıvısı
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CGB agar	: Kanavanin-glisin-bromtimol mavisi agar
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CrAg	: <i>Cryptococcus</i> Antijeni
EIA	: Enzyme Immuno-assay
FDA	: U.S. Food and Drug Administration
GXM	: Glukuronoksilomannan
GXMGal	: Glukuronoksilomannogalakattan
HIV	: Human Immunodeficiency Virus (İnsan İmmünyetmezlik Virüsü)
IRIS	: Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome
LA	: Lateks Aglutinasyon
LAC	: Lakkaz enzimi
LFA	: Lateral Flow Assay (Yanal Akış Testi)
MALDI-TOF MS	: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry
MIK	: minimum inhibe edici konsantrasyon
mL	: mililitre
MLST	: Multilocus sequence typing
MR	: Manyetik rezonans
PAS	: periyodik asit-Schiff
PCR	: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
POC	: point-of-care (hasta-başı testi)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism

rpm	: revolutions per minute
SSS	: Santral Sinir Sistemi
var.	: varyete
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)



ÖZET

Pediyatrik Onkoloji Hastalarında, İmmü Kiti ile *Cryptococcus* Antijen Varlığının Araştırılması

Cryptococcus neoformans kapsüllü bir mantar olup AIDS'li hastalarda meningoensefalit etkeni olması sebebi ile infeksiyonları önem kazanmıştır. Ancak, onkoloji hastalarında *Cryptococcus* infeksiyonlarına ilişkin bilgiler ve veriler sınırlıdır. Son yıllarda, kriptokokkozun lösemi ve lenfoma gibi hematolojik maligniteler başta olmak üzere birçok malignite türünde görülme sıklığında artış olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple risk grubunda bulunan onkoloji hastalarında; hastalığın önlenmesi veya erken tanısı için antijenemi araştırmaları önem kazanmıştır. Sunulan çalışmada, *Cryptococcus* hastalığının erken tanısını hızlı, düşük maliyetli ve pratik bir şekilde mümkün kılan, *Cryptococcus* antijenini (CrAg) serumda yüksek duyarlılık ve özgüllükte saptayabilen hasta-başı serolojik test olan lateral flow antijen (LFA; yanıl akış testi) testi kullanıldı. Bu test için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından, onaylanan tek immünokromatografik ölçüm testi olan IMMY CrAg® LFA CrAg Lateral Flow Assay tercih edildi. Ayrıca, hastaların demografik bilgileri, kemoterapi durumu ile hastalığın ekolojik kaynakları olan güvercin vb. kuş türlerine temas ile ökoliptus ve benzeri ağaca temas durumları belirlendi. Çalışmada, Pediyatri Onkoloji polikliniğine başvuran, takipte ya da yeni tanı almış 168 çocuk onkoloji hastası ile malignite-negatif kontrol grubu olarak seçilen malignitesi olmayan 100 çocuk CrAg yönünden test edildi. Hasta grubunda 112'si erkek 56'sı kız idi. Ortalama yaş 8 yaş 2 ay olarak hesaplandı (yaş aralığı; 1 yaş 2 ay-18 yaş). Ayrıca bu hastaların 133 (%79) en az 3 aydır kemoterapi almakta idi. Diğer 35 (%21) hasta ise yeni tanı konulmuş olup henüz kemoterapiye başlanılmamıştı. Ayrıca, kontrol grubundaki malignite negatif olan 100 çocuğun 59'u kız 41'i erkek idi. Her iki grupta da *Cryptococcus* antijeni varlığı tespit edilemedi. Sonuç olarak, pediyatri onkoloji hasta grubu ve kontrol grubunda antijenemi prevalansı %0 olarak belirlense de başka çalışmalar ile verilerimizin desteklenerek ülkemize ait çocukluk dönemini temsil eden kriptokokkoz prevalansı tespit edilmelidir. Bu çalışmalar, aseptomatik *Cryptococcus* hastalığı olan çocuklarda bakımın iyileştirilmesi yanında ailelerinin ve sağlık personelinin bilinçlendirilmesini ve ülkemize ait Pediyatrik Onkoloji tedavi rehberlerine CrAg araştırılmasının eklenmesini sağlayacaktır.

Anahtar Sözcükler: *Cryptococcus neoformans*, Antijen, LFA, Pediyatri, Onkoloji, Türkiye

ABSTRACT

Investigation *Cryptococcus* Antigen Presence With Immy Kit In Pediatric Oncology Patients

Cryptococcus neoformans is an encapsulated fungus and its infections have gained importance as it is the causative agent of meningoencephalitis in patients with AIDS. However, information and data regarding *Cryptococcus* infections in oncology patients are limited. In recent years, an increase in the incidence of cryptococcosis has been reported in many types of malignancies, especially hematological malignancies such as leukemia and lymphoma. For this reason, in oncology patients in the risk group; Antigenemia research has gained importance for the prevention or early diagnosis of the disease. In the present study, the lateral flow antigen (LFA; lateral flow test) test, which is a point-of-care serological test that enables the early diagnosis of *Cryptococcus* disease in a rapid, low-cost and practical way and can detect *Cryptococcus* antigen (CrAg) in serum with high sensitivity and specificity, was used. For this test, the IMMY CrAg® Lateral Flow Assay, the only immunochromatographic measurement test approved by the American Food and Drug Administration (FDA), was preferred. Additionally, patients' demographic information, chemotherapy status, and ecological sources of the disease, such as pigeons, etc. Contact with bird species and contact with eucalyptus and similar trees were determined. In the study, 168 pediatric oncology patients who were under follow-up or newly diagnosed and who were admitted to the Pediatric Oncology outpatient clinic and 100 children without malignancy, selected as the malignancy-negative control group, were tested for CrAg. In the patient group, 112 were boys and 56 were girls. The average age was calculated as 8 years and 2 months (age range; 1 year, 2 months-18 years). Additionally, 133 (79%) of these patients had been receiving chemotherapy for at least 3 months. The other 35 (21%) patients were newly diagnosed and had not yet started chemotherapy. In addition, of the 100 malignancy-negative children in the control group, 59 were girls and 41 were boys. The presence of *Cryptococcus* antigen could not be detected in either group. As a result, although the prevalence of antigenemia in the pediatric oncology patient group and control group was determined to be 0%, our data should be supported by other studies and the prevalence of cryptococcosis representing the childhood period in our country should be determined. These studies will improve the care of children with asymptomatic *Cryptococcus* disease, raise the awareness of their families and healthcare personnel, and include CrAg screening in our country's Pediatric Oncology treatment guidelines.

Keywords: *Cryptococcus neoformans*, Antigen, LFA, Pediatrics, Oncology, Turkey

1. GİRİŞ

Son 50 yılda mantar hastalıklarının tıp ve veteriner hekimliği yönünden önemi düzenli olarak artmıştır. İnsan mantar infeksiyonlarının sonucu olarak her yıl 2 milyonu aşan ölüm sayıları bildirilmektedir (1, 2). Dünya genelinde toplam 2.2–3.8 milyon arasında farklı mantar türünün olduğu tahmin edilmektedir. 2020 itibari ile 140 bin mantar türü tanımlanmış olup 720 mantar türünün insan patojeni olduğu kanıtlanmıştır (3, 4). Ancak, bu türlerden yalnızca 20’si insan infeksiyonlarında sık olarak bildirilmektedir (5). 20. yüzyılın başlarında, *Cryptococcus* hastalığı sporadik olup yıllık insidansı < 300 olgu/yıl iken 1970’li yıllardan itibaren HIV/AIDS, organ nakli, immünosupresif tedaviler, lenfoproliferatif hastalıklar ve malignite gibi predispoze faktörlerin artışına bağlı olarak olarak olgu sayısı da hızla artmıştır (6). Son yıllarda, insanlarda ve hayvanlarda sıklıkla ölümcül hastalıklara sebep olan bir dizi benzeri görülmemiş mantar salgınları ortaya çıkmıştır. Bu salgınların en göze çarpanlarından biri, yakın zamanda Vancouver Adası’ndan (Kanada) British Columbia ve Kuzeybatı Pasifik’e yayılan *Cryptococcus gattii*’nin etken olduğu Vancouver Adası salgınıdır (7–9).

Dünya genelinde 2017 yılı itibariyle 37 milyon AIDS hastası bulunmaktadır, ancak bu hastaların yaklaşık %75’i Afrika’dadır. Özellikle, HIV infeksiyonlarına bağlı mantar hastalıkları kaynaklı ölümlerin yaklaşık %50’sinin Afrika’da görüldüğü tahmin edilmektedir (10). Antifungal ilaçlara erişiminin artmasına rağmen, yaşamı tehdit eden mantar infeksiyonlarının artışı yanında kullanılan tanısal testlerin yetersizliği ve hastalık raporlamasındaki eksiklikler sebebiyle yılda bir milyon ölümü aştığı düşünülmektedir. Mantar hastalıklarının yıllık maliyetinin ABD’nde 7.2 milyar doları üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (1, 11). *Cryptococcus neoformans*’ın etkeni olduğu kriptokokkozun küresel yıllık insidansı 2008 yılı için yaklaşık bir milyon (957.900) olgu olarak tahmin edilirken, antiretroviral tedavi (ART) uygulamalarındaki büyük artışla birlikte, 2014’te *Cryptococcus* menenjitli olgu sayısı dörtte bir oranında azalmıştır. Buna paralel olarak, AIDS’e bağlı ölümlerde aynı süreçte 2 milyondan 1.1 milyona düşerek azalmıştır (6, 12, 13). Ayrıca, kemoterapi uygulanan hastalar invazif mantar hastalıkları yönünden riski altındadır. Özellikle hematolojik maligniteleri olan hastalarda invazif mantar hastalıklarının gelişme riskinin yüksek olduğu bildirilmektedir.

Son yıllarda, önleyici tedbirler ve destekleyici bakımdaki ilerlemelere bağlı olarak kanserli çocukların sağkalımında ve sonuçlarında bir iyileşme olmasına rağmen, invazif mantar infeksiyonları yıkıcı bir sorun olmaya devam etmektedir ve hala yüksek oranda morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Kanser veya primer ya da sekonder immün yetmezliği olan çocuklar ve hematopoetik kök hücre nakli geçirenler, invazif mantar hastalıklarının gelişimi riski taşıyan pediatrik hastaların başlıca alt gruplarıdır (14, 15). Kriptokokkoz, bu invazif mantar infeksiyonları içerisinde kandidoz ve aspergillozdan sonra en sık görülen üçüncü sıklıkta görülen infeksiyondur (6).

Uzun süreli ve şiddetli nötropeni, geniş spektrumlu antibiyotik uygulaması, sitotoksik kemoterapi, cerrahi, santral venöz kateter varlığı, total parenteral beslenme ve kortikosteroid kullanımı invazif mantar infeksiyonlarının riskini artırmaktadır. Bu sebeple, erken tanı ve profilaktik ampirik ve önleyici antifungal tedavi, pediatrik uluslararası kılavuzlarda bildirildiği gibi korunma ve tedavi açısından önemlidir (16). İnvazif mantar infeksiyonlarının tanı ve tedavisindeki gelişmelere rağmen, immün sistemi baskılanmış çocuklarda hala önemli bir morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam etmektedir. Tanıdaki ilerlemelere ek olarak, yoğun izlemenin ile hızlı ve etkili tedavilerin uygulanması, ilaç toksisitesinin önlenmesi, gerektiğinde cerrahi tedavinin kullanılması ve kemoterapiye başlamadaki gecikmenin en aza indirilmesi invazif mantar infeksiyonlarının yönetiminde önemli önlemlerdir (17).

Pediatrik onkoloji hastaları arasında en sık görülen komplikasyon olan febril nötropeni (FN)'li hastaların yalnızca %5.8'ine yüksek gelirli bir ülkede invazif mantar infeksiyonları tanısı konulurken, sınırlı kaynaklara sahip bir ülkede %23'e varan yüksek oranlar bulunmuştur (18). Uzun süreli nötropeni gelişimi, akut miyeloid lösemi tedavisi, yüksek riskli (veya nüksetmiş) akut lenfoblastik lösemi, yüksek doz steroid maruziyeti, uzun süreli ampirik antibiyotik kullanımı ve önceden var olan mantar kolonizasyon bölgeleri ile invazif mantar infeksiyonları gelişme riskinin arttığını göstermiştir (19–21). Son yıllarda kanser hastalarında mantar infeksiyonlarının sıklıkla saptanmasının sebepleri arasında mikolojik tanı yöntemlerindeki gelişmeler, yoğun kemoterapötik ve steroid uygulamaları, uzun süren nötropeni, geniş etkili antibiyotik kullanımı ve venöz kateter kullanımındaki artışlar sıralanabilir (16, 22). Bağışıklığı ileri düzeyde baskılanmış hem çocuk hem de yetişkin popülasyonda invazif mantar infeksiyonları ile ilişkili gibi görünen faktörler; altta yatan malignite, Akut Miyeloid Lösemi (AML),

önceden bulunan ve uzun süreli nötropeni varlığı, yoğun kemoterapi, kök hücre nakli ve önceki antibiyotik tedavisi olarak bildirilmiştir (23, 24). *Cryptococcus* hastalığının erken tanısını hızlı, ucuz ve pratik bir şekilde mümkün kılan, *Cryptococcus* antijenini (CrAg) BOS veya serumda yüksek duyarlılık ve özgüllükte saptayabilen hasta-başı serolojik test olan LFA'dır (lateral flow assay, yanal akış testi).

Sunulan tez çalışmasında da; hızlı, ucuz ve pratik hasta-başı immunokromatografik serolojik test olan LFA kullanılarak pediatrik onkoloji hastalarında *Cryptococcus* antijenemisinin prevalansının belirlenmesi ve aseptomatik *Cryptococcus* hastalığı olan çocuklarda klinik bakımın iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, aile ve sağlık personelinin bilinçlendirilmesi ile ülkemize ait Pediatrik Onkoloji tedavi rehberlerine CrAg araştırılmasının eklenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Cryptococcus*'un Tarihçesi

Cryptococcus cinsi ilk kez 1833'de Kützing tarafından kirli bir pencereden izole edilmiştir. Kützing, Yunanca "gizli" anlamına gelen "kryptus" kelimesi kaynaklı *Cryptococcus* cinsini endospor üretme yeteneği olmayan bir grup maya mantarı için tarif etmiştir (25). "neoformans" ise etkenin deride ülserlere ve bölgesel lenfadenopatiye sebep olduğu olgularda, şişliğin ortaya çıkmasından dolayı kullanılmıştır (26). Bu genel tarif daha sonra yetersiz kalmış ve 1894–1895'te hastalığın ilk klinik tanımı sonrasında yeni bir isimlendirme yarışı başlamıştır. Günümüzde, *C. neoformans* olarak adlandırılan etken ilk olarak 1894'de Alman patolog Otto Busse ve Alman cerrah Abraham Buschke tarafından, 31 yaşındaki bir kadına hastanın tibia sarkomu benzeri lezyonundan aldıkları klinik örneği pirinç besiyerine ekmiş ve yuvarlak-yumurtamsı biçimli "korpüsküler" suş izole etmişler ve *Saccharomyces hominis* olarak isimlendirmişlerdir. Ayrıca, hastada tibia lezyonunun yanı sıra lenfadenopati ve sekonder deri lezyonlarını da tanımlamışlardır (27). Hastalığın diz eklemine yayıldığı ve sonunda hastanın akciğer, dalak, böbrek, kemik ve deride çok sayıda lezyonla hayatını kaybettiği bildirildi. 1895'de Busse ile İtalyan bilim adamı Francesco Sanfelice şeftali suyundan kapsüllü bir maya mantarını izole etmiş, deney hayvanlarına inoküle etmiş ve sonrasında tümör benzeri granülomatöz lezyonlar oluşturan kapsüllü maya hücreleri olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, domuz akciğerinden izole ettiği mayaya *Saccharomyces neoformans* adını vermiştir. Bu isimlendirme ile birlikte neoformans türünün taksonomik yeri belirlenirken bu sırada Busse'de mantarı *Saccharomyces* olarak adlandırmıştır (28).

Curtis 1896'da bir hastanın kalçasına ait doku örneğinde gördüğü hücreleri Buschke ve Busse'nin bildirdiği olguya benzetmiş ve *Saccharomyces subcutaneus tumefaciens* olarak adlandırmıştır. Busse mikroorganizmayı izole edip hastaya tekrar verdiğinde patojenitesini doğrulamış ve hastanın enfeksiyondan öldüğünü görmüştür. Hastayla ilgilenen fizikçi Buschke aynı patojenin hastadaki deri döküntülerini görmüş ve bunun koksidiyum olduğunu düşünmüştür. Bu sebeple, kriptokokların tanımı Busse ve Buschke'ye dayanmaktadır. Vuillemin 1901'de Busse ve Curtis'e ait suşu *Saccharomyces* cinsine özgü olan askospor içermemesi ve karbonu fermente edememesi

nedeni ile *C. hominis* olarak adlandırmış; Sanfelice'nin izole ettiği suşu için ise *C. neoformans* adını kullanmıştır (29). Busse ve Buschke tarafından izole edilmiş bu mantara benzer bir patojen maya mantarını Frothingham 1902'de bir atın akciğer lezyonundan izole etmiştir. Bu bulgu Sanfelice'in maya mantarını öküzden izole etmesiyle hem insanlarda hem de hayvanlarda enfeksiyona sebep olabileceğini ortaya koymuştur. *Cryptococcus* menenjitisi tanısını ise ilk olarak bir kadında 1914'de Verse tarafından tanımlanmıştır (30). İki yıl sonra Stoddard ve Cutler, iki yeni menenjit olgusu kaydedip *Torula histolyca* adını vermiş, fakat bu adlandırma 1950'lere kadar devam etmiştir. Benham, Busse, Buschke ve Curtis 1935'de *Cryptococcus*, *Saccharomyces* ve *Torula* olarak isimlendirilen kültürlerinin benzer olduğu 22 *Cryptococcus* suşunun dikkatli bir sınıflandırmasını yaparak kriptokokların mikolojik ve taksonomik sınıflandırmasını geliştirmiş ve bunları resmi olarak tek bir cins olan *Cryptococcus*'un altına toplamış ve bu suşların birden fazla serotipe ayrılabilceğini bildirmiştir.

Evans 1949'da kriptokokkoz hastalarından izole edilen suşlar arasında serolojik farklılıklar keşfetmiş ve A, B ve C olmak üzere üç ayrı serotipe ayırmıştır (31). Benham 1950'de toruloz ve *Torula* menenjitisi yerine kriptokokkoz adının verilmesini ve mikroorganizmanın adının *Cryptococcus neoformans* olmasını önermiştir. Emmons 1951'de, ABD'nde ilk kez bu fırsatçı mantarı topraktan izole etmiş, ayrıca güvercin dışkılarının da bu türün doğal kaynağı olduğunu bildirmiştir. Son olarak, 1952'de, Lodder ve Kreger-van Rij tarafından maya mantarları üzerinde yapılan bir taksonomik çalışmanın ardından, bu türe günümüzdeki adı olan *Cryptococcus neoformans* verilmiştir (32). Sonra, Staib'in öncü çalışmaları ve Seeliger, Ajello ve Shields gibi araştırmacıların katkılarıyla *C. neoformans*'ın kolayca tanımlanabildiği besiyerleri geliştirilmiştir. 1960'ların sonlarında yapılan çeşitli ekolojik, biyokimyasal ve genetik çalışmalar sonrasında *C. neoformans*'ın çeşitli özellikleri birbirinden farklı olan var. *neoformans* ve var. *gattii* olmak üzere iki varyetesi ve bunların da kapsül antijenlerine, aglütinasyon ve immunofluoresans deneylerine göre farklılıklar gösteren serotipleri olduğu ortaya konmuştur. Serotiplerine göre var. *neoformans*'da serotip A, D ve AD, var. *gattii*'de ise serotip B ve C olmak üzere toplam beş adet tip serotip bildirilmiştir (33). Gatti ve Eeckels 1970'de, Kongo Cumhuriyetinde meningoensefalit hastası olan 7 yaşındaki lösemi hastasından bir *C. neoformans* suşu izole etmişlerdir (34). Vanbreuseghem ve Takashio, bu izolatın hem *in vivo* hem de kültürde *C. neoformans*'a

göre daha uzun hücreler ürettiğini belirlemiş ve *C. neoformans* var. *gattii* olarak sınıflandırmıştır (35). Ancak, Kwon-Chung ve ark. *C. neoformans* var. *neoformans* ve *C. neoformans* var. *gattii*'nin morfolojik, biyokimyasal ve serolojik özellikler açısından farklı olduğu bildirmiş, atipik izolatın *Cryptococcus bacillisporus*'un tip suşu ile aynı olduğu bildirmişlerdir (36). *C. bacillisporus* ismi 2002'de, "*gattii*"nin dünya genelinde "*bacillisporus*"tan daha yaygın olarak kullanıldığı gerekçesiyle *C. gattii* ile değiştirilmiştir.



Tablo 2.1. *Cryptococcus*'un tarihçesindeki önemli noktalar (37–39).

Tarih	Tarihsel Gelişmeler	Önemi
1894	<i>C. neoformans</i> , Sanfelice tarafından şeftali suyunun Fermente edilmesiyle üretilmiştir.	<i>C. neoformans</i> ilk kez izole edilerek <i>Saccharomyces neoformans</i> olarak adlandırılmış ve kobay ile tavşana inokülasyonunda lezyon oluşturmuştur.
1895	<i>C. neoformans</i> 'ın ilk klinik olguda tanımlanmıştır.	<i>C. neoformans</i> vücutta yayılarak mortaliteye sebep olur.
1896	<i>C. gattii</i> 'nin neden olduğu ilk klinik hastalık bildirimiştir.	<i>Cryptococcus</i> 'un hastalık yapan birden fazla türü vardır.
1901	<i>Saccharomyces neoformans</i> , maya askospor oluşturmadığı için yeniden adlandırılmıştır.	İlk kez <i>Cryptococcus neoformans</i> olarak adlandırılmıştır.
1902	Atın akciğer lezyonundan <i>C. neoformans</i> izolasyonu bildirilmiştir.	Mayanın zorunlu insan patojeni olmadığı, başka memelilerde bulunabileceğini gösterilmiştir.
1906-1916	SSS kriptokokkozu tanımlanmıştır.	SSS kriptokokkozunun klinik özellikleri tanımlanmıştır.
1935	Kriptokokkoz ilk kez biyolojik olarak sınıflandırmıştır.	<i>Cryptococcus</i> 'un mikolojik ve taksonomik yapısı oluşturularak dört serotip olarak değerlendirilmiştir.
1947-1952	Fare, sıçan ve topraktan <i>C. neoformans</i> izole edilmiş ve kedi de ilk infeksiyon rapor edilmiştir.	İnsanların yaşam alanında mayanın kolonizasyon yeteneği tespit edilmiştir.
1951-1959	Kuş dışkılarından <i>C. neoformans</i> izole edilmiştir.	Virginia, Cincinnati ve New York'ta güvercin gübresinden <i>C. neoformans</i> için birincil ekolojik odak olarak izole edilmiştir.
1952	SSS'nin uzun süreli ve tedavi edilmemiş kriptokokkozu bildirilmiştir.	Bu mayanın vücutta konak olarak uzun süre dormant şekilde kalabileceği tespit edilmiştir.
1952	Sığırlarda <i>Cryptococcus mastiti</i> salgını ve köpeklerde ilk kriptokokkoz olgusu bildirilmiştir.	Yüzlerce hayvanda gözlenen mastit salgınına kirlenmiş mazlemelerin sebep olduğu saptanmıştır.
1955	<i>Cryptococcus menenjit</i> i Amfoterisin B ile Başarı ile tedavi edilmiştir.	İnvazif mikozların ve özellikle ölümcül SSS kriptokokkozunun tedavisinde yeni bir dönemin başlamıştır.
1962	Bird Seed Agar geliştirilmiştir.	Klinik ve çevresel örneklerde <i>C. neoformans</i> 'ın izolasyonunu kolaylaştıran Staib agar (Bird Seed Agar veya Kafeik Asit Agar) geliştirmiştir.

Tablo 2.1 (Devamı) *Cryptococcus*'un tarihçesindeki önemli noktalar (37–39).

Tarih	Tarihsel Gelişmeler	Önemi
1968	Kriptokokkal polisakkarit antijen testini geliştirilmiştir.	En iyi tanı ve prognostik mantar testlerinden biri olarak serolojik testler halen kullanılmaktadır.
1975-1976	<i>Cryptococcus</i> türlerinde iki farklı eşeyssel yaşam döngüsü tespit edilmiştir.	Bipolar çiftleşme sistemine sahip olan MATa ve MATa iki kutuplu bir çiftleşme sistemine de sahiptirler.
1979	Kriptokok meningoensefaliti için AMB ile AMB+5-FC karşılaştıran prospektif çalışmalar gerçekleştirilmiştir.	Antifungal tedavide yeni standart geliştirilmiş, invazif mikozlar için kombinasyon tedavisinin başarılı sağlanmış
1981	Güvercin dışkılarından izole edilen <i>C. neoformans</i> 'ın hücre çapı belirlenmiştir.	<i>C. neoformans</i> 1.1–3.3 µm'lik çapıyla insan akciğerinde birikebilmektedir.
1982	Melaninin önemli virulans faktörü olduğu tespit edilmiştir.	Melanin <i>C. neoformans</i> 'ın 2. derecede virülans faktörü olarak tanımlanmıştır.
1990	<i>C. gattii</i> ağaçtan ilk kez izole edilmiştir.	Çevresel kaynak olarak ökaliptusa (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>) ait kabuk ve yapraklarından tanımlanmıştır.
1998	<i>C. gattii</i> İspanya'da keçilerin ağır akciğer hastalığından izole edilmiştir.	Keçiler yaşam alanlarında ökaliptus (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>) oldukça yoğun bulunmaktadır.
1999-2001	Kanada, Vancouver Adası'nda insanlar ve hayvanlar arasında <i>C. gattii</i> kriptokokkozu salgını ortaya çıkmıştır.	Hastalığın konak, habitat ve ekolojik parametrelerinde değişim görülmüştür.
2003	<i>C. gattii</i> , doğal ve kapalı ortamlardaki koalalarda kriptokokkoza neden olmuştur.	Solunum yolu en çok etkilenen bölge olup SSS yayılım görülmüştür.
2005	<i>C. neoformans</i> 'ın tüm genom dizilimi tamamlanmıştır.	Özellikle MLP veya MLST şemaları olmayan mayalar için bu yeni nesil tüm genom dizilimi en uygun yöntemdir.
2005	İki patojen türü sınıflandırılmıştır.	<i>C. neoformans</i> ve <i>C. gattii</i> 'nin taksonomi amaçları için ayrı türlere evrimleştiği düşünülmektedir.
2006	Fagositik hücrelerden <i>C. neoformans</i> 'ın litik olmayan ekzositozu bildirilmiştir.	<i>C. neoformans</i> , infekte hücrelerden litik olmayan çıkışı göstererek yeni konak-etken etkileşim modeli oluşturmıştır.
2010	Amerika Bulaşıcı Hastalık Derneği (IDSA) tarafından kriptokokkal tedavi kılavuzu yayınlanmıştır.	IDSA yönergeleri 2000'de güncellenmiştir.

2.2. Taksonomik Özellikleri

Alem: Mantar

Bölüm: Basidiomycota

Sınıf: Basidiomycetes

Takım: Filobasidiales

Aile: Filobasidiaceae

Cins: *Filobasidiella* (*Cryptococcus*)

Tür: *C. neoformans*

Cryptococcus cinsi maya mantarları, Eumycota aleminin, Basidiomycota bölümüne, Basidiomycetes sınıfında, Filobasidiales takımında, Filobasidiaceae ailesinde yer almaktadır. *Cryptococcus* cinsinin yalnızca eşeysiz şekilleri bilinen 70 tür içermektedir. Türler Tremellomycetes (alt sınıf Agaricomycotina, Basidiomycota), Tremellales, Filobasidiales, Trichosporonales, Cystofilobasidiales gibi soylara aittir. *C. neoformans* ve *C. gattii* eşeyli şekilleri tarif edilmiştir (40). 1982’de *C. neoformans*’ın (serotip A ve D) ve *C. bacillisporus*’un (serotip B ve C) ise *C. neoformans* var. *neoformans* ve *C. neoformans* var. *gattii* olarak iki farklı tür olduğu bildirilmiştir (41). 1990’ların sonunda, farklı serotiplere uygulanan genotipleme yöntemlerinin geliştirilmesi, *Cryptococcus* cinsinin farklı türlerinin sınıflandırılmasının gelişimine olanak sağlamıştır. PCR fingerprinting temel alınarak 1999’da *C. neoformans* var. *grubii* üçüncü bir varyete olarak önerilmiştir (42). Ayrıca, AFLP genotipleme yöntemleri kullanılarak, *C. neoformans*’ın evrimi üzerinde önemli sonuçlara sahip olduğundan şüphelenilen hibridizasyon olayları (Serotip AD hibritleri) tespit edilmiştir (43). Hem *C. neoformans* (serotip A, D ve AD) hem de *C. gattii* (serotip B ve C), Tremellales takımının *Filobasidiella* cinsine aittir. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*’de VNI, VNII ve VNB üç moleküler alt tip tanımlanmıştır. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* VNI, *Cryptococcus* infeksiyonlarının %95’ini oluşturur ve dünya genelinde yayılım gösterir (44). Bu genotipin bu kadar yaygın olmasında; esas olarak, genellikle %1’in altında bulunan MATa çiftleşme lokusu sebebiyle klonal olarak türetilmiş soylardan yayılması olduğu düşünülmektedir (44).

