

## **Kriptokokosis Meningeal: Epidemiologi Berbasis Molekular, Manifestasi Klinis dan Luarannya**

Robiatul Adawiyah,<sup>1,2\*</sup> Anna Rozaliyani,<sup>1</sup> Retno Wahyuningsih<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia

<sup>2</sup>Clinical Parasitology Specialist Programme, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia

<sup>3</sup>Parasitology Division, Faculty of Medicine, Universitas Kristen Indonesia

### **Abstrak**

*Cryptococcus* sp. sebagai penyebab kriptokokosis meningeal telah banyak diteliti di dunia, tetapi epidemiologi molekular, manifestasi klinis, penegakan diagnostik dan luaran klinisnya belum dibahas secara komprehensif. Tujuh nama baru *Cryptococcus* sp. telah diusulkan dan berdasarkan hal itu penyebarannya bervariasi di beberapa negara. *Cryptococcus gattii* masih lebih terbatas area penyebarannya dibandingkan *C. neoformans*. Keragaman genotipe dapat diperoleh baik dalam satu negara maupun pada satu pasien kriptokokosis meningeal. Manifestasi klinis yang muncul berbeda-beda, namun utamanya adalah sakit kepala, demam dan penurunan kesadaran. Prosedur diagnosis dapat dipilih mulai dari pemeriksaan konvensional hingga uji berbasis molekular dan protein. Luaran klinis dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya beban jamur, penyakit dasar, status imun pasien, diagnosis dini, serta ketersediaan obat.

**Kata Kunci:** *Cryptococcus*, kriptokokosis, spesies, aspek klinik.

## **Cryptococcal Meningitis: Molecular Epidemiology, Clinical Presentation and Clinical Outcome**

### **Abstract**

*Cryptococcus* sp. as the cause of meningeal cryptococcosis had been widely studied around the world. But its molecular epidemiology with clinical manifestations, diagnostic procedures and clinical outcomes have not been comprehensively discussed. Seven new names for *Cryptococcus* sp. have been proposed and the distribution varies in several countries. However, *C. gattii* is still more restricted in area than *C. neoformans*. Genotype diversity was obtained in both one country and in one patient meningeal cryptococcosis. The clinical manifestations that appear are different, however the main ones are headache, fever and decreased consciousness. Diagnosis procedures could be carried out from conventional to molecular and protein-based. Clinical outcomes are influenced by several factors, including fungal load, underlying disease, patient's immune status and early diagnosis as well as the availability of drugs.

**Key words:** *Cryptococcus*, molecular epidemiology, clinical aspects

\*RA: Penulis Koresponden; E-mail:bundaadah@gmail.com

## Pendahuluan

Jamur oportunistik *Cryptococcus* sp. pertama kali dilaporkan Sanfelice pada tahun 1894 yang mengisolasinya dari buah *peach*. Satu dekade kemudian Busse dan Buschke dapat mengisolasi jamur tersebut dari pasien perempuan dengan kriptokokosis pada tibia.<sup>1</sup> Beberapa dekade kemudian penyakit tersebut dilaporkan di beberapa negara di dunia, baik negara tropis maupun subtropis.<sup>2</sup> *Cryptococcus* sp. banyak ditemukan di alam sebagai sel ragi yang relatif mengalami dehidrasi. Hewan perantaranya melibatkan unggas, sehingga dianggap sebagai jamur zoopatogenik.<sup>3</sup> Hingga kini ada lebih dari 45 spesies *Cryptococcus* namun hanya enam spesies yang pernah diisolasi dari manusia.<sup>1</sup> Berdasarkan genotipe jamur diketahui ada tujuh spesies, yaitu *C. neoformans*, *C. deneoformans*, *C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii* dan *C. decagattii* yang dianggap patogen pada manusia.<sup>4</sup>

## *Cryptococcus* sp.

### Taksonomi

*Cryptococcus* sp. telah beberapa kali berganti nama. Awalnya jamur itu diberi nama *Sacharomyces* namun kemudian disebut *Cryptococcus*.<sup>4</sup> Saat ini disepakati bahwa spesies *Cryptococcus* tidak hanya terdiri atas dua spesies (*C. neoformans* dan *C. gattii*), namun menjadi tujuh spesies yakni *Cryptococcus* yaitu *C. neoformans*, *C. deneoformans*, *C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii* dan *C. decagattii*.<sup>4</sup> Penetapan tujuh spesies tersebut didasari hasil analisis genetik tentang polimorfisme jamur dengan teknik *amplified fragment length polymorphism* (AFLP) dan *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) yang menunjukkan bahwa serotipe dan hibrid pada *C. neoformans* dan *C. gattii* masing-masing merupakan spesies berbeda (Tabel 1). Selanjutnya, untuk memudahkan pembahasan akan digunakan taksonomi lama yakni hanya *C. neoformans* dan *C. gattii* serta serotipenya.

**Tabel 1. Penamaan Baru dan Lama *C. neoformans*/ *C. gattii* Kompleks Berdasarkan Karakteristik Molekular<sup>4</sup>**

Nama spesies saat ini	Genotipe-AFLP	Genotipe-RFLP	Serotipe	Nama spesies baru
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	AFLP1	VN I	A	<i>C. neoformans</i>
	AFLP1A	VN II		
	AFLP1B	VN II		
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	AFLP2	VN IV	D	<i>C. deneoformans</i>
	AFLP3	VN III	AD	<i>C. neoformans</i> × <i>C. deneoformans</i> hybrid
<i>C. gattii</i>				
<i>C. gattii</i>	AFLP4	VG I	B/ C	<i>C. bacillisporus</i>
	AFLP5	VG III		<i>C. deuterogattii</i>
	AFLP5	VG II		<i>C. tetragattii</i>
	AFLP7	VG IV		<i>C. decagattii</i>
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> × <i>C. gattii</i>	AFLP10	VG IV/ VG III <sup>c</sup>		<i>C. deneoformans</i> × <i>C. gattii</i> hybrid
	AFLP8	-		<i>C. neoformans</i> × <i>C. gattii</i> hybrid
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i> × <i>C. gattii</i> / AFLP4	AFLP9	-		<i>C. neoformans</i> × <i>C. gattii</i> hybrid
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i> × <i>C. gattii</i> / AFLP6	AFLP11	-		<i>C. neoformans</i> × <i>C. deuterogattii</i> hybrid

## Epidemiologi Berbasis Karakteristik Molekular

*Cryptococcus* tersebar di seluruh dunia, namun beberapa spesies terbatas hanya pada daerah tertentu. Berdasarkan spesies, serotipe dan karakteristik molekularnya, penyebaran *Cryptococcus* didunia ditampilkan pada

Tabel 2. yang dibuat berdasarkan dua spesies saja yakni *C. neoformans* dan *C. gattii*. *Cryptococcus neoformans* ditemukan di seluruh dunia, sedangkan *C. gattii* terutama ditemukan di Australia (39%), dan di beberapa negara di Asia, Afrika dan Amerika Selatan.<sup>4</sup>

**Tabel 2. Penyebaran Geografis *Cryptococcus* sp. Berdasarkan Spesies, Serotipe dan Karakteristik Molekular<sup>2,5,6</sup>**

Karakteristik genetik	Area penyebaran
<b><i>C. neoformans</i></b> Serotipe A	
<i>C. n.</i> var. <i>grubii</i> (VN I/ AFLP1)	Australia-Selandia Baru, Asia termasuk Indonesia, <i>Papua New Guinea</i> , Afrika, Eropa dan Amerika bagian tengah dan selatan.
<i>C. n.</i> var. <i>neoformans</i> (VN II/ AFLP1A)	Australia-Selandia Baru, Asia, Afrika dan Amerika Tengah.
Serotipe D VN IV/ AFLP 2	Australia-Selandia Baru, Asia, Eropa dan Amerika Tengah.
Serotipe AD (hybrid) VN III/ AFLP 3	Australia, Asia timur, Afrika Selatan, Eropa dan Amerika Selatan.
<b><i>C. gattii</i></b> Serotipe B	
VG I/ AFLP4	Australia, Asia, PNG, Eropa, Amerika Tengah dan Selatan.
VGII/ AFLP6	Australia, Asia, PNG, Senegal, Eropa dan Amerika Tengah
VG IV/ AFLP10	India, Afrika Selatan, Malawi, Kolombia
Serotipe C VG III/ AFLP5	Korea, PNG dan Selandia Baru, Yunani, Guatemala, Kolombia, Brazil.

