جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی از اطراف درخت اکالیپتوس در مناطق مختلف ایران

حسین نوروزی[۱]، علی کاظمی*[۲]، بهناز محمد گنجی نیک[۳]، آذر سبکبار[۳]

۱) گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲) گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ورامین، ایران

۳) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/٦/۲۰

چکیده

مقدمه: کریپتوکوکوزیس یک بیماری قارچی فرصت طلب است. بیشترین فرم آن به صورت ریوی بروز می کند و می تواند به صورت مزمن، تحت حاد و ندرتاً حاد بروز نماید. آلودگی های کریپتوکوکوسی عمدتاً، در بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی ایجاد می شود. این مطالعه به منظور جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی از مناطق مختلف ایران انجام شد.

مواد و روش ها: کشور به سه قسمت شمالی(استان مازندران و گلستان)، مرکزی(در سه استان تهران، اصفهان و شیراز) و جنوبی(دو استان خوزستان و هرمزگان) تقسیم و مناطق کشت اکالیپتوس جهت نمونه برداری تصادفی انتخاب شد. تعداد ۴۹۵ نمونه از برگ، خاک، گل و نمونه هوای مجاور درخت برداشت و در محیط های کشت پایه سابورودکستروز آگار و سابورودکستروزآگار حاوی کلرامفنیکل کشت داده شدند و محیط های کشت نایجر سید آگار و L کاناوانین گلیسین بروموتیمول آگار به عنوان محیط های تفریقی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی استفاده شد.

یافته های پژوهش: در مجموع ۱۳ سوش کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گاتی شناسائی شد. از این تعداد ۳ نمونه(۲/۵ درصد) مربوط به استان خوزستان، ۱۰ نمونه(۹/۲ درصد) مربوط به استان های مازندران و گلستان و از استان های مرکزی موردی جدا نگردید. ۱ مورد از ۱۱۳ نمونه گل، ۳ مورد از ۱۷۱ نمونه برگ، ۴ مورد از ۴۰ نمونه هوا و ۵ مورد از ۱۷۱ نمونه خاک، کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی بود.

بحث و نتیجه گیری: اختلاف معنی داری در جداسازی کریپتوکوکوس از خاک و هوای اطراف اکالیپتوس مشاهده شد. هم چنین اختلاف معنی دار بین وجود مخمر در نمونه های گیاه و هوا مشاهده شد($P<0.05$). مطالعات بیشتری در زمینه شیوع بیماری و عوامل زمینه ساز آن در افراد در ایران پیشنهاد می گردد.

واژه های کلیدی: کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی، جداسازی، ایران

*نویسنده مسئول: گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ورامین، ایران

