

## بررسی فراوانی عوامل قارچی در ضایعات مشکوک به آپاندیسیت

دکتر سید جمال هاشمی (استادیار)\*، عبدالناصر محمدی (دانشجو)\*\*، دکتر سید حسین میر هندی (استاد یار)\*،

دکتر ساسان رضایی (استادیار)\*

\* واحد قارچ‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

\*\* عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

### چکیده

زمینه و هدف: تهاجم قارچ به بافت‌های بدن انسان تقریباً از اوایل سال ۱۸۰۰ میلادی شناخته شده و از سال ۱۹۰۰ به بعد گزارشات فراوان از بیماری‌های قارچی ارائه شده است. در حالیکه امروزه پیشرفت‌های وسیعی در مورد درمان و پیشگیری از عفونت‌های قارچی پاتوژن صورت گرفته است و از موارد بروز آن تا حدودی کاسته شده است ولی به همان نسبت بر میزان بروز عفونت‌های فرصت طلب افزوده شده است. لذا با توجه به اهمیت بررسی عوامل قارچی در اعضاء مختلف از جمله دستگاه گوارش و همچنین اندک بودن مطالعات در این زمینه در ایران و جهان تصمیم به بررسی فراوانی عوامل قارچی در بیماران با ضایعات مشکوک به آپاندیسیت گرفته شد.

روش بررسی: به همین منظور این بررسی به مدت ۶ ماه بر روی بیمارانی که دچار آپاندیسیت مشکوک می‌شدند و مورد عمل جراحی قرار می‌گرفتند انجام شد. روش مطالعه در این بررسی از نوع توصیفی - مقطعی بوده است. از نمونه‌های جدا شده از بیماران آزمایش مستقیم و کشت بعمل آمد. نمونه‌ها بر روی محیط سابورو دکستروز آگار کلر امفتیکل دار (SC) کشت داده شدند و آزمایش مستقیم نیز با استفاده از پتاس ۱۰٪ انجام شد.

یافته‌ها: در این بررسی تعداد ۲۰۰ نمونه آپاندیسیت مشکوک جراحی شده مورد پژوهش قرار گرفت، که از این میزان تعداد ۱۰ مورد قارچ ۵ درصد جدا شد که به ترتیب شامل کاندیدا آلیکنس (۴۰٪)، کاندیدا تروپیکالیس (۲۰٪)، گونه ژنوتریکوم (۲۰٪)، گونه ای کریپتوکوکوس (۱۰٪) و از سایر گونه‌های مخمیری (۱۰٪) بوده است.

نتیجه‌گیری: با وجودی که عوامل قارچی در ۵ درصد از آپاندیسیت‌های مشکوک بدست آمده اند، با توجه به اینکه فراوانی عوامل قارچی در بافت آپاندیس کم است و هیچکدام از بیماران سابقه مصرف دارو و بیماری‌های زمینه‌ای را ندارند در نتیجه نمی‌توان درمان دارویی را به سمت داروهای ضد قارچی سوق داده تا از میزان جراحی‌ها کاسته شود.

کلید واژه‌ها: آپاندیسیت، کاندیدا آلیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کریپتوکوکوس

### زمینه و هدف

فراوان از بیماری‌های قارچی ارائه شده است (۱). در حالیکه امروزه پیشرفت‌های وسیعی در مورد درمان و پیشگیری از عفونت‌های قارچی پاتوژن صورت گرفته است و از موارد بروز

تهاجم قارچ به بافت‌های بدن انسان تقریباً از اوایل سال ۱۸۰۰ میلادی شناخته شده و از سال ۱۹۰۰ به بعد گزارشات

بررسی عوامل قارچی مورد استفاده قرار می‌گرفت. نمونه جدا شده جهت بررسی عوامل قارچی داخل ظرف حاوی سرم فیزیولوژی قرار داده می‌شد. با توجه به اینکه مخمرها سریع‌الرشد هستند سریعاً اقدامات آزمایشگاهی روی نمونه انجام می‌شد.

