

52



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES FACULTAD DE QUIMICA

CRIPTOCOCOSIS Y SIDA

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION QUE PARA OBTENER EL TITULO DE QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO PRESENTA MARCO ANTONIO HERNANDEZ RAMIREZ

RAMIREZ



MEXICO, D.F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

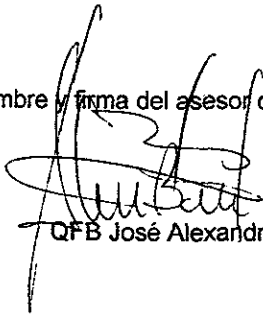
Jurado asignado:

Presidente:	Prof. Abel Gutiérrez Ramos
Vocal:	Prof. José Alejandro Bonifaz Trujillo
Secretario:	Prof. Misael González Ibarra
1er. Suplente:	Prof. Enrique Ortega Soto
2º. Suplente:	Prof. Luciano Hernández Gómez

Sitio donde se desarrolló el tema

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO O.D.

Nombre y firma del asesor del tema



QFB José Alejandro Bonifaz Trujillo

Nombre y firma del sustentante



Marco Antonio Hernández Ramírez

*A la Universidad Nacional Autónoma de México,
porque a pesar de todo...
por nuestra Raza Hablará el Espíritu.*

*A Don Delfino y Doña Edith... mis padres,
gracias por su apoyo y cariño.*

A mis hermanas y hermanos... con todo mi cariño.

*Pero sobre todo a Susana mi esposa, a
Gladys Susana y Marco Antonio... mis hijos,
por darle valor a todas las cosas.*

*Mi agradecimiento al Hospital General General de México
por su apoyo.*

*Una mención especial al Q.F.B. Jose Alexandro Bonifaz Trujillo,
por su paciencia y amistad. Gracias.*

CRIPTOCOCOSIS

INTRODUCCION

La criptococosis es un padecimiento ocasionado por *Cryptococcus neoformans* que raramente causa infección diseminada en individuos sanos. La inmensa mayoría de pacientes con criptococosis tienen alguna condición de inmunocompromiso subyacente. El más común de éstos es el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), tratamientos prolongados con corticoesteroides, trasplantes de órganos, malignidades y sarcoidosis.

A principios de la década de los ochenta, la criptococosis se presentaba en aproximadamente el 1% de las micosis oportunistas. Con el surgimiento del SIDA el número de casos de criptococosis ha aumentado dramáticamente. Este aumento es el resultado en parte del mayor conocimiento de *C. neoformans* como un oportunista, pero principalmente al aumento de pacientes inmunocomprometidos.

Debido a que la criptococosis se considera como una de las infecciones oportunistas más peligrosas observadas en este grupo de pacientes, es de suma importancia conocer la historia natural de la enfermedad para tratar de disminuir los efectos de este padecimiento.

Las complicaciones infecciosas del SIDA que comprenden el diagnóstico y tratamiento de la criptococosis se estudian desde una perspectiva clínica. Además este trabajo presenta una revisión detallada de las manifestaciones de esta enfermedad en el SIDA. Por otra parte, se intenta presentar la información de una manera práctica y actualizada, incluyéndose una exposición de los recursos existentes para el tratamiento de la infección. A este respecto, se estudia comparativamente nuevos agentes antimicóticos que ofrecen algunas ventajas tanto en lo que se refiere al tratamiento primario como al de mantenimiento con respecto al medicamento de elección; se valoran su eficacia, facilidad de administración y efectos colaterales significativos.

El presente trabajo tiene como objetivo, el proporcionar la mayor información que existe hasta la fecha sobre los trabajos de casos de pacientes VIH positivos sobre la microbiología, epidemiología, síndromes clínicos, diagnóstico y tratamiento de la criptococosis en el SIDA, apoyada en una revisión bibliográfica.

DEFINICION

La criptococosis es una infección fúngica, regularmente pulmonar generalizada o meníngea, de evolución crónica, subaguda y rara vez aguda; la cual es causada por un hongo levaduriforme oportunista denominado *Cryptococcus neoformans*. La infección primaria casi siempre es pulmonar, la cual suele ser subclínica y transitoria; no obstante, puede producirse como complicación de otras enfermedades en pacientes inmunocomprometidos, particularmente en aquellos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (HIV), y convertirse rápidamente en generalizada y fulminante; en este grupo de pacientes hay una marcada predilección por el sistema nervioso central (SNC).^{1,2,3}

La criptococosis es una de las principales infecciones fúngicas oportunistas en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA); con frecuencia puede ser una de las primeras infecciones asociadas a éste, destacando el papel de la criptococosis como una señal de este síndrome.^{2,4,5}

ANTECEDENTES HISTORICOS

En 1894 Busse y en 1895 Buschke informaron del aislamiento de una levadura proveniente de la tibia de una paciente. Busse describió a los microorganismos como de naturaleza fungal, aislándolos en un medio de ciruela y arroz, y los denominó *Saccharomyces*. Las lesiones fueron descritas como "sarcomatosas" que además presentaban linfadenopatía y úlceras cutáneas, utilizó el término *Saccharomycosis hominis* para denominar al padecimiento. Más tarde, algunos autores llamaron al microorganismo como *neoformans* (causante de cáncer o tumor). En 1895, Sanfelice aisló una levadura capsulada del jugo de durazno a la cual nombró como *Saccharomyces neoformans*, este microorganismo causó lesiones en animales infectados de manera experimental. En el año de 1896, Curtis describió un caso similar al de Busse y Buschke y llamó a la levadura *Saccharomyces subcutaneous tumefaciens*; sin embargo, Vuillemin en 1901, transfirió estas levaduras al género *Cryptococcus*, ya que al examinar diversos cultivos no encontró ascosporas, las cuales son características del género *Saccharomyces*. En Italia, Sanfelice aisló una levadura de un ganglio linfático de un toro. Frothingham aisló en 1902 el mismo microorganismo de una lesión pulmonar mixomatosa de un equino. Estos mismos hallazgos establecieron que la enfermedad se podía presentar también en animales.^{1,2,3}

En 1905, Von Hansemann observó a este hongo en un caso de meningitis; describió a la enfermedad como "tuberculosa", con levaduras presentes en "quistes gelatinosos".^{2,3}

Benham en 1950, utilizando los cultivos de los casos de Busse, Buschke y Curtis; realizó un estudio de 27 aislamientos de *Cryptococcus* patógenos, concluyendo que sólo existía una especie y sugirió denominarla *Cryptococcus hominis*. En 1952, Lodder y Kreger-Van Rij definieron la prioridad del nombre *Cryptococcus neoformans*. Asimismo, Benham describió cuatro serotipos de *C. neoformans*: A, B, C y D. En la actualidad se reconocen dos variedades: *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotipos A y D) y *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotipos B y C).^{1,2,6,7,22,27}

En 1955, Emmons estableció el hábitat saprobio de *C. neoformans*, reportando el aislamiento de microorganismos virulentos en detritus de nidos de palomas y gallineros; recientemente se ha informado de la asociación de *C. neoformans* var. *gattii* con árboles de eucalipto.^{6,7,8}

De 1975 a 1976, Kwong-Chung demostró dos estados perfectos o sexuales (teleomórficos), correspondientes a basidiosporas en diferentes serotipos. Las formas perfectas se denominan *Filobasidiella neoformans* y *Filobasidiella bacillospora*.^{1,2,3,8,27}

ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

ETIOLOGIA, ECOLOGIA Y DISTRIBUCION

Distribución Geográfica

La criptococosis es una enfermedad que se presenta en prácticamente todo el mundo.