Email: alikazemi611@gmail.com

مقدمه

کریپتوکوکوس نئوفورمنس مسبب بیماری کریپتوکوکوزیس است. ترکیبی از کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گروبی(سروتیپ A)، کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته نئوفورمنس(سروتیپ D) و کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی(سروتیپ های B و C) می توانند عامل بیماری باشند. میزان شیوع کریپتوکوکوزیس در بیماران دارای ایدز ۱/۷ تا ۴/۷ درصد است و تقریباً یک میلیون مورد از مننژیت های کریپتوکوکی در بیماران ایدزی ایجاد می شود که منتج به ۶۲۵۰۰۰ مرگ در سال می شود(۱،۲). انتقال کریپتوکوکوزیس از حیوان به انسان یا از انسان به انسان و حتی از مادر به فرزند صورت نمی گیرد. علائم کلینیکی کریپتوکوکوزیس می تواند مزمن و یا حاد باشد که نوع علائم به مرحله بیماری بستگی دارد. از علائم عمومی بیماری، مننگوانسفالی و افزایش فشار مایع مغزی- نخاعی است که منتج به سردرد، تب، تغییر شرایط روانی، کاهش بینایی، جنون و یا حتی کما می گردد. کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته نئوفورمنس و گتی در توزیع جغرافیایی و نیازهای اکولوژیکی با هم تفاوت دارند. در دهه های گذشته درصد بالایی از آلودگی های کریپتوکوکوسی، در بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی و به وسیله کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گروبی ایجاد می شد و واریته گتی برای بخش کمتری از مناطق کره زمین و به ویژه در مناطق حاره و اطراف حاره ای ایجاد آلودگی می کرد(۳). کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته نئوفورمنس در کبوتران به عنوان مخزن نمی تواند باعث کریپتوکوکوزیس شود، زیرا دمای بدن آن ها(۴۲/۵ درجه سانتی گراد) به اندازه ای بالا است که اجازه رشد به این پاتوژن قارچی را نمی دهد اما مخزن کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی درختان اکالیپتوس گزارش شده است. در دهه گذشته، ژنوتیپ های حادی از کریپتوکوکوس گتی AFLP6a/VGIIa و AFLP6c/VGIIc به عنوان یک پاتوژن نوپدید بروز یافت که ژنوتیپ های جدید، مسبب ۳۵۰ مورد کریپتوکوکوزیس انسانی بودند که ۱۹ مورد از آن علی رغم درمان های ضد قارچی منجر به فوت بیمار شد(۳،۴). منشاء این شیوع کریپتوکوکالی از چندین درخت بومی و با عامل کریپتوکوکوس گتی بود. با توجه به عدم انتقال عامل بیماری از انسان به انسان یا حیوان به انسان، شناسایی مناطق جغرافیایی با آلودگی بالا از لحاظ کریپتوکوکوس نئوفورمنس و کریپتوکوکوس گتی ضرورت دارد. جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس و کریپتوکوکوس گتی از خاک و گرد و غبار در کشورهای دیگر نظیر هند، برزیل و کانادا گزارش شده است(۷-۵). راندهاوا و همکاران(۲۰۰۸) در کشور هندوستان، جداسازی ۲۵ نمونه برای کریپتوکوکوس نئوفورمنس، ۲۳ نمونه برای گتی و ۵ نمونه برای هر دو گروه را از خاک دارای پسماندهای درخت اکالیپتوس و خاک حاوی فضولات پرندگان گزارش نمودند(۸). چاکرابارتی و همکاران کریپتوکوکوس گتی را در چهار نمونه از ۳۵۴ نمونه(۱/۴ درصد) پسماند درخت اکالیپتوس جداسازی کردند که سه تا از نمونه های مثبت متعلق به درختان اکالیپتوس کامالدولنسیس بود(۹). از همین رو شناسایی مناطق آلوده و جداسازی کریپتوکوکوس گتی از طبیعت(خاک، گل، درختان و بقایای آن ها) دارای اهمیت به سزایی است. با توجه به عدم مطالعه جامع در کل کشور نسبت به این موضوع، این مطالعه به منظور جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی از مناطق مختلف ایران انجام شد.

جدول شماره ۱. تعداد و نوع نمونه های مورد مطالعه در مناطق مختلف

نوع نمونه / محل نمونه گیری	خاک	برگ	گل	هوا	مجموع
منطقه یک(گرگان وساری)	۷۲	۷۲	۵۳	۲۱	۲۱۸
منطقه دو(مرکز)	۵۴	۵۴	۳۳	۱۴	۱۵۵
منطقه سه (جنوب)	۴۵	۴۵	۲۷	۵	۱۲۲
مجموع	۱۷۱	۱۷۱	۱۱۳	۴۰	۴۹۵