نمونه آپاندیسیت را داخل یک پلیت استریل قرار داده به کمک اسکالپل و پنس، آپاندیسیت را که ساختمان لوله‌ای شکل دارد از هم باز کرده و بافت و مخاط داخل آنرا تکه تکه نموده و به دو روش مورد آزمایش قرار داده می‌شد.

### آزمایش مستقیم

قسمتی از بافتی که به تکه‌های کوچک تقسیم شده‌اند را روی لام تمیزی قرار داده، یک قطره پتاس ۱۰٪ به آن اضافه کرده روی آن لاملی قرار می‌دادیم، بعد از گذشت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه نمونه‌های شفاف شده را با کمک عدسی ۱۰ و ۴۰ میکروسکوپ مورد آزمایش قرار می‌دادیم.

### کشت

قسمت دیگری از بافت را روی محیط ساپورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل (SC) کشت داده و چند روز در حرارت ۳۰ درجه قرار داده می‌شوند، کلرامفنیکل معمولاً به میزان 50mg/lit به محیط S اضافه می‌شود، در حالیکه در این بررسی به علت مقاومت باکتری‌ها و مهار نشدن آنها از غلظت 200 mg/lit کلرامفنیکل استفاده شد که در این غلظت رشد باکتریها مهار و فقط قارچها رشد نمودند. نمونه‌ای که کشت آن مثبت شد جهت تعیین گونه مورد بررسی بیشتری قرار می‌گرفت.

از تمام نمونه‌هایی که لام مستقیم و کشت آنها مثبت بود لام پاتولوژی تهیه و با رنگ آمیزی‌های بافتی H&E و GMS رنگ شده و مورد بررسی میکروسکوپی قرار می‌گرفتند. با توجه به اینکه تمام قارچ‌های جدا شده مخمر بودند بنابراین راههای تشخیص آنها با قارچهای رشته‌ای متفاوت است. شکل ظاهری آنها کمترین اهمیت را دارد و خصوصیات فیزیولوژیکی آنها از بیشترین ارزش تشخیصی برخوردار می‌باشد.

آن تا حدودی کاسته شده است ولی به همان نسبت بر میزان بروز عفونتهای فرصت طلب افزوده شده است (۲).

در حال حاضر عفونتهای قارچی فرصت طلب ثانویه بوده و نهایتاً در میزبان‌های دارای نقص ایمنی بویژه آنهائیکه گرانولوسیتوپنی زیر ۱۰۰۰ سلول دارند دیده می‌شوند. عفونت‌های گوارشی با گونه‌های کاندیدا اغلب نتیجه درمان با آنتی‌بیوتیکها می‌باشد (۳).

آپاندیسیت حاد، شایع ترین حالت نیازمند جراحی شکم به طور اورژانسی می‌باشد. آپاندیسیت دارای عوامل اتیولوژیک متعدد بوده که انسداد مجرا عامل اصلی آن است. این انسداد در ۳۰-۴۰ درصد موارد و گاهی ۵۰-۸۰ درصد موارد موجب آپاندیسیت می‌گردد. شایعترین عامل انسداد، فکالیت بوده و به نسبت کمتر هیپرتروفی لنفوئید، قرار گرفتن نخم و دانه سبزیجات، میوه جات و کرمهای روده‌ای در ایجاد آن دخالت دارند (۴،۵).

بر اساس مطالعات انجام شده قارچهای اسپریژیلوس، موکور و کاندیدا بصورت Case Report از ضایعه آپاندیسیت جدا شده اند (۷،۸)، لذا با توجه به اهمیت بررسی عوامل قارچی در اعضاء مختلف از جمله دستگاه گوارش و همچنین اندک بودن مطالعات در این زمینه در ایران و جهان به بررسی فراوانی عوامل قارچی در بیمارانی که با علائم بالینی مشکوک آپاندیسیت تحت عمل جراحی قرار گرفتند پرداختیم.