Fuente de Infección y Hábitat

Hay 19 especies del género *Cryptococcus* muy bien conocidas; sin embargo, el agente etiológico en la mayoría de los casos de criptococosis humana es *C. neoformans*. Se han informado algunos casos raros de infecciones secundarias por *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii* y *Cryptococcus uniguttulatus*¹⁰ en estados de inmunosupresión grave.^{2,9}

Cryptococcus neoformans es un hongo levaduriforme encapsulado el cual tiene dos variedades: var. *neoformans* (teleomorfo *Filobasidiella neoformans* var. *neoformans*) y var. *gattii* (teleomorfo *F. neoformans* var. *bacillispora*). El estado sexual teleomorfo de un hongo, se caracteriza por la producción de basidiosporas. La reproducción asexual en *C. neoformans* es el estado anamorfo, el cual se caracteriza por la producción de células gemantes capsuladas.⁸

La criptococosis en los seres humanos es adquirida por la inhalación de partículas aéreas infecciosas, pero la identidad de la forma infecciosa es aún desconocida. Las levaduras capsuladas (blastoconidias) son consideradas de gran tamaño (4-20 μ m) para poder penetrar las defensas del tracto respiratorio superior. La hipótesis más favorecida actualmente es la que sugiere que las formas infecciosas son blastoconidias anacapsuladas desecadas (menos de 2 μ m), diseminadas principalmente en heces de palomas. No obstante, también se ha sugerido que las basidiosporas (<3 μ m) del estado sexual *F. neoformans*, puede ser la forma infecciosa.⁸

En 1990, Ellis y Peiffer⁸ propusieron que *C. neoformans* es un hongo levaduriforme, el cual desarrolla una asociación biotrófica específica con una planta huésped; la dispersión de las basidiosporas ocurre junto con la floración de la planta. Las basidiosporas están presentes en el medio ambiente por cortos períodos de tiempo, siendo éstas las formas infecciosas para seres humanos y animales; después de su diseminación, las basidiosporas pueden sintetizar material capsular y transformarse en levaduras capsuladas; los criptococos en el suelo o en residuos de plantas expuestos a la intemperie pueden ser inactivados por la acción de la luz solar y otros microorganismos; en cambio, aquellos que se encuentran en sitios resguardados pueden permanecer viables por varios años. Los animales y pájaros asociados con la planta huésped pueden depositar levaduras encapsuladas junto con sus heces, permitiendo la acumulación de

criptococos en hábitat resguardados, los cuales a la vez, actúan como un vector para la dispersión de levaduras desecadas, que también representan formas infecciosas para seres humanos y animales.⁸

Distribución en la Naturaleza de *C. neoformans* var. *neoformans*.

El hábitat de *C. neoformans* es bien conocido desde sus primeros aislamientos en la naturaleza; al principio se obtuvo del jugo de durazno en 1895 y posteriormente de la leche en 1901². Emmons lo aisló del suelo en hábitat saprofiticos en 1951 y de heces de palomas en 1955. Aunque el excremento de palomas y pichones (*Columba livia*) están frecuentemente colonizados con *C. neoformans*, estas aves no parecen enfermar debido a la criptocosis, tal vez por su alta temperatura corporal (40-42°C) la cual va en detrimento del desarrollo del microorganismo; la presencia de esta levadura se cree que provoca una infección asintomática en los intestinos, por lo que las heces salen infestadas de hongos, los cuales pueden mantenerse en el medio ambiente, en especial si persiste cierta humedad. La concentración de *C. neoformans* en los excrementos de palomas frecuentemente excede de 10⁶ organismos viables por gramo. La razón para la alta frecuencia de *C. neoformans* en el guano de las aves no está claro aún, pero puede relacionarse a la capacidad del hongo para asimilar compuestos nitrogenados como la xantina, urea, ácido úrico y creatinina, que se encuentran en gran cantidad.^{1,2,3,9}

En contraste a la situación anterior, la concentración de microorganismos en muestras de suelo tiende a ser menor; las muestras positivas obtenidas, son muchas veces de áreas contaminadas con excretas de aves. Se ha sugerido que el suelo forma un medio ambiente inhabitable para *C. neoformans*; debido a las condiciones anaeróbicas, altas temperaturas, humedad reducida, exposición directa a la luz solar, pH bajo y la presencia de amibas del suelo (*Acanthamoeba*) y otros microbios que han demostrado ser perjudiciales para la sobrevivencia de *C. neoformans* en el suelo.^{2,9}

C. neoformans se ha aislado ocasionalmente de fuentes no aviarias, que incluyen frutas, vegetales, productos de granjas y del tracto digestivo de cucarachas. En un estudio único, se aisló de una gaita usada por un paciente con criptococosis pulmonar.⁹

Recientemente, se ha establecido que el hábitat natural de *C. neoformans* var. *neoformans* es una planta específica en floración. Esto no es una nueva sugerencia, puesto que hongos estrechamente relacionados, como *Filobasidium floriforme* (anamorfo *C. albidus*) se ha aislado de flores en descomposición o de pasto.⁸

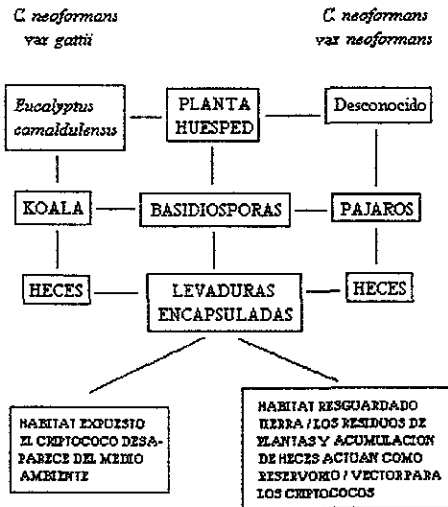
Distribución en la Naturaleza de *C. neoformans* var. *gattii*.

El aislamiento de *C. neoformans* var. *gattii* (serotipos B y C) en el medio ambiente es considerablemente más difícil que el de *C. neoformans* var.

neoformans (serotipos A y D). Ellis y Pfeiffer^{7,8,23} estudiaron sistemáticamente muestras ambientales en áreas rurales de Australia en las que *C. neoformans* var. *gattii* es endémico. Esta levadura fue aislada exclusivamente de material asociado a *Eucalyptus camaldulensis*, especialmente de la corteza, leña, hojas, flores, semillas y residuos acumulados bajo las canopias de estos árboles. Los cultivos positivos obtenidos coincidieron con el floramiento de las plantas. Por otra parte, otros experimentos con muestras aéreas demostraron la presencia de hongos en la vecindad de *E. camaldulensis* en floración, pero no así en los árboles sin florecer.^{7,8,24}

La distribución de *E. camaldulensis* está concentrada en regiones tropicales y subtropicales; correspondiendo a lugares en los que las infecciones clínicamente aparentes debidas a *C. neoformans* var. *gattii* son endémicas. La asociación hongo-eucalipto podría explicar también los informes sobre la criptococosis en los koalas, los cuales habitan en los árboles de *E. camaldulensis*. La asociación entre *C. neoformans* var. *gattii* y los koalas es muy similar a la que se lleva a cabo entre *C. neoformans* var. *neoformans* y las palomas. En el futuro otros estudios determinarán si este hongo es huésped específico para *E. camaldulensis* o si otras especies de *Eucalyptus* y plantas relacionadas también albergan al hongo.^{7,8,9}

Recientemente *C. neoformans* var. *gattii* se aisló de otra especie de eucalipto; *Eucalyptus tereticornis*.²³



Ecología de *Cryptococcus neoformans*

Epidemiología de Variedades y Serotipos Criptocócicos en Pacientes con Criptococosis

Kwon-Chung y Bennett⁹ informaron las variedades de 725 aislamientos clínicos de *C. neoformans* en varias partes del mundo. Aunque las características clínicas no fueron especificadas, la mayoría de los aislamientos aparentemente fueron de pacientes sin SIDA. Los aislamientos de regiones con climas templados de los Estados Unidos (a excepción del Sur de California y Hawaii), Europa y Japón pertenecieron casi exclusivamente a *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipos A y D). En contraste, se presentó una alta frecuencia