مواد و روش ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در مناطق مختلف ایران انجام شد. کشور از لحاظ جغرافیایی به سه منطقه شمالی(استان های گلستان و مازندران)، مرکزی(استان های تهران، اصفهان و فارس) و جنوبی(استان های خوزستان و هرمزگان) تقسیم شد. منطقه شمالی (منطقه یک) شامل استان گلستان(شهرهای گرگان، بهشهر، جنگل های بهشهر و کرد کوی، درختان موجود در حاشیه جاده گرگان با ۹۵ نمونه) و استان مازندران(ساری، محمودآباد، نوشهر، چالوس، نکا و مناطق جنگلی نوشهر، درختان حاشیه جاده با ۱۲۳ نمونه) بود که در طول فروردین ماه نمونه گیری شد. منطقه مرکزی(منطقه دو) شامل طرح های جنگل کاری در شیراز، تک درختان موجود در اماکن مسکونی و درختان کشت داده شده در دانشگاه های تهران و اصفهان و محل کشت درختان اکالیپتوس در پارک آزادگان، اطراف اتوبان ساوه-تهران و بوستان مادر در تهران بود. نمونه برداری در ماه های اردیبهشت و خرداد صورت گرفت که از ۳۵ نقطه، ۱۵۵ نمونه جمع آوری شد. منطقه جنوبی(منطقه سه) استان های خوزستان و هرمزگان شامل مناطق مسکونی دزفول، اندیمشک، بندرعباس، بندر خمیر و جاده فرودگاه بندر عباس با ۱۲۲ نمونه بود(جدول شماره ۱). دمای مطلوب برای رشد مخمر ۳۰ تا ۳۵ درجه است هر چند که در ۳۷ درجه سانتی گراد نیز در محیط های سابورو دکستروز آگار محتوی کلرامفنیکل، محیط خوندار و BHI نیز رشد می‌کند. مخمر در مقابل حرارت بسیار حساس است و در دمای ۴۰ تا ۴۲ درجه رشد نمی‌کند. به دلیل این که رطوبت و دمای اپتیمم برای رشد قارچ ها معمولاً رطوبت بالای ۷۰ درصد و دمای ۲۵ تا ۳۵ است، لذا این مطالعه در این فصول انجام شد. در نمونه برداری از برگ، برگ هایی استفاده شد که دور از تابش نور مستقیم خورشید بود، با استفاده از قیچی استریل برگ ها جدا و در کیسه های پلاستیکی یک بار مصرف و یا ظروف شیشه ای درب دار قرار داده شد. در نمونه برداری خاک از ناحیه ای که در زیر درخت و ترجیحاً در معرض تابش نور مستقیم خورشید نبودند، توسط قاشقک استریل برداشت و داخل پلیت های یک بار مصرف شماره دار ریخته و برای جلوگیری از خشک شدن، درب آن چسب زده شد. در نمونه برداری از گل، اگر گیاه دارای شکوفه بود از شکوفه ها و در غیر این صورت از غنچه ها نمونه تهیه شد. نمونه گل یا شکوفه توسط قیچی استریل از درخت جدا و در داخل کیسه های پلاستیکی یک بار مصرف ریخته شد. در نمونه برداری از هوا، محیط کشت به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه به طور مستقیم در معرض هوای موجود در زیر سایبان درخت اکالیپتوس قرار گرفته و پس از پایان زمان مورد نظر، درب پلیت بسته و توسط پارافیلم پوشانده شد. نحوه آماده سازی نمونه های خاک، گل و برگ بدین ترتیب بود که مقداری از نمونه های جداشده، در لوله های استریل حاوی آب مقطر استریل و آنتی بیوتیک های پنی سیلین واسترپتومایسین ریخته شده و سانتریفیوژ می شدند و ۰/۵ میلی لیتر از مایع رویی سوسپانسیون پس از ۲۰ دقیقه سکون برای کشت استفاده می گردید.

سوسپانسیون مذکور بر روی محیط های سابرو دکستروز آگار و سابورودکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل در دمای ۳۲-۳۰ درجه سانتی گراد کشت اولیه داده شده و سپس گونه های مختلف رشد کرده بر روی این محیط ها جهت خالص سازی کشت مجدد داده شد. گونه های مخمری بر اساس شکل ظاهری جداسازی و سپس برای تمایز گونه های کریپتوکوکوس از دیگر گونه ها از رنگ آمیزی با مرکب چینی و مشاهده در زیر میکروسکوپ و تست اوره استفاده شد. در نهایت آزمایش های افتراقی اختصاصی مانند محیط کاناوانین گلسین بروتیمول آگار(CGB) و محیط نایجر سید آگار برای تشخیص و افتراق گونه های کریپتوکوس نئوفورمنس واریته گتی استفاده گردید.