Keragaman genetik *Cryptococcus* dalam satu negara ditemukan di Brazil, Eropa, Afrika Selatan, China, Jepang, India, Indonesia, Thailand, Kuwait dan Qatar.<sup>6</sup> Isolat Asia lebih sedikit polimorfismenya dibandingkan Afrika dan Amerika,<sup>2</sup> sedangkan *Cryptococcus* di Asia Selatan, Asia Tenggara dan Timur Tengah lebih bervariasi dibanding Asia Timur.<sup>2</sup> Infeksi yang disebabkan lebih dari satu genotipe pada satu pasien mulai dilaporkan di beberapa negara.<sup>7</sup>

## Biologi

*Cryptococcus* merupakan jamur yang bereproduksi secara aseksual dan seksual.<sup>8</sup> Spora sebagai bentuk aseksualnya

berkembang biak dengan membentuk tunas. Bentuk aseksual merupakan bentuk yang paling sering ditemukan, baik di lingkungan maupun pada spesimen klinis manusia. Bentuk seksual atau yang lebih dikenal sebagai *perfect state* membentuk basidiospora yang diproduksi hifa khusus dan hingga saat ini hanya dapat ditumbuhkan di laboratorium dengan perlakuan khusus.<sup>7</sup>

## Faktor Virulensi

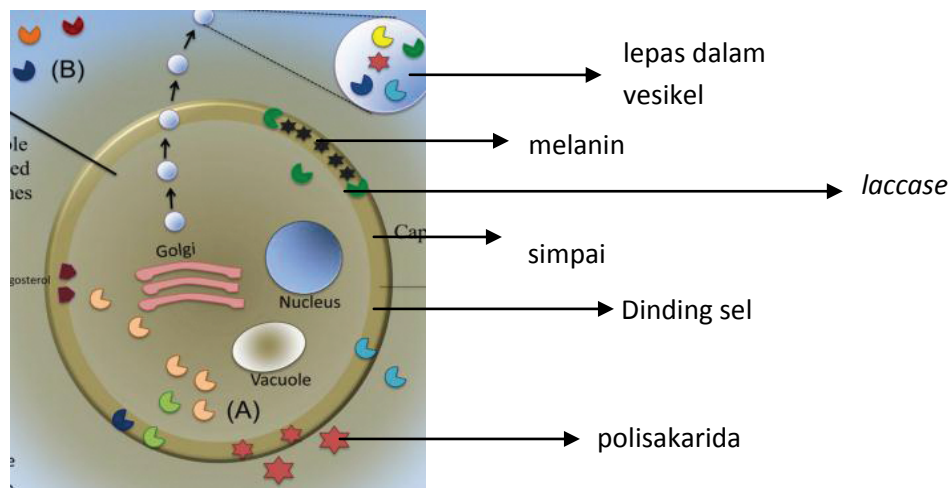
*Cryptococcus* memiliki faktor virulensi penting yang berperan dalam patogenesis penyakit. Faktor tersebut antara lain simpai polisakarida, melanin, kemampuan tumbuh pada suhu tubuh manusia (suhu 37°C), *mating type*, mekanisme *phenotypic*

*switching*, perubahan pada mitokondria.<sup>9</sup> dan enzim yang dihasilkan *Cryptococcus*.<sup>10</sup> Simpai merupakan faktor virulensi utama jamur, karena simpai yang tebal mampu melindungi jamur dari fagositosis makrofag hingga tidak dikenali perangkat imun tubuh.<sup>11,12</sup> Selain itu simpai juga membantu sel jamur melekat pada sel epitel alveolar dan membantu penyebaran sel *Cryptococcus* ke otak.<sup>13</sup> Komponen utama simpai adalah *glucuronoxylomannan* (GXM), yaitu sebesar 95% yang berperan penting dalam proses *evasion* jamur/menghindar) dari sistem imunitas. Faktor lain adalah melanin yang merupakan faktor virulensi penting karena mampu melindungi *Cryptococcus* baik pada saat berada di alam maupun di dalam tubuh manusia. Di alam, melanin melindungi jamur dari akibat buruk pajanan sinar ultraviolet, kondisi panas dan dingin.<sup>8,12</sup> Di dalam tubuh manusia melanin melindungi jamur dari fagositosis. Melanin dibentuk oleh *laccase*, suatu enzim oksidase yang dihasilkan dalam sel jamur (Gambar 1).<sup>14,15</sup>

*Mating type* meskipun lebih dianggap sebagai karakteristik jamur dibanding sebagai faktor virulensi, tetapi dianggap penting dalam patogenesis penyakit. Ada dua jenis *mating type* yakni *mating type a* dan *mating type  $\alpha$* . *Mating type  $\alpha$*  lebih banyak ditemukan dan lebih virulen dibandingkan *mating type a*. Anggapan bahwa *mating type  $\alpha$*  lebih virulen dipertanyakan karena jumlahnya yang lebih banyak di alam mengakibatkan pajanan terhadap *mating type  $\alpha$*  lebih tinggi dibandingkan *mating type a*. Selain itu beberapa penelitian menunjukkan bahwa kedua *mating type* tersebut dapat mematikan hewan coba meskipun *mating type  $\alpha$*  membunuh lebih cepat.<sup>16,17</sup> *Mating type* diatur oleh ekspresi gene yang mengatur fertilitas jamur seperti gen *STE*, *MF* dan *CPR*.<sup>8,18</sup>

Faktor virulensi lain adalah *phenotypic switching* atau perubahan morfologi yang merupakan cara mikroorganisme untuk bertahan sebagai patogen dengan menyesuaikan diri terhadap lingkungan. Pada *Cryptococcus* hal itu tampak sebagai pembesaran ukuran simpai bila jamur berada dalam tubuh manusia sebagai upaya menghindari dari sistem kekebalan pejamu.<sup>19</sup> Morfologi koloni dilaporkan secara tidak langsung membantu virulensi jamur tersebut. Fenotipe koloni *Cryptococcus* dibagi menjadi empat jenis, yaitu *mucoïd*, *smooth*, *wrinkle* dan *white opaque*.<sup>18</sup> Fries *et al*,<sup>18</sup> melaporkan bahwa fagositosis lebih mudah dilakukan pada fenotipe *smooth* daripada *mucoïd*. Jamur dapat bereplikasi di dalam makrofag setelah menonaktifkan enzim yang membantu pembentukan fagolisosom. Hal tersebut banyak terjadi pada pasien yang terinfeksi HIV/AIDS. Penelitian lain melaporkan bahwa pasien yang terinfeksi fenotipe *mucoïd* kesintasannya dua kali lipat dibanding fenotipe *smooth*.<sup>19</sup>

Organel intraselular jamur *Cryptococcus* sp. yang turut menentukan virulensi adalah mitokondria. Aktivitas mitokondria dapat mempengaruhi jamur menjadi lebih resisten atau lebih rentan terhadap perangkat imun yang dihasilkan tubuh.<sup>9</sup> Faktor virulensi lain yang dapat membantu jamur tersebut melakukan invasi ke jaringan pejamu dan melindunginya dari perangkat kekebalan tubuh pejamu adalah enzim, diantaranya *laccase* (Gambar 1). *Laccase* terdapat di dinding sel jamur *Cryptococcus* sp. dan berperan dalam virulensi jamur dengan perannya dalam pembentukan melanin. Selain pembentukan melanin, *laccase* juga berfungsi sebagai enzim yang mengoksidasi senyawa difenol, substrat katekolamin dan zat besi.<sup>11,20,21</sup> Selain itu enzim tersebut juga diduga berperan dalam proses diseminasi jamur *Cryptococcus* ke otak dan regulasi imun pejamu.<sup>6,22</sup>