VNII suşları dünya çapında görülmekte olup her kıtadaki insanı infekte etmiştir, ancak çok daha az sıklıkta görülürler ve VNII'nin çevreden çok az izolasyonu olmuştur (46). Bugüne kadar, VNB suşları ile ilgili tüm klinik olgular Sahra-altı Afrika, Güney Afrika veya Brezilya'da meydana gelmiştir. Diğer genotiplere göre hem MATa hem de MAT α 'nın dengeli frekanslarının dağılımı sebebiyle daha yüksek rekombinasyon oranlarıyla genetik olarak çeşitli bir populasyon yapısına sahiptir (47). VNIV (serotip D) ve VNIII (AD hibritleri) suşları, dünya çapında çevresel ortamdan ve hastalardan izole edilmiştir. Bununla birlikte, VNIII ve VNIV ile infeksiyonlar Avrupa'da önemli ölçüde yoğunlaşmıştır (48). *C. neoformans* var. *neoformans*, VNIV moleküler tipidir, ancak son çalışmalar moleküler tipin ayrı bir tür olarak düşünülmesini önermiştir. En yüksek HIV/AIDS prevalansı Afrika'da görülmektedir, ancak *C. gattii*'nin insidansı düşüktür ve AIDS hastalarında rapor edilen infeksiyonların çoğuna VGIV sebep olmuştur. *C. gattii*'nin genotipleri VGI, VGII, VGIII ve VGIV olarak ayrılmıştır. Cinsin iki patojenik türünün moleküler epidemiyolojisi konusunda 2009'da bir fikir birliğine varılmış ve VN sistemi, yedi lokus kullanılarak MLST dayalı olarak doğrulanmıştır (49). Avrupa ve Asya'daki insidans da görece düşüktür ve genellikle VGI veya VGII'ye bağlıdır. Avustralya'daki klinik olguların çoğuna VGI sonrada VGII sebep olmakta, ancak bölgesel farklılıklar bulunmaktadır (50).

Cryptococcus neoformans H99 geninin (VNI) 14 haploid kromozomunu ve yaklaşık 6.900 genini dizilemek için 2000'de bir genom projesi başlatılmıştır. Bu genom dizisi, *C. neoformans*'a özgü olan ve potansiyel patojenitesini açıklayabilecek 11 gen ailesini bularak, patojenin genetik yapısına ilişkin yeni bilgiler ortaya çıkarmıştır (51).

Tablo 2.2. *C. neoformans* ve *C. gattii* tür komplekslerinin terminolojik, taksonomik, moleküler, epidemiyolojik, genotip ve coğrafi dağılımı (52–56).

Tür	Varyete	Serotip	MLST	AFLP	Telemorf	Coğrafi Dağılım	En Sık Kaynak (Ekolojik Niş)	Patojen Tipi
<i>C. neoformans</i>	var. <i>grubii</i>	A	VNI	AFLP 1	<i>F. neoformans</i>	Global	Güvercin, Diğer Kuş Türleri, Ağaç ve Toprak	Fırsatçı Patojen
<i>C. neoformans</i>	var. <i>grubii</i>	A	VNII	AFLP 1A	<i>F. neoformans</i>	Global (Avustralya, Afrika, Kuzey Amerika)	Bilinmiyor	Fırsatçı Patojen
<i>C. neoformans</i>	var. <i>grubii</i>	A	VNB	AFLP 1B	<i>F. neoformans</i>	Güney Afrika ve Botswana	Ağaç (Mopana)	Fırsatçı Patojen
<i>C. neoformans</i>	var. <i>neoformans</i> (C. <i>deneoformans</i>)	D	VNIV	AFLP 2	<i>F. neoformans</i>	Global (Avrupa)	Güvercin, Diğer Kuş Türleri	Fırsatçı Patojen
<i>C. neoformans</i>	Hibrit (C. <i>neoformans</i> × C. <i>deneoformans</i>)	AD Hibrit	VNIII	AFLP 3	<i>F. neoformans</i>	Global (Avrupa)	Güvercin, Diğer Kuş Türleri	Fırsatçı Patojen
<i>C. gattii</i>	C. <i>gattii</i> tür kompleksi	B, C	VGI	AFLP 4	<i>F. bacillispora</i>	Global (Avustralya)	Ağaç (Ökalyptus)	Primer Patojen
<i>C. gattii</i>	C. <i>deuterogattii</i>	B, C	VGII	AFLP 6	<i>F. bacillispora</i>	Kuzey Amerika (Kanada, Birleşik Devletler) Güney Amerika (Kolombiya)	Ağaç (Ökalyptus)	Primer Patojen
<i>C. gattii</i>	C. <i>bacillisporus</i>	B, C	VGIII	AFLP 5	<i>F. bacillispora</i>	Güney Amerika	Ağaç (Badem ağacı)	Primer Patojen
<i>C. gattii</i>	C. <i>tetragattii</i>	B, C	VGIV	AFLP 7	<i>F. bacillispora</i>	Kuzey Amerika	Ağaç	Primer Patojen
<i>C. gattii</i>	C. <i>decagattii</i>	B, C	VGIV/ VGIIIc	AFLP 10	<i>F. bacillispora</i>	-	-	Primer Patojen
<i>C. gattii</i> AB hibrit	C. <i>neoformans</i> × C. <i>gattii</i>	B, C	-	AFLP 9	<i>F. bacillispora</i>	-	-	Primer Patojen
<i>C. gattii</i> AB hibrit	C. <i>neoformans</i> × C. <i>deuterogattii</i>	-	-	AFLP 11	<i>F. bacillispora</i>	-	-	Primer Patojen
<i>C. gattii</i> DB hibrit	C. <i>deneoformans</i> × C. <i>gattii</i>	-	VGIV/VGI	AFLP 8	<i>F. bacillispora</i>	-	-	Primer Patojen

2.3. Virulans faktörleri

C. neoformans'ın virulans özellikleri, konak bağışık sisteminden korunmada ve maya mantarının canlılığının ve replikasyonun devamlılığını sağlamaktadır. Kapsül ve melanin pigmenti, *C. neoformans*'ın ana virülans faktörleri olup diğer virülans faktörleri ile (üreaz, titan hücreleri ve mannitol gibi) milyonlarca yıl boyunca konak-maya ilişkisine bağlantılı evrimsel olarak gelişmiştir. *C. neoformans* virulansının evrimsel sürecinde dirençli suşlar, doğada seçilerek daha virulan olan suşların sayısında artış devam etmektedir (56).

2.3.1. Polisakkarit kapsül

C. neoformans için ana virülans faktörü polisakkarit kapsülüdür. Bağışıklık hücrelerinin fagositozunu önler, komplemana müdahale eder, antikor üretimini engelleyerek enfeksiyona sebep olur (58). Enfeksiyon sırasında kapsül üretimi büyük ölçüde yüksektir. Yüksek CO₂ seviyesi, alkali pH, düşük demir seviyesi, düşük glikoz, düşük amino asit, çeşitli iki değerlikli iyon seviyeleri, inkübasyon süresi ve yüksek sıcaklık kapsül oluşumunu ve genişlemesini indükler (59). Kapsül ayrıca, dehidrasyon ve serbest radikaller gibi bazı stres faktörlerine karşı koruma sağlar (60). Kapsülün yapısı karmaşık olup çevresel koşullara göre değişmektedir. Hücre duvarına bağlanan ve kovalent olmayan bağlarla birbirine bağlanan dallanmış lifler halinde düzenlenir (61). Kapsülün polisakkarit bileşeni esas olarak glukuronoksilomannan (GXM) ve glukuronoksilomannogalakttandır (GXMGal). GXM, polisakkarit bileşenlerinin %90–95'ini oluşturan kapsüldeki ana polisakkarittir; %5–8'i ise GalXM içerir. GXM bileşenleri, prognozun saptanması ve belirlenmesinde kullanılan antikorlar için hedef olarak kullanılır. Ayrıca, mannoproteinler, lokalizasyonları genellikle hücre duvarı ve çevresinde olmasına karşılık, kapsül bileşenleri olarak da tanımlanmıştır (62).

2.3.2. Hücre Duvarı

Mantar hücre duvarı, hücresel morfogenezini koruyan ve membran geçirgenliğini düzenleyen çevresel ve ozmotik strese direnç sağlayan koruyucu bir bariyerdir (63). Kriptokok duvarı, kapsül polimerlerinin hücre yüzeyi ile birleşmesinde kritik öneme sahiptir. Hücre duvarı sentezindeki bozulma ve inhibisyonlar, hücre canlılığını ile kapsül bütünlüğünü bozarak, avirulan mutantlar oluştururlar (64). Hücre duvarındaki iç

katman; β -glukan ve kitin ağ örgüsünde olup alkalide çözünmemekte dış katman ise daha az organize olup esas olarak alkalide çözünebilen α - ve β -glukanlar içeren yapıdadır (65).

2.3.3. Melanin

Melanin, maya hücrelerini oksitleyici maddeler, ultraviyole ve iyonlaştırıcı radyasyonlar gibi çevresel streslerden korur. Ayrıca, melanin pigmenti, ilaçlarla bağlanarak antifungal ilaçların duyarlılığını azaltır ve ilacın hücreye geçirgenliğini azaltır (66). Melanin, *C. neoformans*'ın biyolojisi ve virülansında önemli bir etkiye sahip olup melanizasyon göstermeyen suşların virülanslarında önemli bir azalma gösterirler (67). Melanizasyon yeteneği, *C. neoformans*'ın önemli bir virülans mekanizması olup (68), serbest radikal hasarından, oksitleyici ajanlardan koruma sağlayarak amfoterisin B'nin etkilerini azaltabilir, böylece patojenin memeli makrofajlarına karşı direncini artırabilmektedir (69). Melaninin, *C. neoformans*'ı enzimatik bozulma, radyasyon (UV, güneş ve gama) ve ağır metaller (gümüş nitrat) dahil olmak üzere çeşitli streslerden koruduğu ve ozmotik zorluklara dayanacak termotolerans ve yapısal bütünlük sağladığı düşünülmektedir (70).

2.3.4. Termotolerans

İnvazif patojenlerin virülansında ön şart, insan fizyolojik sıcaklığında büyüme yeteneği olup 1.5 milyon mantar türünden yalnızca çok azı termotolerandır (35–40°C). *C. neoformans*'ın, dünya genelinde yaygın dağılımı ve yüksek insidansa sahip olmasının temel sebebi termotolerans özelliği yani memeli sıcaklıklarında büyüme yeteneğidir. Sonuç olarak, termotoleransın patojenite üzerinde çok önemli bir rolü olduğu vardır. Çünkü, diğer *Cryptococcus* türlerinin birçoğu, kapsül ve melanin gibi virülans faktörlerine sahip olup termotolerans yani vücut sıcaklığında üreme yeteneğine sahip olmadığından yaygın patojenlerden değildir (71). Güvercinler, 42°C olan vücut ısıları ile *C. neoformans*'ın güvercinlerin makrofajlarında mantarların çoğalmasının önlese de bu maya mantarlarını asemptomatik olarak taşıyabilirler. Ancak, taze dışkı florasında yüksek amonyak yoğunluğu çoğu mikroorganizmanın büyümesi için elverişsiz bir ortam olmasına rağmen, kuru güvercin dışkısı üzerinde *C. neoformans*, birkaç yıl boyunca yaşayabilir. Birçok kriptokokkoz olgusunda, infeksiyon

kaynağı olarak güvercin gübresi gösterilmiş olup güvercin teması olan hastaların yüksek bir maruz kalma riskine sahip olduğu bildirilmiştir. Kuşlar, kriptokokkoz belirtisi olmadan (örneğin gagalar, pençeler ve dışkı yoluyla) *C. neoformans*'ın taşıyıcısı olabilmektedir (72, 73).

2.3.5. Üreaz aktivitesi

Üreaz, üre hidrolizini katalize ederek amonyak ve karbonik asit üretimine sebep olur. Üreaz enziminin, mantarın beyinde yayılımı artılması ve bunu da kan beyin bariyerinin geçişi başta olmak üzere kriptokok patogenezinin farklı yönlerinde rol oynadığı bilinmektedir (74, 75).

2.3.6. Titan hücreleri

Titan hücreleri normalde 5–7 µm büyüklüğündeki maya hücrelerinin, infeksiyon sırasında hücre gövde çapının, 15 µm'den 100 µm kadar büyümesiyle oluşur. Kalın bir hücre duvarı ve genişleyen kapsüle sahip olan titan hücreleri, duvar ve kapsüldeki kitinin artışıyla hastalığı şiddetlendiren aşırı bağışıklık tepkisine sebep olur (76). Ayrıca, büyük boyutlarından dolayı beyin dokusunu geçemez, ancak oksidatif ve nitrosatif strese dirençli olan titan hücreleri bağışıklık hücrelerinin fagositozunu önleyerek konakta latent infeksiyon gelişimine neden olur ve mantarın konakta yaşam sürecinin uzamasına, normal boyuttaki maya hücrelerin akciğerlerden, başta merkezi sinir sistemi olmak üzere, diğer dokulara yayılmasını kolaylaştırır (77). Titan hücreleri genellikle tetraploid olduğundan, flukonazol tedavisine daha dirençli olabilmektedir. Bu sebeple, titan hücre varlığının, antifungal ilaç tedavilerindeki yanıtın azalmasıyla doğrudan bir bağlantı olup olmadığının belirlenmesi için titan hücrelerinin çeşitli antifungal duyarlılıklarının daha fazla araştırılması gerekir (78).

2.3.7. Mannitol

BOS'da yüksek yoğunluktaki D-mannitol'ün beyinde ödeme yol açtığı ve mannitolün hidrojen radikallerini bağlayarak mantarın oksidasyondan koruduğu düşünülmektedir. Yüksek kriptokok antijen titresi ile yüksek kafa içi basıncına paralel olarak BOS'daki yüksek mannitol konsantrasyonunun, *Cryptococcus menenjitisi* (CM) ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (79, 80).

2.3.8. İnositol

İnositol, insan ve hayvanların beyinde bulunan önemli bir molekül olup *Cryptococcus* türleri tarafından besin maddesi olarak kullanılabilir. Ayrıca, bu maya mantarının beyin dokusu karşı gösterdiği afinite ile ve proliferasyon sonucunda oluşan *Cryptococcus* menenjitli olguların görülme sıklığının memeli beyinde bulunan yüksek inositol seviyesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. İnositol, sfingolipidlerin hücre içi ve hücre dışı hücresel büyümesiyle fosfolipid üretiminde önemli bir rolü olup beyindeki mikrovasküler endotel hücrelerine olan etkisini açıklamaya yardımcı olur. Ayrıca, beyindeki yüksek inositol seviyesi, kan-beyin bariyeri boyunca *C. neoformans*'ın inositole bağımlı stimülasyon ile hyaluronik asit ekspresyonunu indükleyerek maya hücrelerinin kan-beyin bariyerin geçişini artırmakta ve enfeksiyonun ilerlemesine sebep olmaktadır (81).

2.3.9. Biyofilm oluşumu

Biyofilm üretimi genellikle, konakçı bağışıklık sistemine karşı kazanılmış dirençten ve antifungal tedaviden kaynaklanan kronik enfeksiyona karşı bir tepki mekanizması olarak düşünülmektedir. *Cryptococcus* spp. biyofilm üreterek, canlı veya cansız yüzeylere yapışarak maya mantarını antifungal ilaçlardan ve konakçı bağışıklık sisteminden koruyabilen hücre dışı bir matris ile çevrilidir (82, 83).

2.3.10. Fenotipik değişim

Mantarlar için fenotipik değişim, değişmiş koloni morfolojisine sahip kolonilerin somatik mutasyon oranlarından daha yüksek oranlarda kendiliğinden ortaya çıkması olarak tanımlanmaktadır. Fenotipik değişim, GXM'nin biyofiziksel özelliklerini de değiştirebilir (84, 85).

2.3.11. Demir ve Bakır kullanımı

Demir, *C. neoformans* için hem bir besin hem de bir sinyaldir ve mantar, omurgalı konakçıların demir tutma stratejileriyle rekabet etmektedir (86). Konakçıda demirin varlığı sınırlıdır ve *C. neoformans*, (i) indirgeyici demir alımı, (ii) siderofor sentezi ve taşınması ve (iii) demir elde etmek için heme ve hemoglobin kullanımı gibi araçları kullanır (87). Bu, patojenin mevcut bakır depoları için memeli konakçı ile

rekabet ettiđi bir senaryoyu dűşűndűrűr. Ne yazık ki, AIDS hastaları gibi kriptokokkoz riski taşıyan bazı hastalar, bakır için patojenlerle hűcresel savařta belirli bir dezavantajda olabilir, çünkü bu hastaların serumda yűksek bakır seviyelerine sahip oldukları gűsterilmiřtir (88).

2.3.12. Mat Lokusu

C. neoformans'ta çiftleřme tipi, 20'den fazla gen içeren ve virűlans űzerinde űnemli bir etkiye sahip olan MAT lokusu tarafından belirlenir (89). Bu lokus, insan ve bazı hayvanlarda bulunan cinsiyet kromozomlarına benzer olup mantarın kromozomal bűlgeleri bulunmaktadır (90). *Cryptococcus*'ların patojenik tűr kompleksinde gűrűlen seksűel űreme, iki zıt çiftleřme tipine (MAT α ve MAT α) sahip bipolar bir çiftleřme sistemi olup insan kriptokokkozunun α çiftleřme tipi suřundan kaynaklandığı (kan-beyin bariyerini geçmesini sađlayan) bildirilmektedir (91).

Tablo 2.3. *Cryptococcus* türlerinde virülans faktörleri (38, 57, 92–96).

Virulans faktörü	Patogenezdaki rolü
Polisakkarit kapsül	Antifagositik, immünomodülasyon, hücre içi agresyon. Kurumayı önleme Antijen salınımı ile sitokin üretimini azaltarak GXM tarafından inflamatuvar bölgeye lökosit göçü ve T hücresi tepkilerinin inhibisyonu.
Melanin	Oksidatif hasara karşı koruma, antifagositik, immünomodülasyon, mikrobiyosidal peptitlere direnç, antifungal ilaç direnci. Ağır metallere karşı koruma, enzimatik degradasyona karşı tolerans geliştirme, hücre duvarında birikerek ısıya, soğuğa ve uv ışınlarına karşı koruma sağlama.
Lakkaz	Oksidatif patlama, ligninin degradasyonu, difenol oksidasyonu ve melanin sentezine katkı.
Fosfolipaz	Hücre içi büyüme, akciğerde, sürfaktan ile plazma zarındaki fosfolipitlerin hidrolize ederek doku invazyonu ile hücre duvarının bütünlüğü koruyarak besin sağlama.
Proteaz	Proteolitik aktivite ile doku invazyonu, kolonizasyon ve konak immün yanıtını baskılama.
Üreaz	Üreyi nitrojene dönüştürme ile KBB'ni geçerek SSS'ne ulaşma ve hücre içi büyüme.
Mannitol	Serbest oksijen radikallerine ve strese karşı koruma.
Fenotipik değişim	Bağıışıklıktan kaçma, kapsül boyutunda değişiklik ile M (mukoid) şekli daha patojenik, S (smooth) şekli ile KBB'ni geçişi.
Çiftleşme tipi	Virulans faktörünün düzenlemesi.
Kalsinörin ve cAMP sinyalizasyonu	Virulans faktörünün düzenlemesi.
Süperoksit dismutaz	Süperoksite karşı koruma ve hücre içi büyüme.
37 °C'de üreme	Konakta canlı kalma.
Düşük pH toleransı	Çevrede canlı kalma.
Yüksek tuz konsantrasyonuna tolerans	Çevrede canlı kalma.

KBB; Kan beyin bariyeri SSS; Santral sinir sistemi.

2.4. Ekoloji

Genetik olarak tanımlanmış iki *C. neoformans* varyetesi olan *C. neoformans* var. *grubii* (serotip A) ve *C. neoformans* var. *neoformans* (serotip D), %95–96 oranında aynı DNA dizi özdeşliğine sahiptir (97). Ek olarak, diploid AD hibritleri genellikle çevresel örneklerden ve hasta örneklerinden izole edilir (98). *C. neoformans* ilk olarak şeftali suyundan izole edilmiş olmasına karşılık, küresel olarak en önemli ekolojik odağı toprak kökenli güvercin dışkısıdır (99). *C. neoformans* normal insan florasının bir üyesi olmayıp doğadaki rezervuarları olarak çok yabani güvercinlerin (*Columba livia*) dışkıları ile çürümüş odun ve topraktır (100). Birçok ağaç türünün çürümüş bölgelerinden serotip A, D ve AD hibritlerinin suş izolasyonu yapılmıştır. *C. gattii*'de *C. neoformans* ile benzer ortamlardan izole edilmiştir. Mevcut kanıtlar çürümüş ahşabın *C. gattii* için birincil ekolojik bir odak olduğunu ve coğrafi konumlara bağlı olarak, çeşitli yerli ağaçların bu türü barındırabileceğini göstermektedir. Örnek olarak, *C. gattii*, Avustralya'daki okaliptüs ağaçlarından, Kolombiya'daki badem ağaçlarından ve güneybatı Kanada'da da köknar ağaçlarından izole edilmiştir. Buna karşılık, *C. neoformans*, güvercin dışkısı ile kirlenmiş topraktan izole edilmektedir (101). Çok daha az sıklıkla, diğer kuşların dışkıları ile de ilişkili habitatlardan izole edilmiştir. *Cryptococcus* türleri fermentatif değildir ve subtropik ortamlarda UV ışığı ve 44°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda tür inhibe edilmektedir (102).

Kuş habitatlarından yapılan izolasyonlardan başlayarak yapılan dışkı analizleri, kurutulmuş güvercin dışkılarının *C. neoformans*'ın büyümesi ve zenginleştirilmesi için çok elverişli doğal bir substrat sağladığını belirlenmiştir. Bu ortamda, maya hücreleri yüksek üre, katekolamin ve diğer azotlu bileşik konsantrasyonlarını katabolize edebilmektedir. Ayrıca, lakkaz üretir ve UV radyasyonuna, aşırı sıcaklıklara, oksidatif bileşiklere karşı bir miktar koruma sağlayan kuş gübresiyle melanize olmaktadır. Melanin ayrıca gümüşü ve diğer toksik ağır metalleri şelatlar ve bozunma enzimlerine karşı korumaktadır (103). Ek olarak, kuş dışkıları rakip veya zararlı mikroorganizmaları baskılayabilir. Örneğin, bazı *Candida* ve *Pichia* türleri, *C. neoformans*'a karşı aktif olan öldürücü toksinler üretmekte olup pH 4 ila 6'da aktif olan bu öldürücü suşlar, güvercin ve kanarya dışkısından izole edilmiştir. Ancak, *C. neoformans* daha asidik koşulları tercih edebilmektedir (104).

2.5. Patogenez

C. neoformans doğada yaygın olarak kolonize olan kapsüllü maya mantarı olup güvercin başta olmak üzere kuş dışkıları ile kirlenmiş olan topraklar önemli bulaş kaynağıdır. *Cryptococcus neoformans* genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda (organ nakli alıcılarında, radyoterapi, kemoterapi ve immünsüpresif tedavi görenlerde, immün yetmezlik durumlarında) primer infeksiyon etkenidir. *Cryptococcus* infeksiyonu, esas olarak, çevresel rezervuarlardan infeksiyöz partiküller olan kapsüllü maya hücrelerini veya basidiosporun solunum yolundan akciğer alveollerinde birikmesiyle oluşmaktadır. Akciğer infeksiyonu, genellikle asemptomatik veya daha az olarak semptomatik olmaktadır. Konak tarafından infeksiyonun temizlenmesi meydana gelebilir. Bununla birlikte, birçok bireyde, mayalar alveollerde biriktikten sonra, immün yanıtta merkezi bir rol oynayan alveolar makrofajlarla karşılaşmaktadır. Genelde torasik lenf düğümlerinde latent şekilde bulunan maya matarları semptomatik bir bireyde yıllarca devam edebilen bir pulmoner granülom ile fagolizozom içinde latent bir infeksiyon odağı oluşturur. Bağışıklık baskılanmasıyla tüberkülozu veya histoplazmoz olgularında gözlenen maya reaktivasyonuna benzer şekilde bu pulmoner lenf düğümü komplekslerinin dışında büyüyerek invaze olur (105, 106).

Sonuç olarak, *C. neoformans* infeksiyöz partiküllerinin solunum yoluyla akciğerlere gelerek sporların vejetasyonu ile kan yoluyla etken tüm organlara yayılabilir. Daha çok bağışıklığı baskılanmış hastalarda görülmekte olup AIDS hastalarında en sık görülen üçüncü fırsatçı infeksiyondur. En sık klinik görünüm *Cryptococcus* meningoensefaliti (CM) şeklindedir. CM’de hastaların %50–90’ında beyin omurilik sıvısında (BOS) çini mürekkebi ile *Cryptococcus* varlığı gösterilir. BOS kültürleri çoğunlukla pozitif olup, relaps durumlarında negatif olabilir. BOS’nda *Cryptococcus* antijeni çoğunlukla pozitifdir ve tedavi yanıt takibinde kullanılabilir. Serumda *Cryptococcus* antijeni %95 oranında saptanır, ancak klinik izlemde önemi yoktur. Tanıda Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve Bilgisayarlı Tomografi (BT)’den faydalanabilir, ancak olguların yarısında görüntüleme normal olabilir (107, 108).

2.6. Kriptokokkoz kliniği

Kriptokokkoz her organda görülebilmektedir, ancak başta meningo-ensefalit ve pnömoni dışında başlıca deri, kemik, göz, prostat, miyokard gibi doku ve organlarda tutulum görülmektedir. (109)

2.6.1. Santral sinir sistemi tutulumu

Kriptokokkoz, HIV-pozitif hastalarda genellikle subakut menenjit veya meningoensefalit olarak fırsatçı infeksiyon kaynaklı ölümlerin %15–20'sini oluşturmaktadır. 40 Ateş, halsizlik ve baş ağrısı, infeksiyondan birkaç hafta içinde yavaş yavaş gelişir (110). *Cryptococcus* infeksiyonlarının %80'inde *C. neoformans* etkindir; en sık görülen klinik şekli SSS tutulumudur. *C. gattii* infeksiyonlarının %20'sinden sorumlu olup en sık görülen şekli ise akciğer tutulumudur (111). Klinikte, HIV-pozitif kişilerin yaklaşık %7–8'inde kriptokokkal meningoensefalit oluşmaktadır (112). İntrakraniyal hipertansiyon (İKB) en ciddi nörolojik komplikasyonlardan olup morbidite ve mortalitesi yüksektir. Kriptokokkal meningoensefalitli hastaların yaklaşık %50'sinde İKB, 200 mm H₂O üzerinde bulunmuştur (113). Diğer komplikasyonu ise hidrocefalidir. Obstrüktif hidrocefalinin sebebi ise koroid pleksus veya subependimal alandaki kriptokokkomlarla ilişkili olabilir (114). SSS'nin kriptokok infeksiyonunun değerlendirilmesinde radyolojik görüntüleme önemli bir rol oynar ve tespit edilen anormal bulguların daha yüksek ölüm riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (115). Bu bulgular genellikle; kriptokokkal dilate VRS, psödokistler, kriptokokom, leptomeningeal veya parankimal artırıcı lezyonlar ve beyin tabanının bulanık görünümüdür (116).

2.6.2. Akciğer tutulumu

Akciğerler ilk infeksiyon bölgesidir ve akciğer mukozası istilaya karşı ilk bariyerdir, bu nedenle bu etkileşimin sonucu bağışıklık tepkilerinin nasıl geliştiğini ve hastalığın nasıl ilerlediğini belirlemede kritik öneme sahiptir. İlk bağışıklık yanıtının oluştuğu ve özellikle bağışıklık sistemi sağlam bireylerde klinik tablonun görüldüğü akciğerlerde, titan hücrelerinin normal maya hücrelerinin canlılığını sürdürmesine ve infeksiyon oluşmasına olan katkısının tam olarak nasıl gerçekleştiğinin anlaşılması, profilaktik tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli avantajlar sağlayacaktır (117).