### روش بررسی

مطالعه حاضر، از نوع مطالعه توصیفی-مقطعی (Descriptive-cross sectional) می‌باشد.

این مطالعه به مدت ۶ ماه یعنی از اول اسفند سال ۱۳۸۲ تا پایان تیر ۱۳۸۳ بر روی بیمارانی که در بیمارستانهای تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی لرستان به لحاظ کلینیکی دچار آپاندیسیت شده بودند انجام گرفت. در این مدت ۲۰۰ نمونه بافت آپاندیسیت جراحی شده مورد بررسی قرار گرفت.

ضایعه آپاندیسیت پس از جدا شدن از بیمار به دو قسمت تقسیم می‌شد، قسمت اول داخل ظرف حاوی فرمالین جهت بررسی پاتولوژی و قسمت دوم که مورد نظر ما بود جهت

کپسول‌دار مشکوک به کریبتوکوکوس و ۱ مورد از سایر گونه‌های مخمری بود.

از ۱۰ مورد قارچ تشخیص داده شده ۳ مورد هم در آزمایش مستقیم و هم در کشت نتیجه مثبت داشتند و در هر ۱۰ مورد در مقاطع آسیب شناسی قارچی مشاهده نشد. با توجه به اینکه ایزولاسیون مخمر کپسول‌دار از بافت آپاندیس غیرعادی می‌باشد و جزء مایکوفلورای دستگاه گوارش بدن انسان نمی‌باشد. مخمر کپسول‌دار مشکوک مورد بررسی بیشتری قرار گرفت که شامل: تهیه سومپانسیون و تلقیح به حیوان حساس آزمایشگاهی (موش سفید سوری)، محیط کشت نایجر، تست اوره، تست جذب قندها و احیاء نیترات، PCR و RFLP می‌باشد و نتیجه آن به صورت جدول زیر نمایش داده شده است. نتایج حاصل از PCR و RFLP به صورت تصاویر ۱ و ۲ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱

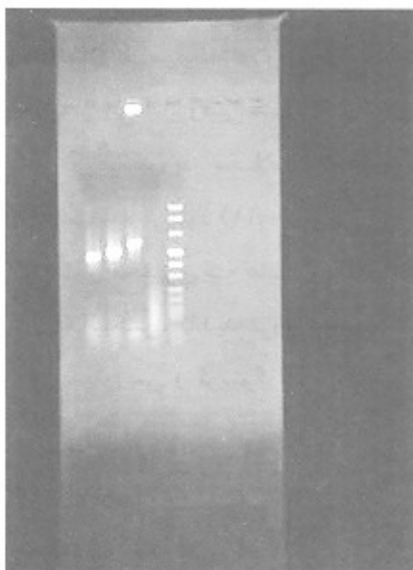
نوع تست	نتیجه تست
محیط کشت نایجر	-
تست اوره	+
تلقیح به حیوان آزمایشگاهی	±
تست جذب قندها	+
تست احیاء نیترات	-
PCR	+
RFLP	-

آزمایش‌هایی که جهت تشخیص و افتراق این قارچها مورد استفاده قرار گرفتند شامل ایجاد کلامید و کونیدی، تست جرم تیوپ، تست اوره آز، جذب قندها و احیاء نیترات، محیط کروم آگار، تزریق به موش سفید سوری، تست کورن میل آگار CT و انجام PCR و RFLP بوده است.