**Gambar 1.** Gambar diagramtik sel *Cryptococcus*, tampak dinding sel, simpai dan melamin (dimodifikasi dari Almeida *et al.*)<sup>10</sup>

## Kriptokokosis

Dalam satu dekade terakhir, seiring dengan pandemi AIDS, kriptokokosis makin banyak dilaporkan, bahkan di beberapa negara Asia Tenggara dan Afrika menjadi penanda fase AIDS (*AIDS defining illness*).<sup>23</sup> Di Negara Afrika Sub-Sahara penyakit tersebut merupakan penyebab kematian tertinggi pasien terinfeksi HIV, mengungguli kematian yang diakibatkan infeksi tuberkulosis.<sup>24</sup>

Penyebab utama kriptokokosis di dunia saat ini didominasi *C. neoformans* yang banyak menginfeksi pejamu imunokompromi, namun di China dan Jepang dilaporkan infeksi terjadi pada individu imunokompeten.<sup>3,24</sup> *Cryptococcus gattii* lebih banyak menginfeksi individu imunokompeten,<sup>3,24</sup> namun dalam jumlah sedikit juga menginfeksi pasien terinfeksi HIV, seperti laporan dari California, Botswana dan Malawi.<sup>3,24</sup> Kriptokokosis berhubungan dengan kondisi kekebalan selular pasien, terutama dengan jumlah CD4 <100 sel/  $\mu$ L, sebagaimana terlihat pada pasien terinfeksi HIV.<sup>4,8,13</sup>

## Epidemiologi

Jumlah kasus kriptokokosis di seluruh dunia cukup tinggi yakni sekitar 278 000 kasus. Insidens kriptokokosis meningeal, yang merupakan manifestasi klinis terbanyak, diperkirakan 223 100 orang dengan 73% kasus terjadi di Afrika Sub-Sahara.<sup>13</sup> Di Asia diperkirakan ada 140 000 kasus pertahun,<sup>13</sup> sedangkan di Indonesia ditemukan 16-30% pada pasien terinfeksi HIV/AIDS yang mengalami gangguan susunan saraf pusat (SSP).<sup>7,9</sup> Mortalitas kriptokokosis secara global diperkirakan 181100, dengan angka tertinggi di Afrika yakni 135 900 orang di Sub-Sahara Afrika. Pada pasien di negara berpendapatan rendah diperkirakan 70% pasien kriptokokosis meninggal, di negara berpendapatan menengah 60% dan di negara maju 20-30%.<sup>13</sup>

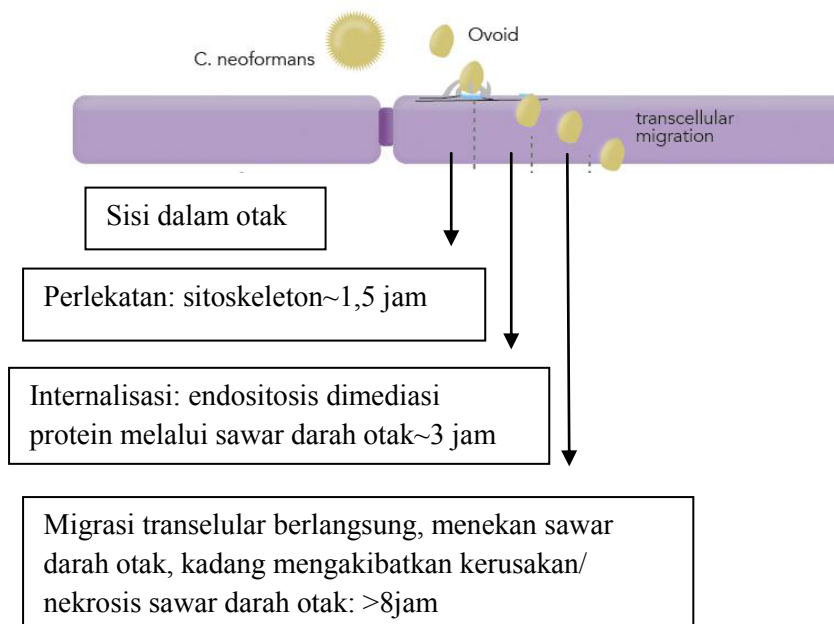
Penyebab utama kriptokokosis pada manusia ialah *C. neoformans*, yang dilaporkan 8× lebih banyak dibandingkan *C. gattii* (88,6% versus 11,4%). Perbandingan kedua spesies tersebut di bervariasi di berbagai negara, namun *C. neoformans* masih mendominasi kecuali di Oceania, *C. gattii* lebih banyak ditemukan.<sup>25</sup>

## Patogenesis

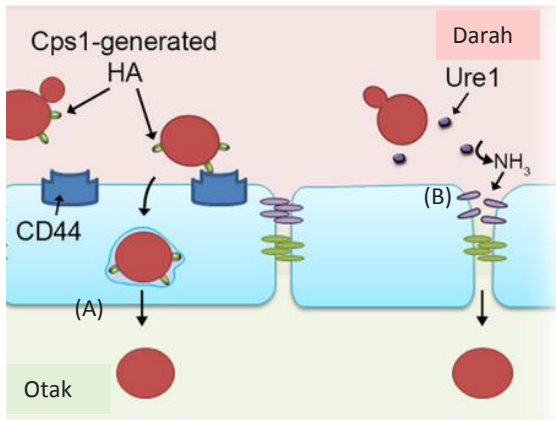
Habitat alami *Cryptococcus* di alam terutama pada tanah yang tercemar feces burung merpati, unggas lain, lapukan kayu dan daun.<sup>19,25</sup> Sel ragi yang relatif dehidrasi di lingkungan mudah terinhalasi memasuki saluran napas dan terdeposit di alveoli. Jamur dapat hidup sebagai saprofit dalam saluran napas dan tidak menimbulkan gejala klinik, kecuali *C. gattii* yang sering menginfeksi individu imunokompeten. Pada kondisi imunokompromi, jamur berkembang biak dengan cepat dan berdiseminasi secara hematogen sampai ke organ predileksi yakni SSP.<sup>10,19</sup> Dalam melewati sawar darah otak, jamur menggunakan tiga cara, yaitu

*transcellular crossing*, *Trojan-horse* dan *paracellular*.

Pada mekanisme *transcellular crossing/migration* melintasi endotel, terlebih dahulu jamur menempel pada endotel kemudian melalui mekanisme *protein mediated endocytosis* jamur dapat melewati sawar darah otak dalam waktu kurang lebih delapan jam (Gambar 2).<sup>12</sup> Asam hialuronik sintase (HA) pada jamur *Cryptococcus* akan berikatan dengan reseptor permukaan CD44, hal tersebut menginduksi proses endositosis sehingga jamur dapat melewati sawar darah otak (Gambar 3).<sup>14</sup> Mekanisme tersebut terjadi transelular, sel jamur keluar dari makrofag nonlitik dapat melewati sawar darah otak. (Gambar 4)

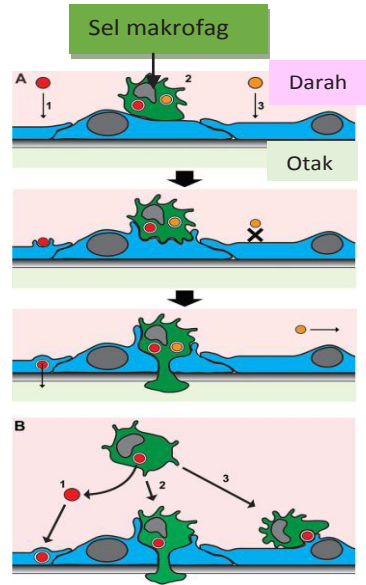


**Gambar 2.** Mekanisme migrasi transelular *Cryptococcus* sp. melewati sawar darah otak. (dimodifikasi dari Gelli, A)<sup>26</sup>