C. neoformans'ın akciğerlerden kaçması ve daha derin dokuları istila etmesi için tahmin edilen iki ana yol vardır. Birincisi, “Truva atı” mekanizması olarak bilinen, akciğerlerden göç eden makrofajlar veya diğer fagositler içindeki hücre içi yoldur (118). Akciğer kriptokokkozunun tanısı kolay değildir; klinik ve radyolojik (farklı BT özellikleri) bulguları konağın bağışıklık durumuna göre değişkenlik gösterir, özellikle çoklu nodüllerin mevcudiyetinde, sıklıkla tüberküloz ve akciğer metastatik tümörü ile karıştırılarak yanlış tanı konulur (119).

2.6.3. Deri tutulumu

Deri kriptokokkozu, deri lezyonlarına sebep olan *Cryptococcus* türlerinin travmatik giriş yoluyla özellenen primer deri kriptokokkozu ile öncesinde deri lezyonlarına sebep olan akciğerlerden hematogen mantar yayılımı ve karakterize sekonder deri kriptokokkozu olarak sınıflandırılır (120). Yayılmış kriptokokkozun deri bulguları tüm kriptokokkoz olgularının %5–15'ini oluşturur (121). Deri bulguları ağırlıklı olarak baş ve boyunda görülür ve bunlar akneiform papüller, molluskum contagiosum benzeri lezyonlar, kabarcıklar, püstüller, nodüller, granülom, tümör, drenaj sinüsleri, ülserler (122), deri altı şişlikler, apseler, selülitler, gibi çeşitli klinik özelliklerle ilişkilidir. Ayırıcı görünüm (molluskum contagiosum ve Kaposi sarkomu); olguların yaklaşık %50'sinde görülen, baş ve boyunda küçük bir merkezi hemorajik kabuklu göbekli papüllerin varlığıdır (123).

2.6.4. Genitoüriner sistem tutulumu (Prostatit)

C. neoformans ile gelişen prostat infeksiyonu nadir ortaya çıkmakta olup daha çok immün sistemi baskılanmış bireylerde gelişen sistemik kriptokokkoz ile birlikte görülmektedir (124). Hastalar genelde; sıkışma, dizüri, suprapubik ağrı, hematüri ve mesane çıkış obstrüksiyonu gibi semptomlarla başvururlar. İnfeksiyon genellikle alt solunum yolundan hematogen olarak yayılsa da, ancak idrar yolunun bir giriş kapısı olabileceği de öne sürülmüştür. Ayrıca akut ve kronik prostatit ile artmış serum PSA (prostat spesifik antijen) seviyeleri arasında bir ilişki olduğu bazı çalışmalarda göstermişlerdir (125).

2.6.5. Göz tutulumu

Cryptococcus menenjitin görsel ve oküler komplikasyonları yaygındır, ancak bağışıklığı yeterli hastalarda daha sık görülür. Şikayetler arasında görme kaybı, oftalmopleji, papil ödemi ve optik atrofi sayılabilir (126). Klinik olarak hızlı ve yavaş görme kaybı gelişir. Hızlı görme kaybı saatler içinde meydana gelir ve genellikle çift taraflı, şiddetli ve kalıcıdır; optik nörit birincil patojenik mekanizma olarak tercih edilir. Buna karşılık, yavaş görme kaybı günler içinde meydana gelir, daha olumlu bir prognoza sahiptir ve intrakraniyal hipertansiyon ve subaraknoid adezyonların etkilerine sekonder olduğu düşünülür ve daha sık bağışıklığı sağlam hastalarda görülür (127).

2.6.6. IRIS

İmmün rekonstitüsyon sendromu (IRIS), HAART tedavisinden sonra geçmişte durgun veya inkübe edici bir enfeksiyonun ortaya çıkması olarak tanımlanmıştır (128). ART'ye başladıktan kısa bir süre sonra *Cryptococcus* menenjiti ile başvuran kişiler arasında, semptom başlangıcı daha akut olması, muhtemelen İmmün IRIS maskesini düşürmesiyle ilişkili olabilir (129). *Cryptococcus* menenjiti olan HIV'li kişilerin yaklaşık %10 ila %30'u, etkili ART'nin başlatılmasından veya yeniden başlatılmasından sonra IRIS yaşar (130). Kriptokokkal IRIS'i olan HIV'li hastaların ART naif olma olasılığı daha yüksektir ve ilk sunumda daha az BOS inflamasyonu vardır. ART'ye başlamadan önce BOS kültürü sterilitesinin sağlanması, konsolidasyon tedavisi olarak günde 800 mg flukonazol kullanılması ve ART'nin başlatılmasının antifungal tedavinin başlangıcından itibaren 4 ila 6 hafta ertelenmesiyle IRIS riski en aza indirilebilir (131).

2.7. Pediatrik hastalarda *Cryptococcus* hastalığının yeri ve önemi

Kriptokokkoz yetişkinlerde dünya genelinde önemli morbidite ve mortalite sebebi olup pediatrik kriptokokkozun prevalansı ve mortalitesi nispeten daha düşüktür. İki yaşın üstü sağlıklı çocukların büyük bir kısmının *C. neoformans* ile karşılaşmış olduğunu antijenemik olarak saptanmış olmasına rağmen *Cryptococcus* hastalığının çocuklarda görülme sıklığı yetişkinlere göre oldukça azdır. Olguların büyük çoğunluğunun bildirildiği Güney Afrika'da tüm kriptokokkoz olgularının içinde pediatrik kriptokokkoz'un oranı %0.9 olarak bildirilmiştir (132). Avustralya

(Victoria)'da ise bu oran %0.8 olup 133 kriptokokkoz olgusundan yalnızca 1 olgunun 15 yaşındaki HIV-negatif pediatrik hastaya ait olduğu bildirilmiştir. Bu da, yılda 0,01/olgu (100.000) nüfusa dayalı pediatrik kriptokokkoz insidansına eşittir (133). Güney Amerika'da ise hastalığın insidansı 0,017-0,122 olgu/100.000 olarak bildirilmiştir (134). Ayrıca, HIV-ilişkili *Cryptococcus* hastalığının insidansı yetişkinlere kıyasla çocuklarda düşüktür (Bu oran; %5–%15'e kıyasla %0.85'dir) (135). Ancak, bu düşük insidansa rağmen HIV-pozitif çocuklarda bu hastalık yüksek mortalite oranına sahiptir. Hastalık insidansının çocuklarda düşük olma sebebi halen tam olarak netleştirilememiş olup daha az dış mekanda bulunup *Cryptococcus*'un çevresel kaynaklarına daha az maruz kalmaları veya çocukların bağışıklık tepkisindeki farklılığa bağlanmaktadır (136). Ayrıca, bu olguların erkek çocuklarda daha sık görülmesi cinsiyet hormonu ilişkilendirilse de asıl nedenin sağlıklı erkeklerde doğal bir T hücresi eksikliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir (137).

Kriptokokkoz, genellikle HIV-pozitif yetişkin hastalarda görülmekte, ancak çocuklarda son zamanlarda daha çok HIV-negatif ve bağışıklık sistemi sağlıklı hastalarda bildirilmiş olup bu olguların herhangi bir risk faktörü öyküsü veya güvercin dışkısı ile temas geçmişiine sahip olmadığı bildirilmiştir (138). Pediatrik kriptokokkozlu 63 olgunun incelendiği bir başka çalışmada, risk faktörü olarak, bağışıklık sistemi baskılanması %63.5 iken %21'inin bağışık sistemi sağlıklı bulunmuştur. HIV ilişkili enfeksiyon ise sadece %16 olarak bildirmiştir (139). Ayrıca, HIV-pozitif çocuklarda *Cryptococcus* menenjitisi sıklıkla görülmektedir. En sık görülen pediatrik kriptokokkoz klinik şekli; SSS enfeksiyonu olup bunu dissemine kriptokokkoz izler. Pediatrik kriptokokkozun sık görüldüğü yaş aralığı çocukluk döneminde (6–12 yaş) olup, ilk 2 yılda ve yenidoğanlarda nadiren bildirilmiştir. Bu durum, bu yaştaki çocukların hareketliliğine bağlı artan çevresel maruziyet ile açıklanmaktadır (135). Literatür kaynaklarında bildirilen pediatrik kriptokokkoz olgusu azdır ve toplamda 1,000 civarında olan bu olgular genelde HIV-negatif ve bağışık sistemi baskılanmış çocuk hastalardan oluşmaktadır (134). Dünyada olduğu gibi ülkemizde de HIV-ilişkili ile pediatrik kriptokokkoz olgularının epidemiyolojisine dair literatürel bilgiler oldukça sınırlıdır. Ülkemizde, kriptokokkoz epidemiyolojisine ilişkin, 41 kriptokokkoz enfeksiyon olgusu incelemiştir. Pediatrik kriptokokkozun tüm enfeksiyonlara oranı %7 olup yalnızca üç olgu pediatrik hastaya aittir. Bir olgu, HIV-ilişkili enfeksiyon olup ağır

meningoensefalit tablosu olan 16 yaşında kız çocuk hasta iken, diğer iki olguda altta yatan risk faktörleri belirlenememiştir (140).

Sonuç olarak, pediatrik kriptokokkozun insidansı ve mortalitesinin yetişkinlere nispeten daha düşük olmasına karşılık, buradaki temel endişe, özellikle bağışıklık sistemi yeterli çocuklarda arasında bu enfeksiyonun görülme sıklığının artmasıdır. Bununla birlikte, çocuklarda bildirilen kriptokokkoz sayısı, son on yılda dünya çapında artış göstermiştir (141). Bu sebeple, erken tanı pediatrik kriptokokkoz yönetiminde, tedavinin temel taşı olup bu enfeksiyonun hekimler arasındaki farkındalık ile tanısal testlere erişimi artırılmalıdır. Özellikle HIV ile infekte olan anneden, yeni doğan bebeklerin takibi ve antijenemi yönünden taranması bu noktada önemli olup ilk dönemde iyi takip edilmemiş çocuklarda ileri ki yıllarda bu fırsatçı enfeksiyonun ortaya çıkması muhtemeldir. Ayrıca, pediatrik olguların nadir olması sebebiyle, yetişkinlerdeki tedavi süreci referans alınarak ilerlemektedir. Amfoterisin B ve flukonazol kriptokokkoz tedavisinde en sık kullanılan antifungallerdir. Amfoterisin B toksisite riskinden dolayı, bağışık sistemi sağlam olan çocuklarda flukonazol tedavisi önerilmektedir (142).

Tablo 2.4. Dünya genelinde pediatrik onkoloji hastalarında bildirilen kriptokokkoz olguları (143–147).

Yazar-Kaynak	Yıl	Yer	Yaş/Cinsiyet	Köken	Predispozan faktör	Semptomlar	Klinik Görünüm	Tedavi	Durumu
Allande ve ark.	1993	Maryland/ABD	8-K/11-E/15-E/16-E	<i>C. neoformans</i>	2 kişi Rabdomiyosarkom 2 kişi Ewing sarkoma	Asemptomatik, afebril	BT Kriptokokkal granülom (2'si * sağ alt lob/sol alt lob/sağ üst lob).	KTZ (400mg/gün 10 hafta)/-/-/ FLU (400 mg/gün 8 hafta) (Postop. bakım)	İyileşti
Krcmery ve ark.	1997	Slovakya	17/-	<i>C. laurentii</i>	ALL, kemik iliği nakli	Ateş	-	FLU (2 hafta)	İyileşti
Miniero ve ark.	1997	Torino/İtalya	12/K	-	ALL	-	Menenjit	AmB, 5-FC	Ölüm
Averbuch ve ark.	2002	İsrail	16/E	<i>C. laurentii</i>	Ganglionöroblastoma	Ateş	Hepatomegali, Fungemi	AmB (3 Hafta)	İyileşti
Krcmery ve ark.	2002	Bratislava/ABD	-	<i>C. laurentii</i>	Karsinom	-	Fungemi	-	-
Sweeney ve ark.	2003	New York/ABD	10/E	<i>C. neoformans</i>	Malign fibröz histiositom	Öksürük	-	AmB + FLU (2 hafta ve 18 ay)	İyileşti
Ching ve ark.	2004	California/ABD	17/K	-	ALL	-	Baş ağrısı, sağ paryetal kitlede büyüme	AmB, 5-FC, FLU	İyileşti
Kowatari ve ark.	2018	Japonya	4/E	-	ALL	ALL'li kemoterapi alan çocuk hasta	KEE sağ ve sol ventriküllerde vejetatif nodül	VOR, CAS (4 ay)	İyileşti (5. ay)
Khursheed ve ark.	2022	Karaçi/Pakistan	6/E	<i>C. neoformans</i>	Lenfoma	Aralıklı ateş, karın ağrısı, şişkinlik, kusma	Deri lezyonları hepatosplenomegali ve BT menenjit başlangıcı servikal lenfadenopati.	AmB+ FLU 25 mg/IV/gün (23 gün)	Ölüm (1. ay)
Badali ve ark.	2015	Tahran/İran	11/E	-	Hodgkin lenfoma	Baş ağrısı, kusma gece terlemeleri, kilo kaybı	Menenjit	AmB, 5-FC, ITC	Ölüm
Grimshaw ve ark.	2020	Avustralya	6/K	<i>C. neoformans</i>	Lösemi	Kusma, fotofobi öksürük, ateş, rigor, epigastrik ağrı	Fungemi, menenjit, hepatomegali, akciğer hastalığı.	AmB + FLU	Ölüm (1. ay)

K; Kız, E; Erkek, ALL; Akut Lenfoblastik Lösemi, KEE; Kriptokokal enfektif endokardit, KTZ; Ketokanazol, FLU; Flukonazol, AmB; Amfoterisin B, 5-FC; Flusitozin, VOR;

2.8. Epidemiyoloji

Kriptokokkoz, 1970'lerin sonlarına kadar, lenfoma, sarkoidoz, karaciğer hastalığı ve organ nakil alıcılarında nadir görülen bir enfeksiyon iken (148, 149), 1980'lerde, HIV enfeksiyonunun ortaya çıkmasıyla fırsatçı bir mantar olan *Cryptococcus*'ların morbidite ve mortalite oranlarında önemli artışlar görülmüştür (150). Kriptokokkoz ABD'nde AIDS'li yetişkinlerin %5–10'u etkiler iken Tayland'da ise bu oranın %20 kadar yükselebildiği bildirilmiştir (151). Başlangıçta, kriptokokkoz, esas olarak bağışıklık sistemi baskılanmış bireyleri etkilediği görülen bir hastalık iken, Kuzey Amerika ve Kanada'daki sağlıklı bireylerde rapor edilen Pasifik-Kuzeybatı salgını, bazı *Cryptococcus* türlerinin primer patojen olduğunu ortaya koymuştur (8). *C. neoformans*/*C. gattii* tür kompleksi, toprak, kuş çıkartıları ve ağaç oyukları gibi farklı ekolojik odaklarda bulunur. *C. neoformans* sıklıkla, özellikle yabani güvercinlerde, yoğun nüfuslu kentsel alanlarda mantarı dağıtmak için uygun bir mekanik kaynak gibi görünen kuşların salgılanmasıyla ilişkilendirilir (152, 153). Bu tür, ayrıca bitki kaynaklı materyallerde bulunur (154). VNI suşu esas olarak kuş dışkısında bulunurken, VNB suşu ise ağırlıklı olarak belirli ağaç türlerinde bulunmaktadır (155). *C. gattii*'nin ekolojik odakları üzerine yapılan araştırmalar, farklı ağaç türlerinin bu mantarı barındırabileceğini göstermiştir (154, 156, 157).

Kriptokokkoz epidemiyolojisini konusunda yoğun araştırma yapılan Sahra-altı Afrika'da 25 milyondan fazla kişinin HIV-pozitif olması sebebi ile, *Cryptococcus* hastalığının en çok görüldüğü kıtadır. AIDS'li kişilerin, serum kriptokokal antijen (CrAg) testi kullanılarak tespit edilen insidansın ise %4.7 ila %12.2 arasında değiştiği kaydedilmiştir (132, 158). Güney ve Güneydoğu Asya ise, Hindistan'da hızla artan HIV salgını yüzünden, en büyük ikinci kriptokok hastalığı yüküne sahiptir. Yalnızca, Hindistan'da, HIV ile yaşayan yaklaşık 3.1 milyon ila 9.4 milyon kişi bulunmaktadır. Kuzey Hindistan'daki mevcut insidans %1.7 iken ülkenin güneyinde %4.7 arasında değişmektedir (159, 160). Kuzey Amerika'da en son *Cryptococcus* menenjit insidansı tahminleri düşük olup 1992 ve 2000 yılları arasında Atlanta ve Houston'dan yapılan nüfus temelli süveyans çalışmada 1992'de 100.000 nüfus başına ortalama 4–5 olgu görülmüştür (161). Sonuç olarak, *Cryptococcus* menenjit sebebiyle her yıl dünya genelinde toplam 625.000 ölüm olduğunu tahmin edilmiştir. Yine en fazla ölüm alan bölge, yılda 500.000'den fazla ölümlerle birlikte Sahra-altı Afrika olmuştur. En az ölümün Batı ve Orta Avrupa ve Okyanusya'da (yılda < 50 ölüm) gerçekleştiği tahmin edilmiştir (12)

Tablo 2.5. Türkiye’de doğadan, ağaç ve güvercin dışkı örneklerinden *Cryptococcus* izolasyonu ve prevalansını bildiren çalışmalar (162–176).

Yazarlar	Yıl	Çalışma Bölgesi	Örnek Türü	Tanı Yöntemi (Besiyeri)	Örnek Sayısı	İzolasyon Oranı(%)	Çalışmanın Önemi
Yılmaz ve ark.	1989	Bursa İl Merkezi	Güvercin ve tavuk dışkısı ile toprak	Sabouraud agar	137 (115 güvercin dışkı, 14 tavuk dışkısı ve 8 toprak örneği)	16/115 (%13.9), 0/14(%0) ve 0/8(%0)	Güvercin dışkıdaki yüksek izolasyon oranına rağmen, güvercin sahiplerinde solunum veya SSS hastalığının görülmemesinde bu kişilerin bağışıklık sistemlerinin sağlıklı olması gerekçe gösterilmiştir. <i>C. neoformans</i> saptanmasada çevredeki hastanelerde yoğun bir güvercin popülasyonu olduğu ve servis hastalarının güvercin dışkısıyla temas edebileceği bildirilmiştir.
Aygün	1998	İstanbul	Güvercin dışkısı ve toprak örneği	Staib agar	100 (Açık alan; 49, kümes; 42, yuva; 2 ve topraktan 7)	1/42 (%2,3) (Kümes örneklerinde) 1 /100 (% 1) (Toplamda)	Toros Dağlarının alkaliliğine rağmen Güney Ege ve Akdeniz bölgesindeki ökaliptüs ağaçlarından ilk <i>C. neoformans</i> izolasyonudur. Yaşlı, çürümüş oyuklu anıt ağaçların uygun mikroklimatize ortama rağmen <i>C. neoformans</i> izole edilememiştir. Çünkü Anadolu’nun alkalen yapısının bu mayanın kolonizasyonunu engellediği varsayılmıştır.
Ergin ve ark.	2004	Güney Ege-Akdeniz Milas/Muğla	Okaliptüs (<i>E. camaldulensis Dehn</i>)	Staib agar ¹	1175	1 (%0.08)	Örneklerden <i>C. neoformans</i> izole edilememesi, yüksek karbon oranlarına (%2.5) sahip alkali toprak ortamına (pH 7.8–8.0) bağlanmıştır.
Ateş ve ark.	2006	11 farklı il	Anıtsal ağaç	Staib agar	46	0 (%0)	
İlkit ve ark.	2006	Çukurova Bölgesi	Bitkisel materyel (%95 oranında ökaliptüs), güvercin dışkısı ve toprak örneği	Staib agar	1835 (1508 bitkisel, 119 güvercin dışkısı, 208 toprak örneği)	0/1835 (%0)	

Tablo 2.5. (devamı) Türkiye’ de doğadan, ağaç ve güvercin dışkı örneklerinden *Cryptococcus* izolasyon ve prevalansını bildiren çalışmalar (162-176).

Yazarlar	Yıl	Çalışma Bölgesi	Örnek Türü	Tanı Yöntemi (Besiyeri)	Örnek Sayısı	İzolasyon Oranı(%)	Çalışmanın Önemi
Derici ve Tümbay	2008	İzmir ve Çevresi	Güvercin dışkısı	Staib agar ve SDA	90	8 (%8.8)	<i>C. neoformans</i> kökenlerinin A ve D serotipinde, klinik kökenlerin ise A serotipinde olduğu ilk kez bu çalışmayla ortaya konmuştur.
Erdem ve ark.	2009	Karahayıt/ Denizli	Ökalyptüs (<i>E. camaldulensis</i>)	Staib agar ¹	117 örnek (37 ağaçtan)	0 (%0)	<i>C. neoformans</i> izole edilememesinde diğer küflerin inhibisyon ihtimali vurgulanmış ancak kalabalık turizm bölgelerinin, bu mayanın taranmasının önemi bildirilmiştir.
Ergin	2010	Muğla (Gökova-Akçapınar)	Ökalyptüs (<i>E. camaldulensis</i>)	Staib agar ¹	17 11 28	11 (%64.7) 7 (%63.7) 18 (%64.2)	Ülkemizdeki en yüksek izolasyon oranı elde edilmiş ve Gökova-Akçapınar bölgesi <i>C. neoformans</i> kolonizasyonda sıcak nokta olarak öngörülmüştür.
Ergin ve Kaleli	2010	Denizli (İl Merkezi)	Ökalyptüs (<i>E. camaldulensis</i>) 20 farklı ağaç türü	Staib agar ²	300	2/300 (%0.6)	Doğu çınarı ve Nar ağacından ilk izolasyon olmasının, etkenin farklı iklim, coğrafya ve farklı bitkilerde bulunabileceği, cinse veya türe özgü seçiciliğin olmadığı düşünülmektedir.
Ergin ve ark.	2010	Denizli (İl Merkezi)	<i>Platanus orientalis</i> (Doğu çınarı)	Staib agar ³	100	0/100 (%0)	Denizlide kovuklu Doğu çınarı ağaçlarında bahar ve yaz döneminde <i>C. neoformans</i> , izole edilememesinden dolayı, önceki maya izolasyonunun geçici olduğu varsayılmıştır.

SDA, Saboraud dekstrozu agar; Sun-Flower Seed agar, (Helianthus annuus: ayçiçeği tohumu agarı); Staib agar (Guizotia abyssinica agarı; Staib-Seeliger besiyeri=Kuş tohumu agarı=Kafeik asit agarı=Nijer tohum agarı) 1: %0.1 bifenil ve %0.5 kloramfenikol içeren besiyeri,

Tablo 2.5. (devamı) Türkiye’de doğadan, ağaç ve güvercin dışkı örneklerinden *Cryptococcus* izolasyonu ve prevalansı bildiren çalışmalar (162–176).

Yazarlar	Yıl	Çalışma Bölgesi	Örnek Türü	Tanı Yöntemi (Besiyeri)	Örnek Sayısı	İzolasyon oranı(%)	Çalışmanın Önemi
Pelek ve ark.	2011	Denizli İl Merkezi	Güvercin dışkısı	Staib agar ¹	60	3 (%5.0)	Güvercin gübresiyle kontamine açtıkları örneklerinden izolasyon yapılamazken güneş ışığı girmeyen kapalı güvercin kümes ve barınaklarında ise (%9.7) izolasyon yapılmış olması örneklemede uygun yer seçimine dikkat çekmiştir.
Gökçen ve Ergin	2014	Muğla/Milas	Okaliptüs (<i>E. camaldulensis</i>)	Staib agar ¹	100	3 (%3.0)	Diğer çalışmaların aksine toprağın alkali olmasına rağmen, Türkiye’nin okaliptüs florasında <i>C. neoformans</i> ’ın varlığı gösterilmiştir.
Şengül ve ark.	2019	Aydın-Denizli-Ödemiş	Kestane ağacı	Staib agar ¹	214	1 (%0.47)	Denizli’de Anadolu kestane (<i>Castanea sativa</i>) ağacından <i>C. neoformans</i> ’ın ilk kez izole edilmiştir.
Günyar ve Ark.	2019	Niğde ili - Aladağlar ile Düz kır Mağarası	Mağara ve dağ toprak örnekleri	Sun Flower Seed agar	10	1/5(%20) (Mağara toprak örnekleri) 1 (%10) (toplamda)	Turistik veya bilimsel amaçlarla ziyaret edilen mağara toprak örneklerinden CN’ın ilk izolasyonu çalışmasıdır.
Peker ve Ergin	2022	Alanya Merkez (Dim çayı bölgesi)	Zeytin ağacı	Staib agar ¹	49	1 (2.04)	<i>C. neoformans</i> ’ın önemli turistik şehir olan Alanya’nın merkezindeki ilk çevresel kolonizasyonun izolasyonudur.

2: Bifenil ve kloramfenikol ilavesiz besiyeri 3: kreatinin ve potasyum dihidrojen fosfat içermeyen besiyeri.

2.9. Kriptokokkoz'un tanısı

Kriptokokkoz'un rutin tanısı; görüntüleme yöntemleri, balgam/beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi klinik örneklerin mikroskop ve kültürleri yanında histopatolojik incelemelere esasına dayanır. Ancak, son yıllarda PCR temelli (AFLP, RAPD vb.) moleküler identifikasyon yöntemleri ile polisakkarit kapsüler antijenine (CrAg) yönelik serolojik testlerin geliştirilmesiyle kriptokokkoz tanısında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (177).

2.9.1. Görüntüleme

Akciğer kriptokokkozunun en sık radyolojik bulguları, tek veya çoklu pulmoner nodüller, segmental veya lobar konsolidasyon veya retikülonodüler bir opasite paterninden oluşur (178). Akciğer kriptokokkozun BT özellikleri, malign lezyonları taklit ederek yanlış tanıya sebep olabilir (179).

2.9.2. Lomber ponksiyon

Ayrıca, lomber ponksiyon her ne kadar tanısal olarak kullanılsa da genelde yüksek mantar yükünün sebebiyet verdiği artan BOS açma basıncına (>250 mmH₂O) veya basınç artışı semptomlarının görüldüğü hastaların tedavisinde terapötik amaçlı lomber ponksiyon önerilmiştir (180). *Cryptococcus* meningoensefaliti (CM) için lomber ponksiyon, genellikle hastanın BOS'nun *Cryptococcus* antijenemisi yönünden incelenmesi, morbidite ve mortalite ile ilişkili olan intrakraniyal basıncı ile BOS açılış basıncına bağlı olarak hastalığın şiddetini göstermek için yapılır. Ayrıca, BOS drenajı ile yüksek kafa içi basıncını azaltmak için de terapötik amaçlı lomber ponksiyonlar yapılmaktadır. Terapötik lomber ponksiyon genellikle baş ağrısını ve artan basıncın diğer semptomlarını gidermede hemen etkilidir ve baş ağrısını semptomatik tedavisinin tek veya en etkili yöntemlerdendir. Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (IDSA) rehberinde, BOS basıncı 25 mmH₂O üzerinde olan hastalar için seri lomber ponksiyon alınması, BOS açılış basıncının %50 oranında azaltması için yeterli BOS'un drenajını önermektedir (113). CM'nin prognozunu etkileyen en önemli faktörlerden biri, BOS basıncının kontrolü olduğundan, BOS basınçları her zaman lomber ponksiyon ile ölçülmeli ve tekrarlanan lomber ponksiyon veya erken şant uygulamaları ile artmış kafa

içi basıncının kontrolü sağlanmalıdır. Özellikle, CM olan HIV-pozitif hastalarda yapılan terapötik lomber ponksiyonların menenjitte bağlı mortalite oranını düşürdüğünü bildirilmiştir (181).