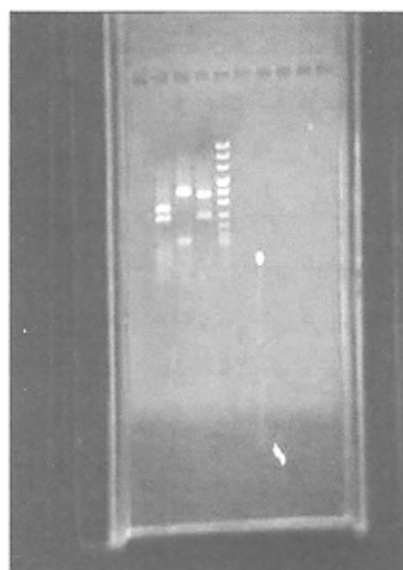
## یافته‌ها

به منظور بررسی میزان فراوانی آلودگی‌های قارچی در بیماران با ضایعات آپاندیستی مشکوک از اسفند ماه سال ۱۳۸۲ تا مرداد ۱۳۸۳ به مدت شش ماه ۲۰۰ بیمار که به بیمارستانهای شهر خرم آباد خصوصاً بیمارستان شهدای عشایر که مهم ترین مرکز بیمارستانی تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی لرستان می‌باشد مراجعه نموده و دچار آپاندیسیت مشکوک شده بودند مورد عمل جراحی قرار گرفتند، زانده آپاندیس آنها جدا و مورد بررسی قارچ شناسی قرار گرفت.

میانگین سنی جمعیت مورد مطالعه ۲۳/۳ سال (۱۱/۸۳ = SD) که ۶۰٪ آنها مذکر با میانگین سنی ۲۳/۱۷ سال (۱۱/۵۴ = SD) و ۴۰٪ آنها مؤنث با میانگین سنی ۲۳/۵ سال (۱۱/۲۵ = SD) است. در این بررسی از تمام نمونه‌ها آزمایش مستقیم و کشت به عمل آمده و تنها ۱۰ مورد قارچ جدا گردید که شامل ۶ مورد کاندیدا (۴ کاندیدا آلیکنس و ۲ کاندیدا تروپیکالیس)، ۲ مورد زئو تریکوم، ۱ مورد مخمر



تصویر شماره ۲- RFLP



تصویر شماره ۱- PCR

گونه‌های کاندیدا از دستگاه گوارش بین ۰ تا ۵۵ درصد می‌باشد که این میزان در بعضی مقالات تا ۹۰٪ نیز گزارش شده است. بقیه گونه‌های کاندیدا قدرت بیماری‌زایی محدودی دارند اما می‌توانند اشکال بالینی کاندیداپازیس را ایجاد نمایند. عفونت ناشی از گونه‌های دیگر مخمر نیز در طول دهه گذشته افزایش یافته است (۱۴-۱۲). ژنوتریکوم مخمر دیگری است که فلور نرمال دستگاه گوارش بوده، و می‌تواند از طریق مواد غذایی و دستگاه تنفس نیز وارد بدن انسان شود و در بیماران دارای سیستم ایمنی معیوب ایجاد ژنوتریکوزیس نماید. فونگمی و عفونت ناشی از تروما نیز توسط این قارچ گزارش شده است. دستگاه گوارش انسان از بقیه قارچ‌ها از جمله دیگر گونه‌های مخمری نیز در امان نیست. کریپتوکوکوس نئوفورمنس در ۶ تا ۸ درصد بیماران ایدزی بیماری ایجاد می‌کند. این قارچ دارای یک کپسول پلی‌ساکاریدی از جنس گلوکورونوزایلو مانان بوده که یک فاکتور ویرولاس مهم محسوب می‌شود (۱۵). مخمر اوهره از مثبت و کپسول‌داری که از ضایعه آپاندیسیت جدا شده از مرد ۱۹ ساله‌ای بدست آمده که سابقه تماس طولانی با کیوتر قبل از عمل جراحی داشته است. اگر چه نتایج تست‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی انجام شده بر روی نمونه جدا شده از آپاندیسیت دال بر این است که مخمر جدا شده گونه‌ای کریپتوکوکوس است ولی تست‌های مولکولی (PCR و RFLP تصویر شماره ۱ و ۲) که در این مطالعه برای تایید گونه نئوفورمنس انجام شد و تفاوت‌های الگوی الکتروفورزیک موجود حاکی از این است که گونه مزبور مخمری غیر از کریپتوکوکوس نئوفورمنس است. این مشاهدات در دو محور می‌تواند مورد بحث قرار گیرد. ۱- این مخمر با توجه به شواهد فنوتیپیک کریپتوکوکوس نئوفورمنس است ولی قطعه ITS آن به طور استثنائی با سایر کریپتوکوکوس نئوفورمنس‌ها اختلاف دارد. ۲- این مخمر گونه کریپتوکوکوس نیست ولی مخمری است که خصوصیات فنوتیپیک آن تشابه بالایی با کریپتوکوکوس نئوفورمنس دارد. در مجموع بایستی تست‌های ژنوتیپی نهائی (Sequencing) در مورد آن انجام شود تا تکلیف آن معلوم شود. این کار مستلزم انجام تست‌های دقیق‌تر و پرهزینه‌تر است که طبعاً زمان بیشتری می‌طلبد و ما در آینده