(35-100%) de *C. neoformans* var. *gattii* (serotipos B y C) en los aislamientos de regiones tropicales y subtropicales tales como el Sur de California, México, Paraguay, Brasil, Australia, Sureste de Asia, y Africa Central.^{9,22,24,27} Del total de los aislamientos estudiados, el 70% resultó ser serotipo A, el 16% serotipo D o AD, 11% serotipo B, 2% serotipo C y el 1% no se pudo tipificar. En Europa, el serotipo D fue el más frecuente; mientras que casi todos los serotipos C se presentaron en el Sur de California.⁹

En casi todos los aislamientos de pacientes con SIDA se ha encontrado *C. neoformans* var. *neoformans*, incluso en áreas en donde un alto porcentaje de los aislamientos clínicos en pacientes sin SIDA ha sido de *C. neoformans* var. *gattii*.^{11,12,22-24} En estudios previos, únicamente seis aislamientos de pacientes con SIDA fueron *C. neoformans* var. *gattii*.^{9,11-13,22,24} La razón de esta disparidad entre estos dos grupos de pacientes probablemente se relacione con las diferencias en la patogenicidad o ecología de los aislamientos.^{7,8,24} Por ejemplo, en Australia el 90% de los pacientes con SIDA viven en una región donde la presencia de árboles de *E. camaldulensis*, depósito natural de *C. neoformans* var. *gattii*, es rara.^{7,8} Se postula que *C. neoformans* var. *gattii* es más patogénico, pero la exposición a *C. neoformans* var. *neoformans* es más común; por lo tanto, se espera que el porcentaje de casos debidos a este último sea más alto en pacientes que estén severamente inmunocomprometidos, tal como sucede en aquellos que padecen SIDA.⁹

Hay pocos datos publicados que se refieran a la comparación de las características clínicas de pacientes infectados con las dos variedades de *C. neoformans*. En un informe resumido, se hace una comparación de nueve pacientes con meningitis criptocócica debida a *C. neoformans* var. *gattii* con un grupo de pacientes infectados con *C. neoformans* var. *neoformans*, sin presentar ninguno de los dos grupos inmunosupresión severa principal. El grupo infectado con *C. neoformans* var. *gattii* necesitó un curso más largo de quimioterapia, sugiriéndose que la meningitis causada por esta variedad puede ser muy persistente.⁹

Se ha propuesto que *C. neoformans* var. *gattii* tiene una relativa predilección para huéspedes sanos y *C. neoformans* var. *neoformans* para inmunocomprometidos. En un estudio de las sensibilidades *in vitro* de las dos variedades a drogas antifúngicas usadas frecuentemente, no se encontraron diferencias significativas; aunque en *C. neoformans* var. *gattii* se detectó una sensibilidad disminuida a 5-fluorocitosina.⁹

Características epidemiológicas de pacientes infectados con *C. neoformans*.

Debido a la ubicuidad de *C. neoformans* en el medio ambiente, se puede considerar que la exposición a este hongo es muy frecuente. No obstante, se han llevado a cabo pocos estudios epidemiológicos para probar lo anterior. La mayor parte de estos estudios consisten en pruebas intradérmicas utilizando

criptococcina, un extracto antigénico de *C. neoformans*, sin embargo, los resultados son un tanto difíciles de interpretar; puesto que esta prueba no se ha estandarizado, los antígenos en el extracto no están completamente caracterizados y, la sensibilidad y especificidad de la prueba no son conocidas. En un estudio con criadores de palomas, los cuales se sometieron a la prueba de la "criptococcina", el 32% de los resultados fueron positivos, no obstante ninguno de ellos presentó evidencia clínica de una infección pasada o presente. Los criadores de palomas presentaron también, una alta frecuencia de anticuerpos en el suero. Por otra parte se ha observado entre el personal de laboratorio que trabaja con *C. neoformans*, un incremento en la reactividad de la criptococcina.⁹

A pesar de estos hallazgos, los cuales sugieren que la exposición a *C. neoformans* es particularmente común en gente que maneja palomas y personal de laboratorio, no hay evidencia de un incremento en la incidencia de criptococosis activa entre estos grupos. Los casos de criptococosis clínicamente aparente son raros, por lo que se puede considerar que la mayoría de la gente puede montar una respuesta adecuada cuando se expone al microorganismo.⁹

Casi todos los casos de criptococosis son considerados como resultado de la inhalación de hongos aéreos de origen ambiental. Estos llegan a los alvéolos atravesando las vías respiratorias; el árbol traqueobronquial humano puede colonizarse con *C. neoformans* sin el desarrollo de criptococosis activa. Si no existe una adecuada respuesta celular, los microorganismos proliferan

rápidamente diseminándose por vía linfática o hematológica, con gran predilección hacia el SNC.¹⁹

La mayor parte de los casos de criptococosis cutánea resultan de la diseminación hematológica de la enfermedad sistémica. Sin embargo, se han presentado casos cutáneos primarios raros, como consecuencia de la inoculación directa del organismo en la piel. Existe también la posibilidad que algunos casos de criptococosis se puedan presentar a causa de la diseminación por vía gastrointestinal, ya que se ha encontrado *C. neoformans* en alimentos y excrementos humanos contaminados.⁹

Se han reportado dos casos inusuales de transmisión de criptococosis de persona a persona. En el primer caso, una persona desarrolló endoftalmitis criptococócica después de transplantársele la córnea de un donador con criptococosis. El otro caso involucró a una enfermera, la cual desarrolló criptococosis cutánea localizada después de la inoculación accidental con sangre de un paciente con criptococcemia. Los casos de criptococosis en animales ocurren, pero la transmisión de animales a personas hasta ahora no se ha informado.⁹

La frecuencia de la criptococosis se incrementa notablemente en pacientes inmunocomprometidos. Por otra parte; la morbilidad, mortalidad y frecuencia de recaídas es más alta en aquellos que están severamente inmunocomprometidos; particularmente en personas con alto riesgo, que tienen defectos en las células

mediadoras del sistema inmune, tal como sucede en pacientes con SIDA, enfermedad de Hodgkin, linfomas, sarcoidosis, y en aquellos que reciben una terapia inmunosupresiva (especialmente con glucocorticoides). La elevada frecuencia de la criptococosis en receptores de transplantes, se relaciona probablemente a la terapia inmunosupresiva especificada más bien para prevenir el rechazo que para el efecto directo del transplante.⁹

La criptococosis puede también presentarse con gran frecuencia en asociación con leucopenia, diabetes mellitus, artritis reumatoide y cirrosis hepática. Antes que se presentara la epidemia del SIDA, aproximadamente el 50% de los casos de criptococosis ocurría en pacientes sin algún defecto inmune obvio; no obstante, algunos mostraban defectos agudos en su capacidad para mostrar una respuesta inmune a los antígenos criptococósicos.⁹

Antes de reconocerse el SIDA, la criptococosis se presentaba de dos a tres veces más frecuente en hombres que en mujeres. Se ha demostrado *in vitro* que los estrógenos tienen una actividad en contra de *C. neoformans*, y por otro lado, los hombres pueden estar más expuestos al hongo. Entre los pacientes con SIDA en los Estados Unidos, el porcentaje de infección con *Cryptococcus* en ambos sexos es muy similar. La criptococosis en pacientes con SIDA se presenta con mayor frecuencia entre personas de raza negra, en personas que se inyectan drogas intravenosas y en residentes de los estados del Sur.⁹

En los Estados Unidos, alrededor del 5-10% de los pacientes con SIDA han manifestado criptococosis, considerándose por lo tanto, que es una de las infecciones oportunistas más peligrosas observadas frecuentemente en este grupo de pacientes. Sin embargo, estas cifras son posiblemente una estimación inferior de la verdadera incidencia. Además, la infección puede no ser bien diagnosticada a causa de los signos y síntomas agudos de la enfermedad en los casos de SIDA. La incidencia de la criptococosis en Africa y otras áreas en desarrollo en pacientes con SIDA parece ser más alta que en los Estados Unidos. No está muy claro si esta circunstancia es debida al aumento de la exposición al hábitat saprofítico del hongo o a la relativa rareza de otras infecciones relacionadas con el SIDA; en particular aquellas causadas por *Pneumocystis carinii* y el complejo de *Mycobacterium avium*.⁹

La criptococosis raramente se ha informado en niños con SIDA, siendo la incidencia de alrededor del 0.85% comparada con los adultos; esto debido a la escasa exposición a las fuentes con *C. neoformans*.