2.9.3. Direkt bakı

Çini mürekkebi, başta BOS olmak üzere kan, balgam, idrar, deri ve mukoza lezyonlarından pürülan sıvı, biyopsi dokusu gibi çeşitli klinik örneklerden, özellikle maya mantarı kapsüllerinin tespitine dayanan pratik, hızlı (5 dakika gibi kısa süre sonuç verebilen) ve düşük maliyetli tanı yöntemidir. Direkt bakıda, 4–6 µm’lik tek tomurcuklu küresel veya yumurtamsı şekilli maya hücreleri ve etrafında berrak bir hale şeklinde görülen kalınlığı: 1–30 µm arasında değişen polisakkarit kapsül çevrili olması kriptokokkoz tanısına götürür (182,183). BOS ve idrar örneklerinin, Çini mürekkebiyle boyanmasıyla kapsül görünür hale gelir ve belirginleşir. Her ne kadar bu yöntem ile *C. neoformans*/*C. gattii* tür kompleksleri kesin olarak ayırt edilemese de, *C. neoformans*, genellikle yuvarlak maya hücreleri şeklinde görünürken, *C. gattii* hücreleri oval veya püro şeklinde görülebilir. Çini mürekkebi, koyu bir zeminde maya hücrelerini, çini mürekkebi lekesini iten polisakkarit kapsül tarafından üretilen berrak bir hale ile çevrelenmiş gibi görülmektedir (184). Balgam ve diğer pürülan numunelere %10’luk potasyum hidroksit eklenmesiyle hücresel proteinli kalıntıları lize ederek temizler ve tanıyı kolaylaştırmaktadır. AIDS ile ilişkili *Cryptococcus* menenjitli hasta örneklerinde mikroskopik incelemenin duyarlılığı %80’e ulaşırken, bağışıklık sistemi sağlam bireylerde bu oran %50’ye kadar düşer (185).

2.9.4. Mantar kültürü

Kültür, kriptokokkoz tanısında altın standart olup sikloheksimit (aktidiyon) içermeyen Sabouraud dekstrozu agar (SDA) besiyeri ve beyin-kalp-infüzyon agar (BKİA) besiyeri olmak üzere bakteri ve mantar izolasyonunda rutin olarak kullanılan çoğu standart besiyerinde üretilir. *C. neoformans*, SDA besiyerinde 30°C’de 48–72 saat içinde (antifungal tedavi durumunda 7 güne kadar) ürer. *C. neoformans*, beyaz-krem renkte, opak, kabarık mukoid koloniler oluşturur. Ancak, kültürler bekledikçe, koloniler koyulaşır ve sarımsı-bronz renge döner. Bir diğer besiyeri antibiyotikli *Guizotia abyssinica* agar (Staib agar, Nijer tohumu agar, kuşyemli agar) ise, melanin

üretmek için kafeik asidi (nijer tohum ekstraktında) oksitleyen feniloksidaza sahip olan *C. neoformans* için seçici bir besiyeridir. Ancak, bazı *C. neoformans* suşları ile *C. neoformans* olmayan suşlar, fenoloksidaz içermediğinden kahverengi koloniler oluşturmaz. Ayrıca, bu seçici besiyerinde, *C. neoformans* beyaz koloniler olarak üreyen *Candida* türlerinden ayrımlı olarak, kahverengimsi koloniler halinde ürer (186). Kültür, CM tanısı için altın standart olarak kabul edilmesine karşılık, *Cryptococcus* spp.'nin, özellikle antifungal tedavi gören hasta örneklerinin kültürde üremesi günlerce sürebileceğinden, kültürün duyarlılığı, BOS örneğinin hacmine bağlıdır (187). Mantar kültürünün performansı, özellikle BOS için 3–5 mL gibi yüksek hacimli vücut sıvıları ile geliştirilebilmesine rağmen, özellikle *Cryptococcus* menenjitli hastaların BOS'nda CrAg testine göre %10–15 kadar daha düşük performans verdiği unutulmamalıdır (180). Ayrıca, lizis-santrifüjleme yöntemiyle kan kültüründe düşük mantar inokulumunun saptanmasında daha duyarlı olabilir. Çini mürekkebi-pozitif, ancak kültür-negatif olan örneklerde, tedaviden sonra canlı olmayan maya hücrelerinin direkt bakıda yalancı-pozitif sonuç vermesi olarak açıklanmaktadır (188). Ayrıca, duyarlı bir şekilde *C. neoformans* saptayabilen CN screen agar, L-DOPA agar, inositol-üre- kafeik asit besiyeri gibi besiyerleri de geliştirilmiştir (189).

2.9.5. Seroloji

Polisakkarit kapsüler antijenine (CrAg) duyarlı serolojik testler, kriptokokkoz tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllükle yaygın olarak kullanılır. Serum, BOS ve idrar örneklerinde lateks aglütinasyon testi (CrAg-lateks) ve enzim bazlı immünolojik testler (EIA) yaygın olarak kullanılmaktadır (190). Enfeksiyon sırasında, vücut sıvılarındaki polisakkarit kapsül antijeni antiserumla tespit edilerek titresi ölçülebilir. CrAg-lateks testi CrAg araştırılması veya titrasyonu için sık kullanılan yöntemlerden biridir. LA testi için reaktifler ticari kit olarak temin edilebilmekte olup lateks partikülleri, spesifik hiperimmün tavşan immünoglobülini ile kaplıdır ve dilüe edilmiş BOS, serum veya idrar örneklerinde kullanılır (191). CrAg-lateks testiyle, kapsül antijeninin tespiti, direkt bakıya göre daha duyarlı ve kültürde izolasyondan daha hızlı olması sebebiyle, kriptokokkoz tanısında önemli bir testtir.

LA testi çok özgül test olup kalitatif ve yarı kantitatif olarak da uygulanmaktadır (190). Ancak, LA testi, diğer mikroorganizmalardan gelen polisakkaritlerle çapraz

reaksiyon riski sebebiyle serumda veya BOS’nda nadir de olsa yalancı-pozitif sonuç vermektedir. Ayrıca, düşük antijen konsantrasyonu immüno komplekslerin varlığı, prozon etkisi, zayıf kapsüllü suşlar ve erken infeksiyon durumlarında yalancı-negatif sonuç görülmektedir (185). *Cryptococcus* antijeninin tespiti için LFA (yanal akış testi), yakın zamanda *Cryptococcus* menenjitisi tanısı için, laboratuvar yapısına ihtiyaç duymadan herhangi bir ortamda uygulanabilen gerçek POC (point-of-care) test (hasta-başı-testi) olarak geliştirilmiştir. CrAg LFA’da en çok bulunan glukuronoksilomannan kapsül polisakkarite karşı iki monoklonal antikorun bir kombinasyonu kullanılır. İlk monoklonal antikor, A, B ve C serotiplerinin polisakkaritiyle reaksiyona girerken, ikinci monoklonal antikor, A ve D serotiplerinin polisakkaritlerine reaktiftir. Sonuç olarak bu monoklonal antikorlar *C. neoformans* ve *C. gattii*’nin polisakkaritlerine yüksek oranda reaktiftir. CrAg-LFA, LA ve EIA testinden, daha geniş tespit aralığında kesin sonuç vermektedir. Ayrıca, bu test, subklinik kriptokokkozun araştırılması, hastalığın ortaya çıkmasını önleyici tedavisi ve tedavinin kontrolü için serum ve BOS polisakkarit titrelerinin izlenmesinde kullanılabilir. Bu test, diğer testlerden daha az zaman alır (≤ 10 dakika), asgari düzeyde veya hiç laboratuvar altyapısı gerektirmez, daha ucuzdur ve oda sıcaklığında muhafaza edilebilir (192).

2.9.5.1. Lateral flow antijen Testinin Yapısı

Örnek uygulama pedi: Değerlendirilecek örneğin yerleştirildiği bölüm olup proteinlere karşı düşük afinite gösteren selüloz asetat veya hiç afinite göstermeyen cam elyaf membranı gibi maddelerden yapılır (193). Bu bileşenin görevi, örneğin emilip homojen bir şekilde dağılarak, analizle uyumlu olmasını sağlamak ve yüksek verimli yanal akış ile serbest bırakarak konjugat pedine akışını kontrol etmektir. Örneğin akış hızını kontrol etmek ve tespit sistemi ile etkileşime uygun hale getirmesi için, bu bölüme tampon tuzları, proteinler, yüzey aktif maddeler ve diğer sıvıları eklenmektedir (194).

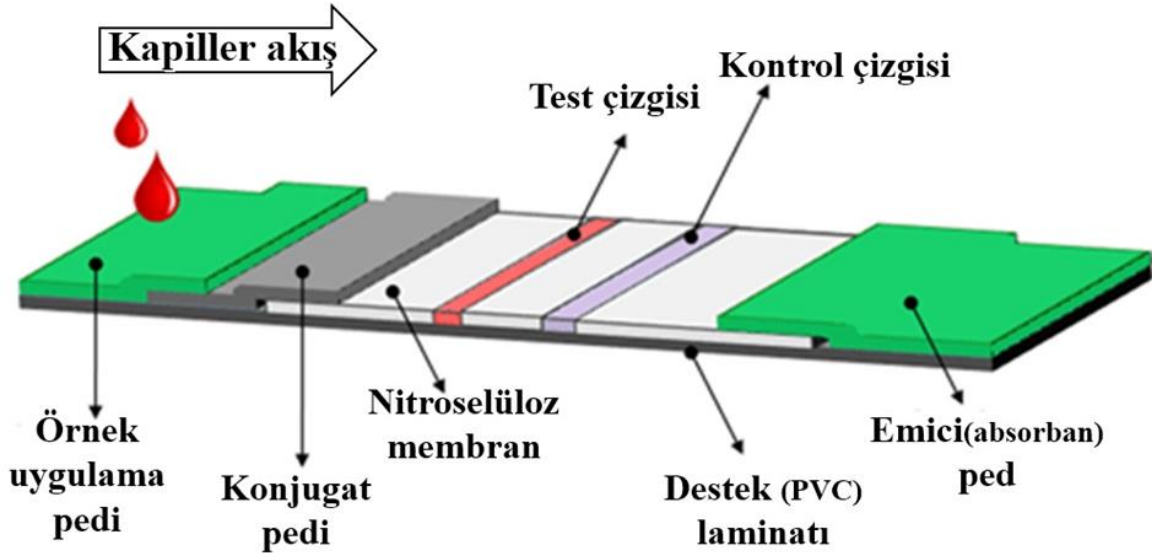
Konjugat pedi: Bu bileşenin ana rolü, kontrol ve test hattında sorunsuz sinyaller elde etmek için kuru konjugatı, stabil tutmak ve hızlı, verimli, homojen ve tekrarlanabilir bir şekilde salınmasını sağlamaktır. Yapısında, düşük ve spesifik olmayan bağlanma gösteren selüloz, cam elyafı, polyesterler, polipropilen veya polietilen yer almaktadır. Konjugatın hazırlanırken, biyolojik yapılarını koruyan ve

konjugat için LFA boyunca karbonhidratlar eklenir. En sık kullanılan etiketler ise; kolloidal altın, lateks parçacıkları, görsel veya floresan boyadır (195, 196).

Nitroselüloz membran: LFA' nın bu bileşeni, test ve kontrol çizgilerini kaplayarak destek sağlar. Spesifik olmayan reaksiyonları önlemesi, bazı proteinlere yüksek afinitesi ve kolay işlenmesi ile düşük maliyet gibi avantajlarıyla testin duyarlılığında kritik önem oluşturur. Her testin ihtiyacına göre özel olarak kullanılan, farklı gözenek boyutlarına sahip nitroselüloz membranlar bulunmaktadır; Yüksek duyarlılık ve yavaş bir akış hızı gereken durumlarda, küçük gözenek boyutuna sahip membranlar kullanılırken, az duyarlılık ve hızlı akış hızı gerektiren testlerde ise büyük gözenek boyutuna sahip membranlar kullanılmaktadır (195).

Emici ped: LFA' nın ucunda bulunur ve genellikle selüloz elyaftan tasarlanmıştır. Bu bileşenin işlevi, membran boyunca doğru yönde, yeterli bir akış hızında düzgün bir kılcal akışı sağlayarak örnekten olabildiğince fazla sıvıyı toplanmasıdır (197).

Destek laminatı: Ticari test kitlerinde tercihen kullanılan, LFA bileşenlerini, polyester, Polivinil Klorür (PVC) veya her iki bileşenin karışımı gibi malzemelerden yapılmış bir kutu içerisinde muhafaza edilmesini sağlayan en dış bölümdür (196).



Şekil 2.1. IMMY CrAg® LFA test kitinin dizaynı

Tablo 2.6. Kriptokokkoz tanısında kullanılan LA, LFA ve EIA ile mantar kültürünün duyarlılık ve özgüllüklerinin karşılaştırıldığı çalışmaların sonuçları (182, 192, 198–210).

Yazar	Yıl	Yer	Örnek sayısı	LA						LFA						EIA						Kültür			
				Serum	Duyarlılık	Özgüllük	BOS	Duyarlılık	Özgüllük	Serum	Duyarlılık	Özgüllük	BOS	Duyarlılık	Özgüllük	Serum	Duyarlılık	Özgüllük	BOS	Duyarlılık	Özgüllük	Serum	Duyarlılık	Özgüllük	BOS
Nelson	1990	Londra/İngiltere	69	69	828	100	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Temstet	1992	Paris/Fransa	122	119	87	100	96.5	95.6	90.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saha	2009	Yeni Delhi/ Hindistan	65	76	82	100	93.3	100	86.7	-	-	-	-	-	-	100	100	100	100	100	-	-	-	95.7	100
Lindsley	2011	Nonthaburi/ Tayland	464	-	551	-	-	-	-	90	99	-	-	-	-	95.6	99.5	-	-	-	100	-	-	-	-
Binnicker	2012	Minnesota/ABD	634	51	633	100	100	100	100	100	99.8	100	100	100	77.8 ¹	99.9 ¹	100	100	100	100	-	-	-	-	-
McMullan	2012	Sidney/ Avustralya	106	42	92	91.1	100	100	100	100	100	100	100	100	-	-	-	-	-	-	100	100	100	-	-
Vijayan	2012	San Francisco/ ABD	197	64	261	100	97.9	96	100	100	98	-	-	-	98.5 ²	96.4 ²	97.9 ²	98.8 ²	-	-	-	-	-	-	-
Clarke	2012	Brisbane/ Avustralya	55	21	55	100	95.7	100	100	100	96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rolfes	2012	Kampala/Uganda	102	263	263	-	-	97.5	95.1	-	-	-	97.6	94.8	-	-	-	-	-	-	100	93.5	-	-	-
Boulware	2012- 2014	Kampala/Uganda	234	832	832	-	-	97.2 ³	96.3 ³	-	-	-	99.3	99.1	-	-	-	-	-	-	100	96	88.3 ⁴	100 ⁴	-
Hansen	2013	San Francisco/ ABD	589	411	1000	-	-	-	-	100	96	100	100	100	98.1 ⁴	98.1 ⁴	100 ⁴	99.6 ⁴	-	-	-	-	-	-	-
Kabanda	2014	Mbarara/Uganda	-	112	112	-	-	100	98.5	-	-	-	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	95.7	100	-
Lourens	2014	Cape Town/ Güney Afrika	-	456	465	-	-	100	99.8	-	-	-	100	99.8	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.1	-
Vidal	2015	São Paulo/ Brezilya	693	261	693	-	-	-	-	100	99	100	97	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Williams	2015	Kampala/Uganda	207	207	207	-	-	-	-	100	72	100	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 2.6. (Devamı) Kriptokokkoz tanısında kullanılan LA, LFA ve EIA ile mantar kültürünün duyarlılık ve özgüllüklerinin karşılaştırıldığı çalışmaların sonuçları (182, 192, 198–210).

Yazar	Yıl	Yer	Örnek sayısı	Hasta Sayısı	LA			LFA			EIA			Kültür		
					Serum	Duyarlılık	BOS	Duyarlılık	Serum	BOS	Duyarlılık	Serum	BOS	Duyarlılık	Serum	BOS
Jitmuang	2016	Maryland/ABD	51	31	96.1	-	77.8	-	100	100	100	-	-	-	-	-
Cáceres	2017	Medellin/Kolombiya	32	83	100	100	100	100	100	100	100	-	-	-	-	-
Kwobah	2018	Eldoret/Kenya	285	302	-	-	-	-	92	94,9	92	94,5	-	-	-	-
Schub	2021	Berlin/Almanya	51	39	100	100	93	100	100	100	100	100	-	-	-	-
Malavika	2022	Chennai/Hindistan	37	37	-	-	100	94	-	100	100	-	-	-	100	100

¹Bu çalışmada Alpha ve Premier isimli iki farklı EIA çalışılmış olup duyarlılık %55,6/%100, ve özgüllük ise sırasıyla %100/%99,8 sonuç olarak iki kitin ortalama değerleri yazılmıştır.

²Serum ve BOS örneklerinde iki farklı EIA kullanılmış olup ortalama değerleri yazılmıştır. Duyarlılık EIA-1 (Meridian EIA): %100 (96/96), EIA-2 (IMMY EIA): %97.1 (100/103) ile Özgüllük ise; EIA-1 (Meridian EIA): %93.1 (94/101), EIA-2 (IMMY EIA): %100 (94/94). BOS'da duyarlılık EIA-1: %100 (24/24), EIA-2: %95.7 (22/23) ile özgüllük ise; EIA-1: %100 (40/40), EIA-2: %97.6 (40/41).

³Bu çalışmada, LA (Meridian ve Immy) çalışılmış olup duyarlılık/özgüllük oranları sırası ile, 97.8/85.9 ve 97/100 dür. Ayrıca BOS kültürleri 10 µl ve 100 µl olarak çalışılmış olup her iki sonucun ortalama değeri yazılmıştır.

⁴Serum ve BOS örneklerinde iki farklı EIA kullanılmış olup ortalama değerleri yazılmıştır. Serumda; duyarlılık EIA-1: %100 (41/41), EIA-2: %96,8 (60/62) ile özgüllük ise; EIA-1: %96.3 (527/547), EIA-2: %100 (527/527) olup BOS'n ise duyarlılık EIA-1: %100 (15/15), EIA-2: %100 (16/16) ile özgüllük ise; EIA-1: %99.5 (395/397), EIA-2: %99,7 (394/395) bildirilmiştir.

2.9.6. Moleküler teknikler

Moleküler teknikler, rutin tanıda kullanılmayan, ancak yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip, geleneksel yöntemlerdeki sınırlamaları olmayan alternatif tanı araçlarıdır. Bu yöntemler, başta moleküler epidemiyoloji araştırmalar olmak üzere genellikle *C. neoformans*/*C. gattii* tür komplekslerinin tanımlanması ve tiplendirilmesinde kullanılır (211). *C. neoformans*'ı tür düzeyinde tanımlamasında geleneksel mikolojik yöntemler yeterli olsa da, epidemiyolojik çalışmalarda *C. neoformans*'ın çeşitliliğini, serotipini veya bir izolatını tanımlamak için moleküler yöntemler kullanılmıştır. Suşlar, kromozomları ayırmak ve *C. neoformans*'ın elektroforetik karyotiplerini ayırt etmek için Pulsed-Field Jel Elektroforez (PFGE) veya Homojen Elektrik Alanları Elektroforezi (CHEF) kullanılarak tanımlanabilir (212). *C. neoformans*/*C. gattii* tür komplekslerinde her bir türün alt tipinin belirlenmesinde son 30 yılda çok sayıda moleküler teknik araştırılmıştır. Bunlar; MLEE (Çoklu-Lokus Enzim Elektroforezi), RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA), PCR fingerprinting (PCR-DNA parmak izi analizi), RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) ve AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi) dir. Son yıllarda, MALDI-TOF MS (52, 213) analizine ek olarak genotiplemede, CAP59, GPD1, LAC1, PLB1, SOD1, URA5 ve IGS1 gibi genetik lokusların sekanslandığı MLST analizi ve MLMT ile gen dizi analizi ve tüm genom dizilimi analizleri yapılmaktadır (214). Ancak, yalnızca PCR fingerprinting, AFLP ve MLST analizlerinin karşılaştırılabilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Sekiz ana moleküler tip günümüzde yaygın olarak tanınmaktadır: *C. neoformans* izolatları arasında VNI, VNII, VNIII ve VNIV iken *C. gattii* izolatları arasında VGI, VGII, VGIII ve VGIV'dir (215).

Tablo 2.7. *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* tür komplekslerinin tanımlanması ve genotiplendirilmesinde kullanılan moleküler yöntemlerin karşılaştırılması (216–217).

Method	Genler/Moleküller	Maliyet	Özgüllük	Uygunluk	Yeniden üretilirlik	Ayrı Etmeye Gücü	Kararlılık	Hedef	Avantaj	Dezavantaj
AFLP	Genomda rastgele dizi.	Orta	Düşük	Düşük	Orta	Yüksek	Yüksek	Kapsül	Yüksek duyarlılık ve özgüllük. Genetik değişkenliğin saptanması.	Çok sayıda faz ve reaktif vardır. Masraflıdır
MALDI-TOF MS	Tüm hücre proteomu.	Orta	Düşük	Orta	Orta	Orta - yüksek.	Orta - yüksek.	Kapsül, protein kütle (mass) spektrometrisi	Basit, hızlı ve doğru tekniktir. CN ve CG'yi sekiz moleküler modele ayırır	Yüksek ekipman ve kurulum maliyeti
MLMT	Genomdaki spesifik lokuslar.	Orta	Yüksek	Orta	Yüksek	Orta - yüksek. (Lokusa bağlı)	Orta - yüksek. (Lokusa bağlı)	MAT lokusu (H99)	Epidemiyolojik çalışmalarda etkili ve kanıtlanabilir yüksek ayırt etme gücü vardır	CN ve CG tür komplekslerinin MLMT markerlarına dayalı uluslararası veritabanı sınırlıdır
MLST	Genomdaki spesifik lokuslar.	Orta	Yüksek	Orta	Yüksek	Orta - yüksek. (Lokusa bağlı)	Orta - yüksek. (Lokusa bağlı)	IGS, kapsül, lakmaz, üreaz, fosfolipaz	Tekrarlanabilir ve doğrulanabilir. Çoklu lokusların analizi tamamen otomatik gerçekleştirilir	Genler korunduğunda suş farklılaşmasında kısıtlamalar olur
PCR fingerprinting	Genomda rastgele dizi.	Düşük	Düşük	Yüksek	Orta	Orta	Orta	Microsatellite (GACA) ⁴	Hedef diziler için bilgi gerektirmez. Kısa primerlerin kullanılmasıyla polimorfizm tespit edilir	Her laboratuvarın koşulları göre teknolojinin standardizasyonu gerekir
RAPD	Genomda rastgele dizi.	Düşük	Düşük	Yüksek	Düşük	Yüksek	Soy Seviyesi	Minisatellite (M13)	Hedef diziler için bilgi gerektirmez. Kısa primerlerin kullanılmasıyla polimorfizm tespit edilir	Her laboratuvarın koşullarına göre teknolojinin standardizasyonu gerekir
WGST	Tüm genom dizisi.	Yüksek	Yüksek	Düşük	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Tüm genom kapsamlı analizi	Suş tiplemesi ve epidemiyolojik araştırmalarda altın standarttır	Yüksek maliyetli ve analiz süreci uzundur

CN; *C. neoformans*, CG, *C. gattii*

2.9.7. Kütle spektrometresi

MALDI-TOF MS (Matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi), basit, hızlı ve doğru sonuç vermekte olup insan ve hayvanlarda *C. neoformans*/*C. gattii* tür komplekslerinin dokuz moleküler tipe ayrılmasına, ayrıca hibrit suşların tespitinde kullanılan alternatif bir yöntemdir (218, 219). Bu teknikle, biyolojik örneklerden veya kontamine olmamış kültürlerdeki mikrobiyal hücrelerden belirlenen peptit ve proteinlerin spektrumunun birkaç dakika içinde değerlendirilerek türler arasında ayırım yapılmasını sağlanır (218). ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), mayaların tanımlanmasında iki MALDI-TOF MS sistemini onaylamıştır. Bunlar, Bruker Biotyper (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ve VitekMS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa)'dır (220). Ancak, kriptokokkoz prevalansının yüksek, sosyo-ekonomik durumun ise düşük olduğu bölgelerde, maliyeti sebebiyle klinik uygulamada yaygın değildir (13). MALDI-TOF MS, maya mantarının saf izolatlarını tanımlamak için doğru ve hızlı bir yöntem olmasına karşılık, MALDI-TOF'la moleküler tiplere göre tanımlama da referans spektrum kütüphanesinin geliştirilmesi ve sonucunun doğrulanması gerektirir. Bu sebeple, kullanıcıların ticari kitaplıklarda bulunmayan önemli yerel türleri/suşları dahil ederek kendi referans kütle spektrum kitaplıklarını oluşturmaları önerilmektedir (220, 221).

2.9.8. Histopatoloji

Cryptococcus'un histopatolojik incelemesi, morfolojik özelliklerine dayanmakta olup hematoksilin, eozin ve Grocott gümüşünün histokimyasal tekniklerinin yanı sıra, kapsülü morumsu kırmızıya boyayan Mayer müskarini ve mantar melaninini kırmızımsı kahverengiye boyayan Masson-Fontana (FM) gibi özel histokimyasal teknikleri içermektedir (222, 223). Akciğer, deri, kemik iliği, beyin ve diğer organlar gibi dokuların histolojik preparatların, müsikarmin, periyodik asit-Schiff (PAS), Giemsa'nın (May-Grünwald) ve Alsiyan mavisini gibi polisakkarit kapsülü etiketleyen spesifik olmayan boyalar, çini mürekkebinden daha yüksek duyarlılıkta *Cryptococcus*'u tespit etmektedir. Ayrıca, Fontana-Masson boyası, maya hücre duvarında biriken melanini tespit ederken hematoksilin-eozin boyası berrak haleyi ortaya çıkarır. Diğer boyama yöntemleri, klinik örneklerde mantar kitininin (kalkoflor beyazı) ve mantar hücre duvarının (Grocott'un metenamin gümüşü) varlığını gösterebilir (192).

2.9.9. Antifungal duyarlılık testi

Literatür verileri, *C. gattii*'ye karşı standart antifungallerin MİK (minimum inhibe edici konsantrasyon) değerlerini belirlemiş ve bu değerlerin zamanla artmadığını göstermiştir. Ayrıca, vorikonazol, posakonazol ve isavukonazolün *C. gattii*'ye karşı flukonazolden daha aktif olduğu görülmüştür. Antifungal duyarlılık testi, epidemiyolojik eğilimleri izlemek için önerilmektedir (224). Şu anda, *C. neoformans* veya *C. gattii*'nin antifungal duyarlılık testi için yayınlanmış bir kılavuz bulunmamaktadır. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kılavuzlarına maya mantarlarının antifungal duyarlılığı bölümüne sadece *C. neoformans* dahil edilmiş ve *C. gattii* için klinik direnç sınır değerleri belirlenmemiştir. Azol ilaçlarına, özellikle flukonazole duyarlılıkta, AIDS'li hastalardan *C. neoformans* var. *grubii* izolatları arasında, yüksek derecede aktif antiretroviral tedavinin (HAART) ortaya çıkmasından önce flukonazolün yaygın kullanımına paralel olarak bir azalma kaydedilmiştir. Bununla birlikte, HAART'ın Afrika'da kullanılmaya başlanması ve amfoterisin B ve 5-flusitozinin indüksiyon tedavisi olarak kullanılmasının ardından, hemen hemen tüm izolatlar, flukonazol de dahil olmak üzere mevcut olan antifungal ilaçlara karşı duyarlı olmuştur (ekinokandinlerin klinik olarak yararlı *in vitro* aktivitesi yoktur) (225–227).

2.10. Tedavi

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerika Bulaşıcı Hastalıklar Derneği (IDSA) kılavuzları tarafından önerilen kriptokokkoz için altın standart tedavi; amfoterisin B (AmB), flusitozin ve flukonazol olan üç antifungal ilacı içermektedir (148, 228). *C. neoformans* infeksiyonuna karşı yaygın olarak kullanılan üç grup ilaç vardır. AmB, polyen grubunda yer alan ve steroid metabolizmasını hedefleyen bir ilaçtır (229, 230). Flukonazol, steroid metabolizmasını etkileyen azol grubu antifungaldir. Kaspofungin ise ekinokandin grubu bir bileşiktir ve hücre duvarını inhibe ederek etki gösterir (148). Ancak, polyenlerin toksik etkilerinin olduğu, azollerin ve ekinokandinlerin ise ilaca direnç sorunlarının olduğu bilinmektedir (228). *Cryptococcus* menenjitinin tedavisi (i) indüksiyon (2 hafta), (ii) konsolidasyon (8 hafta) ve (iii) idame (6–12 ay) olmak üzere üç aşamadan oluşur. Amerika Bulaşıcı Hastalıklar Derneği ve Dünya Sağlık Örgütü'nün kılavuzları, indüksiyon aşamasında güçlü mantar öldürücü ilaçların kullanımının

önemini vurgulamaktadır; bununla birlikte, antifungal ilaçlara dünya çapında erişim hala yetersizdir (148).