یافته های پژوهش

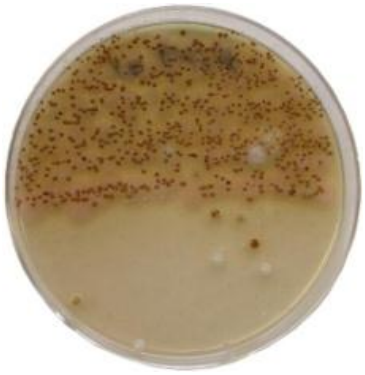
در پایان مرحله کشت اولیه نمونه ها، مجموعاً ۲۴ سوش مخمری جدا شد که از این تعداد، ۱۷ مخمر اوره آز مثبت بوده و در مشاهدات میکروسکوپی و رنگ آمیزی با مرکب چینی دارای کپسول بودند.کپسول یک عامل حدت زا و محافظتی در کریپتوکوکوس می باشد که آن را در برابر شرایط نامطلوب محیطی و هم چنین ممانعت از فاگوسیت شدن در سیستم بدن میزبان

محافظت می کند و صرفاً در نمونه های جدا شده از بیمار نمی باشد(۷). از ۱۷ مورد، دو مورد در مراحل بعدی بر روی محیط های کشت نایجر سید رشد نکرد، که بر اساس خواص میکروسکوپی، نمونه ها رودوتورولا تشخیص داده شد. و در نهایت ۱۵ مخمر برای تست بر روی محیط CGB مورد بررسی قرار گرفتند که تنها ۱۳ مورد از آن ها در این محیط رشد نمودند(شکل شماره ۱). در نتیجه ۱۳ سوش به عنوان کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی شناسائی شد. از این تعداد ۳ نمونه مربوط به استان خوزستان، ۱۰ نمونه از منطقه شمالی(منطقه یک) بود ولی از استان های مرکزی (منطقه ۲) در هیچ موردی این عامل جدا نگردید(جدول شماره ۲).

علاوه بر قارچ های کریپتوکوکوس گونه های دیگری نیز بر روی محیط کشت اولیه رشد نموده اند. در بین آن ها بیشترین تعداد کلنی مربوط به قارچ موکور و بعد از آن به ترتیب مربوط به آسپرژیلوس نایجر، پنی سیلیوم، فوزاریوم، تریکوتشیوم و رودوترولابود(جدول شماره ۳). نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون های آماری ANOVA، T-test و Mann whitney u تحلیل و ($P<0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول شماره ۲. نحوه توزیع نمونه های کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی جداسازی شده در مناطق مختلف

نوع نمونه / محل نمونه گیری	خاک	برگ	گل	هوا	مجموع
منطقه یک(گرگان و ساری)	۳	۲	۱	۴	۱۰
منطقه دو	۰	۰	۰	۰	۰
منطقه سه (جنوب)	۲	۱	۰	۰	۳
مجموع	۵	۳	۱	۴	۱۳



شکل شماره ۱. رنگدانه های قهوه ای رنگ مخمرهای کریپتوکوکوس نئوفورمنس در محیط کشت نایجر سید آگار

جدول شماره ۳. گونه های مختلف قارچ های جداسازی شده غیر کریپتوکوکوسی

نوع قارچ	تعداد(درصد)
موکور	۱۴۹
آسپرژیلوس نایجر	۱۳۴
پنی سیلیوم	۱۱۲
فوزاریوم	۵۸
تریکوتشیوم	۲۷
رودوترولا	۲