DEFECTOS INMUNOLOGICOS QUE PREDISPONEN A UNA INFECCION FUNGICA EN UN HUESPED

Mecanismos de Patogenicidad

En esencia existen dos tipos de enfermedad criptocócica; no obstante, su manifestación depende de la respuesta del huésped, más que del microorganismo. Por lo regular en un individuo normal, la infección que sigue a la inhalación del microorganismo, se resuelve en forma rápida con síntomas mínimos dando un cuadro prácticamente subclínico. Normalmente en los líquidos corporales se encuentran sustancias inhibitoras del desarrollo de *C. neoformans*. Si el número de microorganismos inhalados es considerable, se puede iniciar la afección en los pulmones, con focos de infección ocasionales y transitorios en otras regiones del cuerpo; siendo adecuadas la reacción tisular y las defensas celulares para detener la infección.^{2,3} Datos clínicos y experimentales indican que la inmunidad mediada por células actúa como la principal defensa del huésped en contra de la infección con *C. neoformans*.¹⁹

Por otra parte, el segundo tipo de enfermedad se relaciona con neoplasias, enfermedades debilitantes y huéspedes inmunodeficientes como resultado de tratamiento con fármacos. Recientemente, se ha incorporado al SIDA como un nuevo factor de predisposición. En estos casos las defensas del huésped son escasas e inadecuadas; la enfermedad criptocócica se extiende con rapidez y

afecta a casi todos los órganos, sobre todo al SNC. El curso de la infección puede ser retardado, con diseminación lenta de un sistema a otro, o ser fulminante y mortal a corto plazo.^{2,3,14}

El huésped comprometido se puede definir como un paciente en el que los mecanismos de protección específicos e inespecíficos contra infecciones están disminuidos; por lo tanto, el paciente se vuelve menos resistente a la infección. Las infecciones en el paciente comprometido son similares a aquellas que ocurren en el sujeto no comprometido, pero son más frecuentes y a menudo presentan problemas más serios.¹⁴

En el paciente inmunocomprometido las principales alteraciones inmunológicas involucran defectos en los neutrófilos y células B o T.^{19,20} Si bien, los neutrófilos y monocitos humanos pueden eliminar a *C. neoformans*, algunas evidencias sugieren que estas células, no tienen un papel principal en la defensa del huésped en contra de este hongo.¹⁵

Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) cultivadas, requieren de una estimulación antigénica para hacerlas competentes para eliminar a *C. neoformans*,¹⁹ esto puede ayudar a explicar el porqué la criptococosis es muy frecuente en pacientes con inmunidad celular comprometida, tal como sucede en el SIDA. Las PBMC de tales pacientes muestran una proliferación de linfocitos subóptima en respuesta a los antígenos criptocócicos. De esta manera, cuando el paciente inmunocomprometido se

expone al *C. neoformans* no puede desarrollar una respuesta inmune celular que resultaría en la generación de células fungicidas, lo cual conduce al crecimiento del hongo y a una criptococosis clínicamente aparente.^{14,15}

Mecanismos de Supervivencia y Evasión de *C. neoformans*

Inhibición de la Fagocitosis por Cápsula

Los macrófagos pueden unirse a la célula de *C. neoformans* sin cápsula y fagocitarla, aumentando esta actividad en presencia de opsoninas; si a un sistema con macrófagos enlazados a levaduras sin cápsula se le adiciona polisacárido capsular, éstos se separan de las levaduras, impidiéndose la fagocitosis. Aunque la cápsula es reconocida como el factor de mayor virulencia de *C. neoformans*, los mecanismos con los cuales la cápsula ayuda al microorganismo a eludir la defensa del huésped no están completamente definidos. En diversos estudios se ha demostrado que la unión e interacción de los microorganismos encapsulados con fagocitos está inhibida. Por otra parte, *C. neoformans* con cápsula es inhibido o eliminado más fácilmente por poblaciones de fagocitos que los microorganismos sin cápsula. Además, el polisacárido capsular circulante puede tener un efecto dañino en el sistema inmune por la activación del complemento y la inducción del sistema de células T supresoras.^{3,15}

Se han sugerido otros mecanismos por los cuales la cápsula altera la interacción de *C. neoformans* con el sistema inmune. Primero, la cápsula

amortigua la respuesta proliferativa de las PBMC en contra de *C. neoformans*; segundo, la cápsula imparte sobre el microorganismo la capacidad de resistir el ataque de las PBMC y subclases de estas células estimuladas en cultivo.^{3,15}

Un nuevo papel patogénico para el polisacárido capsular criptococósico *in vivo* se ha propuesto; la presencia de altas concentraciones del polisacárido capsular en el suero y/o LCR en pacientes con SIDA, puede incrementar significativamente la producción del antígeno p24 y aumentar marcadamente la infectividad del HIV-1, y mediar así el agotamiento de las células T residuales presentes en los pacientes infectados con HIV-1. Esta observación proporciona una explicación para el mal pronóstico de los pacientes con SIDA seguida de una infección con *C. neoformans*.^{20,21}

Inducción de Linfocinas Supresoras

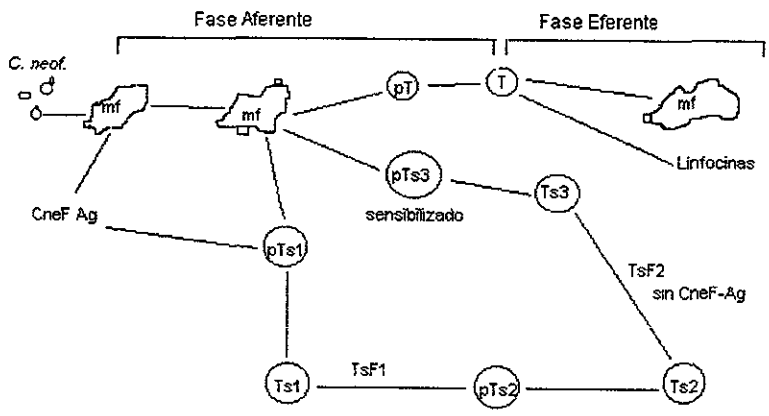
Se ha comprobado que un extracto soluble de polisacárido capsular de *C. neoformans* inoculado en ratones, después de siete días, induce a los linfocitos T y a células no adherentes a producir una linfocina supresora que inhibe la actividad fagocítica de una población de macrófagos de exudado peritoneal.³

Estimulación de Linfocitos T supresores

Se ha establecido que en los pacientes con criptococosis sistémica, generalmente contienen niveles detectables de antígenos criptococócicos en sus fluidos corporales; los títulos antigénicos altos o incrementados se correlacionan directamente con una enfermedad progresiva. Además, es común encontrar que individuos con criptococosis activa exhiban una inmunidad celular reducida, por el antígeno criptococócico. Con el empleo de un modelo murino, se ha demostrado que la inmunidad celular es un mecanismo de protección importante, la cual es regulada por antígenos criptococócicos, reconociéndose un epítotope(s) de la fracción de manoproteína del antígeno presente en un cultivo de filtrado. El suero de un ratón infectado con *C. neoformans* inducirá a las células supresoras, las cuales suprimen la inmunidad celular, como medida de una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada, correlacionándose el nivel de los antígenos criptococócicos circulantes en el suero con el grado de supresión inducida. No existe correlación alguna con la cantidad de anticuerpos anticriptococócicos y la capacidad del suero de inducir una supresión. Además, se ha demostrado que el antígeno criptococócico, cuando se ha inyectado en un ratón a concentraciones similares a aquellas encontradas en humanos con criptococosis sistémica, se induce una serie compleja de células supresoras y factores que suprimen específicamente la respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada y la inmunidad de protección en contra de los criptococos. Dicha inducción se lleva a

cabo en los nódulos linfáticos. Esta relación directa sugiere un papel inmunosupresivo del antígeno criptocócico en enfermedades humanas.^{16,17}