Amfoterisin B kullanımı sınırlayan toksisitesine rağmen, yaşamı tehdit eden yaygın mantar infeksiyonlarının tedavisinde halen etkili antifungal ilaç olarak altın standart olmaya devam etmektedir. Söz konusu yan etkileri azaltan bazı lipozomal takviyeler olmasına karşılık, yüksek maliyeti sebebiyle gelişmekte olan ülkelerde kullanımı sınırlıdır. Mantar öldürücü etkisini, mantar maya hücresi zarlarındaki ergosterole bağlanarak gerçekleştirir (231, 232). Flusitozin (5-FC), antifungal direncin ortaya çıkmasıyla birlikte diğer antifungallerle, özellikle de AMB ile kombinasyon halinde kullanılmaktadır (233, 234). Flukonazol (FLC), mantar sitokrom P450'ye bağlı lanosterol C14-alfa-demetilazı (Erg11 veya Cyp51) inhibe ederek ergosterol biyosentez inhibisyonuna yol açan bir triazol grubu ilaçtır (235, 236). FLC, beyin omurilik sıvısı, balgam ve tükürük içine kolayca difüze olur ve idrar ve deride konsantre olur (237). En sık görülen yan etkiler gastrointestinal olaylar, baş ağrısı ve deri döküntüleridir; AIDS'li hastalarda klinik olarak belirgin karaciğer fonksiyon bozukluğunun izole örnekleri ortaya çıkmıştır. Flukonazol, diğer antifungallere göre ucuz ve yan etkisinin görece sınırlı olması sebebiyle *Cryptococcus* menenjitinin tedavisi ve profilaksisinde sıklıkla kullanılan antifungal bir ilaçtır. Ancak, *C. neoformans*'ın klinik izolatlarında FLC başta olmak üzere yıllar içinde gelişen antifungal direnç söz konusudur (235).

Tablo 2.8. *Cryptococcus* hastalığının çeşitli klinik şekillerine göre tedavisi (180, 238–242).

	Hematolojik malignite	<i>Cryptococcus</i> menenjit		Asemptomatik kriptokok antijenemisi	Pulmoner kriptokokkoz
		1. Tedavi Yöntemi	2. Tedavi Yöntemi		
İndüksiyon	D-AmB (0.7–1.0 mg/kg/gün)	L-AmB (3–6 mg/kg/gün)	D-AmB (1.0 mg/kg/gün)	FLU	
	5-FC (100 mg/kg/gün (2 hafta))	veya D-AmB 0.7–1.0 mg/kg/gün	5-FC (100 mg/kg/gün)	(800 mg/gün 2 veya 10 hafta)	FLU (400 mg/gün, 6–12 ay)
	veya L-AmB (3–4 veya 5 mg/kg/gün)	ve 5-FC (100 mg/kg/gün veya 75 mg/kg/gün i.v.)	ve FLU (1200 mg/gün, 1 hafta)	5-FC (8 hafta)	FLU
Konsolidasyon	5-FC (100 mg/kg/gün-2 hafta)				
	FLU (400–800 mg/gün 8 hafta)	FLU (400–800 mg/gün) HIV pozitif hastalarda ART'ye 4. haftada başlanılmalıdır (Toplam 8 hafta).	FLU (800 mg/gün 8 hafta)	FLU (400 mg/gün (8 hafta)	L-AmB (3–4 mg/kg/gün ve 5-FC 100 mg/kg/gün (≥ 2 hafta) ilaveten; FLU (400–800 mg/gün 8 hafta) FLU (200–400 mg/gün 6–12 ay)
Bakım	FLU (200–400 mg/gün (≥ 12 ay))	FLU 200 mg/gün.	FLU (200 mg/gün).	FLU (200 mg/gün. (≥ 12 ay))	
Alternatif Tedavi	(5-FC kontrendike ise)	1. Alternatif: 5-FC yoksa: FLU (800–1200 mg/gün	FLU (1200 mg/gün) ve 5-FC (100 mg/kg/gün, 2 hafta)		(FLU yoksa veya kontrendike ise): ITC (200 mg/gün 2 kez 6–12 ay), VOR (200 mg/gün (6–12 ay), POS (300 mg/gün 6–12 ay), ISAV (372 mg/günlük 6–10 ay)
	D-AmB 0.7–1.0 mg/kg/gün veya L-AmB (3–4 veya 5 mg/kg/gün) (4–6 hafta arası)	ve D-AmB 0.7–1 mg/kg/gün i.v. (2 hafta) 2. Alternatif: D-AmB yoksa: FLU 1.200 mg/günlük oral, ve 5-FC (100 mg/kg/gün) (2 hafta)	veya D-AmB (1.0 mg/kg/gün) ve FLU (1200 mg/gün) (2 hafta)	-	

2.11. Korunma

Cryptococcus hastalığından en temel korunma yöntemi; HIV-pozitif, CD4-T hücre sayısı düşük olan (<100 hücre/μl) hastaların, antiretroviral tedaviye (ART) zamanında erişiminin sağlanmasıdır. Özellikle, Güney Afrika'daki hastaların yönetimine yönelik ulusal kılavuzlarda, ART'ye erişimi önemli bir koruma aracı olduğu vurgulanmaktadır (243). Korunma yönteminin ikinci basamağı ise bağışıklık sisteminin hızlı bir şekilde güçlendirilmesi ve flukonazol (veya itrakonazol) gibi antifungal ilaçların profilaktik olarak uygulamasıdır (244). ART öncesinde, flukonazol veya itrakonazol ile primer profilaksinin, yüksek insidanslı, gelişmekte olan ülkelere, Tayland'da CD4 sayısı düşük olan (<100 hücre/μl) kişilerde hastalığın önlenmesi için yararlı bir strateji olduğu gösterilmiştir (245). Bununla birlikte, Sahra altı Afrika ülkelerinde ART kullanımındaki önemli artışa karşılık, halen birçok insan tedaviye erişememektedir. ART alsalar bile, ilerlemiş HIV enfeksiyonu olan hastalar, bağışıklık sistemi yeniden yapılandırılana kadar kriptokokoz hastalığı riskini taşımaya devam ederler (246).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından da önerilen diğer bir korunma yöntemi ise; CD4 sayısı <100 hücre/μl olan bireylerde mortaliteyi önlemeye yönelik, uygun maliyetli, stratejik hedefe yönelik kriptokokal antijen (CrAg) araştırılmasını ve ardından *Cryptococcus* meningoensefaliti (CM) insidansının azaltılması için antijenemiye önleyici antifungal tedaviye başlanmasıdır (247). HIV-pozitif hastalar başta olmak üzere bağışıklık sistemi baskılanmış yüksek risk altındaki kişilerde, asemptomatik *Cryptococcus*'un tespit edilmesi amacıyla ART'ye başlamadan önce LFA veya LA testleri kullanılarak CrAg yönünden taranması yapılmalıdır. Bu amaçla, *Cryptococcus* menenjitli hastalarının erken teşhisinde, sağlık birimlerinin tanı testlerine erişimi sağlanmalıdır. Ancak, Sahra altı Afrika'daki yerleşim yerlerindeki laboratuvarın bir çoğunda bu imkan yoktur. Bu birimlerin CrAg-LFA testini kullanımına erişmesi, *Cryptococcus* menenjitli ile mücadelede önemli bir adımdır.

Ayrıca, CrAg-pozitif bulunan hastalarda, *Cryptococcus* hastalığının tedavisinde gelişmiş ülkelerde bakım standardı olan Amfoterisin B ve flusitozin gibi antifungal ilaçlar ile profilaktik tedaviye başlanıp oral flukonazol verilerek subklinik enfeksiyonun menenjitte dönüşmesi önlenmektedir. Ancak, Sahra altı Afrika gibi en çok ihtiyaç duyulan bölgelerde bu antifungallere erişim sınırlıdır. Sonuç olarak, hastalığının prevalansının yüksek olduğu bölgelerde, CrAg'nin tarama testi olarak kullanılması ve oral flukonazol ile antijenemi tedavisi HIV/AIDS ile yaşayan insanlarda erken mortalitenin önüne geçilmesine yardımcı olabilmektedir (248).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Klinik Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışmada, Temmuz 2021–Aralık 2022 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Pediatri Onkoloji polikliniğine başvuran, takipte ya da yeni tanı almış 168 çocuk onkoloji hastası incelendi. Ayrıca, malignitesi olmayan 100 çocuk kontrol grubuna dahil edildi. Hastalardan başvuru sırasında yazılı onamları alındı ve 5 cc kan örneği alındı. Alınan kan 3.500 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek serumu ayrıldı ve 5 mL ependorf tüplerine aktarıldı. Serum örneklerinin bir kısmı hemen çalışıldı bir kısmı ise kit tedarik edip çalışılana dek –20°C’de muhafaza edildi.

3.2. Hasta Bilgilerinin Toplanması

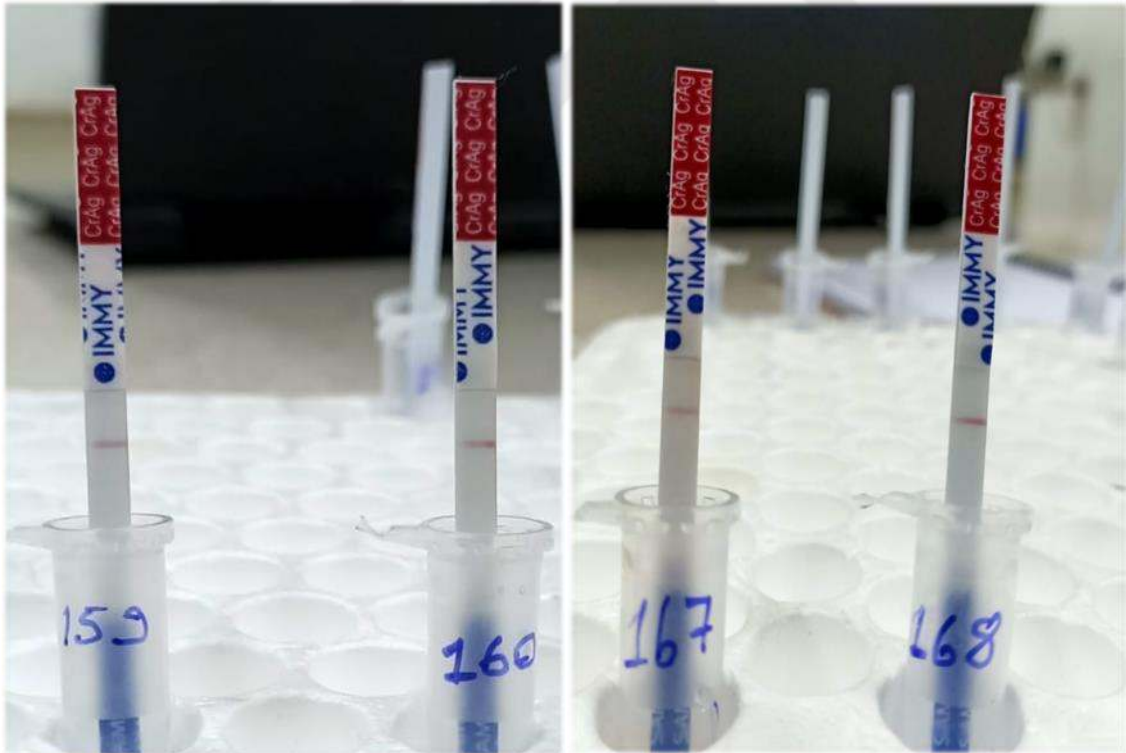
Çalışmaya dâhil edilen her hasta için: demografik bilgiler (cinsiyet, yaş, yaşadığı yer vb.), klinik tanı, kemoterapi durumu, hastanın mevcut şikâyetleri, hastalığın klinik seyri ve evresi ile fiziksel ve radyolojik muayene bulguları sorgulandı ve her hasta için ayrı bir anket formu düzenlendi.

3.3. Serum Örneklerinin IMMY® CrAg - LFA lateral flow assay yöntemi kullanılarak *Cryptococcus* antijeni aranması

Serum örnekleri 26°C’de 30 dakika boyunca inkübe edilerek CrAg®-LFA kiti (IMMY InC., Norman, Oklahoma, ABD; Ref: 2021-09-02) kullanılarak *Cryptococcus* antijeni varlığı yönünden incelendi. Numune uygulama bölümü olan Eppendorf tüpüne bir damla örnek seyreltici (Ref: GLF025) eklendikten sonra klinik örnekten alınan 40 µL serum örneği yavaşça eklendi ve karıştırıldı. Son olarak, CrAg®-LFA testinin beyaz ucu serum örneğine konuldu. 15 dakika beklendi ve test sonuçları okunup sonuç takip çizelgesine kaydedildi. Kısaca, (i) test çizgisi (T) ile kontrol çizgisinde (C) kırmızı çizgi belirlenmesi durumunda *Cryptococcus* antijeni varlığı yönünden pozitif; (ii) test kitinde sadece tek bir kontrol çizgisinin (C) görülmesi, ancak kırmızı test çizgisinin (T) görülmemesi ise, negatif olarak değerlendirildi. Ayrıca, kontrol çizgisinin yokluğunda test geçersiz sayılıp tekrarlandı (249).



Şekil 3.1. IMMY CrAg® LFA Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay kiti



Şekil 3.2. CrAg LFA negatif sonuçlar (159, 160 ile 167,168 no' lu örnekler)

3.4. Etik onam

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan alınan etik kurul izin belgesi neticesinde çalışmalara başlandı (Etik Kurul No: 2020-100-44). Hastalardan başvuru sırasında yazılı onamları alındı.



4. BULGULAR

Çalışmada 168 onkoloji hastanın hiçbirinde (%0) seropozitiflik bulunamadı. Bu hastaların 112'si erkek 56'sı ise kız idi. Kızların yaş ortalaması 7 yıl 6 ay (1 yıl 2 ay–15 yıl 3 ay); erkeklerin yaş ortalaması ise 8 yıl 4 ay (2 yıl 3 ay–18 yıl) idi. Genel ortalama yaş ise: 8 yıl 2 ay olarak hesaplandı (yaş aralığı; 1 yıl 2 ay–18 yıl). Ayrıca, bu hastaların 133 (%79,2)'i, en az 3 aydır kemoterapi almakta idi. 35 (%20,8) hasta ise yeni tanı konulmuş olup henüz kemoterapiye başlanılmamıştı. Hasta grubunda yer alan CrAg sonucu negatif bulunan 168 hastanın yerleşim yeri (İkametgah) adresleri il ve ilçe olarak şu şekilde idi: 26 hasta Yüreğir, 19 hasta Seyhan, 10 hasta Çukurova ve 7 hasta Sarıçam ilçeleri olmak üzere toplam 62 hastanın ikametgahı Adana ilinde kayıtlıydı. 15 hasta İskenderun, 10 hasta Reyhanlı, 8 hasta Dört Yol, 8 hasta Antakya, 7 hasta Kırıkhan, 6 hasta Erzin, 5 hasta Samandağ ilçeleri olmak üzere toplamda 59 hasta Hatay ilinde kayıtlıydı. 9 hasta Şahinbey, 7 hasta Nurdağı ve 6 hasta İshaliye ilçesi olmak üzere 22 hasta Gaziantep ilinde kayıtlıydı. 5 hasta Eyyübiye, 3 hasta Siverek ilçesi olmak üzere 8 hasta Şanlıurfa ilinde kayıtlıydı, 7 hasta Merkez/Kilis kayıtlı, 5 hasta Gölbaşı/Adıyaman, 3 hasta Göksun/Kahramanmaraş ve 2 hasta Cizre/Şırnak'ta kayıtlı idi. Çalışmamıza kontrol grubu olarak dahil edilen ve malignitesi olmayan 100 çocuğun 59'u kız 41'i ise erkek idi. Kızların yaş ortalaması 8 yıl 4 ay (1 yıl 6 ay–14 yıl 3 ay); erkeklerin yaş ortalaması ise 6 yıl 10 ay (1 yıl 2 ay–12 yıl 4 ay) idi. Genel yaş ortalama ise: 7 yıl 9 ay olarak hesaplandı (yaş aralığı; 1 yıl 2 ay–14 yıl 3 ay) idi. Kontrol grubunda yer alan 100 kişinin de CrAg-LFA sonucu negatif bulundu. Hem malignite-pozitif hem de malignite-negatif kişilerde *Cryptococcus* antijeni tespit edilemediğinden gruplar arasında istatistiksel anlamlılık düzeyi değerlendirilemedi. Hasta grubundaki malignite pozitif çocuk hastalara ait pediatrik kanser türlerinin dağılımı ise; 46 hasta akut lenfoblastik lösemi (ALL), 41 hasta nöroblastom, 19 hasta akut miyeloid lösemi (AML), 18 hasta ewing sarkomu, 15 hasta malign neoplazm, 12 hasta Wilm's tümörü (nefroblastom), 9 hasta hodgkin lenfoma ve 8 hasta optik gliom idi.

Çalışmamızda hasta grubundaki malignite pozitif çocukların, *Cryptococcus* hastalığının çevresel predispozan risk faktörlerine maruz kalma durumları araştırılmış olup 26 (%15.5) hastanın güvercin, tavuk vb. hayvan veya dışkısıyla temas durumu, 12 (%7.1) hastanın ise ökaliptüs, meşe vb. ağaç türüyle temas durumu tespit edilmiş olup 130 (%77,4) hastada güvercin, tavuk vb. hayvan teması veya ökaliptüs, meşe vb. ağaç türüyle temas öyküsü bulunmamaktadır. 168 Çocuk Onkoloji servisine başvuran hasta grubundaki çocukların şikayetleri genel olarak; halsizlik, kilo kaybı, baş ağrısı, aşırı öksürük, boyun bölgesinde şişlik, kitle varlığı ve deride kızarıklık gibi belirtiler sıralanmaktadır.



5. TARTIŞMA

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Çocuk Onkoloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran takip veya yeni tanı almış maligniteli çocuk hastalarının serum örneklerinin IMMY-LFA kiti ile *Cryptococcus* antijeni yönünden araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, malignite-pozitif 168 çocuk hasta ile ve kontrol grubu malignite-negatif 100 çocuk olgunun serum örnekleri incelendi ve tamamı negatif bulundu. Bu sebeple, çalışma grupları arasında istatistiksel karşılaştırma ve anlamlılık düzeyi değerlendirilemedi. Ancak, çalışmamız Pediatrik Onkoloji hastalarındaki *Cryptococcus* seroprevalansının belirlenmesine yönelik ülkemizdeki ilk çalışma olup daha sonra yapılması planlanan *Cryptococcus* hastalığının prevalansına yönelik çalışmalara ışık tutacak ve yön gösterecektir.

Kriptokokkoz dünya genelinde en önemli sistemik mantar infeksiyonlarından olmasına karşılık, pediatrik kriptokokkoza ilişkin epidemiyolojik veriler sınırlıdır. Bu sebeple, üçüncü basamak hastanelerde pediatrik popülasyonda kriptokokkoz yükünün belirlenmesi önemlidir (145). Çocukluk çağında kriptokokkoz nadir görülen hastalık olup olgular arasındaki klinik parametreler farklılık göstermektedir (141). Primer lezyonlarının çeşitliliği ve invaziv organlardaki farklılık, kriptokokkozun karmaşık ve farklı klinik belirtileri yanında ayırıcı tanıda güçlükler ve yüksek oranlarda yanlış tanı ve ölüm oranlarına yol açmaktadır. Bu sebeple klinisyenler, sebebi açıklanamayan uzun süreli ateş, hafif öksürük, klinik semptomlarla uyumlu olmayan akciğer görüntülemesi, lenfadenopati, hepatosplenomegali ve eozinofili ile başvuran çocuklarda kriptokokkoz düşünülmelidir (250).

Kaur ve arkadaşları, Ocak 2015–Haziran 2021 yılları arasında pediatrik kriptokokkoz şüpheli, kan, BOS, lenf nodu aspiratından oluşan toplamda 5.420 örneği çalışmaya dahil ederek Hindistan'dan pediatrik kriptokokkoza ilişkin klinik-epidemiyolojik olarak literatürdeki tüm olguları inceleyen ilk retrospektif çalışmayı sunmuşlardır. Çalışmada, Tıbbi Mikoloji laboratuvarına gelen şüpheli kriptokokkoz olgularından alınan toplam 5.420 örnekten, 15 pediatrik hastanın kültür sonuçları ile [BOS (n=10), lenf nodu aspiratı (n=1), kan (n=4)] toplam 21 kriptokokkoz epizodu (%0.39) bildirilmiştir. Aynı hastadan *Cryptococcus* türlerinin tekrar izolasyonu ayrı bir epizot olarak kabul edilerek dört hastanın iki epizodu ile biri hastanın üç epizodu

çalışmaya dahil edilmiştir. Sekiz hasta kentsel alanlarda, yedi hasta ise kırsal alanlarda ikamet etmektedir. Periferik kateterli dissemine *Cryptococcus laurentii* (*Papiliotrema laurentii*) hastası 1 olgunun 2 epizod örneği (%9) dışında, diğer 14 hastanın 19 epizod örneği (%91) *Cryptococcus neoformans* olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada, pediatrik kriptokokkoz prevalansı ile mortalite oranının düşük olarak tespit edilmesine ve mevcut yerel, küresel literatürün de bunu destekler nitelikte olmasına karşılık, hastaların çoğunluğunun bağışıklığı yeterli olan çocuklarda (10/15) görülmesinin endişe verici olduğu vurgulanmıştır (145).

Liu ve arkadaşları Ocak 2002-Eylül 2014 arasında Pekin Çocuk Hastanesine (970 yataklı üçüncü basamak hastane) başvuran hastalarda pediatrik kriptokokkozların klinik belirtilerini ve prognozunu araştırmak için gerçekleştirdikleri 12 yıllık retrospektif bir çalışmalarında, 53 çocukluk dönemi kriptokokkozunu bildirmiş, olguların 41'inde (%77.4) altta yatan bir sağlık sorunu olmadığını göstermiş, 37'sinin (%69.8)'i erkek ve yaş ortalamasını 7 olduğunu kaydetmişlerdir. En sık tutulum bölgesi santral sinir sistemi (42 olgu %79.2) olmakla birlikte hastaların yarısında akciğer tutulumu (28 olgu %52.8) bildirilmiştir. Bu olguların 11'i güvercin ve 8'i tavuk temaslı olup 19 (%35.8) olgunun kümes hayvanlarına maruz kalma öyküsü vardır. Tedaviyi reddeden bir hasta ile tedavi süreci bilinmeyen ve başka hastaneye sevk edilen HIV-pozitif bir hasta dışında toplam 51 (%96) hasta tedavi görmüştür. Çalışmadaki ayakta tedavi verilerinin genellikle kaybolması, terapötik rejimleri ve nihai sonuçları tam olarak değerlendirememesi rağmen 27 (%50.9) hasta taburcu olduktan sonra telefonla takip edilmiştir. Bu hastalardan, *Cryptococcus meningoensefaliti* olan 6 hasta (%22.2) kaybedilmiştir. İçlerinde HIV-pozitif olgu ile körlük, sinirlilik şikayeti hastanın da olduğu kalan 21 (%77.8) olgunun hepsi iyileşmiş ve herhangi bir sekel kalmamıştır. Olguların analizinde 53 kişide (% 100) ateş, 33 kişide baş ağrısı (%62.3), 30 kişide kusma (%56.6), 19 kişide konfüzyon (%35.8) ve 19 kişide öksürük (%35.8) tespit edilmiştir. Hastaların %53.3'ünde (16/30) kan kültürü pozitif ve serum lateks aglütinasyon testi, 1:8 ile > 1:1024 arasında değişen titrelerle 36/42 (%85.7) olguda *Cryptococcus* pozitif bulunmuştur. 42 CM hastasının BOS kültürleri, Hindistan Mürekkebi boyaması ve antijen testleri sırasıyla %82.9'unda (34/41), %85.7'sinde (36/42) ve %82.4'ünde (28/34) pozitif bulunmuştur. Kriptokokoz çocuklarda nadir görülen bir infeksiyon olmasına karşılık, baş ağrısı, nöbetler, görme bozukluğu, ense

sertliği, düşük eritrosit sedimantasyon hızı ve beyin omurilik sıvısı kriptokokal antijen titresi $\geq 1:1024$ olması prognozunu kötü olduğunu gösterir (141).

Luo ve arkadaşları, Ocak 1998 ile Ocak 2015 tarihleri arasında Batı Çin'de ikinci basamak merkez olan Sichuan Üniversitesi hastanesine başvuran pediatrik hastalarda kriptokokkozun klinik özelliklerini tanımlamak amacıyla çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada, toplam 34 hasta dahil edilmiş ve ortalama yaşı 5.6 bulunmuştur. Hastaların çoğu (%67.6) erkek ve hastaların sadece %23.5'inde altta yatan tanımlanabilir bir hastalık bildirilmiştir. 34 hastanın 16'sında (%47.1) beyin tutulumu dışında başka organ tutulumları da vardı. Bu bulgular, Dissemine kriptokokkoz (11 olgu %47,83) olup bu yaygın kriptokokkozlu çocukların hepsinde (11 olgu) akciğer tutulumu, lenf düğümleri (yüzeysel, mediastinal, hiler, abdominal lenf düğümleri) (10 olgu), karaciğer (9 olgu), dalak (7 olgu), deri (2 olgu), kalp (1 olgu), böbrek (1 olgu), kemik (1 olgu) tutulumu olarak bildirilmiştir. Sonuç olarak, Bu bulgular, *Cryptococcus* menenjitinin geleneksel olarak bağışıklık sistemi bozukluğu ile ilişkilendirilmesine rağmen, epidemiyolojik verilerin gelişmesi ile bağışıklığı yeterli çocukları da etkileyebileceğini vurgulamaktadır (250).

Gupta ve arkadaşları, Hindistan'da beslenme intoleransı ve solunum sıkıntısı şikayetleri ile başvuran, düşük doğum ağırlıklı prematüre yenidoğan ve altta yatan başka bir hastalığa sahip olmayan erkek bebekte, ülkenin ilk, dünyada ise üçüncü bildirilmiş *C. laurentii* fungemisi olgusunu sunmuşlardır (251).

Berejnoi ve arkadaşları Arjantin'de yerli halktan bağışıklık sistemi sağlam bir pediatrik hastadan, *C. decagattii* kriptokokkozunu ve başarılı tedavisini bildirmişlerdir. İki izolat (kan ve beyin omurilik sıvısı), URA5 genlerinin RFLP analizi ile VGIV olarak genotiplendirilmiş ve MLST ile *C. decagattii* olarak tanımlanmıştır. Arjantin'in Salta eyaletine bağlı yerli halkın yoğun olarak yaşadığı Wichi bölgesindeki yedi yaşındaki kız çocuğu, postprandiyal kusma karın ağrısı ve kabızlık yakınmaları ile başvurmuş ve ilk muayenede depresif bir bilinç düzeyi, uyuşukluk, psikomotor uyarım, boyun tutulması tespit edilmiştir. Özellikle doğa ve evcil hayvanlarla yakın fiziksel temas halinde olan ağaç dallarından yapılmış kulübelerde yaşayan Wichi yerli halkının mensubu olan bir çocuk hastada ilk kriptokokkoz olgusu bildirilmiştir. Doğaya bu yoğun maruziyet ile hastadaki malnütrisyon belirtileri predispozan faktör olarak değerlendirilmiştir (252).

Liou ve arkadaşları, birkaç ay boyunca yüksek doz prednizolon kullanan, 4 gündür devam eden hafif ateş, aralıklı kusma ve baş ağrısı ile başvuran 13 yaşında SLE'li bir kız çocuğunu bildirmiştir. Baş ağrısının, spesifik lokalizasyonu veya bir hastalıkla ilişkili semptomu olmayıp değişken sürelerde aralıklı olarak gerçekleşmiştir. SSS enfeksiyonu şüphesiyle lomber ponksiyon uygulanmıştır. Lateks aglütinasyon yöntemi ile serum ve beyin omurilik sıvısı (BOS) çini mürekkebi boyaması kapsüllü maya mantarı görülmüş ve *Cryptococcus* antijen titresi 1:128 olarak bulunmuştur. BOS kültüründe *Cryptococcus neoformans* üremiştir, ancak kan kültüründe üreme olmamıştır. Hasta iyileşerek taburcu edilmiş ve zamanında tanı ile etkili antifungal tedaviye bağlı olarak herhangi bir nörolojik sekel bırakmamıştır. Ancak, CM'li SLE hastalarının klinik bulguları nonspesifik ve yanıltıcı olduğundan tanı genellikle gözden kaçmakta veya gecikmektedir. Bu sebeple, erken belirti ve semptomlara karşı dikkatli ve hazırlıklı olunmalıdır (253).