بحث و نتیجه گیری

بیماری کریپتوکوکوزیس در دهه های گذشته به صورت محدود در دنیا گزارش می شد اما در اثر افزایش شیوع بیماری ایدز، دیابت وافزایش مصرف داروهای سرکوب کننده ایمنی در موارد مختلف نظیر پیوند عضو، شیوع این بیماری به شدت افزایش یافت. در این مطالعه ۱۳ مورد از میان ۴۹۵ نمونه، کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی شناسائی شد که بیشترین نسبت جداسازی مخمر از نمونه های هوا بود. تعداد نمونه های گرفته شده از هوای مناطق گرم و مرطوب از اکالیپتوس کامالدولنسیس ۲۶ عدد بوده و در ۴ مورد(۱۵/۴ درصد) از آن ها کریپتوکوکوس گتی رشد نموده است که این امر نشان از وفور مخمر در فضای اطراف گیاه می باشد. شدت بالای آلودگی فضای اطراف تحت کشت گیاه می تواند عاملی برای ایجاد عفونت در افرادی باشد که به نحوی با این مناطق سروکار دارند، به خصوص برای اشخاصی که دچار یک بیماری زمینه ای و یا داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی مصرف می کنند، هستند. از لحاظ آماری، اختلاف معنی داری بین تعداد مخمر جداشده در خاک و هوای اطراف درخت اکالیپتوس کامالدولنسیس مشاهده شد، هم چنین اختلاف معنی دار بین وجود مخمر در نمونه های جدا شده از گیاه و هوا مشاهده شدکه نشانگر شیوع بیشتر قارچ در نمونه های هوا نسبت به خاک و گیاه است($P<0.05$) که در مطالعات دیگر کمتر به این امر پرداخته شده است. در سال ۲۰۰۵ گوگنای و همکاران در دهلی هند مطالعه ای به منظور جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی از گل های درخت اکالیپتوس انجام دادند و شیوع ۰/۴ درصد را برای کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی گزارش کردند که با مطالعه حاضر هم خوانی نداشت که احتمالاً به دلیل محدودیت نمونه برداری در مطالعه آن ها بوده است(۱۰). در سال ۲۰۰۸ راندهاوا جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته نئوفورمنس و کریپتوکوکس نئوفورمنس واریته گتی را از خاک دارای پسماند درختان اکالیپتوس گزارش کرد که در این بررسی از ۹۵ نمونه خاک تعداد ۲۵ نمونه برای کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته نئوفورمنس و ۲۳ نمونه برای کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی و ۵ نمونه برای هر دو گروه مثبت بود که شیوع ۲۹ درصدی را گزارش نمود که بسیار بالاتر از این مطالعه(۲/۹ درصد) بود که احتمالاً عامل رطوبت نقش مهمی در تفاوت نتایج داشته است(۸). اغلب تحقیقات در قاره آسیا در مناطق شرق و جنوب شرق صورت گرفته، در حالی که کلیه مناطق مورد آزمایش در آسیا دارای آب و هوای حاره ای مرطوب می باشند، آب و هوای ایران یک آب و هوای گرم و خشک می باشد. با توجه به جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی در مناطق مختلف مانند هند، چین، آمریکای شمالی و دیگر مناطق از درختان مختلف به نظر می رسد که نوع گیاه در اهمیت کمتری جهت اکولوژی کریپتوکوکوس قرار گرفته باشد به هر حال جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی از درخت اکالیپتوس در این تحقیق و مطالعات دیگر نشان می دهد هر چند که درخت اکالیپتوس تنها زیستگاه این گونه قارچ نیست ولی می تواند یکی از مهم ترین زیستگاه های طبیعی آن به شمار آید(۱۳-۱۱). شرایط محیطی قطعاً مهم ترین فاکتور در احتمال جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی از درختان یک منطقه می باشد. طبق مطالعات گذشته کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی در مناطقی یافت شده که دمای محیط در آن جا در زمستان غالباً بالای دمای یخ زدگی است. در تحقیقاتی که بر روی تاثیر فصول مختلف بر روی میزان جداسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی صورت گرفته نشان داده که هر چند تغییرات فصل اثر پایینی دارد ولی میزان شیوع این پاتوژن در دوره زمستان کاهش و در طول دوره تابستان بیشتر شده است(۱۴،۱۵). اما در این مطالعه مخمر در وهله اول از مناطق ساری و گرگان و بعد از آن منطقه گرمسیری جنوب جدا شده است. در مطالعه صالحی و همکاران در اهواز هیچ موردی کریپتوکوکوس گتی جدا نگردید که با مطالعه حاضر هم خوانی نداشت(۱۶). اما زینی و همکاران در شمال تنها دو مورد کریپتوکوکوس گتی جداکردند اما دراین مطالعه ده مورد جدا شد که هم خوانی نداشت که این تغییر احتمالاً با توجه به تغییرات دمایی و جغرافیایی می تواند باشد(۱۷). استان