En la inducción de la hipersensibilidad de tipo retardada (DTH), las células presentadoras de antígenos, tal como los macrófagos (mf), probablemente ingieren a las células criptocócicas o los antígenos, procesan al antígeno y lo presentan a las células precursoras T (pT_{DH}) que se desarrollan en células T_{DH} . Este proceso representa la fase aferente de la respuesta DTH. Una vez que las células T_{DH} se han inducido, la reacción DTH es activada por la inyección del antígeno. Se ha postulado que el antígeno es presentado en la superficie de las células presentadoras de antígenos y estas células sensibilizan a las células T para producir linfocinas. Este último proceso representa la fase eferente de la respuesta DTH. Cuando se inyecta en forma intravenosa el antígeno criptocócico soluble, se induce preferentemente a células supresoras de primer orden (Ts_1), las cuales producen factores solubles (TsF_1). Los TsF_1 suprimen la fase aferente de la respuesta DTH e inducen a las células supresoras de segundo orden (Ts_2). Estas células Ts_2 producen los factores solubles, TsF_2 , que funcionan en unión con células supresoras T de tercer orden (Ts_3) que suprimen la fase eferente de la respuesta DTH. Las células Ts_3 son inducidas como resultado de la inmunización y se producen concomitantemente con las células T_{DH} .^{3,16,17}



Vías propuestas para la inducción de las células responsables para la respuesta (células T_H) de hipersensibilidad de tipo retardada por *Cryptococcus neoformans* (DTH) y para la inducción de la cascada de célula supresoras que regulan la respuesta de DTH.

CRIPTOCOCOSIS PULMONAR

La puerta de acceso de *C. neoformans* al huésped es el tracto respiratorio; sin embargo, la infección en los pulmones es rara en los pacientes con SIDA. Sin embargo, el sitio principal de infección identificado en la mayor parte de los pacientes es el SNC.^{28,29,34,35,37,38} La infección criptocócica puede estar limitada a los pulmones en huéspedes inmunocompetentes, ya que la enfermedad diseminada y la meningitis son más comunes en los huéspedes inmunodeprimidos particularmente en aquellos infectados por HIV.^{31,34,35,38}

Las complicaciones respiratorias pueden ocurrir en una de las tres vías siguientes: la colonización traqueobronquial en ciertos pacientes con enfermedad crónica del pulmón, infección clínica o subclínica en un huésped normal, y por diseminación en pacientes inmunosuprimidos.²⁸

A pesar de la colonización del árbol traqueobronquial, la diseminación fuera de los pulmones en el huésped normal es rara. Varios mecanismos contribuyen para contener a esta levadura en los pulmones, incluyendo la actividad fungistática espontánea de los macrófagos broncoalveolares; cuando la criptococosis se desarrolla, el control de la enfermedad requiere generalmente la acción de la inmunidad mediada por células. El comportamiento inócuo de esta levadura en el huésped normal es un claro contraste con la severidad de la

enfermedad en los pacientes con SIDA, en los cuales las defensas pulmonares son alteradas.³⁴⁻³⁶

El macrófago broncoalveolar es el blanco de ataque de la infección con HIV-1 por medio de la proteína de superficie CD4, la cual se une a la glicoproteína viral de superficie gp120. Al contrario del declinamiento de los linfocitos T CD4 circulantes, el número de macrófagos permanece normal aún en estados avanzados del SIDA. El mal funcionamiento de los macrófagos en pacientes con SIDA es el resultado de una consecuencia indirecta debida a la glicoproteína gp120 en la infección por HIV-1. Una pequeña carga viral en el pulmón y las proteínas virales pueden tener un importante papel en la patogénesis de la infección con HIV. Se ha observado que la gp120 decremента la ingestión y fungistasis en contra de *C. neoformans* por los macrófagos broncoalveolares, sugiriéndose el mecanismo que explica de que manera, un pequeño número de células infectadas con HIV-1 en los pulmones pueden alterar el contenimiento de *C. neoformans*.^{34,35}

En el huésped normal, la criptococosis pulmonar se presenta más a menudo como una infección subclínica. Cuando se manifiesta clínica o radiológicamente, lo hace como un complejo de nódulo linfático primario, el cual puede resolverse espontáneamente o permanecer latente.³⁴ Por otra parte, las manifestaciones pulmonares de la criptococosis en un paciente

inmunocomprometido son muy variables, raramente subclínicas, que da como resultado un alto índice de mortalidad a pesar de una terapia antifúngica.^{27,28,30}

Las infecciones fúngicas son bastante frecuentes en el SIDA, como resultado del profundo abatimiento de la inmunidad celular,^{28,36} pero la incidencia de una complicación aislada del tracto respiratorio es solamente de alrededor del 5%.^{28,35} En el SIDA el hongo más comúnmente aislado de secreciones respiratorias es *Candida albicans*, que presenta una infección orofaríngea. Por otra parte, *C. neoformans* es la causa más frecuente de infecciones pulmonares fúngicas en el SIDA.²⁸

La descripción de las manifestaciones pulmonares de la criptococosis en pacientes con SIDA son limitadas, y el atribuirle anomalías específicas a *C. neoformans* es muy complicado debido a la frecuente coexistencia de otras infecciones oportunistas.^{28,29,38}

En pacientes normales e inmunocomprometidos no infectados con HIV, la criptococosis pulmonar se presenta más comúnmente con fiebre, malestar, dolor pleurítico y pérdida de peso; la disnea, tos y hemoptisis y el dolor de cabeza son raros. En los pacientes infectados con HIV y criptococosis pulmonar; presentan también fiebre, pérdida de peso y dolor pleurítico, pero los síntomas pulmonares, incluyendo tos y disnea son mucho más frecuentes.^{28,31,32,38} Además, el dolor de cabeza es muy común en estos pacientes, reflejando la tendencia de la diseminación al SNC, lo cual da como resultado en una meningitis. Los síntomas

de la criptococosis pulmonar observadas en los pacientes con SIDA, son consistentes también con una variedad de procesos neumónicos, los cuales incluyen a la neumonía por *P. carinii*, tuberculosis, neumonitis intersticial linfocítica, infección por citomegalovirus o neumonía bacteriana. La presencia de enfermedad pulmonar y dolor de cabeza es sugerente de una enfermedad diseminada por *C. neoformans* en un paciente infectado con HIV, pero estos hallazgos no son diagnósticos, puesto que otros procesos en el SNC, incluyendo la toxoplasmosis y linfoma, lo presentan frecuentemente.^{29,31,33}

Examen Radiológico

El examen radiográfico para la criptococosis pulmonar, revela un cuadro variable; dependiendo de lo reciente de la infección, su gravedad y el estado de los mecanismos de defensa del huésped.^{29,30}

Las lesiones se pueden presentar en cualquier parte del pulmón; a menudo son bilaterales, aunque pueden aparecer sólo en un lóbulo. En la mayor parte de los pacientes inmunocompetentes se presentan nódulos solitarios o múltiples bien definidos. En los pacientes inmunodeprimidos con terapia corticoesteroides, alcoholismo crónico o en estado postoperatorio, los hallazgos radiográficos varían extensamente de nódulos bien definidos a infiltrados irregulares, derrames pleurales o adenopatía. En estos pacientes los nódulos pulmonares son los más

frecuentes; por otra parte, los infiltrados alveolares irregulares, se presentan con menos frecuencia.^{30,34,35}

En los pacientes con SIDA, la criptococosis pulmonar se presenta más a menudo como infiltrados intersticiales difusos, derrames pleurales y adenopatía, los cuales pueden aparecer con una frecuencia similar a la de los pacientes sin SIDA.^{30,31,37,38} No se presentan regularmente grandes nódulos o infiltrados alveolares. Esto puede indicar la severidad de la inmunosupresión en estos individuos, reflejando la incapacidad del huésped para elevar una respuesta inflamatoria necesaria para hacer que un nódulo o infiltrado sea aparente radiográficamente.³⁰