وجود کپسول در یک مخمر فاقد رنگدانه، ذهن تکسین آزمایشگاه را به سوی قارچ کریپتوکوکوس متوجه می‌سازد. نمایش چنین ایزوله‌ای بر روی محیط اوهره، تشخیص را در مورد کریپتوکوکوس نئوفورمنس فراهم می‌آورد (۹).

با توجه به اینکه در بین مخمرها تنها قارچ کپسول‌دار بیماریزا، کریپتوکوکوس می‌باشد و نتایج تکمیلی انجام شده روی آن کریپتوکوکوس بودن آنرا تایید می‌کند می‌توان نتیجه گرفت که مخمر کپسول‌دار جدا شده گونه‌ای از کریپتوکوکوس خواهد بود. البته باید خاطر نشان کرد که قارچ رودوتورولا گلوئینیس دارای سوش‌هایی می‌باشد که گاهی از اوقات کپسول‌های کوچکی ایجاد می‌کنند ولی تست لاکتوز در مورد رودوتورولا گلوئینیس منفی می‌باشد.

## بحث

قارچ‌ها در همه جا حضور دارند. بعضی از آنها ارگانسیم‌های کومنسالی هستند که روی پوست، سطوح مخاطی، روده و دستگاه ادراری زندگی می‌کنند. همچنین قارچ‌ها قادر به ورود به بدن انسان از طریق دستگاه گوارش و تنفس می‌باشند. بنابراین انسانها به طور ثابت در معرض قارچ‌ها هستند و به علت بکارگیری روش‌های جدید تشخیصی-درمانی، بروز عفونت ناشی از گونه‌های کاندیدا و دیگر قارچ‌ها در طی دو دهه گذشته افزایش یافته است. با توجه به بکارگیری این روشها خصوصاً درمان‌های سرکوب کننده ایمنی و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف شاهد بیماریزایی گونه‌های قارچی ساپروفیتی هستیم که تاکنون در انسان بیماری ایجاد نکرده‌اند و در مجلات و مقالات جدید گزارش این قارچ‌ها مشاهده می‌شود (۱۱، ۱۰).

شایع‌ترین گونه‌های مخمری که عامل بیماری انسانی هستند، شامل کاندیدا آلیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا پاراپسیلوزیس و کریپتوکوکوس نئوفورمنس می‌باشد. کاندیدا آلیکنس مهم‌ترین گونه کاندیدا بوده که باعث بیماری در انسان می‌شود و در اغلب کتب و مقالات به عنوان عامل شایع کاندیداپازیس دستگاه گوارش به حساب می‌آید. در این بررسی کاندیدا آلیکنس به میزان ۶۷٪ از ضایعه آپاندیسیت جدا شده است. در مقالات میزان جداسازی

کاندیدای آلبیکنس، و دو مورد کاندیدا تروپیکالیس می‌باشند. دو مورد گونه ژنوتریکوم، یک مورد مخمر کپسول دارو یک مورد سایر از گونه‌های مخمری می‌باشد. از تعداد کل موارد تنها ۳ نمونه در آزمایش مستقیم با KOH دارای سلولهای مخمری بوده‌اند و مشاهده این سلولهای مخمری در KOH یک نتیجه مثبت تلقی می‌گردد. از طرفی جدا شدن قارچها در کشت خصوصاً آنهایی که جزء مایکوفلوورای بدن نمی‌باشند بسیار حائز اهمیت بوده و ارزش آن کمتر از مشاهده قارچ در لام مستقیم KOH با آسیب‌شناسی نمی‌باشد.