خوزستان دارای آب و هوای گرمسیری بوده که در طول تابستان درجه حرارت بسیار بالا و گاهی بیش از ۵۰ درجه سانتی گراد می باشد. اما منطقه گرگان و ساری آب و هوای مدیترانه ای(نیمه گرمسیری) داشته و رطوبت هوا در این مناطق بسیار بالا است. آب و هوای مناطق مرکزی، معتدل نیمه خشک و یا نیمه مرطوب بوده و تغییرات شدید دما در طول سال در این نواحی محسوس است. شدت دمای بالا در استان خوزستان در ماه های گرم سال موجب کاهش جداسازی ارگانیسم فوق نسبت به منطقه نیمه گرمسیری شمال کشور می باشد چرا که ارگانیسم به افزایش دما بسیار حساس است(۷). اگر چه فاکتورهایی مانند سرمای شدید زمستانی و تغییرات زیاد دما در فصول مختلف ممکن است توجیه کننده نتیجه این تحقیق باشد. از آن جا که قارچ ها غالباً محیط مرطوب را ترجیح می دهند و حرارت اپتیمم برای رشد کریپتوکوکوس نئوفورمنس واریته گتی بین ۳۲-۳۰ درجه سانتی گراد است عدم وجود این گونه در مناطق مرکزی قابل توجیه می باشد. در پایان باید ذکر کرد با توجه به اهمیت بیماری کریپتوکوکوزیس و مشکلات درمانی آن در صورت تشخیص، آگاهی عمومی و حتی المقدور منع تردد به خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی در مناطق حضور درخت اکالیپتوس توصیه می گردد.

سپاسگزاری

این مطالعه با همکاری و راهنمایی های ارزشمند دکتر مسعود امامی، خانم دکتر علوی و هم چنین کمک های بی دریغ مسئولین محترم آزمایشگاه های دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام پذیرفته است که بدین وسیله از آن ها تقدیر و تشکر می گردد.

References

1.Bartlett KH, Kidd SE, Kronstad JW. The emergence of Cryptococcus gattii in British Columbia and the Pacific NorthWest. Curr Infect Dis Rep2008; 10:58 - 65.

2.Bartlett KH, Cheng PY, Duncan C, Galanis E, Hoang L, Kidd S, Lee MK, Lester S, MacDougall L, Mak S, Morshed M, Taylor M, Kronstad J. A decade of experience: Cryptococcus gattii in British Columbia. Mycopathologia2012; 173: 311-19.

3.Bovers M, Hagen F, Boekhout T. Diversity of the Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii species complex. Rev Iberoam Mycol2008; 25: 4–12.

4.Carriconde F, Gilgado F, Arthur I, Ellis D, Malik R, van de Wiele N, Robert V, Currie BJ, Meyer W.Clonality and α- a recombination in the Australian Cryptococcus gattii VGII population:an emerging outbreak in Australia.Plos One2011; 6:1-12. 16936

5.Chowdhary A,Randhawa HS, Environmental prevalence of Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii in India an update. Crit Rev Microbiol2012;38:1-16.

6.Gullo FP, Rossi SA, SardiJde C, Teodoro VL, Mendesgiannini MJ, Fuscoalmeida AM. Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment.Eur J ClinMicrobiol Infect Dis 2013;32:1377-91.

7.Chaturvedi V. Chaturvedi S. Cryptococcus gattii : a resurgent fungal pathogen.Trends Microbiol2011;19:564–71.

8.Randhawa HS1, Kowshik T, Chowdhary A, PreetiSinha K, Khan ZU, Sun S, Xu JThe expanding host tree species spectrum of Cryptococcus gattii and Cryptococcus neoformans and their isolations from surrounding soil in India, Med Mycol2008; 46:823–833.

9.Chakrabarti A, Jatana M, Kumar P, Chatha L, Kaushal A, Padhye AA. Isolation of Cryptococcus neoformans var. gattii from Eucalyptus camaldulensis in India. J Clin Microbiol 1997;35:3340-2.

10.Gugnani HC, Mitchell TG, Isolation of Cryptococcus gattii and Cryptococcus neoformans var. grubii from the flowers and bark of Eucalyptus trees in India. Med Mycol2005;43:565-9.