Zuma ve arkadaşları, Güney Afrika Cumhuriyeti KwaZulu-Natal bölgesinde serum CrAg testinin uygulanmaya başlandığı ilk yıl olan Haziran 2015–Aralık 2016 tarihleri arasında, bağışıklığı baskılanmış çocuk ve ergenlerde *Cryptococcus* antijenemisi insidansını değerlendirmiştir. Bu çalışmada toplam 22.741 laboratuvar kaydı incelenmiş ancak yinelenen 1074 kayıt ile yetersiz veriye sahip 64 kayıt toplamda 1140 kayıt çalışmadan çıkartılmıştır. Geriye, şiddetli immünsupresif (CD4 sayısı < 100 hücre/ μ L) olan 20.475 yetişkin ve 1.126 pediatrik 21.601 hasta numunesini incelenmiştir. Pediatri grubunda (≤ 19 yaş) pozitif CrAg-LFA insidansı 40/1.126 (%3.5), erişkinlerde ise pozitif CrAg-LFA insidansını 1.194/20.475 (%5.8) olarak çocuklarda yetişkinlere göre önemli ölçüde daha düşük pozitif CrAg insidansı tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p = 0.001$). Ayrıca, CrAg pozitifliği olan hastaların ortalama yaşı çocuklar için 14.63 (± 3.94) ve yetişkinler için 36.65 (± 9.63) bulunmuştur. Bu sonuçlara göre her ne kadar çocuk ve ergenlerde HIV enfeksiyonları erişkinlerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde düşük olsada, uluslararası kılavuzlarda CrAg testinin programatik uygulamasına özellikle 15 ila 19 yaşları arasındaki ergenlerin dahil edilmesini destekleyen daha yüksek bir insidansa sahip olduğu tespit edilmiştir. KwaZulu-Natal bölgesinde serum CrAg testini tanımlayan bu çalışmada, ergenlerin yetişkinlere kıyasla daha düşük *Cryptococcus* antijenemisi insidansına sahip olmasına rağmen ergenlerin serum CrAg testine dahil edilmesini

destekleyen hastalık yükünün azımsanmayacak derecede yüksek olduğu vurgulanmaktadır (254).

Cheng ve arkadaşları öncesinde sağlıklı, normal MR bulguları olan, 15 yaşındaki erkek *Cryptococcus gattii* menenjitli olguda, antifungal tedavinin başlamasından sonra post-infeksiyöz inflamatuvar yanıt sendromu (PIIRS)'na bağlı nörolojik kötüleşmeyi bildirmişlerdir (255).

Miglia ve arkadaşları 01 Ocak 2005–31 Aralık 2006 tarihleri arasında Güney Afrika'da 82 pediatrik olgudan (<15 yaşında) elde edilen klinik *C. neoformans* izolatlarını incelemişlerdir. Bu izolatların multilocus sekans tipini (MLST), çiftleşme tipini, ploidi ve alelik profili belirlenmiş ve serotip A veya C'ye ilişkin üç moleküler tip tüm izolatlarda görülmüştür. *C. neoformans* var. *grubii* (moleküler tipler VNI, VNII ve VNB) ve bir AD hibriti görülmüştür. Suşların yetmiş yedisi (%94) MAT α çiftleşme tipi aleline beşi (%6) ise MAT α olarak bildirilmiştir. Yetmiş beşi (%91) haploid ve yedisi ise diploid idi. Genel olarak, pediatrik izolatlar yüksek genotipik çeşitlilik sergilemiş ve toplam 24 farklı ST tespit edilmiştir. Bu sekans tiplerine (ST) ait kriptokokkoz oranlarında cinsiyete bağlı bir farklılık olmayıp, kız ve erkek hastalar arasında yakın oranlar bulunmasına rağmen, ST8 izolatları ile enfekte olan pediatrik hastaların %84'ü (16/19) erkek olarak tespit edilmiştir ve bu faktörün infeksiyon kökeninin gelişimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu düşünülmektedir. Sonuç olarak ilerleyen zamanlarda ST8 kökeninin nispi virülansını ve kliniği olarak ilgili fenotiplerinin araştırılması vurgulanmıştır (256).

Hong ve arkadaşları 16 yaşın altındaki pediatrik hastalardan izole edilen 22 *C. neoformans* kökeni ile Çin kaynaklı pediatrik kriptokokkozun ilk genotipleme ve antifungal duyarlılık profillerini sunmuşlardır. Çalışmaya dahil edilen izolatlar Çin genelinde 13 farklı ilde yaşayan 25 pediatrik hastadan toplanmıştır. Özetle, pediatrik hastaların çoğunluğu (%80, 20/25) altta yatan bir hastalığa sahip olmayıp sadece üç pediatrik hasta HIV ile enfekte, iki hastada ise sistematik lupus eritematöz (SLE) bulunmuştur. Bu çalışmada, kriptokokkoz hastalığının görülme yaşı ortalama 10.4 $\pm$ 3.5 bulunmuş ve daha büyük çocuklarda meydana gelmesinde ve büyük başlangıç yaşı için, *Cryptococcus* maruziyeti miktarının önemli olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada, Çinli pediatrik hastalardan elde edilen izolatlar arasında düşük genotipik çeşitlilik olup sadece dört ST tanımlanmış ve ST5 aynı zamanda baskın sekans tipidir (%80, 20/25).

Çin'deki yetişkin ve pediatrik hastalar, *C. neoformans* izolatlarını içeren aynı doğal ortama maruz kalabilmeleri ihtimali göz önüne alındığında sonuç şaşırtıcı bulunmamıştır (257).

Beardsley ve arkadaşları, HIV-negatif hastalarda görülen SSS kriptokokkozu ile *C. gattii* infeksiyonlarının ilişkisini irdeleyen çalışmalarında, bu hastaların, konak ve patojen faktörlerine bağlı olarak daha uzun indüksiyon tedavinin gerekliliğini vurgulanmıştır. Ayrıca, HIV-pozitif bireylerde serum CrAg-LFA taramasının, *Cryptococcus* menenjitinin erken tanısında gösterdiği olumlu katkıya benzer, HIV-negatif bireylerin özellikle *C. gattii* yönünden CrAg-LFA taranmasında bir faydanın olup olmadığı konusunda yeterli literatür verisinin olmaması sebebiyle yüksek riskli hasta grubunda asemptomatik kriptokokkozun tanısında LFA'nın kullanılabilirliği yanında duyarlılık ve özgüllük performansının tespitinde daha fazla prospektif çalışmanın gerektiği bildirilmiştir. SSS kriptokokkozuna bağlı yüksek morbiditenin azaltılmasında tedaviye yanıtın izlenmesi gerektiği vurgulanmıştır. Çünkü, serum ve BOS titrelerinin uzun süre yüksek kaldığından (1 ay–1 yıl), tanıda CrAg sonucunun tek başına yeterli olmadığı ve CrAg sonuçlarının klinik değerlendirme ile birlikte yorumlanması gerektiği vurgulanmıştır. Kontrendikasyon riski olmadıkça lomber ponksiyonla BOS incelemesinin zorunlu olduğu ve beyin biyopsisinin de endike olacağı belirtilmiştir. Ayrıca bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı, balgam, kan ve aspirasyon/biyopsi ile diğer klinik örneklerin kültürünün tanı kolaylaştırdığı ve hastalığın boyutu tespitine olanak sağladığı belirtilmiştir. SSS infeksiyonunun, görüntülüne yöntemleriyle, mantar kültürü, pozitif serum veya BOS *Cryptococcus* antijen (CrAg) testi ile tanısı mümkündür. CrAg testiyle tür tiplendirmesi yapılamadığından, kesin teşhis ancak kültür ile mümkün olmaktadır. *Cryptococcus* serolojik tanısında ise beş farklı ticari CrAg LFA testi bulunmaktadır. İlki, ABD'de FDA onaylı ve Avrupa'da CE işaretli IMMY LFA (IMMY- Diagnostics Norman, Oklahoma, ABD)'dir. Bu kit, dünya genelinde büyük ölçekli birçok araştırmada değerlendirilmiştir. Diğer iki LFA kiti olan Biosynex Cypto PS LFA (Avrupa'da CE işaretli Biosynex, Paris, Fransa), StrongStep'in (Liming Bio, Çin) geçerliliği sınırlı olup FDA onayları yoktur. Kalan iki testin ise henüz yayınlanmış validasyon verisinin olmadığı bildirilmiştir (258). Ancak, Karaman ve arkadaşları 2019'da, HIV-pozitif 254 asemptomatik erişkin hasta ile HIV-negatif 100 erişkin kişinin serum örneklerini

Dynamiker® Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay ile incelemiş ve incelenen 254 HIV-pozitif erişkin hastanın 28' inde (%11) örneğinde CrAg seropozitiflik bulmuştur (259).

Shi ve arkadaşları 4 farklı LFA kitinin *C. gattii*/*C. neoformans*'ın 7 alt türünden oluşan 40 *Cryptococcus* suşunu tespit etme performansını araştırmıştır. Bu amaçla; IMMY LFA (IMMY- Diagnostics Norman, Oklahoma, ABD), FungiXpert LFA (Genobio Pharmaceutical, Tianjin, Çin), Dynamiker LFA (Biotechnology, Tianjin, Çin) ve Biosynex (CryptoPS, Ilkirch- Graffenstaden, Fransa) LFA kitleri kullanmışlardır. Genetik çeşitliliği ihmal edilen *Cryptococcus* tür kompleksinin alt türlerinin tespitinde yanlış negatiflik oranlarının araştırıldığı çalışmada; 7 patojen türün tamamı; IMMY LFA ile FungiXpert LFA kitleri tarafından tespit edilirken, 3 serotip (*C. bacillisporus* ile iki adet *C. tetragattii* suşu) Dynamiker LFA tarafından, 8 serotip ise (bir *C. bacillisporus*, bir *C. deuterogattii* ve altı *C. tetragattii* suşu) Biosynex LFA ile tespit edilememiştir. Sonuç olarak, Dynamiker ve Biosynex ticari LFA kitleri tarafından LFA için ortak olarak tespit edilemeyen ve yanlış negatif sonuç veren *C. tetragattii*'nin, yaygın olarak izole edildiği Sahra-altı Afrika'da ve Hindistan, HIV ile ilişkili *Cryptococcus* menenjit olgular ile ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır. Bu, iki ticari LFA kiti için, *C. tetragattii*'nin kör bir nokta olması, çalışmalarda yüksek derecede yalancı-negatif sonuç vermesi büyük endişe kaynağıdır. Ayrıca, *C. tetragattii* kaynaklı infeksiyonların Sahra-altı Afrika'da ve Hindistan gibi HIV ile ilişkili *Cryptococcus* menenjiti vakalarının en fazla olduğu bölgelerde yaygın olması da dikkat edilmesi gereken diğer bir noktadır. Daha da önemlisi, HIV ile ilişkili *Cryptococcus* menenjiti olgularının %13–20 *C. tetragattii* olması ve bu patojen türü tespit edemeyen Biosynex LFA'nın Botswana ve Uganda'da yürütülen çalışmalarda kullanılmış olması ve negatif olarak bildirilen örneklerde; *C. tetragattii* izolatlarının varlığına güçlü bir şekilde işaret etmekte olup sonuçlarda yalancı-negatif örnekler olduğu fikrini desteklemektedir. Bu sebeple, LFA tanı kitlerinin geliştirilmesi ve kontrolü aşamasında patojenik *Cryptococcus*'un genetik çeşitliliğinin, A'dan D'ye kadar olan serotiplerini temsiline dayalı olması yetersiz kalmakta olup bunun yerine güncellenmiş kriptokok taksonomisinin dikkate alınarak yanlış negatife bağlı hassasiyet kaybını azaltılması amaçlanmıştır (260).

Grimshaw ve arkadaşları, Avustralyalı çocuk ve ergenlerde kriptokokkoz insidansını belirlemek için 1923–2016 arasında pediatrik olgularla ilgili literatürü inceleyerek Avustralya’ da ilk pediatrik retrospektif çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. 22 pediatrik kriptokokkoz olgusu belirlenerek medyan yaş 13.5 bulunmuştur. Olguların genelde tropikal/subtropikal ve kırsal/yarı kırsal bölgelerinden geldiği, 16 (%73) olguda Aborjinlerin olduğu bildirilmiş, ayrıca *C. gattii* olguların çoğunun Yeni Güney Galler’in kırsal yerleşim yerlerinden geldiği bildirilmiştir. Ayrıca 17 (%77) olgunun 2000 yılı öncesine ait ve 18/22’sinde (%82) yaygın menenjit veya SSS enfeksiyonu bulunmuştur. Çoğu olgunun en az 20 yıl önce bildirildiğini ve tür düzeyinde tanımlamanın yapılmadığı ancak tür ayrımı yapılan çalışmalarda ise kanavanin-glisin-bromtimol mavisi agar (CGB) kullanıldığı bildirilmiştir. Hasta takibi yapılan önceki dönem olgularda sağkalım oranı 7/18 (%39) ile tedavi süreçleri başarısız iken 2008–2017 yılları arasında Sidney’deki iki pediatri hastanesinde tedavi edilen akciğer ve nörolojik bulgulara sahip altı olgudan ALL ve *C. neoformans* enfeksiyonu olan bir hasta dışında, 5 olgu 5/6 (%83) başarıyla tedavi edilmiştir. Son yıllarda, antifungal tedavide gelişen imkanlar ile artan iyileşme ve sağkalım oranlarına rağmen *Cryptococcus* hastalığının morbiditesi yüksek kalmaya devam etmektedir. Ayrıca, hayatta kalan beş takip hastasının dördündeki iyileşmelere kalıcı sekeller eşlik etmiş olup bunlar; görme kaybı (1), baş ağrısı (1) gibi nörolojik ve kronik solunum hastalığı (2) olarak sıralanmaktadır. Moleküler düzeyde VGI olarak tanımlanan son olgu dışında diğer olgularda moleküler tiplemelere dair bir kayda ulaşılamamıştır. Çocuklarda yüksek mortalite ile ilişkili faktörler arasında yüksek serum CrAg titreleri, kriptokoksemi, SSS enfeksiyonu, hematolojik malignite, organ yetmezliği, intrakraniyal hipertansiyon ve yetersiz tedavi bildirilmiştir. Ayrıca, olguların ilkbahar veya yaz aylarında görülmesinde, okaliptüs ağaçlarının çiçeklenmesiyle infektif propagüllerin solunması düşünülmüştür. Sonuç olarak, Avustralyalı çocuklarda kriptokokkozun nadiren görülmesi rağmen, yüksek morbidite ve yüksek mortalite ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak, bu çocuklarda *Cryptococcus* hastalığının yükünü daha doğru bir şekilde ölçerek ideal tanı ve tedavi stratejilerini belirlemek ve en iyi klinik uygulama kılavuzunun oluşturmak için daha fazla araştırma yapılması gerektiği vurgulanmıştır (261).

Son 20 yılda, *Cryptococcus*'ların laboratuvar tanısı; (i) sonuç alınması günler süren mantar kültüründen, (ii) teknik olarak daha kolay ve hızlı, ancak duyarlılığı daha düşük olan Çini mürekkebine ve (iii) hastalığının erken tanısını basit, hızlı, ucuz ve pratik bir şekilde mümkün kılan, *Cryptococcus* antijenini (CrAg) BOS veya serumda yüksek duyarlılık ve özgüllükte saptayabilen hasta-başı immunokromatografik serolojik test olan LFA (lateral flow assay, yanıl akış testi) ile tespitine ilerlemiştir (198, 262-264). *Cryptococcus* hastalığının tanısındaki bu ilerleme menenjit tanısını geliştirmiş ve etkili tedavinin başlatılmasını hızlandırmıştır. Kısaca, *Cryptococcus* antijenin tespitinde üç yöntem mevcut olup bunlar; (i) lateks aglütinasyon (LA), (ii) enzim immün testi (EIA) ve (iii) yanıl akış immün testidir (LFA). Ancak, 2011'de FDA tarafından onaylanan tek test, IMMY CrAg®-LFA'dır. Dünya Sağlık Örgütü'nde, özellikle laboratuvar altyapısının sınırlı olduğu bölgelerde *Cryptococcus* antijeninin hızlı tanısında kullanılan LA veya LFA testlerini önermiştir (182, 265).

Ülkemizde ilk insan kriptokokkoz olgusu 1953'de bildirilmiştir olup (266) dünyada ve ülkemizde ilk kez rastlanan kolon kriptokokkozu olgusu ise 1965'de bildirilmiştir (267). Daha sonra, 1973'de pankreas kanserli bir hastanın balgamından *C. neoformans* izole edilmiştir (268). Bugüne dek 49 olgu bildirilmiştir. Şöyle ki; 1990'a dek (1953–1990) 11 olgu, sonraki 10 yılda (1991–2000) ise 13 olgu (üçü HIV-pozitif), 2001 sonrasında ise 25 olgu (yedisi HIV-pozitif) şeklindedir. Ayrıca ülkemizde doğal kaynaklardan *C. neoformans*'ın ayrılması ile ilgili çalışmalarda, doğadan en yüksek izolasyon oranı %64.7 ile Muğla Gökova'daki ökalıptus ağaçlarından elde edilirken (169), Denizli'de farklı zamanlarda doğu çınarı ve ökalıptus ağaçlarında yapılan çalışmalar da ise %0 ile en düşük izolasyon oranı bulunmuştur. (168, 171).

Hilmioğlu-Polat ve ark. ülkemizde yoğun nüfusun bulunmasına ve organ nakli gibi immünsüpresyon oluşturan hastalıkların prevalansları gözönüne alındığında her yıl Türkiye genelinde en çok 106 *Cryptococcus* menenjiti olgusunun görülebileceğini ve insidansını da 0.13/100.000 olarak öngörülmüşlerdir (269). Bu düşük orana karşılık, Karaman ve ark. Dynamiker CrAg-LFA testi ile 254 HIV-pozitif asemptomatik erişkinin 28'inde (%11) olarak antijenemisini bildirmişlerdir (259). Prevalansın beklenenden yüksek olmasına karşılık, klinik olarak *Cryptococcus* meningoensefalitinin bildirilmemesi ülkemizdeki düşük kriptokokkoz insidansı ile örtüşmektedir. Çalışmamızda, malignite pozitif grubundaki çocuk hastaların *Cryptococcus* enfeksiyona

Çevresel mazuriyeti irdelendiğinde güvercin ve diğerk kuş türleri ile temas yanında kaliptus, meşe vb. ağaç türlerine temas, sırası ile, 23 (%15.3) ve 11 (%7.3) ocukta bulundu. Bağışıklığı önemli ölçüde baskılanan bu hasta grubunda antijeneminin saptanmaması ayrı bir araştırma konusu olacaktır.

Hastaların ikamet adreslerinin çoğunluğunun 109’u (%72.2) güvercin dışkısında bulunan etkenin uzun süre varlığını sürdürmesine olanak sağılayan sıcak ve nemli iklime sahip olması ile yine bu hasta adreslerinin ülkemizdeki kaliptus dağılımının %70’inin olduğu Ege-Akdeniz bölgesinde olmasına karşılık, hiç antijeneminin görülmemesi, çalışmada beklenen sonuçların uzağında kalmıştır.

Bu durumun, çalışmamız verileri ile literatür verileri ile karşılaştırıldığında çalışmamızı sınırlayan iki önemli parametreden kaynaklandığı düşünülmektedir. Şöyle ki;

1. Öncelikle, 168 ocuk Onkoloji hastasıyla çalışmanın tamamlanması (pandemi ve depremin sınırlaması) elde edilen prevalans oranının daha çok malignite-pozitif hastayla desteklemesini gerektirdiğini göstermiştir.
2. Çalışmamıza yalnızca malignite-pozitif hastalar dahil edilmiş olup, ocuklarda *Cryptococcus* hastalığı için risk oluşturunp bağışıklığı baskılayan diğerk hastalıklar (kemik iliğı transplantasyonu başta olmak üzere çeşitli organ transplantasyonları, tip 2 diyabet, steroid kullanımı ve karaciğerk yetmezliğı) değıerlendirilmelidir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Son yıllarda, bağışıklık sistemini baskılayan yoğun kemoterapötik ve steroid uygulamaları ile organ nakli gibi predispozan faktörlerin artışıyla, insanlarda ve hayvanlarda ölümcül hastalıklara sebep olan bir dizi mantar hastalığı ortaya çıkmıştır.
2. Menenjit başta olmak üzere birçok invazif hastalığın etkeni olabilen *Cryptococcus* cinsi maya mantarlarının erken tanısını hızlı, ucuz ve pratik bir şekilde mümkün kılan yöntem CrAg-LFA (yanal akış testi), önemli bir hasta-başı serolojik testtir.
3. Sunulan çalışmada, 168 Çocuk Onkoloji hastası ile kontrol grubunda yer alan 100 çocuğun serum örneklerinin hepsi IMMY CrAg® LFA testi ile negatif bulundu.
4. Ayrıca, risk grubunda yer alann onkoloji hastası çocuklar ile kemik iliği transplantasyonu (KİT) olmuş çocuk yaş grubunda başka bölgesel ve ülke içerisinde çalışmalar ile desteklenerek ülkemize ait seroprevalans tespit edilmelidir.
5. Ayrıca, başka risk grubundaki hastalar ile farklı iklim veya farklı yaşam biçimine sahip bölgelerdeki çalışmalara ihtiyaç vardır.
6. Bu durum, ülkemizdeki çocuk onkoloji hastalarında kriptokokkozun erken tanısının ve yönetiminin geliştirilmesi yanında standart bir tanı/tedavi protokolünün temellerinin atılmasını sağlayacaktır.
7. Sonuç olarak, önemli bir morbidite ve mortalite etkeni olmasına karşılık, çoğu zaman dikkatten kaçabilen kriptokokkozun erken tanısı (antijenemi varlığını) yanında, iyi klinik bakımı, aile ve sağlık personelinin bilinçlendirilmesi adına sunlan çalışma önemli bir başvuru kaynağı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Brown GD, Denning DW, Gow NA, Levitz SM, Netea MG, White TC.** Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med*, **2012**; 4(165). 165rv13. doi.org/10.1126/scitranslmed.3004404.
2. **Rodrigues ML, Albuquerque PC.** Searching for a change: The need for increased support for public health and research on fungal diseases. *PLoS Negl Trop Dis*, **2018**; 12(6):e0006479. doi.org/10.1371/journal.pntd.0006479.
3. **Fisher MC, Gurr SJ, Cuomo CA, et al.** Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture. *mBio*, **2020**; 11(3):e00449-20. doi:10.1128/mBio.00449-20.
4. **Konopka JB, Casadevall A, Taylor JW, Heitman J, Cowen L.** One health: fungal pathogens of humans, animals and plants. *Colloq. Rep*, **2019**; 1(3). doi.org/10.1128/aamcol.18oct.2017.
5. **Chow SK, Casadevall A.** Evaluation of *Cryptococcus neoformans* galactoxylomannan-protein conjugate as vaccine candidate against murine cryptococcosis. *Vaccine*. **2011** ;29(10):1891-1898. doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.12.134
6. **Maziarz EK, Perfect JR.** Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North A*, **2016**; 30(1):179-206. doi:10.1016/j.idc.2015.10.006.
7. **Blehert DS, Hicks AC, Behr M, et al.** Bat white-nose syndrome: an emerging fungal pathogen? *Science*, **2009**; 323(5911):227. doi:10.1126/science.1163874.
8. **Fraser JA, Giles SS, Wenink EC, et al.** Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. *Nature*, **2005**; 437(7063):1360-1364. doi:10.1038/nature04220
9. **Kidd SE, Hagen F, Tschärke RL, 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. doi:10.1073/pnas.0402981101.
10. **Denning DW.** Minimizing fungal disease deaths will allow the UNAIDS target of reducing annual AIDS deaths below 500 000 by 2020 to be realized. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, **2016**; 371(1709):20150468. doi:10.1098/rstb.2015.0468
11. **Benedict K, Jackson BR, Chiller T, Beer KD.** Estimation of Direct Healthcare Costs of Fungal Diseases in the United States Estimation of Direct Healthcare Costs of Fungal Diseases in the United States. *Clin Infect Dis*, **2019**; 68(11):1791-1797. doi:10.1093/cid/ciy776.
12. **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. doi:10.1097/QAD.0b013e328322ffac.
13. **Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, et al.** Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis*, **2017**; 17(8):873-881. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30243-8.
14. **Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Fianchi L, Martino B, et al.** The epidemiology of fungal infection in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica*, **2006**; 91(8):1068-75. PMID: 16885047.
15. **Pana ZD, Roilides E, Warris A, Groll AH, Zaoutis T.** Epidemiology of Invasive Fungal Disease in Children. *J Pediatric Infect Dis Soc*, **2017**; 6(1):3-11. https://doi.org/10.1093/jpids/pix046.
16. **Groll AH, Castagnola E, Cesaro S, et al.** Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): guidelines for diagnosis, prevention, and treatment of invasive fungal diseases in paediatric patients with cancer or allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation. *Lancet Oncol*, **2014**; 15(8):e327-e340. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70017-8.

17. **Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP.** Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis*, **1999**; 29(2):239-244. doi.org/10.1086/520192.
18. **Kumar J, Singh A, Seth R, Xess I, Jana M, Kabra SK.** Prevalence and Predictors of Invasive Fungal Infections in Children with Persistent Febrile Neutropenia Treated for Acute Leukemia - A Prospective Study. *Indian J Pediatr*, **2018**; 85(12):1090-1095. doi:10.1007/s12098-018-2722-0
19. **King J, Pana ZD, Lehrnbecher T, Steinbach WJ, Warris A.** Recognition and Clinical Presentation of Invasive Fungal Disease in Neonates and Children. *J Pediatric Infect Dis Soc*, **2017**; 16(1):12-21. https://doi.org/10.1093/jpids/pix053.
20. **Fisher BT, Robinson PD, Lehrnbecher T, et al.** Risk Factors for Invasive Fungal Disease in Pediatric Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review. *J Pediatric Infect Dis Soc*, **2018**; 7(3):191-198. doi:10.1093/jpids/pix030
21. **Schwartz RS, Mackintosh FR, Schrier SL, Greenberg PL.** Multivariate analysis of factors associated with invasive fungal disease during remission induction therapy for acute myelogenous leukemia. *Cancer*, **1984**;53(3):411-419.https://doi.org/10.1002/1097-0142(19840201)53:3<411::aid-cnrcr2820530308>3.0.co;2-e.
22. **Tragiannidis A, Fegeler W, Rellensmann G, et al.** Candidaemia in a European Paediatric University Hospital: a 10-year observational study. *Clin Microbiol Infect*, **2012**; 18(2):27-30. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03720.x
23. **Nivoix Y, Velten M, Letscher-Bru V, et al.** Factors associated with overall and attributable mortality in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*, **2008**; 47(9):1176-1184. doi:10.1086/592255
24. **Dornbush HJ, Manzoni P, Roilides E, et al.** Invasive fungal infections in children. *Pediatr Infect Dis*, **2009**; 28:734–737.doi: 10.1097/INF.0b013e3181b076b1.
25. **Kutzing F.** Algarum Aquae dulcis germaniae decas III. *Botanical Garden NY*, **1833**.
26. **Kasımoğlu Ö.** C. neoformans' ın ekolojisi, dağılımı ve kriptokokkoz epidemiyolojisi. C. neoformans ve Kriptokokkoz, Eds Tümbay E. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları*, **1988**; 12:1-8.
27. **Busse O.** Über parasitäre Zelleinschlüsse und ihre Zuchtung. *Zentralbl Bakteriöl*, **1894**; 16:175–180.
28. **Graybill JR.** C. neoformans Infectious Diseases, (Eds) Gorbach, SL, Bartlett YG, Blacklow NR, Philadelphia. **W.B. Saunders Co**, **1992**; 1895- 1899.
29. **Vuillemin JP.** Les blastomycetes pathogenes. *Rev. Gen. Sci*, **1901**; 12:732–751.
30. **Verse M.** Über einen Fall von general isoförmiger Blastomycose beim Menschen. *Dtsch. Pathol. Ges*, **1914**; 17:275–278.
31. **Evans EE.** An Immunologic Comparison of 12 Strains of Cryptococcus neoformans (Torula histolytica). *Proc Soc Exp Biol Med*, **1949**; 71(4):644-646. doi:10.3181/00379727-71-17283.
32. **Lodder J, Kreger-van Rij NJW.** The Yeasts: a Taxonomic Study. *The yeasts-a taxonomic study*,1952.
33. **Kwon-Chung KJ, Edman JC, Wickes BL.** Genetic association of mating types and virulence in Cryptococcus neoformans. *Infect Immun*, **1992**; 60(2):602-605. doi:10.1128/iai.60.2.602-605.1992
34. **Gatti F, Eeckels R.** An atypical strain of Cryptococcus neoformans (San Felice) Vuillemin 1894. *Ann Soc Belges Med Trop Parasitol Mycol*, **1970**; 50(6):689-693.
35. **Vanbreuseghem R, Takashio M.** An atypical strain of Cryptococcus neoformans (San Felice) Vuillemin 1894 II. Cryptococcus neoformans var. gattii var. nov. *Ann Soc Belges Med Trop Parasitol Mycol*, **1970**; 50(6):695-702. PMID: 4933034.