### نتیجه‌گیری

افرادی که تحت درمان با آنتی بیوتیکها قرار می‌گیرند و یا دارای بیماری زمینه‌ای بوده، ممکن است دچار آپاندیسیت شوند. با وجودیکه در این بررسی ۵ درصد از عوامل آپاندیسیت را قارچها تشکیل می‌دهند، اما با توجه به بررسی‌های بعمل آمده از سابقه بیماران ممکن است این عوامل جزء فلور نرمال آپاندیس بوده و فقط بعد از انسداد بتوانند عفونت را تشدید نمایند و به عنوان عامل ثانویه آپاندیسیت عمل نمایند و عامل اولیه آپاندیس نباشند. همان‌طوری که در هدف کاربردی طرح عنوان شده، که در صورت بالا بودن فراوانی عوامل قارچی در بافت آپاندیس می‌توان درمان دارویی را به سمت داروهای ضدقارچی سوق داد تا بتوان از میزان جراحی‌ها کاست. با توجه به اینکه میزان فراوانی عوامل قارچی در این بررسی بالا نیست در نتیجه نمی‌توان درمان دارویی را به سمت داروهای ضد قارچی سوق داد تا از تعداد جراحیهای انجام شده آپاندیسیت کاسته شود.

### تقدیر و تشکر

در پایان از زحمات خانم دکتر کردبچه، خانم دکتر زینبی و خانم جعفریان منشی محترم گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی دانشکده بهداشت قدردانی می‌گردد.

به نتایج آنها دست خواهیم یافت. در هر صورت جدا شدن قارچ مذکور از زائده آپاندیس قابل اهمیت می‌باشد زیرا جزء مایکوفلوورای دستگاه گوارش و بدن انسان نمی‌باشد و با قارچهای دیگر جدا شده مثل کاندیدا تفاوت دارد.

آپاندیسیت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های حاد جراحی است. میزان بروز آپاندیسیت حاد به موازات تکامل سیستم لنفاوی افزایش می‌یابد و حداکثر میزان آن در ابتدای دوران بزرگسالی می‌باشد. آپاندیسیت در مردان بخصوص در دوران بلوغ شایع‌تر است. انسداد مجرای آپاندیس مهم‌ترین عامل عفونت می‌باشد که در ۳۰ تا ۴۰ درصد و بعضی در ۵۰ تا ۸۰ درصد موارد آنرا علت آپاندیسیت می‌دانند. شایع‌ترین عامل انسداد فکالیت بوده و به نسبت کمتر هیپر تروفی لنفوئید، تخم و دانه سبزیجات و میوه‌جات و کرم‌های روده‌ای دخالت دارند. قارچها نیز از این قضیه دور نبوده و ممکن است از طریق هیپر تروفی بافت لنفوئید باعث انسداد لومن آپاندیس شوند (۵،۴).

آپاندیسیت در مردها بیشتر از زنها اتفاق می‌افتد. توزیع فراوانی جنسی عفونت کاندیدایی تحت تاثیر عوامل مساعد کننده و زمینه‌ساز می‌باشد و حساسیت هر دو جنس زن و مرد در شرایط مشابه یکسان است. در این بررسی ۴/۲ درصد از موارد مثبت را زنها و ۶۳ درصد موارد را مردها به خود اختصاص داده‌اند که بر حسب تست آماری  $X^2$  اختلاف معنی‌داری بین میزان شیوع عفونت و متغیر جنس وجود ندارد ( $P=0/51$ ).