11.Byrnes EJ, HeitmanJ.Cryptococcusgattii outbreak expands into the Northwestern United States with fatal consequences. F1000 Biol Rep 2009; 1:62.

12.Byrnes EJ, Wenjun Li,Yonathan L, Hansong Ma, Kerstin V, Ping R, Dee AC, Vishnu Ch, Robert J B, Robin C M, Joseph H .Emergence and pathogenicity of highly virulent Cryptococcus gattii genotypes in the northwest United States. PLos pathogens 2010 ; 6: 1-16.

13.Datta K, Bartlett KH, Baer R, Byrnes E, Galanis E, Heitman J and et al.Spread of Cryptococcus gattii in British Columbia, Canada, and detection in the Pacific Northwest, USA. Emerg Infec Dis 2007;13: 42-50.

14.Choi YH, Ngamskulrungroj P, Varma A, Sionov E, Hwang SM, Carriconde F.and et al. Prevalence of the VNIc genotype of Cryptococcus neoformans in non-HIV-associated cryptococcosis in the Republic of Korea. FEMS Yeast Res 2010; 10:769-78.

15.Chen J, Varma A, Diaz MR, Litvintseva AP, Wollenberg KK, Kwon-Chung KJ. Cryptococcus neoformans strains and infection in apparently immunocompetent patients, China. Emerg Infect Dis 2008; 14:755-62.

16.Salehei Z, Zarei Mahmoudabadi A, Zarrin M. Isolation of Cryptococcus gattii from Eucalyptus in Ahvaz. mazu-amm2014; 1 :1-3

17.Bineshian F, Zaini F. Study of Cryptococcus neoformans var. gattii from Eucalyptus camaldulensis in some northern regions of Iran. Koomesh 2002;3:59-67.

Isolation of Cryptococcusneoformans var. gatti from Around of Eucalyptus trees in Different Regions of Iran

kazemiA[1], Nowrozi H[2], Mohammadganjinik B[3], Sabokbar A[3]

(Received: November 30, 2014 Accepted: September 11, 2015)

Abstract

Introduction: Cryptococcosis is aopportunistic fungal infection. Current disease form occurs as a pulmonary form and as a chronic, subacute and rarely acute disease. Cryptococcal infections mainly occur in immunocompromised patients. This study was done to isolate Cryptococcusneoformans var. gatti from different regions of Iran.

Materials & methods: Iran was divided to 3 regions including north, south and central areas. Areas with Eucalyptus trees are randomly selected covering total regions. In north area (Mazandaran and Golestan provinces), in central area,(Tehran, Esfahan and Fars provinces) and in south area,(Khuzestan and Hormozgan provinces) were selected. 495 samples were collected from leaf, soil, flower and air around the Eucalyptus trees during 6 months and were cultured on Sabouraud dextrose agar (S) and Sabouraud dextrose agar supplemented with chloramphenicol (SC) media. Niger seed agar and l-canavanine glycine bromothymol blue were used as differentiation of Cryptococc-usneoformans var. gatti.

Findings: Total of 13 Cryptococcusneoformans var. gatti were identified which 3 isolates (2.5%) were from Khuzestan province, 10 samples (9.2 %) isolated from Mazandaran and Golestan provinces but no cases were isolated from central area. From total isolates, 1 case from 113 flowers samples, 3 cases from 171 leaves samples, 4 cases from 40 air samples and 5 cases from 171 soil samples, identified as Cryptococcusneoformans var. gatti.

Discussion & Conclusions: A significant difference was observed in isolation of Cryptococcusneoformans var. gatti from soil and air, also asignificant difference was observed between presence of yeast in air and soil samples ($P< 0.05$) which further studies are recommended to evaluate the disease prevalence and predisposing factors in Iran.

Keywords: Cryptococcus neoformansvar gatii, Isolation, Iran

1.Dept of Laboratory Sciences, Faculty of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Nursing and Midwifery, Islamic Azad University, Varamin Branch, Varamin, Iran 2. Dept of Nursing and Midwifery, Faculty of
3. Dept of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Karaj Branch , karaj, Iran
** Correspondin author Email: alikazemi611@gmail.com*