Las descripciones de las anomalías radiográficas observadas en asociación con criptococosis en pacientes con SIDA han sido limitadas, debido a la presencia de otros patógenos pulmonares oportunistas coexistentes, que complican la interpretación de estos hallazgos.²⁹

Los infiltrados intersticiales y la adenopatía son características muy frecuentes en la enfermedad diseminada, las cuales pueden estar asociadas con otras infecciones oportunistas.^{29,30-32}

CRIPTOCOCOSIS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

La criptococosis del SNC es la forma clínica diagnosticada con mayor frecuencia, aunque en realidad se cree que el pulmón es el sitio más común de la enfermedad. La razón de la predilección de *C. neoformans* por el SNC aún no se ha explicado muy bien; es probable que el microorganismo encuentre menor respuesta celular (fagocítica) en este sitio; se ha pensado que existen factores nutricionales selectivos para las levaduras, fuentes de nitrógeno como la asparagina y creatinina; que se encuentran en el líquido cefaloraquídeo (LCR) y pueden estimular su desarrollo. También puede desempeñar algún papel la ausencia de factores inhibidores que se considera existen en el suero.^{1,2}

La criptococosis observada raramente en individuos sanos, se presenta con frecuencia como una infección oportunista en pacientes inmunodeprimidos o debilitados por cáncer o diabetes, aquellos tratados con esteroides o quimioterapia, y más común en pacientes con SIDA.^{40,41,43,45}

El incremento de los casos de SIDA a través de estos años, ha dado como resultado en un aumento de las infecciones criptococósicas en el SNC. Aproximadamente el 5% de los pacientes con SIDA desarrolla criptococosis en el SNC.^{22,45,50}

La criptococosis en el SNC es un padecimiento neurológico particularmente importante en pacientes con SIDA, ya que *C. neoformans* se coloca como el

tercer patógeno en el SNC más frecuente en estos pacientes, seguido solamente del HIV y *Toxoplasma gondii*. Se presenta más a menudo como una infección diseminada.^{35,42,45-48,51}

La diseminación hematológica al cerebro resulta en el agrupamiento de los criptococos, localizados en el área perivascular de la materia gris cortical, ganglios basales y en menor grado en otras áreas del SNC.⁴⁰

La criptococosis en el SNC, usualmente puede aparecer en asociación con otras enfermedades sistémicas, aunque puede presentarse sola. Esta afección se presenta en una de tres formas clínicas: meningitis, meningoencefalitis o criptococomas.^{1,2,39}

Meningitis

La meningitis criptococósica es una de las manifestaciones neurológicas más importantes en el SIDA.^{45,50} Esta se puede presentar en cualquier momento durante el curso de la infección con el VIH, ya sea como la principal enfermedad infecciosa oportunista o como una complicación posterior en pacientes con SIDA diagnosticados previamente.^{41,42,44}

Las manifestaciones clínicas de la meningitis criptococósica antes del advenimiento del SIDA, se han descrito muy bien. Los síntomas observados con más frecuencia son inespecíficos, entre los que se incluyen el dolor de cabeza, fiebre, náusea, vómito, cambios del estado mental y cuello rígido. Menos

comunes son las perturbaciones visuales (visión borrosa y fotofobia), papiledema, ataques y afasia.^{42,44}

Si bien el dolor de cabeza y fiebre son frecuentes en pacientes con SIDA y criptococosis meníngea, el vómito y malestar general se presentan en menor proporción.⁶ El meningismo, fotofobia y alteración del estado mental son extraordinariamente raros.⁴⁶ Los signos y síntomas que indican una enfermedad neurológica focal no son comunes.^{41,42} El porcentaje de pacientes asintomáticos es muy similar en pacientes con SIDA y en pacientes sin SIDA. Asimismo, en pacientes con SIDA los síntomas de la meningitis criptococósica pueden ser ocultados por alguna enfermedad concurrente o estar totalmente ausentes.^{6,42,44}

Signos o Síntomas	No. De afectados/No. de examinados (%)	
	Pacientes sin SIDA	Pacientes con SIDA
Dolor de cabeza	84/97 (87)	21/26 (81)
Fiebre	58/97 (60)	23/26 (88)
Nausea, vómito, malestar	51/97 (53)	10/26 (38)
Cambios en el estado mental	50/97 (52)	5/26 (19)
Signos meníngeos	48/97 (50)	8/26 (31)
Cambios visuales, fotofobia	32/97 (33)	5/26 (19)
Ataques	4/26 (15)	2/26 (8)
Sin signos o asintomáticos	7/71 (10)	3/26 (12)

Tabla 1. Manifestaciones clínicas de la meningitis criptococósica en pacientes sin SIDA y pacientes con SIDA.⁴⁴

Los síntomas inespecíficos son presumiblemente debidos a la mínima respuesta inflamatoria a la infección.^{39,40}

La criptococemia es la infección extraneural sintomática más frecuente, siendo documentada en el 5% al 22% de los pacientes con enfermedad en el SNC.^{42,44} La extensión de la enfermedad extraneural en pacientes con SIDA no se ha establecido pero tal padecimiento es relativamente común (36-66%) en los pacientes con meningitis. La enfermedad en el SNC se presenta usualmente con estas infecciones extraneurales. La criptococemia se ha detectado en el 18 al 50% de los pacientes con SIDA y meningitis.⁴²

Meningoencefalitis

La meningoencefalitis es una entidad clínica poco común, casi siempre de curso agudo y fulminante, produciendo coma y la muerte en un plazo breve; lo presentan pacientes con severa inmunodepresión, como en pacientes con SIDA o los sometidos a intensa corticoterapia en transplantes.^{1,2}

Criptocomas

Consisten en masas criptocócicas semejantes a un tumor. Un granuloma criptocócico cerebral (neurocriptocoma), puede causar signos sólo de una lesión densa intracraneal que se expande.²

La principal manifestación neurológica de la criptococosis es la meningitis, la cual se presenta a menudo con un curso crónico insidioso. Cuando la enfermedad meníngea involucra a las extensiones del espacio subaracnoideo acompañada de perforación de las arterias en el parénquima, la producción de gran cantidad de material mucoide por *C. neoformans* puede aumentar estos espacios perivasculares (espacios de Virchow-Robin). Los criptocomas son un conjunto de levaduras, células inflamatorias, y material mucoide gelatinoso dentro del parénquima cerebral, se desarrollan cuando los microorganismos se han extendido directamente de los espacios perivasculares en el parénquima o posiblemente, cuando lo han invadido a partir de otras superficies meníngeas o ependimales.^{45,48,49}

Los pacientes inmunodeprimidos no pueden exhibir virtualmente alguna reacción inflamatoria y desarrollan masas gelatinosas.