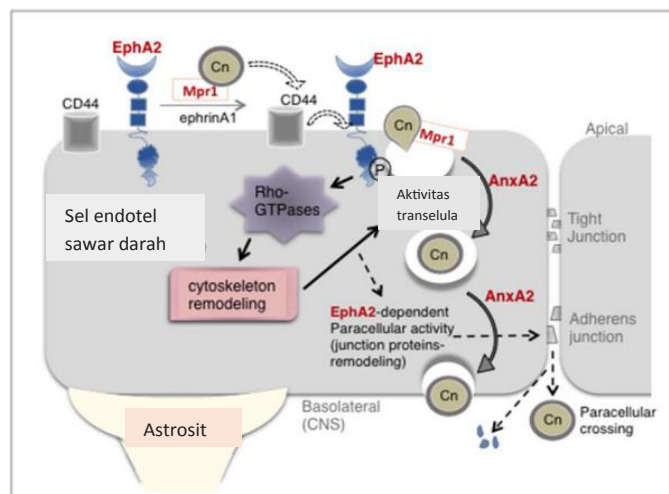
**Gambar 3.** Mekanisme *transcellular* (A) dan *paracellular* (B) *crossing* *Cryptococcus* melewati sawar darah otak. (dimodifikasi dari Santiago-Tirado *et al.*)<sup>29</sup>

Pada mekanisme *Trojan-horse* sel jamur menggunakan makrofag sebagai kendaraan untuk mencapai pembuluh darah otak. Makrofag akan melewati sawar darah otak beserta sel *Cryptococcus* didalamnya (Gambar 4).<sup>15</sup> Mekanisme *Trojan horse* banyak terjadi pada pasien terinfeksi HIV karena melemahnya permeabilitas sawar darah otak sehingga monosit lebih mudah melewati sawar darah otak dibandingkan individu yang tidak terinfeksi HIV.<sup>10,15</sup> Pada hewan coba monosit tersebut menjadi vektor potensial dalam invasi ke otak.<sup>27,28</sup>



**Gambar 4.** Mekanisme *transcellular* (1) dan *trojan horse* (2) jamur *Cryptococcus* saat melewati sawar darah otak. (dimodifikasi dari Santiago-Tirado *et al.*)<sup>29</sup>

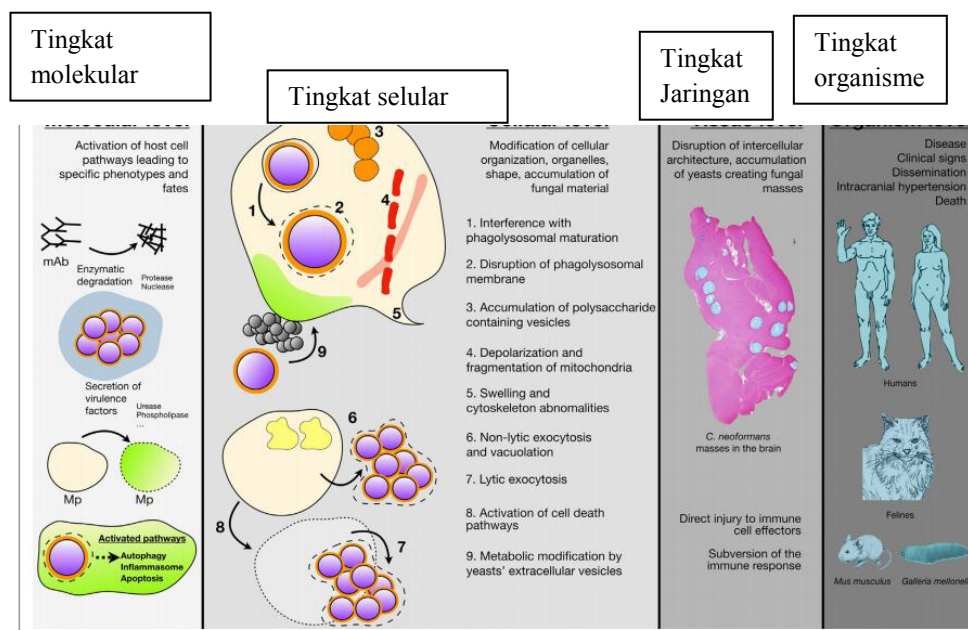
Mekanisme ketiga adalah *paracellular*; sel *Cryptococcus* dalam pembuluh darah dapat melewati area antar sel epitel sawar darah otak karena akumulasi amonia yang dihasilkan Ure1 dapat mengakibatkan kerusakan protein *cell junction* (Gambar 3) dan akumulasi EphA2 pada epitel melemahkan *intercellular junction* sehingga permeabilitas paraselular meningkat dan jamur dapat melewati sawar darah otak. (Gambar 5)



**Gambar 5.** Pengaruh enzim EphA2 pada proses translokasi *Cryptococcus* melewati sawar darah otak. (dimodifikasi dari Aaron *et al.*)<sup>30</sup>

*Cryptococcus* sp. dapat mengakibatkan kerusakan pada tubuh pejamunya. Pada tingkat molekular kerusakan diakibatkan sekresi beberapa enzim jamur. Diantaranya enzim urease, protease, dan fosfolipase. Enzim-enzim tersebut dapat mendegradasi antibodi, memodifikasi membran sel pejamu yang berakhir dengan kerusakan jaringan. Jamur yang ditangkap sel fagosit dapat memicu mekanisme autofagi sel inang yang selanjutnya mengakibatkan apoptosis sel tersebut. Pada tingkat selular, kerusakannya

adalah akumulasi vakuol polisakarida, menghambat pematangan fagolisosom, merusak membran fagolisosom, depolarisasi dan fragmentasi mitokondria, edema dan abnormalitas sitoskeleton sel hospes, dan eksositosis yang disertai lisis sel yang berakibat kematian sel hospes. Pada tingkat jaringan (otak) dapat terbentuk massa jamur dan secara klinis mengakibatkan peningkatan tekanan intrakranial, infeksi diseminata dan kematian (Gambar 6).<sup>14,30</sup>



**Gambar 6.** Mekanisme kerusakan yang ditimbulkan infeksi *Cryptococcus neoformans* dari tingkat molekular, selular, jaringan dan pejamu. (dimodifikasi dari Casadevall *et al.*,<sup>14</sup> Sacht *et al.*<sup>31</sup>)

### Manifestasi Klinis

*Cryptococcus* masuk ke dalam tubuh manusia dengan cara inhalasi spora ke dalam paru. Bentuk spora yang relatif dehidrasi terinhalasi, lalu proses rehidrasi akan terjadi di saluran pernafasan. Jamur akan ditangkap makrofag,<sup>23</sup> selanjutnya dapat terjadi penghancuran oleh makrofag dan sebagian bertahan hidup didalam makrofag bahkan melakukan replikasi. Infeksi primer di paru sering berlangsung tanpa gejala

terutama pada individu imunokompeten. Proses diseminasi ke organ lain dipengaruhi beberapa hal, diantaranya jumlah jamur yang dapat bertahan terhadap respons kekebalan pejamu, dan virulensi jamur.<sup>12</sup> Penyebaran jamur terutama adalah ke otak sebagai tempat predileksinya. Penyebaran terjadi melalui darah dan sebagian dapat menimbulkan infeksi sistemik yang bermanifestasi ke kulit.<sup>32</sup> Infeksi paru, sebagai tempat masuk dapat menjadi infeksi paru kronik, yang pada awalnya berlangsung asimtomatik.