36. **Kwon-Chung KJ, Bennett, JE, Theodore TS.** *Cryptococcus bacillisporus* sp. nov. serotype BC of *Cryptococcus neoformans*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **1978**; 28.4: 616-620. <https://doi.org/10.1099/00207713-28-4-616>.
37. **Perfect JR, Casadevall A.** The history of *Cryptococcus* and Cryptococcosis, In Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect J, Casadevall A, (eds). *Cryptococcus from human pathogens to model yeasts*. ASM Press, 2011; 17-26. <https://doi.org/10.1128/9781555816858.ch2>.
38. **Singh K, Ilkit M, Shokohi T, Toloee A, Malik R, Seyedmousavi S.** Cryptococcosis: Emergence of *Cryptococcus gattii* in animals and zoonotic potential. In: Seyedmousavi S, de Hoog GS, Guillot J, Verweij P, eds. *Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals*, **2018**; 249–287. doi.org/10.1007/978-3-319-72093-7_12.
39. **Barnett JA.** A history of research on yeasts 14: medical yeasts part 2, *Cryptococcus neoformans*. *Yeast*, **2010**; 27(11):875-904. doi:10.1002/yea.1786.
40. **Kwon-Chung, KJ.** *Filobasidiella Kwon-Chung*, In C. P. Kurtzman, J. W. Fell, and T. Boekhout (ed.), *The Yeasts: a Taxonomic Study*. *Filobasidiella Kwon-Chung*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, **2010**; 5:1443–1455.
41. **Kwon-Chung KJ, Bennett JE, Rhodes JC.** Taxonomic studies on *Filobasidiella* species and their anamorphs. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **1982**; 48(1):25-38. doi:10.1007/BF00399484
42. **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. doi:10.1128/JCM.37.3.838-840.1999
43. **Boekhout T, Theelen B, Diaz M, et al.** Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. *Microbiology (Reading)*, **2001**; 147(4):891-907. doi:10.1099/00221287-147-4-891
44. **Meyer W, Castañeda A, Jackson S, Huynh M, Castañeda E;** IberoAmerican Cryptococcal Study Group. Molecular typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* isolates Molecular typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* isolates. *Emerg Infect Dis*, **2003**; 9(2):189-195. doi: 10.3201/eid0902.020246.
45. **Simwami S.** The evolution of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* in the context of clinical disease using multilocus sequence typing. PhD thesis, London, **2011**. doi.org/10.25560/9967.
46. **Liaw SJ, Wu HC, Hsueh PR.** Microbiological characteristics of clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* in Taiwan: serotypes, mating types, molecular types, virulence factors, and antifungal susceptibility. *Clin Microbiol Infect*, **2010**; 16(6):696-703. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02930.x.
47. **Litvintseva AP, Thakur R, Vilgalys R, Mitchell TG.** Multilocus sequence typing reveals three genetic subpopulations of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* (serotype A), including a unique population in Botswana. *Genetics*, **2006**; 172(4):2223-2238. doi:10.1534/genetics.105.046672.
48. **Viviani MA, Cogliati M, Esposto MC, et al.** Molecular analysis of 311 *Cryptococcus neoformans* isolates from a 30-month ECMM survey of cryptococcosis in Europe. *FEMS Yeast Res*, **2006**; 6(4):614-619. doi:10.1111/j.1567-1364.2006.00081.x.
49. **Meyer W, Aanensen DM, Boekhout T, et al.** Consensus multi-locus sequence typing scheme for *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *Med Mycol*, **2009**; 47(6):561-570. doi:10.1080/13693780902953886.
50. **Sorrell TC, Chen SC, Ruma P, et al.** Concordance of clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* by random amplification of polymorphic DNA analysis and PCR fingerprinting. *J Clin Microbiol*, **1996**; 34(5):1253-1260. doi:10.1128/jcm.34.5.1253-1260.1996
51. **Loftus BJ, Fung E, Roncaglia P, et al.** The genome of the basidiomycetous yeast and human pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Science*, **2005**; 307(5713):1321-1324. doi:10.1126/science.1103773.

52. **Hagen F, Khayhan K, Theelen B, et al.** Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. *Fungal Genet Biol*, **2015**; 78:16-48. doi:10.1016/j.fgb.2015.02.009.
53. **Kwon-Chung KJ, Bennett JE, Wickes BL, et al.** The Case for Adopting the "Species Complex" Nomenclature for the Etiologic Agents of Cryptococcosis. *mSphere*, **2017**;2(1).doi: 10.1128/mSphere.00357-16.
54. **Setianingrum F, Rautemaa-Richardson R, Denning DW.** Pulmonary cryptococcosis: A review of pathobiology and clinical aspects. *Med Mycol*, **2019**; 57(2):133-150. doi:10.1093/mmy/myy086
55. **Montoya MC, Magwene PM, Perfect JR.** Associations between *Cryptococcus* Genotypes, Phenotypes, and Clinical Parameters of Human Disease: A Review. *J Fungi (Basel)*, **2021**; 7(4):260. doi:10.3390/jof7040260
56. **Beardsley J, Dao A, Keighley C, et al.** What's New in *Cryptococcus gattii*: From Bench to Bedside and Beyond. *J Fungi (Basel)*, **2022**; 9(1):41. doi: 10.3390/jof9010041.
57. **Casadevall A, Steenbergen JN, Nosanchuk JD.** 'Ready made' virulence and 'dual use' virulence factors in pathogenic environmental fungi--the *Cryptococcus neoformans* paradigm. *Curr Opin Microbiol*, **2003**; 6(4):332-337. doi:10.1016/s1369-5274(03)00082-1
58. **Kwon-Chung KJ, Rhodes JC.** Encapsulation and melanin formation as indicators of virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*, **1986**; 51(1):218-223. doi:10.1128/iai.51.1.218-223.1986
59. **Rathore SS, Raman T, Ramakrishnan J.** Magnesium Ion Acts as a Signal for Capsule Induction in *Cryptococcus neoformans*. *Front Microbiol*, **2016**; 7:325. doi:10.3389/fmicb.2016.00325
60. **Cordero RJ, Frases S, Guimarães AJ, Rivera J, Casadevall A.** Evidence for branching in cryptococcal capsular polysaccharides and consequences on its biological activity. *Mol Microbio*, **2011**; 79(4):1101-1117. doi: 10.1111/j.1365-2958.2010.07511.x.
61. **Pierini LM, Doering TL.** Spatial and temporal sequence of capsule construction in *Cryptococcus neoformans*. *Mol Microbiol*, **2001**; 41(1):105-115. doi:10.1046/j.1365-2958.2001.02504.x
62. **Zaragoza O, Rodrigues ML, De Jesus M, Frases S, Dadachova E, Casadevall A.** The capsule of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Adv Appl Microbiol*, **2009**; 68:133-216. doi:10.1016/S0065-2164(09)01204-0
63. **Free SJ.** Fungal cell wall organization and biosynthesis. *Adv Genet*, **2013**; 81:33-82. doi:10.1016/B978-0-12-407677-8.00002-6
64. **Gilbert NM, Lodge JK, Specht CA.** The cell wall of *Cryptococcus*. In: Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect J, Casadevall A. *Cryptococcus From Human Pathogen to Model Yeast*. Washington: *ASM Press*, **2011**; 67–79.
65. **Reese AJ, Yoneda A, Breger JA, et al.** Loss of cell wall alpha(1-3) glucan affects *Cryptococcus neoformans* from ultrastructure to virulence. *Mol Microbiol*, **2007**; 63(5):1385-1398. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05551.x
66. **Ikeda R, Sugita T, Jacobson ES, Shinoda T.** Effects of melanin upon susceptibility of *Cryptococcus* to antifungals. *Microbiol Immunol*, **2003**; 47(4):271-277. doi:10.1111/j.1348-0421.2003.tb03395.x
67. **Salas SD, Bennett JE, Kwon-Chung KJ, Perfect JR, Williamson PR.** Effect of the laccase gene CNLAC1, on virulence of *Cryptococcus neoformans*. *J Exp Med*, **1996**; 184(2):377-386. doi: 10.1084/jem.184.2.377.
68. **Wang Y, Aisen P, Casadevall A.** *Cryptococcus neoformans* melanin and virulence: mechanism of action. *Infect Immun*, **1995**; 63(8):3131-3136. doi: 10.1128/iai.63.8.3131-3136.1995.
69. **Casadevall A, Rosas AL, Nosanchuk JD.** Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Curr Opin Microbiol*, **2000**; 3(4):354-358. doi:10.1016/s1369-5274(00)00103

70. **Yang Z, Pascon RC, Alspaugh A, Cox GM, McCusker JH.** Molecular and genetic analysis of the *Cryptococcus neoformans* MET3 gene and a met3 mutant. *Microbiology (Reading)*, **2002**; 148(8):2617-2625. doi: 10.1099/00221287-148-8-2617.
71. **Perfect JR.** *Cryptococcus neoformans*: the yeast that likes it hot. *Cryptococcus neoformans: the FEMS Yeast Res*, **2006**; 6(4):463-468. doi:10.1111/j.1567-1364.2006.00051.x.
72. **Robert VA, Casadevall A.** Vertebrate endothermy restricts most fungi as potential pathogens. *J Infect Dis*, **2009**; 200(10):1623-1626. doi:10.1086/644642.
73. **Littman ML, Borok R.** Relation of the pigeon to cryptococcosis: natural carrier state, heat resistance and survival of *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathol Mycol Appl*, **1968**;35(3):329-345. doi:10.1007/BF02050749.
74. **Mobley HL, Hausinger RP.** Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiol Rev*, **1989**; 53(1):85-108. doi:10.1128/mr.53.1.85-108.1989.
75. **Ma H, May RC.** Virulence in *Cryptococcus* species. *Adv Appl Microbiol*, **2009**; 67:131-190. doi:10.1016/S0065-2164(08)01005-8.
76. **Okagaki LH, Strain AK, Nielsen JN, et al.** Cryptococcal cell morphology affects host cell interactions and pathogenicity. *PLoS Pathog*, **2010**; 6(6): e1000953. doi: 10.1371/journal.ppat.1000953.
77. **Zaragoza O, Nielsen K.** Titan cells in *Cryptococcus neoformans*: cells with a giant impact. *Curr Opin Microbiol*, **2013**; 16(4):409-413. doi:10.1016/j.mib.2013.03.006
78. **Sionov E, Lee H, et al.** *Cryptococcus neoformans* overcomes stress of azole drugs by formation of disomy in specific multiple chromosomes. *PLoS Pathog*, **2010**; 6(4): e1000848. doi:10.1371/journal.ppat.1000848.
79. **Levitz SM, Dupont MP, Smail EH.** Direct activity of human T lymphocytes and natural killer cells against *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*, **1994**; 62(1):194-202. doi:10.1128/iai.62.1.194-202.1994.
80. **Liappis AP, Kan VL, Richman NC, Yoon B, Wong B, Simon GL.** Mannitol and inflammatory markers in the cerebral spinal fluid of HIV-infected patients with cryptococcal meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2008**; 27(6):477-479. doi:10.1007/s10096-008-0462-1.
81. **Liu TB, Subbian S, Pan W, Eugenin E, Xie J, Xue C.** *Cryptococcus* inositol utilization modulates the host protective immune response during brain infection. *Cell Commun Signal*, **2014**; 12:51. doi:10.1186/s12964-014-0051-0.
82. **Benaducci T, Sardi JD, Lourencetti NM, Scorzoni L, Gullo FP, Rossi SA, Derissi JB, de Azevedo Prata MC, Fusco-Almeida AM, Mendes-Giannini MJ.** Virulence of *Cryptococcus* sp. biofilms in vitro and in vivo using *Galleria mellonella* as an alternative model. *Frontiers in microbiology*, **2016**; 9(7):290. doi:10.3389/fmicb.2016.00290.
83. **Martinez LR, Casadevall A.** Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*, **2006**; 50(3):1021-1033. doi:10.1128/AAC.50.3.1021-1033.2006
84. **Fries BC, Goldman DL, Cherniak R, Ju R, Casadevall A.** Phenotypic switching in *Cryptococcus neoformans* results in changes in cellular morphology and glucuronoxylomannan structure. *Infect Immun*, **1999**; 167(11):6076-6083. doi:10.1128/IAI.67.11.6076-6083.1999.
85. **Jain N, Fries BC.** Phenotypic switching of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *Mycopathologia*, **2008**; 166(4):181-188. doi:10.1007/s11046-008-9137-9.
86. **Jung WH, Sham A, White R, Kronstad JW.** Iron regulation of the major virulence factors in the AIDS-associated pathogen *Cryptococcus neoformans*. *PLoS Biol*, **2016**; 14(3): e1002410. doi: 10.1371/journal.pbio.0040410.

87. **Bairwa G, Hee Jung W, Kronstad JW.** Iron acquisition in fungal pathogens of humans Iron acquisition in fungal pathogens of humans. *Metallomics*, **2017**; 9(3):215-227. doi:10.1039/c6mt00301j.
88. **Jiménez-Expósito MJ, Bulló Bonet M, Alonso-Villaverde C, et al.** Micronutrientes en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y su relación con la respuesta inflamatoria (Micronutrients in HIV-infection and the relationship with the inflammatory response). *Med Clin (Barc)*, **2002**; 119(20):765-769.
89. **Nielsen K, Marra RE, Hagen F, et al.** Interaction between genetic background and the mating-type locus in *Cryptococcus neoformans* virulence potential. *Genetics*, **2005**; 171(3):975-983. doi:10.1534/genetics.105.045039.
90. **Fraser JA, Hsueh YP, Findley KM, Heitman J.** Evolution of the mating-type locus: the basidiomycetes. *Sex in fungi: Molecular determination and evolutionary implication*, **2007**; 19-34. doi.org/10.1128/9781555815837.ch2.
91. **Fraser JA, Diezmann S, Subaran RL, et al.** Convergent evolution of chromosomal sex-determining regions in the animal and fungal kingdoms. *PLoS Biol*, **2004**; 2(12):e384. doi:10.1371/journal.pbio.0020384.
92. **Casadevall A, Perfect JR.** *Cryptococcus neoformans*. Washington. ASM press, **1998**; 595. doi.org/10.1023/A:1007095100541.
93. **Yauch LE, Lam JS, Levitz SM.** Direct inhibition of T-cell responses by the *Cryptococcus* capsular polysaccharide glucuronoxylomannan. *PLoS Pathog*, **2006**; 2(11):e120. doi:10.1371/journal.ppat.0020120.
94. **Jain N, Cook E, Xess I, Hasan F, Fries D, Fries BC.** Isolation and characterization of senescent *Cryptococcus neoformans* and implications for phenotypic switching and pathogenesis in chronic cryptococcosis. *Eukaryot Cell*, **2009**; 8(6):858-866. doi:10.1128/EC.00017-09.
95. **Almeida F, Wolf JM, Casadevall A.** Virulence-Associated Enzymes of *Cryptococcus neoformans*. *Eukaryot Cell*, **2015**; 14(12):1173-1185. doi:10.1128/EC.00103-15.
96. **Chen LC, Blank ES, Casadevall A.** Extracellular proteinase activity of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Diagn Lab Immunol*, **1996**; 3(5):570-574. doi: 10.1128/cdli.3.5.570-574.1996.
97. **Kavanaugh LA, Fraser JA, Dietrich FS.** Recent evolution of the human pathogen *Cryptococcus neoformans* by intervarietal transfer of a 14-gene fragment. *Mol Biol Evol*, **2006**; 23(10):1879-1890. doi:10.1093/molbev/msl070
98. **Kwon-Chung KJ, Bennett JE.** Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Am J Epidemiol*, **1984**; 120(1):123-130. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a113861
99. **Emmons CW.** Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). *Am J Hyg*, **1955**; 62(3):227-232. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a119775
100. **Sabiiti W, May RC.** Mechanisms of infection by the human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Future Microbiol*, **2012**; 7(11):1297-1313. doi:10.2217/fmb.12.102
101. **Litvintseva AP, Kestenbaum L, Vilgalys R, Mitchell TG.** Comparative analysis of environmental and clinical populations of *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol*, **2005**; 43(2):556-564. doi:10.1128/JCM.43.2.556-564.2005
102. **Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung, KJ, Perfect JR, Casadevall A.** *Cryptococcus*: from human pathogen to model yeast. ASM press, **2010**. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70140-2.
103. **García-Rivera J, Casadevall A.** Melanization of *Cryptococcus neoformans* reduces its susceptibility to the antimicrobial effects of silver nitrate. *Med Mycol*, **2001**; 39(4):353-357. doi:10.1080/mmy.39.4.353.357.

104. **Walter JE, Yee RB.** Factors that determine the growth of *Cryptococcus neoformans* in avian excreta. *American journal of epidemiology*, **1968**; 88(3):445-450. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a120906>.
105. **Perfect, JR.** *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 8th. Philadelphia: Elsevier Saunders, **2015**; (8):2934-48.
106. **Sun HY, Alexander BD, Lortholary O, et al.** Unrecognized pretransplant and donor-derived cryptococcal disease in organ transplant recipients. *Clin Infect Dis*, **2010**; 51(9):1062-1069. doi:10.1086/656584
107. **Velagapudi R, Hsueh YP, Geunes-Boyer S, Wright JR, Heitman J.** Spores as infectious propagules of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*, **2009**; 77(10):4345-4355. doi: 10.1128/IAI.00542-09.
108. **Sarıgül F, Üser Ü, Öztoprak N.** *Cryptococcus neoformans* meningitis with renal involvement in an HIV-positive patient: A case report. *KLİMİK Derg*, **2018**; 31(2):153- 156. doi: 10.5152/kd.2018.36
109. **Chuang YM, Ho YC, Chang HT, Yu CJ, Yang PC, Hsueh PR.** Disseminated cryptococcosis in HIV-uninfected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2008**; 27(4):307-310. doi:10.1007/s10096-007-0430-1
110. **Balasko A, Keynan Y.** Shedding light on IRIS: from Pathophysiology to Treatment of Cryptococcal Meningitis and Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome in HIV-Infected Individuals. *HIV Med*, **2019**; 20(1):1-10. doi:10.1111/hiv.12676
111. **Ngamskulrungron 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):e00103-12. doi:10.1128/mBio.00103-12
112. **Satpute MG, Telang NV, Litake GM, Niphadkar KB, Joshi SG.** Prevalence of cryptococcal meningitis at a tertiary care centre in Western India (1996-2005). *J Med Microbiol*, **2006**; 55(9):1301-1302. doi:10.1099/jmm.0.46657-0
113. **Graybill JR, Sobel J, Saag M, et al.** Diagnosis and management of increased intracranial pressure in patients with AIDS and cryptococcal meningitis. The NIAID Mycoses Study Group and AIDS Cooperative Treatment Groups. *Clin Infect Dis*, **2000**; 30(1):47-54. doi:10.1086/313603
114. **Offiah CE, Turnbull IW.** The imaging appearances of intracranial CNS infections in adult HIV and AIDS patients. *Clin Radiol*, **2006**; 61(5):393-401. doi:10.1016/j.crad.2006.01.008
115. **Katchanov J, Blehschmidt C, Nielsen K, et al.** Cryptococcal meningoencephalitis relapse after an eight-year delay: an interplay of infection and immune reconstitution. *Int J STD AIDS*, **2015**; 26(12):912-914. doi:10.1177/0956462414563630
116. **Tien RD, Chu PK, Hesselink JR, Duberg A, Wiley C.** Intracranial cryptococcosis in immunocompromised patients: CT and MR findings in 29 cases. *AJNR Am J Neuroradiol*, **1991**; 12(2):283-289.
117. **Wiesner DL, Klein BS.** Lung epithelium: barrier immunity to inhaled fungi and driver of fungal-associated allergic asthma. *Curr Opin Microbiol*, **2017**; 40:8-13. doi:10.1016/j.mib.2017.10.007
118. **Tseng HK, Huang TY, Wu AY, Chen HH, Liu CP, Jong A.** How *Cryptococcus* interacts with the blood-brain barrier. *Future Microbiol*, **2015**; 10(10):1669-1682. doi:10.2217/fmb.15.83
119. **Pyrgos V, Seitz AE, Steiner CA, Prevots DR, Williamson PR.** Epidemiology of cryptococcal meningitis in the US: 1997-2009. *PLoS One*, **2013**; 8(2):e56269. doi:10.1371/journal.pone.0056269
120. **Hay RJ, Ashbee HR.** Cryptococcosis. In Rook's textbook of dermatology 9th ed. (Griffiths C, Barker J, Bleiker T, Chalmers R, Creamer D ed). Wiley-Blackwell, Oxford, **2016**; 32:92-93.

121. **Grossman ME, Fox LP, Kovarik C, Rosenbach M.** Cutaneous manifestations of infection in the immunocompromised host. *Springer Science & Business Media*, **2012**.
122. **Noguchi H, Hiruma M, Maruo K, et al.** Localized Cutaneous Cryptococcosis: Summary of Reported Cases in Japan. *Med Mycol J*, **2016**; 57(3):E35-E39. doi:10.3314/mmj.15-00024.
123. **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. doi:10.1001/archderm.1996.03890290079010.
124. **Wada R, Nakano N, Yajima N, et al.** Granulomatous prostatitis due to Cryptococcus neoformans: diagnostic usefulness of special stains and molecular analysis of 18S rDNA. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, **2008**; 11(2):203-206. doi:10.1038/sj.pcan.4501031
125. **Bozeman CB, Carver BS, Eastham JA, Venable DD.** Treatment of chronic prostatitis lowers serum prostate specific antigen. *J Urol*, **2002**; 167(4):1723-1726. doi.org/10.1097/00005392-200204000-00032.
126. **Slade JD, Hepburn B.** Prednisone-induced alterations of circulating human lymphocyte subsets. *J Lab Clin Med*, **1983**; 101(3):479-487.
127. **Sungkanuparph S, Filler SG, Chetchotisakd P, et al.** Cryptococcal immune reconstitution inflammatory syndrome after antiretroviral therapy in AIDS patients with cryptococcal meningitis: a prospective multicenter study. *Clin Infect Dis*, **2009**; 49(6):931-934. doi:10.1086/605497.
128. **Boulware DR, Meya DB, Bergemann TL, et al.** Clinical features and serum biomarkers in HIV immune reconstitution inflammatory syndrome after cryptococcal meningitis: a prospective cohort study. *PLoS Med*, **2010**; 7(12):e1000384. doi:10.1371/journal.pmed.1000384.
129. **Rhein J, Hullsiek KH, Evans EE, et al.** Detrimental Outcomes of Unmasking Cryptococcal Meningitis With Recent ART Initiation. *Open Forum Infect Dis*, **2018**; 5(8):ofy122. doi:10.1093/ofid/ofy122.
130. **Müller M, Wandel S, Colebunders R, et al.** Immune reconstitution inflammatory syndrome in patients starting antiretroviral therapy for HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, **2010**; 10(4):251-261. doi:10.1016/S1473-3099(10)70026-8.
131. **Boulware DR, Meya DB, Muzooru C, et al.** Timing of antiretroviral therapy after diagnosis of cryptococcal meningitis. *N Engl J Med*, **2014**; 370(26):2487-2498. doi:10.1056/NEJMoa1312884.
132. **McCarthy KM, Morgan J, Wannemuehler KA, et al.** Population-based surveillance for cryptococcosis in an antiretroviral-naïve South African province with a high HIV seroprevalence. *AIDS*, **2006**; 20(17):2199-2206. doi:10.1097/QAD.0b013e3280106d6a.
133. **Gonzalez CE, Shetty D, Lewis LL, Mueller BU, Pizzo PA, Walsh TJ.** Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J*, **1996**; 15(9):796-800. doi:10.1097/00006454-199609000-00012.
134. **Lizarazo J, Escandón P, Agudelo CI, Castañeda E.** Cryptococcosis in Colombian children and literature review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **2014**; 109(6):797-804. doi:10.1590/0074-0276130537.
135. **Goldman DL, Khine H, Abadi J, et al.** Serologic evidence for Cryptococcus neoformans infection in early childhood. *Pediatrics*, **2001**; 107(5):E66. doi:10.1542/peds.107.5.e66.
136. **Speed BR, Kaldor J.** Rarity of cryptococcal infection in children. *Pediatr Infect Dis J*, **1997**; 16(5):536-537. doi:10.1097/00006454-199705000-00024.
137. **Abadi J, Pirofski La.** Antibodies reactive with the cryptococcal capsular polysaccharide glucuronoxylomannan are present in sera from children with and without human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*, **1999**; 180(3):915-919. doi:10.1086/314953.
138. **Yuanjie Z, Jianghan C, Nan X, et al.** Cryptococcal meningitis in immunocompetent children. *Mycoses*, **2012**; 55(2):168-171. doi:10.1111/j.1439-0507.2011.02063.x.

139. **Joshi NS, Fisher BT, Prasad PA, Zaoutis TE.** Epidemiology of cryptococcal infection in hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J*, **2010**; 29(12):e91-e95. doi:10.1097/INF.0b013e3181fbc83d.
140. **Kantarcıoğlu AS, Yücel A.** Türkiye’de insan kriptokokkozunun epidemiyolojisi (1953-2003). *Cerrahpaşa Tıp Derg*, **2003**; 34(2): 95-109.
141. **Liu L, Guo L, Liu Y, et al.** Clinical characteristics and prognosis of pediatric cryptococcosis in Beijing Children's Hospital, 2002-2014. *Eur J Pediatr*, **2017**; 176(9):1235-1244. doi:10.1007/s00431-017-2974-0.
142. **Blyth CC, Palasanthiran P, O'Brien TA.** Antifungal therapy in children with invasive fungal infections: a systematic review. *Pediatrics*, **2007**; 119(4):772-784. doi:10.1542/peds.2006-2931.
143. **Allende M, Pizzo PA, Horowitz M, Pass HI, Walsh TJ.** Pulmonary cryptococcosis presenting as metastases in children with sarcomas. *Pediatr Infect Dis J*, **1993**; 112(3):240-243. doi:10.1093/pid/112.3.240.
144. **Londero MR, Zanrosso CD, Corso LL, Michelin L, Soldera J.** Catheter-related infection due to *Papiliotrema laurentii* in an oncologic patient: Case report and systematic review. *Braz J Infect Dis*, **2019**; 23(6):451-461. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2019.10.005>.
145. **Kaur H, Gupta P, Pilania R, et al.** Trend of pediatric cryptococcosis in a tertiary care centre and review of literature. *Indian J Med Microbiol*, **2023**; 43:18-29. doi:10.1016/j.ijmmb.2022.11.002
146. **Kowatari R, Suzuki Y, Daitoku K, Fukuda I.** Cryptococcal infective endocarditis in a child with acute lymphocytic leukaemia. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, **2019**; 28(4):642-644. doi:10.1093/icvts/ivy291
147. **Khursheed N, Umer A, Adnan F.** Disseminated cryptococcal infection in a lymphoma suspected patient. *Pak J Med Sci*, **2022**; 38(2):430-432. doi:10.12669/pjms.38.ICON-2022.5784
148. **McEvoy K, Normile TG, Del Poeta M.** Antifungal Drug Development: Targeting the Fungal Sphingolipid Pathway. *J Fungi (Basel)*, **2020**; 6(3):142. Published 2020 Aug 20. doi:10.3390/jof6030142
149. **Spina-Tensini T, Muro MD, Queiroz-Telles F, et al.** Geographic distribution of patients affected by *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* species complexes meningitis, pigeon and tree populations in Southern Brazil. *Mycoses*, **2017**; 60(1):51-58. doi:10.1111/myc.12550
150. **Leimann BC, Koifman RJ.** Cryptococcal meningitis in Rio de Janeiro State, Brazil, 1994-2004. *Cad Saude Publica*, **2008**; 24(11):2582-2592. doi:10.1590/s0102-311x2008001100013
151. **Chariyalertsak S, Sirisanthana T, Saengwonloey O, Nelson KE.** Clinical presentation and risk behaviors of patients with acquired immunodeficiency syndrome in Thailand, 1994-1998: regional variation and temporal trends. *Clin Infect Dis*, **2001**; 32(6):955-962. doi:10.1086/319348
152. **Abegg MA, Cella FL, Faganello J, Valente P, Schrank A, Vainstein MH.** *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolated from the excreta of psittaciformes in a southern Brazilian zoological garden. *Mycopathologia*, **2006**; 161(2):83-91. doi:10.1007/s11046-005-0186-z
153. **Kamari A, Sepahvand A, Mohammadi R.** Isolation and molecular characterization of *Cryptococcus* species isolated from pigeon nests and Eucalyptus trees. *Curr Med Mycol*, **2017**; 3(2):20-25. doi:10.29252/cmm.3.2.20
154. **Cogliati M, D'Amicis R, Zani A, et al.** Environmental distribution of *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* around the Mediterranean basin. *FEMS Yeast Res*, **2016**; 16(7). <https://doi.org/10.1093/femsyr/fow045>.
155. **Rhodes J, Desjardins CA, Sykes SM, et al.** Tracing Genetic Exchange and Biogeography of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* at the Global Population Level. *Genetics*, **2017**; 207(1):327-346. doi:10.1534/genetics.117.203836.