Los pacientes con criptococosis, con frecuencia pueden presentar náusea, vómito, cambios mentales, coma, parálisis y hemiparesia. En otros pacientes, primero se desarrolla cefalea, seguida lentamente de somnolencia intermitente, lenguaje cortado, visión doble y marcha tambaleante. Estos síntomas pueden aparecer por varios meses y cada vez son más graves ocasionando postración y coma.^{1,2}

Las manifestaciones oculares pueden presentarse como visión borrosa, vértigo, diplopía, fotofobia, oftalmoplejía, nistagmo, ambliopía y papiledema. Para

controlar este último se requieren punciones lumbares múltiples. Los trastornos mentales pueden ser marcados, e incluyen irritabilidad, agitación, confusión, deficiencias en la memoria, alucinaciones e incluso psicosis franca. Algunos pacientes presentan ataques epilépticos.²

CORRELACION RADIOPATOLOGICA

Hallazgos en tomografía computarizada y resonancia magnética

La tomografía computarizada (TC) y la resonancia magnética (RM) son técnicas de diagnóstico muy importantes en cualquier paciente infectado con VIH o con SIDA y disfunción neurológica, ya que las lesiones en forma de masas intracraneales son frecuentes. Las lesiones densas detectadas más frecuentemente por TC son las causadas por toxoplasmosis, aunque el linfoma y otros procesos infecciosos menos comunes como la criptococosis las pueden presentar.^{42,48,49}

Debido a que muchos pacientes con SIDA no manifiestan síntomas específicos de la infección criptocócica en el SNC, se ha sugerido la evaluación rutinaria de estos enfermos con TC craneal, independientemente de los síntomas presentados.⁴⁵

La infección intracraneal con *C. neoformans* puede asumir una variedad de aspectos en la exploración con TC, ninguno de los cuales son específicos para la enfermedad.⁴⁵ Informes previos han reportado diversas manifestaciones en el

SNC, que incluyen atrofia cerebral, hidrocefalia ligera o moderada, nódulos múltiples definidos y no definidos, edema difuso y, raramente criptocomas. La TC puede ser normal frecuentemente.^{39-41,45,49}

No hay una relación directa entre los síntomas que presentan los pacientes y lo observado en la TC, ni puede ser ésta un indicador de un eventual resultado. De los pacientes con lesiones densas en la TC, algunos presentan dolor de cabeza y otros manifiestan su estado mental alterado así como cefalea.⁴⁵

En aproximadamente el 43% de los pacientes no se demuestra patología en el SNC en los registros de la TC, presumiéndose que representan a los casos de meningitis criptocócica no complicada. La atrofia cerebral generalizada es la anormalidad más común, la cual es observada en alrededor del 34% de los casos; siendo provocada probablemente por la infección del VIH en varios de ellos. La hidrocefalia está presente en el 9% de los pacientes, posiblemente como resultado de una inflamación meníngea crónica causada por la obstrucción del LCR. Las lesiones criptocócicas en forma de masa (criptocomas) se observan en el 11% y edema cerebral difuso en el 3% de los pacientes.^{45,47,48}

En algunos pacientes los cursos clínicos y radiográficos son semejantes, sin embargo, el aspecto de los criptocomas es diferente.⁴⁵

La mayor parte de las masas parenquimales se han descrito como nódulos múltiples densos, con aspectos sólidos o circulares. Se han mencionado lesiones de baja densidad no definidas, que representan pseudoquistes gelatinosos en el

ganglio basal y tálamo. También se ha informado muy raramente de criptocomas císticos intraventriculares. Ninguna de estas lesiones poco frecuentes son específicas para *C. neoformans*, por lo cual se presentan problemas para el diagnóstico diferencial.^{45,49}

La criptococosis del SNC involucra al ganglio basal en pacientes con SIDA, el cual presenta un aspecto característico en las imágenes de RM, observándose focos bilaterales, pequeños y bien definidos, agrupados en este sitio. Este aspecto no se presenta en cualquier otra enfermedad incluyendo la toxoplasmosis.⁴⁷

Los patrones de la RM de la criptococosis intracraneal en pacientes con SIDA incluyen: masas parenquimales (criptocomas), espacios de Virchow-Robin dilatados, nódulos miliares definidos en el parénquima y en los espacios cisterno-leptomeningeos, y patrones variados. Los criptocomas y los nódulos miliares son diferentes presentaciones de la diseminación hematogena del hongo. Al presentarse una ruptura de la barrera hematoencefálica por las lesiones parenquimales, se da lugar a la formación de un tumor neovascular alrededor de los granulomas leptomeningeos; por consiguiente, las lesiones pueden definirse con la administración de un agente de contraste. La mayor sensibilidad de las imágenes de la RM ha permitido observar con mayor frecuencia a los espacios perivasculares dilatados; y a veces confundir a los espacios normales con infartos.^{47,48,51}

Los espacios perivasculares llenos con el microorganismo en imágenes marcadas con T1 se presentan relativamente isointensas o ligeramente hipointensas en la materia gris, en las imágenes marcadas con T2 son hiperintensas. Generalmente se presentan simétricamente en forma circular u ovals tanto en la parte superior como en la más baja del ganglio basal. Debido a que la barrera hematoencefálica permanece intacta, no se observa un mejoramiento del contraste en estudios de TC o RM. Cuando las levaduras invaden el parénquima cerebral y no son limitados a los espacios de Virchow-Robin, pueden aparecer confluentes o irregulares en las imágenes marcadas con T2 y se hacen más notorias después de la administración del medio de contraste.^{47-49,51} Estas anomalías son más frecuentes en la RM debido a criptocomas intraparenquimales pequeños que probablemente se desarrollan como una progresión de la criptococosis que involucra a los espacios perivasculares, y por lo tanto son localizados en las mismas áreas como espacios perivasculares dilatados.

La atrofia generalizada es común en pacientes con SIDA y, específicamente, en aquellos con criptococosis.^{45,48} La atrofia puede aumentar los espacios perivasculares hasta el grado en que sean visibles en las imágenes de RM; la observación de hiperintensidades no son específicas para la criptococosis en el SNC en pacientes con SIDA. Sin embargo, este hallazgo debería suscitar la sospecha de enfermedad criptocócica, especialmente si otros signos de atrofia

difusa, tal como el aumento ventricular y sulcal no están presentes o el paciente tiene signos o síntomas clínicos de meningitis.⁴⁸

En resumen, los hallazgos patológicos típicos en la criptococosis del SNC relacionado con el SIDA son la meningitis, espacios perivasculares dilatados por el microorganismo y, criptocomas intraparenquimales. La RM es más efectiva que la TC al detectar espacios perivasculares dilatados y criptocomas. Sin embargo, ambas modalidades de imagen subestiman el número real de lesiones identificadas patológicamente y han fallado al detectar la meningitis criptocócica. La definición del contraste de los criptocomas o de la meningitis criptocócica no es frecuente probablemente debido a la condición inmunocomprometida de estos pacientes y la característica única del microorganismo.⁴⁸

CRIPTOCOCOSIS OSEA

Las infecciones criptocócicas óseas afectan tanto a huéspedes normales como a pacientes inmunocomprometidos, presentándose en hombres de todas las edades.^{55,56} El caso más antiguo que se conoce de una enfermedad ósea en el humano provocado por *C. neoformans*, fue descrito en 1894 por Busse y Buschke, que aislaron al microorganismo de una lesión en forma de tumor en la tibia de una paciente.² Estas infecciones, aun cuando son raras, pueden producir una morbilidad y mortalidad significativa si no se tratan a tiempo. La criptococosis ósea es raramente diagnosticada al momento de su presentación, debido a que los hallazgos radiológicos son similares a una variedad de desórdenes infecciosos y neoplásicos.⁵⁶

El espectro de la presentación clínica de esta enfermedad se extiende desde un paciente asintomático con un hallazgo anormal (lesión osteolítica) en una radiografía, hasta un paciente con signos y síntomas de una infección sistémica.⁵⁶

Hasta el año de 1990, no se tenía informes de algún caso de participación ósea en pacientes con SIDA, excepto un caso de artritis criptocócica en el transcurso de la enfermedad diseminada.^{5,52,53,56,57} Sin duda, la meningoencefalitis cuando se presenta asociada al SIDA, es la forma más frecuente. Sin embargo,

se ha informado un caso único de absceso epidural mixto criptocócico y estafilocócico, con osteomielitis en un paciente con HIV positivo.⁵⁷

La patogénesis de la artritis criptocócica es el resultado de la diseminación hematógena de *C. neoformans* dentro de los focos de los huesos parasinoviales. Se cree que la artritis sigue de la osteomielitis, ya que el microorganismo invade el espacio sinovial. También se puede presentar la inoculación directa en el líquido sinovial e involucrar a los huesos.^{53,56,57}

La infección de las articulaciones puede presentarse en el transcurso de la criptococosis diseminada y SIDA, en ausencia de alguna patología articular anterior.⁵³