Kriptokokosis paru dapat menimbulkan gejala batuk, nyeri dada, pleuritis, demam, sesak napas, dan sindrom distres pernapasan akut terutama pada pasien imunokompromi.<sup>24</sup> *Cryptococcus neoformans* dilaporkan jarang memberikan gejala di paru, pada kondisi kelainan imunitas baik mayor maupun minor maka jamur langsung berdiseminasi ke otak. Hal itu berbeda dengan *C. gattii* yang sering mengakibatkan perdarahan paru. Infeksi saluran cerna biasanya tanpa gejala dan selama ini banyak dilaporkan melalui otopsi. Kriptokokosis kulit banyak dilaporkan sebagai bagian kriptokokosis diseminata, walaupun dapat merupakan infeksi primer di kulit.<sup>33,34</sup>

Organ lain yang dilaporkan dapat terinfeksi jamur *Cryptococcus* adalah mata dan traktus urogenitalis. Dilaporkan sepertiga pasien terinfeksi HIV dengan kriptokokosis otak disertai kelainan mata. Kelainan tersering adalah papil edema yang disebabkan peningkatan tekanan intra kranial. Selain itu, dapat terjadi kehilangan penglihatan sebagian atau keseluruhan, dan paralisis otot motorik pada mata. Kehilangan penglihatan total sering bersifat akut, hal tersebut disebabkan atrofi saraf mata dan terutama diakibatkan infeksi *C. gattii*. Atrofi juga dapat disebabkan oleh neuritis saraf mata, namun hal tersebut tidak banyak ditemukan.<sup>33-35</sup> Infeksi pada organ urogenital dapat dideteksi dengan kultur urin, prosedur biasanya didahului dengan pijatan prostat, positifitasnya sebesar 40%. Jamur juga sering ditemukan pada cairan semen pada saat organ lain sudah negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa jaringan prostat merupakan *point of relaps* kriptokokosis pada pasien AIDS.<sup>36</sup>

Manifestasi klinis kriptokokosis bervariasi, mulai dari tanpa gejala hingga infeksi berat yaitu meningitis/meningoensefalitis/ensefalitis. Meningitis adalah manifestasi klinis tersering pada individu imunokompromi. Gejala tersering

pasien kriptokokosis meningeal adalah nyeri kepala yang makin lama makin berat. Manifestasi klinis lainnya adalah papiledema, malaise, demam, perubahan perilaku, kejang dan defisit neurologis, walaupun defisit neurologi fokal jarang terjadi.<sup>8,24</sup> Kriptokokosis meningeal dapat mengakibatkan komplikasi serius, yaitu peningkatan tekanan intra kranial (TIK), gangguan penglihatan dan pendengaran.<sup>8,24</sup> Peningkatan TIK dapat menimbulkan kaku kuduk dan penurunan kesadaran. Selain itu jamur *Cryptococcus* juga dilaporkan dapat mengakibatkan perubahan perilaku, perubahan status mental, bingung dan lupa.<sup>8</sup>

Lini pertama imunitas pada kriptokokosis adalah imunitas bawaan. Selanjutnya terjadi aktivasi imunitas selular adaptif yang merupakan respons imun paling penting dalam upaya eliminasi *Cryptococcus*. Sel polimorfonuklear (PMN) merupakan perangkat imunitas selular pertama yang datang ke area infeksi. Bila PMN dapat diinaktivasi oleh GXM yang terdapat pada simpai jamur, yang akan mengganggu fungsi sel NK, limfosit dan makrofag yang berperan dalam respons imun terhadap *Cryptococcus*. Sel T CD4 mengaktifasi makrofag menggunakan sitokin proinflamasi IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12 dan IL-18. Makrofag dapat memfagositosis jamur melalui mekanisme oksidatif *L-arginine* dengan menggunakan enzim arginase. Simpai berperan juga dalam menekan fungsi sel Th CD4 dan meningkatkan fungsi sitotoksik sel Th CD8.<sup>33,37</sup>

## Diagnosis

Penegakan diagnosis kriptokokosis dilakukan berdasarkan beberapa hal, meliputi anamnesis, gejala klinis dan hasil pemeriksaan laboratorium. Diagnosis klinis dapat ditegakkan berdasarkan anamnesis dan gejala klinis yang ditemukan. Pemeriksaan penunjang diagnosis adalah pemeriksaan

laboratorium klinik, dan radiologi, sementara diagnosis pasti ditegakkan berdasarkan hasil pemeriksaan mikologi pada cairan tubuh steril, yakni penemuan jamur dan deteksi antigen pada cairan otak. Menurut De Pauw *et al*, hal tersebut menunjukkan penyakit jamur invasif yang *proven* kriptokokosis.<sup>12,38</sup>

Hasil pemeriksaan laboratoroium klinis yang dianggap membantu penegakkan diagnosis meningitis bakterial adalah rasio sel polimorfonukleal (PMN) terhadap sel mononuklear (MN), yang merupakan representasi proses inflamasi.<sup>39</sup> Pada kriptokokosis meningeal belum diketahui pasti peran rasio tersebut dalam perjalanan penyakit. Lipovsky *et al*,<sup>39</sup> melaporkan bahwa salah satu komponen simpai yaitu GXM menurunkan jumlah PMN dan konsentrasi TNF $\alpha$  di cairan otak, serta proses inflamasi di jaringan otak rendah.

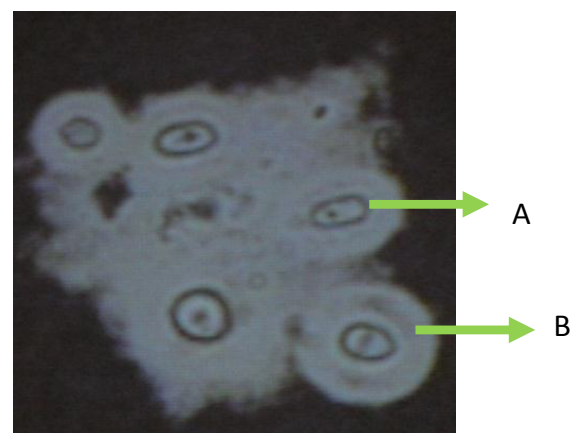
Pemeriksaan laboratorium mikologi terdiri atas pemeriksaan langsung bahan klinik dengan tinta india, dan kultur pada medium rutin agar sabouraud dekstrose (ASD) sebagai medium isolasi, dan agar *bird seed* (ABS) sebagai medium identifikasi. Pada ABS jamur akan tumbuh sebagai koloni coklat gelap karena pembentukan melanin. Deteksi antigen dalam darah dan cairan otak dapat dilakukan dengan metode *lateral flow assay*/ LFA dan aglutinasi lateks/ AL. Hasil positif pada pemeriksaan serum merupakan diagnosis *presumptif* meningitis dan harus dilanjutkan dengan pemeriksaan cairan otak untuk memastikan keterlibatan otak.<sup>24</sup> Baku emas diagnosis kriptokokosis adalah kultur bahan klinik.<sup>37</sup>

Koloni yang tumbuh pada kultur dapat diidentifikasi secara mikroskopis dengan tinta India untuk melihat pembentukan kapsul. Identifikasi spesies dilakukan secara biokimiawi misalnya dengan kit komersial API 20 AUX C (#20210, *Biomerieux*, USA). Identifikasi *Cryptococcus* juga dapat dilakukan berdasarkan analisis molekular (DNA) dan spektrum protein

jamur menggunakan sistim *matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS) (*Microflex™ series* (Bruker, Jerman).<sup>40</sup>

Pemeriksaan laboratorium serologi yang direkomendasikan WHO untuk diagnosis kriptokokosis adalah deteksi antigen dengan metode LFA dan AL (CrAg LFA IMMY Oklahoma, Amerika Serikat dan Pastorex™ Crypto Plus #61747, Bio-Rad, Perancis - Gambar 10),<sup>41</sup> pemeriksaan tinta india dan kultur cairan otak. Sensitivitas pemeriksaan LFA/ AL pada cairan otak sebesar 97%.<sup>12</sup>

Pemeriksaan cairan otak dengan tinta india akan memberikan hasil positif bila jumlah sel jamur sekitar  $10^3$ - $10^4$  sel/ml cairan otak. Pada pemeriksaan tinta India, simpai tidak menyerap warna, tinta hanya memberikan latar belakang gelap sehingga jamur mudah terlihat (Gambar 7). Ditemukannya jamur dalam cairan otak merupakan diagnosis pasti. Sensitivitas metode tinta india pada cairan otak hanya 70%. Metode lain pengamatan simpai adalah dengan menambahkan antibodi spesifik sehingga terdapat ikatan antibodi dengan polisakarida komponen simpai.<sup>12</sup>



**Gambar 7.** Pewarnaan tinta india: sel ragi berkapsul, *C. neoformans* dari spesimen cairan otak pasien AIDS. Tampak sel ragi (A) yang dikelilingi oleh simpai tebal (B). Jelas terlihat pada latar belakang gelap (foto: Wahyuningsih, 2008)

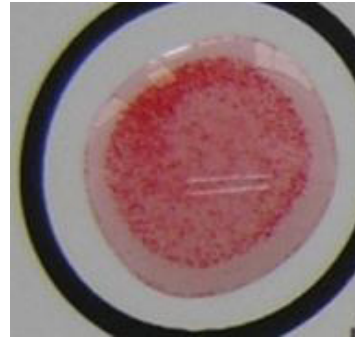
Metode lain yang digunakan dalam penegakkan diagnosis kriptokokosis adalah biakan bahan klinik. Pemiakan dilakukan pada media ASD dan ABS yang diinkubasi pada suhu kamar selama 48-72 jam. Pada medium ASD, isolat yang tumbuh terlihat sebagai koloni ragi berwarna kuning hingga coklat muda, berlendir atau kering (Gambar 8). Pada media ABS jamur tumbuh sebagai koloni ragi berwarna coklat tengguli (Gambar 9).