156. **Anzai MC, Lazéra Mdos S, Wanke B, et al.** Cryptococcus gattii VGII in a Plathymenia reticulata hollow in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Mycoses*, **2014**; 57(7):414-418. doi:10.1111/myc.12177.
157. **Khayhan K, Hagen F, Norkaew T, Puengchan T, Boekhout T, Sriburee P.** Isolation of Cryptococcus gattii from a Castanopsis argyrophylla tree hollow (Mai-Kaw), Chiang Mai, Thailand. *Mycopathologia*, **2017**; 182(3-4):365-370. doi:10.1007/s11046-016-0067-7.
158. **Desmet P, Kayembe KD, De Vroey C.** The value of cryptococcal serum antigen screening among HIV-positive/AIDS patients in Kinshasa, Zaire. *AIDS*, **1989**; 3(2):77-78. doi:10.1097/00002030-198902000-00004.
159. **Kumarasamy N, Solomon S, Flanigan TP, Hemalatha R, Thyagarajan SP, Mayer KH.** Natural history of human immunodeficiency virus disease in southern India. *Clin Infect Dis*, **2003**; 36(1):79-85. doi:10.1086/344756.
160. **Vajpayee M, Kanswal S, Seth P, Wig N.** Spectrum of opportunistic infections and profile of CD4+ counts among AIDS patients in North India. *Infection*, **2003**; 31(5):336-340. doi:10.1007/s15010-003-3198-y.
161. **Mirza SA, Phelan M, Rimland D, et al.** The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992-2000. *Clin Infect Dis*, **2003**; 36(6):789-794. doi:10.1086/368091.
162. **Yilmaz A, Göral G, Helvacı S, et al.** Cryptococcus neoformans'ın güvercin dışkılarındaki dağılımı (Distribution of Cryptococcus neoformans in pigeon feces). *Mikrobiyol Bul*, **1989**; 23(2):121-126.
163. **Aygün G.** İstanbul'da Cryptococcus Neoformans'ın Doğal Kaynaklarda Varlığının Araştırılması. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, **1998**; 29(1):18-22.
164. **Ergin C, İlkit M, Hilmioğlu S, et al.** The first isolation of Cryptococcus neoformans from Eucalyptus trees in South Aegean and Mediterranean Regions of Anatolia in Turkey despite Taurus Mountains alkalinity. *Mycopathologia*, **2004**; 158(1):43-47. doi:10.1023/b:myco.0000038431.72591.7e
165. **Ateş A, Ergin Ç, İlkit M.** Anadolu anıt ağaçlarında Cryptococcus neoformans' ın araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, **2006**; 20(1):57-60.
166. **İlkit M, Ateş A, Turaç-Biçer A, Yula E.** Environmental study of Cryptococcus neoformans in and around Adana, Turkey. *Annals of microbiology*, **2006**; 56:97-99.
167. **Derici YK, Tümbay E.** İzmir ilinde doğal ve klinik Cryptococcus neoformans kökenlerinin varyete ve serotipleri. *İnfeks Derg*, **2008**; 22:53-8.
168. **Erdem F, Akıdan M, Duman B, Ergin Ç.** Denizli-Karahayit Bölgesindeki Eucalyptus Camaldulensis Ağaçlarından Cryptococcus Neoformans Varlığının Araştırılması. *Pamukkale Medical Journal*, **2009**; 2(3):134.
169. **Ergin Ç.** Gökova bölgesinde eküvyon tekniği ile yüksek oranda çevresel Cryptococcus neoformans izolasyonu. *Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg*, **2010**.
170. **Ergin C, Kaleli I.** Denizli şehir merkezinde kovuklu ağaç gövdelerinden Cryptococcus neoformans izolasyonu (Isolation of Cryptococcus neoformans from living tree trunk hollows in Denizli City Center, Turkey). *Mikrobiyol Bul*, **2010**; 44(1):79-85.
171. **Ergin Ç, Şengül M, Kiriş Ö, Yıldırım R, Mehmet G.** Platanus orientalis (Doğu çınarı) ağaç kovuklarında Cryptococcus neoformans kolonizasyonunun takibi. *Pamukkale Medical Journal*, **2010**; 3(2):60.
172. **Pelek Ş, Altınkaya S, Korkmaz UB, Ergin Ç.** Denizli şehir merkezinde güvercin (Columba livia) çıkartılarında Cryptococcus neoformans varlığının araştırılması. *Pamukkale Medical Journal*, **2011**; 4(1): 21.

173. **Gökçen H, Ergin Ç.** Muğla Milas ilçe yerleşimi bölgesi *Eucalyptus camaldulensis* ağaçlarından *Cryptococcus neoformans* izolasyonu. *Pamukkale Tıp Dergisi*, **2014**; 7(2):109-112.
174. **Şengül M, Kutlu M, Döğen A, et al.** Denizli bölgesinde kestane (*Castanea sativa*) ağacından *Cryptococcus neoformans* izolasyonu [Isolation of *Cryptococcus neoformans* from a chesnut tree (*Castanea sativa*), Denizli, Turkey. *Mikrobiyol Bul*, **2019**; 53(1):61-69. doi:10.5578/mb.67583.
175. **Günyar ÖA, Voltaş A, Yamaç M, Uztan AH.** Düz kır Mağarasının (Niğde, Aladağlar) İçi ve Dışından Alınan Toprak Örneklerinde *Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma capsulatum* Varlığının Araştırılması. *Mantar Dergisi*, **2019**; 10(1):17-22. doi:10.30708mantar.471952.
176. **Peker MT, Ergin C.** Kriptokokkoz için risk faktörü olarak Alanya şehir merkezinde *Cryptococcus neoformans* kolonizasyonunun ilk izolasyonu. *Pamukkale Medical Journal*, **2022**; 15(1):23-28. doi.org/10.31362/patd.873972
177. **Rivera V, Gaviria M, Munoz-Cadavid C, Cano L, Naranjo T.** Validation and clinical application of a molecular method for the identification of *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* complex DNA in human clinical specimens. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **2015**; 19,563-570. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.07.006.
178. **Feigin DS.** Pulmonary cryptococcosis: radiologic-pathologic correlates of its three forms. *AJR Am J Roentgenol*, **1983**; 141(6):1262-1272. doi:10.2214/ajr.141.6.1262
179. **Sudhakaran S, Bashoura L, Stewart J, Balachandran DD, Faiz SA.** Pulmonary *Cryptococcus* Presenting as a Solitary Pulmonary Nodule. *Am J Respir Crit Care Med*, **2017**; 196(9):1217-1218. doi:10.1164/rccm.201703-0601IM
180. **Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, et al.** Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis*, **2010**; 50(3):291-322. doi:10.1086/649858
181. **Rolfes MA, Hullsiek KH, Rhein J, et al.** The effect of therapeutic lumbar punctures on acute mortality from cryptococcal meningitis published correction appears. *Clin Infect Dis*, **2014**; 59(11):1607-1614. doi:10.1093/cid/ciu596.
182. **Boulware DR, Rolfes MA, Rajasingham R, et al.** Multisite validation of cryptococcal antigen lateral flow assay and quantification by laser thermal contrast. *Emerg Infect Dis*, **2014**; 20(1):45-53. doi:10.3201/eid2001.130906.
183. **Chayakulkeeree M, Perfect JR.** Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am*, **2006**; 20(3):507-vi. doi:10.1016/j.idc.2006.07.001.
184. **Harris J, Lockhart S, Chiller T.** *Cryptococcus gattii*: where do we go from here? *Med Mycol*, **2012**; 50(2):113-129. doi:10.3109/13693786.2011.607854.
185. **Perfect JR, Casadevall A.** *Cryptococcosis*. *Infect Dis Clin North Am*, **2002**; 16(4):837-vi. doi:10.1016/s0891-5520(02)00036-3.
186. **Kwon Chung KJ, Bennett JE.** Cryptococcosis. In: Kwon-Chung, KJ and Bennett JE, Eds. *Medical Mycology*, Lea & Febiger, Philadelphia, **1992**; 397-446.
187. **Tanner DC, Weinstein MP, Fedorciw B, Joho KL, Thorpe JJ, Reller L.** Comparison of commercial kits for detection of cryptococcal antigen. *J Clin Microbiol*, **1994**; 32(7):1680-1684. doi:10.1128/jcm.32.7.1680-1684.1994.
188. **Diamond RD, Bennett JE.** Prognostic factors in cryptococcal meningitis. A study in 111 cases. *Ann Intern Med*, **1974**; 80(2):176-181. doi:10.7326/0003-4819-80-2-176.
189. **Cooper BH.** Clinical laboratory evaluation of a screening medium (CN screen) for *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol*, **1980**; 11(6):672-674. doi:10.1128/jcm.11.6.672-674.1980.
190. **Dominic RS, Prashanth H, Shenoy S, Baliga S.** Diagnostic value of latex agglutination in cryptococcal meningitis. *J Lab Physicians*, **2009**; 1(2):67-68. doi:10.4103/0974-2727.59702.

191. **Bloomfield N, Gordon MA.** Detection Of Cryptococcus Neoformans Antigen In Body Fluids By Latex Particle Agglutination. *Proc Soc Exp Biol Med*, **1963**; 114:64-67. doi:10.3181/00379727-114-28586.
192. **Vidal JE, Boulware DR.** Lateral Flow Assay For Cryptococcal Antigen: An Important Advance To Improve The Continuum Of Hiv Care And Reduce Cryptococcal Meningitis-Related Mortality. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, **2015**; (19):38-45. doi:10.1590/S0036-46652015000700008.
193. **Bangs Laboratories, Inc.** Lateral Flow Tests, Inc. TechNote. **2013**; 303:1-6.
194. **Millipore.** Rapid Lateral Flow Test Strips Considerations for Product Development. **2008**.
195. **Sajid M, Kawde AN, Daud M.** Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*, **2015**; 19(6):689-705.
196. **Bahadır EB, Sezgintürk MK.** Lateral flow assays: Principles, designs and labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **2016**; 82:286-306.
197. **O'Farrell B.** Evolution in lateral flow-based immunoassay systems, in *Lateral Flow Immunoassay*. Humana Press. **2009**; 1-33.
198. **Temfack E, Rim JJB, Spijker R, et al.** Cryptococcal Antigen in Serum and Cerebrospinal Fluid for Detecting Cryptococcal Meningitis in Adults Living With Human Immunodeficiency Virus: Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies. *Clin Infect Dis*, **2021**; 72(7):1268-1278. doi:10.1093/cid/ciaa1243.
199. **Saha DC, Xess I, Biswas A, Bhowmik DM, Padma MV.** Detection of Cryptococcus by conventional, serological and molecular methods. *J Med Microbiol*, **2009**; 58(8):1098-1105. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.007328-0>.
200. **Huang HR, Fan LC, Rajbanshi B, Xu JF.** Evaluation of a new cryptococcal antigen lateral flow immunoassay in serum, cerebrospinal fluid and urine for the diagnosis of cryptococcosis: a meta-analysis and systematic review. *PLoS One*, **2015**; 10(5):e0127117. doi.org/10.1371/journal.pone.0127117.
201. **Binnicker MJ, Jespersen DJ, Bestrom JE, Rollins LO.** Comparison of four assays for the detection of cryptococcal antigen. *Clin Vaccine Immunol*, **2012**; 19(12):1988-1990. doi:10.1128/CVI.00446-12
202. **McMullan BJ, Halliday C, Sorrell TC, et al.** Clinical utility of the cryptococcal antigen lateral flow assay in a diagnostic mycology laboratory. *PLoS One*, **2012**; 7(11):e49541. doi:10.1371/journal.pone.0049541
203. **Vijayan T, Bauman S, Chiller T, Klausner J.** Test performance of a novel lateral-flow assay to detect cryptococcal disease. *Infectious Disease Week*, **2012**; 16-21.
204. **Kabanda T, Siedner MJ, Klausner JD, Muzoora C, Boulware DR.** Point-of-care diagnosis and prognostication of cryptococcal meningitis with the cryptococcal antigen lateral flow assay on cerebrospinal fluid. *Clin Infect Dis*, **2014**; 58(1):113-116. doi:10.1093/cid/cit641
205. **Lourens A, Jarvis JN, Meintjes G, Samuel CM.** Rapid diagnosis of cryptococcal meningitis by use of lateral flow assay on cerebrospinal fluid samples: influence of the high-dose "hook" effect. *J Clin Microbiol*, **2014**; 52(12):4172-4175. doi:10.1128/JCM.01683-14
206. **Jitmuang A, Panackal AA, Williamson PR, Bennett JE, Dekker JP, Zelazny AM.** Performance of the Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay in Non-HIV-Related Cryptococcosis. *J Clin Microbiol*, **2016**; 54(2):460-463. doi:10.1128/JCM.02223-15
207. **Cáceres DH, Zuluaga A, Tabares ÁM, Chiller T, González Á, Gómez BL.** Evaluation of a Cryptococcal antigen Lateral Flow Assay in serum and cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of cryptococcosis in Colombia. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, **2017**; 59:e76. doi.org/10.1590/S1678-9946201759076.

208. **Kwobah CM, Oduor C, Injera W, Siika A.** Sensitivity and specificity of cryptococcal antigen lateral flow assay for the diagnosis of HIV-associated cryptococcal meningitis in western Kenya. *East African Medical Journal*, **2018**; 95: 2.
209. **Schub T, Forster J, Suerbaum S, Wagener J, Dichtl K.** Comparison of a Lateral Flow Assay and a Latex Agglutination Test for the Diagnosis of *Cryptococcus Neoformans* Infection. *Curr Microbiol*, **2021**; 78(11):3989-3995. doi:10.1007/s00284-021-02664-w
210. **Malavika K, Premamalini T, Kindo AJ.** Evaluation of Lateral Flow Assay for the Diagnosis of Cryptococcal Meningitis and its Comparison with the Gold Standard and Other Laboratory Tests. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*, **2022**; 16: 3. doi.org/10.7860/jcdr/2022/52172.16138.
211. **Meyer W.** *Cryptococcus gattii* in the Age of Whole-Genome Sequencing. *mBio*, **2015**; 6(6):e01761-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.01761-15>.
212. **Dromer F, Varma A, Ronin O, Mathoulin S, Dupont B.** Molecular typing of *Cryptococcus neoformans* serotype D clinical isolates. *J Clin Microbiol*, **1994**; 32(10):2364-2371. doi:10.1128/jcm.32.10.2364-2371.1994.
213. **D'Souza CA, Kronstad JW, Taylor G, et al.** Genome variation in *Cryptococcus gattii*, an emerging pathogen of immunocompetent hosts. *mBio*, **2011**; 2(1):e00342-10. doi:10.1128/mBio.00342-10.
214. **Beale MA, Sabiiti W, Robertson EJ, et al.** Genotypic Diversity Is Associated with Clinical Outcome and Phenotype in Cryptococcal Meningitis across Southern Africa. *PLoS Negl Trop Dis*, **2015**; 9(6):e0003847. doi:10.1371/journal.pntd.0003847.
215. **Cogliati M.** Global Molecular Epidemiology of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*: An Atlas of the Molecular Types. *Scientifica (Cairo)*, **2013**; 675213. doi:10.1155/2013/675213.
216. **Taha M, Tartor YH, Ibrahim SZ, Abd El-Aziz RM.** Molecular typing and susceptibility profile of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* species complex: An updated review. *J Anim Health Prod*, **2020**; 9:17-26. doi:10.17582/journal.jahp/2020/9.s1.17.26.
217. **Hong N, Chen M, Xu J.** Molecular Markers Reveal Epidemiological Patterns and Evolutionary Histories of the Human Pathogenic *Cryptococcus*. *Front Cell Infect Microbiol*, **2021**; 11:683670. doi:10.3389/fcimb.2021.683670.
218. **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. doi:10.1371/journal.pone.0037566.
219. **Danesi P, Drigo I, Iatta R, et al.** MALDI-TOF MS for the identification of veterinary non-*C. neoformans-C. gattii* *Cryptococcus* spp. isolates from Italy. *Med Mycol*. **2014**;52(6):659-666. doi:10.1093/mmy/myu031.
220. **Posteraro B, Vella A, Cogliati M, et al.** Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based method for discrimination between molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *J Clin Microbiol*, **2012**; 50(7):2472-2476. doi:10.1128/JCM.00737-12.
221. **Siqueira LPM, Gimenès VMF, de Freitas RS, et al.** Evaluation of Vitek MS for Differentiation of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* Genotypes. *J Clin Microbiol*, **2019**; 57(1):e01282-18. Published 2019 Jan 2. doi:10.1128/JCM.01282-18.
222. **Gazzoni AF, Pegas KL, Severo LC.** Técnicas histopatológicas no diagnóstico de criptococose por *Cryptococcus* deficiente de cápsula: relato de caso (Histopathological techniques for diagnosing cryptococcosis due to capsule-deficient *Cryptococcus*: case report). *Rev Soc Bras Med Trop*, **2008**; 41(1):76-78. doi:10.1590/s0037-86822008000100015.

223. **Gazzoni AF, Severo CB, Barra MB, Severo LC.** Atypical micromorphology and uncommon location of cryptococcosis: a histopathologic study using special histochemical techniques (one case report). *Mycopathologia*, **2009**; 167(4):197-202. doi:10.1007/s11046-008-9169-1.
224. **Dromer F, Levitz SM.** Invasion of *Cryptococcus* into the central nervous system, In Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect J, Casadevall A, Eds. *Cryptococcus from human pathogens to model yeasts*, **2011**; 465–471. doi.org/10.1128/9781555816858.ch34.
225. **Bicanic T, Harrison T, Niepieklo A, Dyakopu N, Meintjes G.** Symptomatic relapse of HIV-associated cryptococcal meningitis after initial fluconazole monotherapy: the role of fluconazole resistance and immune reconstitution. *Clin Infect Dis*, **2006**; 43(8):1069-1073. doi:10.1086/507895.
226. **Chen S, Sorrell T, Nimmo G, et al.** Epidemiology and host- and variety-dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. Australasian Cryptococcal Study Group. *Clin Infect Dis*, **2000**; 31(2):499-508. doi:10.1086/313992.
227. **Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, et al.** Global trends in the antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* (1990 to 2004). *J Clin Microbiol*, **2005**; 43(5):2163-2167. doi:10.1128/JCM.43.5.2163-2167.2005.
228. **Mota Fernandes C, Del Poeta M.** Fungal sphingolipids: role in the regulation of virulence and potential as targets for future antifungal therapies. *Expert Rev Anti Infect Ther*, **2020**; 18(11):1083-1092. doi:10.1080/14787210.2020.1792288.
229. **Gray KC, Palacios DS, Dailey I, et al.** Amphotericin primarily kills yeast by simply binding ergosterol. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2012**; 109(7):2234-2239. doi:10.1073/pnas.1117280109.
230. **Anderson TM, Clay MC, Cioffi AG, et al.** Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. *Nat Chem Biol*, **2014**; 10(5):400-406. doi:10.1038/nchembio.1496.
231. **Wilcock BC, Endo MM, Uno BE, Burke MD.** C2'-OH of amphotericin B plays an important role in binding the primary sterol of human cells but not yeast cells. *J Am Chem Soc*, **2013**; 135(23):8488-8491. doi:10.1021/ja403255s.
232. **Liu M, Chen M, Yang Z.** Design of amphotericin B oral formulation for antifungal therapy. *Drug Deliv*, **2017**; 24(1):1-9. doi:10.1080/10717544.2016.1225852.
233. **Bellmann R, Smuszkiewicz P.** Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. *Infection*, **2017**; 45(6):737-779. doi:10.1007/s15010-017-1042-z.
234. **Vermes A, Guchelaar HJ, Dankert J.** Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. *J Antimicrob Chemother*, **2000**; 46(2):171-179. doi:10.1093/jac/46.2.171.
235. **Bongomin F, Oladele RO, Gago S, Moore CB, Richardson MD.** A systematic review of fluconazole resistance in clinical isolates of *Cryptococcus* species. *Mycoses*, **2018**; 61(5):290-297. doi:10.1111/myc.12747.
236. **Kartalija M, Kaye K, Tureen JH, et al.** Treatment of experimental cryptococcal meningitis with fluconazole: impact of dose and addition of flucytosine on mycologic and pathophysiologic outcome. *J Infect Dis*, **1996**; 173(5):1216-1221. doi:10.1093/infdis/173.5.1216.
237. **Brammer KW, Farrow PR, Faulkner JK.** Pharmacokinetics and tissue penetration of fluconazole in humans. *Rev Infect Dis*, **1990**; 12(3):S318-S326. doi:10.1093/clinids/12.supplement_3.s318.
238. **Nematollahi S, Dioverti-Prano V.** Cryptococcal infection in haematologic malignancies and haematopoietic stem cell transplantation. *Mycoses*, **2020**; 63(10):1033-1046. doi:10.1111/myc.13153.

239. **Abassi M, Boulware DR, Rhein J.** Cryptococcal Meningitis: Diagnosis and Management Update. *Curr Trop Med Rep*, **2015**; 2(2):90-99. doi:10.1007/s40475-015-0046-y.
240. **Williamson PR, Jarvis JN, Panackal AA, et al.** Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. *Nat Rev Neurol*, **2017**; 13(1):13-24. doi:10.1038/nrneurol.2016.167.
241. **Yamamura D, Xu J.** Update on Pulmonary Cryptococcosis. *Mycopathologia*, **2021**; 186(5):717-728. doi:10.1007/s11046-021-00575-9.
242. **Xu XL, Zhao T, Harypursat V, Lu YQ, Li Y, Chen YK.** Asymptomatic cryptococcal antigenemia in HIV-infected patients: a review of recent studies. *Chin Med J (Engl)*, **2020**; 133(23):2859-2866. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000001134>.
243. **McCarthy K, Meintjes G et al.** Guidelines for the prevention, diagnosis and management of cryptococcal meningitis and disseminated cryptococcosis in HIV-infected patients: Guideline. *Southern African Journal of HIV Medicine*, **2007**; (28):25-35. doi.org/10.4102/sajhivmed.v8i3.617.
244. **Chang LW, Phipps WT, Kennedy GE, Rutherford GW.** Antifungal interventions for the primary prevention of cryptococcal disease in adults with HIV. *Cochrane Database Syst Rev*, **2005**; (3). doi: 10.1002/14651858.
245. **Chetchotisakd P, Sungkanuparph S, Thinkhamrop B, Mootsikapun P, Boonyaprawit P.** A multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of primary cryptococcal meningitis prophylaxis in HIV-infected patients with severe immune deficiency. *HIV Med*, **2004**; 5(3):140-143. doi:10.1111/j.1468-1293.2004.00201.x.
246. UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic. XVII International AIDS Conference, Mexico City. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2008.
247. World Health Organization. Rapid Advice: Diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children. Geneva, Switzerland: WHO; 2011.
248. Center for Disease Control (CDC). Cryptococcus: screening for opportunistic infection among people living with HIV/AIDS. 2018. <https://www.cdc.gov/fungal/pdf/at-a-glance-508c.pdf>
249. CrAg®-LFA. Cryptococcal antigen lateral flow assay. [[https://www.immy.com/package_inserts/cr2003/CR2003%20IFU%20\(Int'l\)%20-%20English.pdf](https://www.immy.com/package_inserts/cr2003/CR2003%20IFU%20(Int'l)%20-%20English.pdf)] (Erişim tarihi: 01.06.2023).
250. **Luo FL, Tao YH, Wang YM, Li H.** Clinical study of 23 pediatric patients with cryptococcosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, **2015**; 19(20):3801-3810.
251. **Gupta M, Mishra AK, Singh SK.** Cryptococcus laurentii fungemia in a low birth weight preterm neonate: India. *J Infect Public Health*, **2018**; 11(6):896-897. doi:10.1016/j.jiph.2018.04.012.
252. **Berejnoi A, Taverna CG, Mazza M, et al.** First case report of cryptococcosis due to Cryptococcus decagattii in a pediatric patient in Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop*, **2019**; 52:e20180419. doi:10.1590/0037-8682-0419-2018.
253. **Liou J, Chiu C, Tseng C, Chi C, Fu L.** Cryptococcal meningitis in pediatric systemic lupus erythematosus. *Mycoses*, **2003**; 46(3-4):153-156. doi:10.1046/j.1439-0507.2003.00861.x.
254. **Zuma P, Ramsamy Y, Mlisana K, Archary M.** Serum Cryptococcal Antigen Testing in Immunosuppressed HIV-positive Children and Adolescents. *Pediatr Infect Dis J*, **2020**; 39(3):217-220. doi:10.1097/INF.0000000000002538.
255. **Cheng JH, Cheema R, Williamson PR, Dimitriadis VR.** Case Report: Paradoxical Inflammatory Response Syndrome in a Previously Healthy, HIV-Negative, Pediatric Patient With Cryptococcus gatii Meningitis. *Front Pediatr*, **2021**; 9:703895. doi:10.3389/fped.2021.703895.

256. **Miglia KJ, Govender NP, Rossouw J, Meiring S, Mitchell TG et al.** Analyses of pediatric isolates of *Cryptococcus neoformans* from South Africa. *J Clin Microbiol*, **2011**; 49(1):307-314. <https://doi.org/10.1128/JCM.01277-10>.
257. **Hong N, Chen M, Xu N, et al.** Genotypic diversity and antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolates from paediatric patients in China. *Mycoses*, **2019**; 62(2):171-180. doi:10.1111/myc.12863.
258. **Beardsley J, Sorrell TC, Chen SC.** Central Nervous System Cryptococcal Infections in Non-HIV Infected Patients. *J Fungi (Basel)*, **2019**; 5(3):71. doi:10.3390/jof5030071.
259. **Karaman E, Ilkit M, Kuşçu F.** Identification of *Cryptococcus* antigen in human immunodeficiency virus-positive Turkish patients by using the Dynamiker® lateral flow assay. *Mycoses*, **2019**; 62(10):961-968. doi:10.1111/myc.12969.
260. **Shi D, Haas PJ, Boekhout T, Hahn RC, Hagen F.** Neglecting Genetic Diversity Hinders Timely Diagnosis of *Cryptococcus* Infections. *J Clin Microbiol*, **2021**; 159(4):e02837-20. doi:10.1128/JCM.02837-20.
261. **Grimshaw A, Palasanthiran P, Huynh J, Marais B, Chen S, McMullan B.** Cryptococcal infections in children: retrospective study and review from Australia. *Future Microbiol*, **2019**; 14:1531-1544. doi:10.2217/fmb-2019-0215.
262. **Hansen J, Slechta ES, Gates Hollingsworth MA et al.** Large-scale evaluation of the immuno-mycologies lateral flow and enzyme-linked immunoassays for detection of cryptococcal antigen in serum and cerebrospinal fluid. *Clinical and vaccine immunology CVI*, **2013**; 20:52–5. <https://doi.org/10.1128/CVI.00536-12>.
263. **Percival A, Thorkildson P, Kozel TR.** Monoclonal antibodies specific for immunorecessive epitopes of glucuronoxylomannan, the major capsular polysaccharide of *Cryptococcus neoformans*, reduce serotype bias in an immunoassay for cryptococcal antigen. *Clin Vaccine Immunol*, **2011**;18:1292–6.
264. **Bridge S, et al.** Evaluation of the biofire flmarray meningitis/encephalitis panel in adult and pediatric Ugandan population. *J Med Mycol*, **2021**; 31: 101170.
265. **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.
266. **Soysal ŞS, Unat EK, Tahsinoğlu M.** Bir *Cryptococcus* vakası. *Türk Tıp Encümeni Arşivi*, **1953**; 4:115.
267. **Unat EK, Yücel A.** Konak dışında *C. neoformans* ve *H. capsulatum* araştırmaları. *Tıp Fak Mecm*, **1965**; 28(1):47-51.
268. **Anğ Ö, et al.** Balgamdan izole edilen *Cryptococcus neoformans* suşu. *İstanbul Tıp Fak Mec*, **1973**; 36: 850.
269. **Hilmioğlu-Polat S, Seyedmousavi S, Ilkit M, et al.** Estimated burden of serious human fungal diseases in Turkey. *Mycoses*, **2019**; 62(1):22-31. doi:10.1111/myc.12842.