در توزیع سنی، باتوجه به اینکه آپاندیسیت حاد، اساساً یک بیماری نوجوانان و بالغین جوان است و بیشترین تعداد بیمار در این بررسی در سنین ۱۱ تا ۳۰ سال قرار دارند (۱۳۷ نفر از ۲۰۰ نفر) لذا همه موارد مثبت قارچهای جدا شده که تماماً مخمر هستند در همین گروه سنی قرار دارند (۵،۴).

در این بررسی تعداد ۱۰ مورد عناصر قارچی به صورت سلولهای مخمری در لام مستقیم و کشت از ضایعه آپاندیسیت جدا شده، که ۶ مورد گونه کاندیدا که چهار مورد

REFERENCES

۱. شادزی شهلا، «فلرچ شناسی پزشکی و اکتینو میست های بیماری زا»، جهاد دانشگاهی اصفهان، صفحه ۱۷۰-۱۵۰، ۱۳۷۹.
۲. زینی فریده، مهبد امیر علی، امامی مسعود، «قارچ شناسی پزشکی جامع مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران»، ۱۳۷۷، ۳۲-۳۷.
3. Bullock NE, Deep GS; Medical mycology in crisis . J Lab. Clin .Med .102: 685-93,1989.
4. Schwartz, Shires Spencer, Daily Fischer Gallo Way.; Principles of surgery, 7 th edition, Mac Graw-Hill. co. vol3:cha.27 1999.
5. Cotran Rs, Kumar V,Collin St. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6 th edition. W.B Saunders. co .838-840,1999.
6. Sasaki S, Yamazaki E, Ueda S, Yoshida M, Kato K, Tamura T, Tanabe J, Harano H, Ogava K, Matsuzaki M, Mohri H, Usuda Y, Kitamura H, Ookubo T. Acute appendicitis caused by mucorales in a patient with severe aplastic anemia: report of an autopsy case. rinsho ketsueki. 37(2):252-7,1996.
7. Ashraf H, Ibrahim M,Talal A, Malki a,and Morad N.; pimary Locally infiltrative gastro intestinal aspergiloma non- utropaenicchild. J. coll. Surg. Edino.335-338, 2002.
8. Moyana TN,Kulaga A,Xiang J.; Granulomatous appendicitis in acute myeloblastic Leukemia: expanding the clinopathologic spectrum of invasive candidiasis: Arch Pathol Lab Med. 120: 203-5,1996.
9. E.G.Evans&M.D.Richarson.; Medical Mycology A PRACTICAL APPROACH. Oxford New Yorks Tokyo 97-109,1989.
10. Fraser, V. J., M. Jones, J. Dunkel, S. Storer, G. Medoff, and W. C. Dunagan.. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin. Infect. Dis.* 15:415-421 1992.
11. SP Fischer- hoch, L Hutwanger. Opportunistic candidiasis: an epidemic of the 1980s. *Clin Infect Dis* 21:897-904, 1992.
12. Hazen, K. C.; New and emerging yeast pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 8:462-478, 1995.
13. Venitia M. Cooke, R. J. Miles, R. G. Price, G. Midgley, W. Khamri, and A. C. Richardson.; New Chromogenic Agar Medium for the Identification of Candida spp. , American Society for Microbiology Appl Environ Microbiol, 68(7): 3622-36279, 2002.
14. Collier L, Balowos A, sussuman M. 1998; Topley & Wilson's Microbiology and Microbial infections, Vol: 4, 9<sup>th</sup> ed. Arnold, London. Sydney, Auckland, Newyork, 57-67, 1998.
15. Johanna Rivera, Marta Feldmesser, Michael Cammer, and Arturo asadevall.; Organ-Dependent Variation of Capsule Thickness in *Cryptococcus neoformans* during Experimental Murine Infection. *Infection and Immunity*, p. 5027-5030, Vol. 6, 1998.