**Gambar 8.** *Cryptococcus neoformans* di media ASD. Biakan berumur tiga hari. Koloni ragi berwarna kekuningan dengan permukaan berlendir.<sup>42</sup>



**Gambar 9.** Isolat *C. neoformans* pada media ABS; koloni ragi berwarna coklat tengguli<sup>42</sup>



**Gambar 10.** Hasil positif deteksi antigen *Cryptococcus* dengan metode aglutinasi lateks; hasil positif tampak seperti gumpalan berpasir.<sup>42</sup>

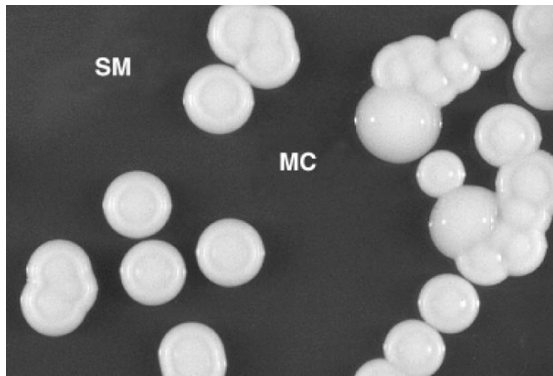


**Gambar 11.** Pemeriksaan deteksi antigen *Cryptococcus* kompleks dengan metode LFA; hasil positif tampak dua garis pada carik celup LFA.<sup>42</sup>

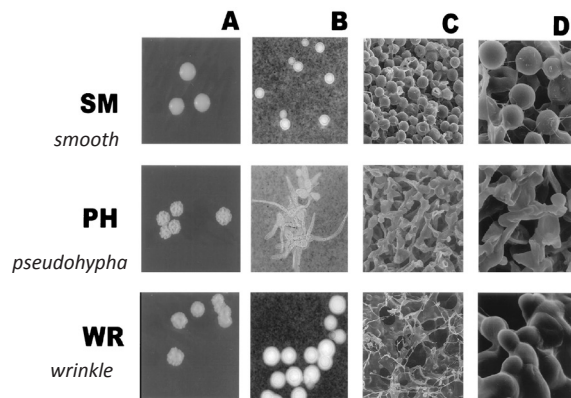
### Identifikasi Fenotipik

Jamur *C. neoformans* dan *C. gattii* dapat dibedakan berdasarkan sifat biokimia yang terlihat sebagai kemampuan mengubah warna medium *glycine bromothymol blue* (CGB). *Cryptococcus neoformans* tidak dapat mengubah warna medium CGB sehingga medium tetap berwarna krem. Kadar enzim kreatinin deaminase yang dihasilkan tidak cukup untuk degradasi kreatinin, sehingga amonia yang dihasilkan tidak cukup untuk mengubah pH/warna medium.<sup>43</sup> *Cryptococcus gattii* mengubah warna medium CGB menjadi biru karena memproduksi cukup banyak enzim kreatinin deaminase.<sup>43</sup>

Fenotipe lain yang dapat diamati adalah morfologi koloni. Ada empat jenis morfologi koloni yaitu *mucoïd*, *smooth*, *wrinkle* dan *white opaque*. Keempat morfologi memiliki tampilan yang berbeda pada kultur dan pemeriksaan dengan tinta India.<sup>19</sup>



**Gambar 12.** Morfologi koloni jamur *Cryptococcus* sp. MC (*mucoïd*) dan SM (*smooth*). (dimodifikasi dari Jain *et al.*).<sup>13</sup>



**Gambar 13.** Gambaran morfologi sel dan kultur *Cryptococcus*. A: jenis koloni, pembesaran 4×, B: Pemeriksaan dengan tinta India (250×), C & D jenis koloni dengan mikroskop elektron (C: 1000×, D: 5000×). (dimodifikasi dari Fries *et al.*).<sup>18</sup>

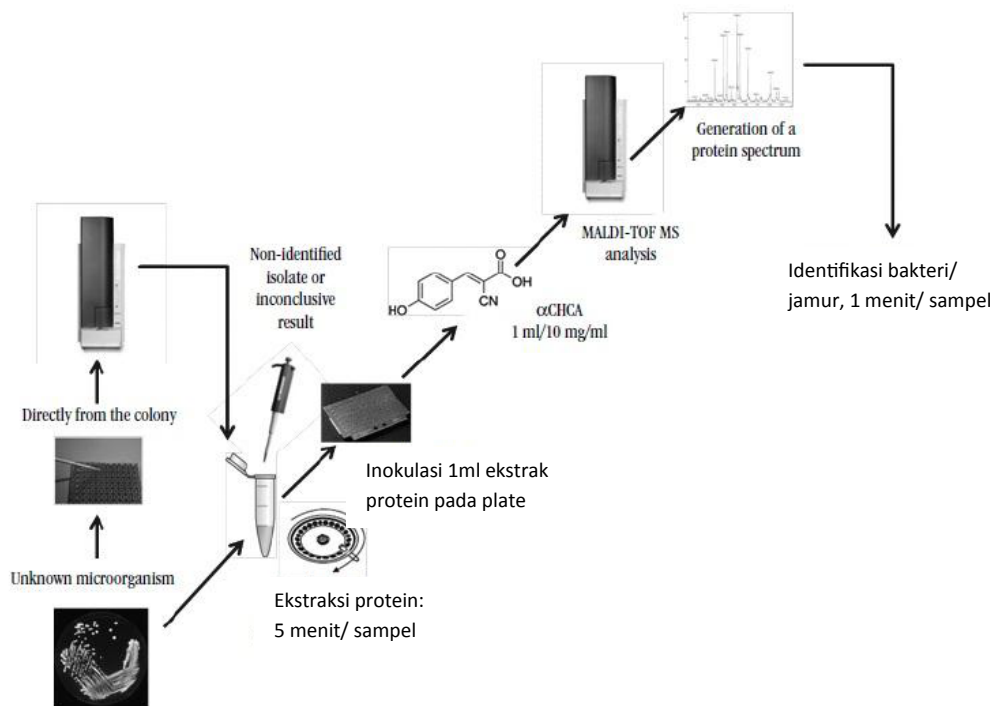
Penentuan nama koloni *pseudohypha* belum disepakati, sedangkan ketiga nama morfologis lainnya telah banyak digunakan. Berdasarkan penelitian *in-vitro* dan hewan coba, diketahui koloni *wrinkle* lebih virulen dibanding koloni *pseudohypha* dan *smooth*

dan koloni *pseudohypha* lebih virulen dibandingkan koloni *smooth*.<sup>18,44</sup> Morfologi koloni dapat mengalami perubahan yang dikenal sebagai *phenotypic switching*. Perubahan tersebut dapat terjadi di dalam tubuh manusia maupun di laboratorium.<sup>18,44</sup>

### Identifikasi Molekular

*Cryptococcus* dapat diidentifikasi menggunakan berbagai metode antara lain dengan mempelajari spektrum protein dan struktur basa DNA jamur. Spektrum protein dan urutan basa DNA bersifat khas dan dapat digunakan sebagai dasar identifikasi.

Metode identifikasi berdasarkan spektrum protein dilakukan dengan dua cara yakni *matrix-assisted laser desorption/ionization* (Maldi) dan *time of flight mass spectrometry* (TOF) yang digabung menjadi Maldi-TOF. Prinsip Maldi adalah menghasilkan fase gas dengan cara ionisasi lunak yang mengubah molekul kecil menjadi fase gas tanpa merusak struktur protein. Caranya adalah mencampur sampel (koloni jamur) dengan matriks khusus yang tersedia. Selanjutnya sinar laser ditembakkan pada matriks yang akan menyerap sinar UV ( $\lambda$  337 nm), dan dengan cepat berubah menjadi energi panas. Sebagian kecil matriks memanaskan dengan cepat (dalam nano detik) dan menguap bersama dengan sampel menjadi gas atau ion. Gas/ion yang terbentuk memiliki ukuran berbeda-beda, yang berukuran kecil akan mencapai detektor lebih cepat dibandingkan dengan ion ukuran besar (*time flight*). Perbedaan tersebut khas untuk tiap mikro-organisme sehingga memungkinkan identifikasi sampai taraf spesies atau strain. Peralatan yang telah tersedia secara komersial diantaranya MALDI-TOF MS microflex<sup>TM</sup> series (Bruker, Jerman) (Gambar 14).<sup>41,43</sup>



**Gambar 14.** Prinsip kerja MALDI-TOF MS microflex™ series (Bruker, Germany) dalam mengidentifikasi mikro-organisme termasuk jamur. (dimodifikasi dari maldi+tof+ms+pdf&safe)<sup>45</sup>

Metode identifikasi berbasis molekular lain adalah AFLP-PCR atau disebut *amplified length polymorphism* (AFLP) saja. Prinsipnya adalah identifikasi genom DNA berdasarkan amplifikasi wilayah/fragmen DNA genom yang telah dicerna enzim restriksi. Hasilnya berupa polimorfisme mikroorganisme yang bersifat spesies spesifik. Untuk *Cryptococcus*, reaksi PCR biasanya digunakan primer yang sesuai dengan tujuan identifikasi. Primer STE12, dan GPA1, bertujuan untuk identifikasi *mating type* yang dirancang dari wilayah gen *STE12* dan *GPA1*.<sup>46</sup> Metode lain yang juga dapat digunakan untuk identifikasi adalah *restricted fragment length polymorphism* (RFLP) yang mengamplifikasi gen *URA5* dan *multilocus sequence typing* (MLST) yang mengamplifikasi tujuh lokus gen jamur tersebut.<sup>6,46,47</sup> Metode-metode tersebut sangat akurat namun rumit dan mahal.<sup>46</sup>

### Luaran Klinis

Prevalensi kriptokokosis sebagai infeksi oportunistik pada pasien dengan HIV mencapai 12%. Prevalensi tersebut menurun setelah tersedia obat anti virus (ARV), terutama di negara-negara maju. Di negara berkembang karena keterbatasan mendapatkan ARV, prevalensinya masih tetap tinggi,<sup>47</sup> namun kewaspadaan terhadap penyakit tersebut meningkat termasuk di Indonesia. Kriptokokosis meningeal merupakan kelainan SSP yang menyebabkan kecacatan pada 10% pasien dan 4% kematian pada pasien.<sup>48,49</sup> Pada pasien terinfeksi HIV/AIDS, angka kematian bervariasi antara 13-44%.<sup>13</sup>

Luaran klinis kriptokokosis meningeal sangat bervariasi, tergantung dari beberapa faktor, diantaranya penyakit dasar, imunitas pasien, keparahan penyakit, diagnosis dini,

infeksi lain yang menyertai, dan tatalaksana yang cepat dan tepat. Status imun individu sangat menentukan perjalanan penyakit, makin rendah imunitas makin tinggi angka kesakitan dan kematian pasien.<sup>48,49</sup> Darma *et al.*<sup>35</sup> melaporkan bahwa infeksi HIV merupakan faktor utama yang mempengaruhi luaran klinis pasien kriptokokosis meningeal. Beberapa hal yang turut mempengaruhi adalah ketepatan diagnosis, hanya 26% pasien yang di diagnosis dengan tepat.<sup>49</sup> Selain itu rendahnya pasien yang mendapat ARV (9%) juga turut mempengaruhi mortalitas.<sup>5</sup> Scriven *et al.*<sup>50</sup> melaporkan bahwa mortalitas pasien kriptokokosis meningeal berkaitan dengan turunnya konsentrasi INF $\gamma$  dan jumlah sel CD4-CD8.

*Cryptococcus* sp. sebagai penyebab kriptokokosis meningeal ditemukan di seluruh dunia, dengan penyebaran *C. neoformans* lebih luas dibandingkan *C. gattii*. Tujuh nama baru *Cryptococcus* sp. telah diusulkan dan berdasarkan hal itu penyebarannya bervariasi di beberapa negara. Keragaman genotipe dapat diperoleh baik pada satu negara maupun dalam satu pasien kriptokokosis meningeal. Manifestasi klinis yang muncul berbeda-beda, namun utamanya adalah sakit kepala, demam dan penurunan kesadaran. Prosedur diagnosis dapat dipilih mulai dari pemeriksaan konvensional hingga berbasis molekular dan protein. Luarannya dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya beban jamur, penyakit dasar, status imun pasien, diagnosis dini, serta ketersediaan obat.

## Daftar Pustaka

1. Chang YC, Stins MF, McCaffery MJ, Miller GF, Pare DR, Dam T, *et al.* Cryptococcal yeast cells invade the central nervous system via transcellular penetration of the bloodbrain barrier. *Infect Immun.* 2004;72(9):4985-95.
2. Kayhan K, Hagen F, Pan W, Simwami S, Fisher MC, Wahyuningsih R, *et al.* Geographically structured populations of *C. neoformans* variety *grubii* in Asia. Correlate with HIV status and show a clonal population structure. *PLoS ONE.* 2013; 8(9): e72222..
3. Barreto de Oliveira MT, Boekhout T, Theelen B, Hagen F, Baroni FA, Lazera MS *et al.* *Cryptococcus neoformans* shows a remarkable genotypic diversity in Brazil. *J Clin Microbiol.* 2004;42(3):1356-9.
4. Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polacheck I, Sionov E, *et al.* Recognition of seven species in the *C. gattii/ C. neoformans* species complex. *Fungal Gen and Biol.* 2015; 78:16-48.
5. Pan W, Khayhan K, Hagen F, Wahyuningsih R, Chakrabarti A, Chowdhary A, *et al.* Resistance of Asian *C. neoformans* serotype a is confined to few microsatellite genotypes. *PLoS One.* 2012;7(3):1-9.
6. Guerrero A, Jain N, Goldman DL, Fries BC. Phenotypic switching in *Cryptococcus neoformans*. *Microbiology.* 2006 (152): 3–9
7. Casadevall A, Perfect JR. *Taxonomy in C. neoformans.* Washington DC: ASM Press. 1998. p.29-40.
8. Bicanic T, Harrison TS. Cryptococcal meningitis. *Brit Med Bull.* 2004;72: 99-118.
9. Chang AL, Doering TL. Maintenance of mitochondrial morphology in *Cryptococcus neoformans* is critical for stress resistance and virulence. 2018. *mBio* 9:e01375-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01375-18.29>.
10. Almeida F, Wolf JM, Casadevall A. Virulence-Associated Enzymes of *Cryptococcus neoformans*. *Eucar cell.* 2015; 14 (12): 1173-85.
11. Anekthananon T, Manosuthi W, Chetchotisakd P, Kiertiburanakul C, Supparatpinyo K, Ratanasuwan P. *et al.* Predictors of poor clinical outcome of cryptococcal meningitis in HIV-infected patients. *Intern J STD AIDS.* 2011; 22: 665–670.
12. Dromer F, Levitz SM. Invasion of *Cryptococcus* into the central nervous system. Dalam: Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect J, Casadevall A, editors. *Cryptococcus: from human pathogens to model yeast.* Washington DC: ASM; 2011. p.465-71.
13. Jain N, Guerrero A, Fries BC. Phenotypic switching and its implications for the pathogenesis of *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Yeast Res.* 2006 June ; 6(4): 480–488.
14. Casadevall A, Coelho C, Alanio A. Mechanisms of *Cryptococcus neoformans*-mediated host damage. *Front Immunol.* 2018; 9:855.
15. Viviani MA, Tortorano AM. Cryptococcosis. In: Anaisse EJ, Mc Ginnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical mycology.* 2nd ed. New York: Churchill

- Livingstone Elsevier; 2009. p. 231-49.
16. Wickes BL. The role of mating type and morphology in *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. *Intern J Med Microbiol.* 2002; 292(5-6): 313-29.
  17. Lin X, Nielsen K, Patel S, Heitman J. Impact of mating type, serotype, and ploidy on the virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun.* 2008; 76(7): 2923-38.
  18. Fries BC, Taborda CP, Serfass E, Casadevall A. Phenotypic switching of *Cryptococcus neoformans* occurs in vivo and influences the outcome of infection. *J Clin Invest.* 2001; 108(11): 1639-1648.
  19. Ma H, May RC. Virulence in *Cryptococcus* Species. Dalam Laskin AI, Sariaslani S, Gadd GM (editors), *Advances in applied microbiology.* Burlington: Academic Press; 2009. p.131-90.
  20. Zhu X, Williamson PR. Mini Review: Role of laccase in the biology and virulence of *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Yeast Research* 5; 2004: 1-10.
  21. Dalisay DS, Saludes JP, Molinski TF. Ptilomycalin A Inhibits Laccase and 275 Melanization in *Cryptococcus neoformans*. *Bioorg Med Chem.* 2011; 19: 6654-7.
  22. Qiu Y, Dayrit JK, Davis MJ, Carolan JF, Osterholzer JJ, Curtis JL, Olszewski MA. Scavenger receptor a modulates the immune response to pulmonary *Cryptococcus neoformans* infection. *J Immunol.* 2013; 191(1): 238-48. doi:10.4049/jimmunol.1203435.
  23. Rothe C, Sloan DJ, Goodson P, Chikafa J, Mukaka M, *et al.* A prospective longitudinal study of the clinical outcomes from cryptococcal meningitis following treatment induction with 800 mg oral fluconazole in Blantyre, Malawi. *PLoS ONE.* 2013; 8(6): e67311.
  24. 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):525-30.
  25. Cogliati M. Global Molecular Epidemiology of *C. neoformans* and *C. gattii*: An Atlas of Molecular Type. *Scientifica.* 2013:1-23.
  26. Angela-Gelli-Cali-University-neuroscience-2-1. Mekanisme migrasi transelular *Cryptococcus* sp. melewati sawar darah otak. Diunduh dari: [cdn2.researchfeatures.com/wp-content/uploads/2016/12/diunduh\\_pada\\_tanggal\\_6\\_Februari\\_2019](http://cdn2.researchfeatures.com/wp-content/uploads/2016/12/diunduh_pada_tanggal_6_Februari_2019).
  27. Wang H, Sun J, Goldstein H. Human immunodeficiency virus type 1 infection increases the in vivo capacity of peripheral monocytes to cross the blood-brain barrier into the brain and the in vivo sensitivity of the blood-brain barrier to disruption by lipopolysaccharide. *J Virol.* 2008; 82:7591-600.
  28. Charlier C, Nielsen K, Chretien F, Daou S, Dromer F, Brigitte M. Evidence of a role for monocytes in dissemination and brain invasion by *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun.* 2009; 77(1): 120-7.
  29. Santiago-Tirado FH, Onken MD, Cooper JA, Klein RS, Doering TL. Trojan horse transit contributes to blood-brain barrier crossing of a eukaryotic pathogen. *mBio.* 2017; 8: e02183-16.
  30. Aaron PA, Jamklang M, Uhrig JP, Gelli A. The blood-brain barrier internalises *Cryptococcus neoformans* via the EphA2-tyrosine kinase receptor. *Cell Microbiol.* 2018; 20 (3). doi: 10.1111/cmi.12811.
  31. Sacht GL, de Lima AM, Perdomo YC, Boigues RS, Takita LC, Filho GH. Disseminated cryptococcosis with cutaneous involvement in an immunocompetent patient. *An Bras Dermatol.* 2016;91(6):832-4.
  32. Chayakulkeeree M, Perfect JR. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin N Am* 2006;20:507-44.
  33. Corti M, Solari R, Cangelosi D, *et al.* Sudden blindness due to bilateral optic neuropathy associated with cryptococcal meningitis in an AIDS patient. *Rev Iberoam Micol* 2010;27:207-9.
  34. Arechavala AI. Métodos de Diagnóstico de la Criptococosis Asociada al SIDA. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires; 1998.
  35. Imran D, Estiasari R, Maharani K, Sucipto, Lestari DC, Yunus RE *et al.* Presentation, etiology, and outcome of brain infections in an Indonesian hospital. A cohort study. *Neurol: Clin. Pract.* 2018; 8(5): 1-10
  36. Negroni R. Criptococosis. In: Benetucci J, editor. *Sida y Enfermedades Asociadas. Diagnóstico, Clínica y Tratamiento.* 3rd ed. Buenos Aires: FUNDAI; 2008. p. 332-6.
  37. World Health Organization. Rapid advice: diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children. Geneva: 2011. WHO guidelines.
  38. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly sJP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, *et al.* Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/ MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(12):1813-21.
  39. Lipovsky MM, Tsenova L, Coenjaerts FE, Kaplan G, Cherniak R, Hoepelman.

- Cryptococcal glucuronoxylomannan delays translocation of leukocytes across the blood-brain barrier in an animal model of acute bacterial meningitis. *J Neuroimmunol.* 2000; 111 (1-2): 10-4.
40. Heitman J. Evolution of eukaryotic microbial pathogens via covert sexual reproduction. *Cell Host Microbe.* 2010;8 : 86–99.
  41. Posteraro B, Vella A, Cogliati M, Posteraro P, Florio AR, De Carolis E. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based method for discrimination between molecular types of *C. neoformans* and *C. gattii*. *J Clin Microbiol.* 2012;50(7):2472-6
  42. Departemen Parasitologi FKUI. Koleksi foto pemeriksaan jamur *Cryptococcus* sp.
  43. Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012; 93: 965-74.
  44. 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;11: 6076-83.
  45. Prinsip kerja mesin Malditof MS. Diunduh dari [https://www.google.com/search?q=maldi+tof+ms+pdf&safe=strict&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEw1uJW0pOPfAhVMFHIKHQwIDbEQ\\_AUIDigB&biw=1328&bih=575#imgrc=5IDjqKHpQLnlqM](https://www.google.com/search?q=maldi+tof+ms+pdf&safe=strict&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEw1uJW0pOPfAhVMFHIKHQwIDbEQ_AUIDigB&biw=1328&bih=575#imgrc=5IDjqKHpQLnlqM). Pada tanggal 10 januari 2019.
  46. Viviani MA, Wen H, Roverselli A, Caldarelli-Stefano R, Cogliati M, Ferrante P, *et al.* Identification by polymerase chain reaction fingerprinting of *C. neoformans* serotype AD. *J Med Vet Mycol.* 1997; 35: 355-60.
  47. Guinea J, Hagen H, Pel á ez T, Boekhout T, Tahoune H, Torres-narbona M. Antifungal susceptibility, serotyping, and genotyping of clinical *C. neoformans* isolates collected during 18 years in a single institution in Madrid, Spain. *Med Mycol.* 2010;(48):942-8.
  48. GBD 2015 Neurological Disorders Collaborator Group. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Neurol* 2017;16:877–97.
  49. Ganiem AR, Parwati I, Wisaksana R, van der Zandenc A, van de Beekd D, Sturme P, *et al.* The effect of HIV infection on adult meningitis in Indonesia: a prospective cohort study. *AIDS.* 2009;23(17):2309-16.
  50. Scriven JE, Graham LM, Schutz C, Scriba TJ, Wilkinson KA, Wilkinson RJ *et al.* The CSF immune response in hiv-1-associated cryptococcal meningitis: macrophage activation, correlates of disease severity, and effect of antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017; 75: 299–307.