Las manifestaciones hematológicas son frecuentes en pacientes con SIDA, las cuales pueden ser resultado del síndrome mismo, terapia con azidotimidina, malignidad secundaria o por infecciones oportunistas.^{58,59}

La participación de *C. neoformans* en la médula ósea es rara, por lo que hay pocas descripciones bibliográficas sobre los hallazgos citológicos de la criptococosis en ella.^{5,52,54,58,59}

En casos ocasionales, la infección diseminada puede representar la manifestación del síndrome. La participación de la médula ósea está documentada en aproximadamente el 10% de los pacientes con SIDA e infección criptocócica; sin embargo, en estos casos, ya que el cerebro y los pulmones están frecuentemente afectados, los pacientes generalmente presentan síntomas

referibles a estos sitios.^{5,59} No es frecuente que los pacientes presenten infección diseminada en la médula, anterior al diagnóstico de participación del SNC o pulmonar.^{5,52,54,59}

En años recientes, la mayoría de las infecciones criptocócicas se han presentado en pacientes con SIDA, y la frecuencia de la enfermedad criptocócica en estos pacientes parece ser tan alta como del 10%. Se puede esperar que los casos de enfermedad ósea en pacientes con SIDA e infección criptocócica se presenten en proporción similar a los encontrados en pacientes sin SIDA.^{4,5,56,57}

CRIPTOCOCOSIS CUTANEA

La localización cutánea es rara (alrededor del 10-15%) y aparece generalmente en las etapas finales de la enfermedad diseminada.^{61,64,66,70} Si bien, el número de pacientes con criptococosis cutánea es relativamente pequeño, la piel representa el sitio más común de infección extraneural. En algunos casos las lesiones cutáneas pueden preceder a los síntomas del SNC y ser la única manifestación temprana de la enfermedad diseminada.^{61,64,66}

Aunque la incidencia de la criptococosis en piel en pacientes con SIDA parece ser similar a las observadas en otros pacientes inmunodeprimidos,^{61,66} en la criptococosis cutánea puede no presentarse. Las lesiones cutáneas provocadas por *C. neoformans* en el curso del SIDA son frecuentemente polimórficas que incluyen celulitis, pápulas, pústulas, nódulos subcutáneos, abscesos, lesiones acneiformes, vesículas, placas vegetativas o púrpuras, úlceras y granulomas.^{4,5,42,60,61,66,69,70} Estas pueden presentarse en forma múltiple o aislada. Más recientemente, se han descrito algunos casos de criptococosis cutánea que semejan a infecciones herpetiformes y a molusco contagioso, las cuales son presentaciones atípicas y pueden ser la primera manifestación del SIDA.^{60,61,64-66,68,70} Estos dos tipos de lesiones se han informado coexistiendo en el mismo paciente.⁶⁵

Las lesiones criptocócicas cutáneas pueden presentarse en cualquier parte de la piel, aunque se localizan particularmente en el rostro, cuero cabelludo y cuello.^{60,61,66,69} En general, las lesiones comienzan como pápulas sin dolor y sin eritema circundante; pueden progresar en pústulas o convertirse en nódulos translúcidos que se ulceran. Las lesiones ulceradas frecuentemente tienen un exudado purulento conteniendo un gran número de microorganismos.^{61,66}

La criptococosis cutánea que semeja a molusco contagioso debe ser considerada cuidadosamente en cualquier paciente HIV-positivo, particularmente en la presencia de una supresión inmune existente.^{64,70}

Los pacientes con SIDA no parecen diferir significativamente de otros pacientes inmunodeprimidos en cuanto a sus manifestaciones cutáneas; sin embargo, no responden muy bien a la terapia.^{4,61}

Se le ha prestado poca atención a la existencia de infecciones mezcladas dentro de las lesiones manifestadas, sin embargo, es posible que tales infecciones no sean tan raras como parecieran. Se ha informado al menos de tres microorganismos infecciosos además de los bacilos que se presentan en una lesión única. Estos son microorganismos fusoespiroquetales, una levadura (probablemente *C. neoformans*), y otro hongo no identificado.^{63,69}

CRIPTOCOCOSIS OCULAR

Desde que el SIDA fue descrito en 1981, la participación ocular asociada a éste se ha reconocido crecientemente.

Los informes de infecciones intraoculares que provocan la pérdida visual en pacientes con SIDA, se han limitado ampliamente a retinitis por citomegalovirus. Desde un punto de vista clínicamente significativo, las infecciones intraoculares no virales en pacientes con SIDA son extremadamente raras, pero incluyen a las infecciones con *Mycobacterium avium-intracellulare*, *T. gondii*, *H. capsulatum* y *C. neoformans*.^{71,74,75} Con excepción de los casos de toxoplasmosis ocular, los hallazgos de estos microorganismos fueron incidentales en la autopsia y no se cree que sean responsables de alguna disfunción visual.⁷¹

La afección ocular en pacientes sin SIDA secundario a una infección criptocócica se ha documentado muy bien. Este hongo muestra una predilección por el tejido neural. La infección criptocócica se manifiesta típicamente como meningitis, con una participación ocular secundaria. De los pacientes con meningitis criptocócica, alrededor del 40% pueden presentar características oculares anormales, las cuales incluyen fotofobia, diplopía, ambliopía, nistagmo, oftalmoplejía, papiledema, neuroretinitis y atrofia óptica.^{71,72} En varias series se ha mencionado la invasión intraocular directa del microorganismo, provocando corioretinitis o endoftalmitis en pacientes sin SIDA

inmunocomprometidos.^{71,73} La infección criptocócica del SNC es una de las infecciones más peligrosas frecuentemente reconocidas en pacientes con SIDA; paradójicamente, la enfermedad ocular criptocócica se ha informado raramente. Únicamente algunos casos se han descrito en pacientes con SIDA, todos ellos con participación subclínica de la coroides y retina descubierta en la autopsia.^{71,73,75}

El mecanismo de la pérdida visual asociada con una infección criptocócica, se ha demostrado que está relacionada con la participación de las estructuras nerviosas visuales. Se ha documentado la presencia del microorganismo dentro de la estructura que rodea al nervio óptico. La presión intracraneal alta es una causa poco probable de pérdida visual; debido a la ausencia de papiledema y la velocidad relativa del deterioro visual. El comienzo repentino de la pérdida visual, sugiere una causa vascular asociada con una aracnoiditis constrictiva. Hallazgos similares se han descrito en pacientes con tuberculosis y otras causas de aracnoiditis. Al igual que la aracnoiditis tuberculosa, la neuropatía óptica criptocócica puede manifestarse después de la infección aguda.⁷¹

La endoftalmitis criptocócica es una complicación rara de la criptococosis en pacientes con SIDA.⁷³ El síntoma más frecuente es la visión borrosa o alterada, aunque algunos pacientes son asintomáticos. Se ha informado también dolor en el ojo, frecuentemente asociado con una participación anterior. Entre los

pacientes con infección diseminada se ha observado una enfermedad unilateral o bilateral. Hay un grado notable de heterogenicidad en la apariencia característica. Los hallazgos de pequeñas esferas relucientes, representando probablemente una enfermedad retinal o prerretinal, sugieren que este patrón de participación visual se observa más frecuentemente en pacientes con SIDA. Sin embargo, una apariencia posterior sin brillo, lesiones blancas típicas de infartos de la retina con hemorragia circundante podría sugerir tan sólo una retinopatía por el SIDA (probablemente debida al HIV), confundiendo al observador en cuanto a la causa de esta condición.⁷³

En resumen, la endoftalmitis criptocócica está siempre asociada ya sea con una enfermedad diseminada severa (generalmente meningitis), o con una inoculación local. Se presenta con igual frecuencia en pacientes inmunocomprometidos y en aquellos sin déficit inmune aparente. Se puede presentar como coroiditis o retinitis, o manifestarse en otros sitios visuales. En las etapas iniciales de la infección, las lesiones pueden aparecer como pequeñas esferas prerretinales con o sin hemorragia asociada.^{73,75}

CRIPTOCOCOSIS PROSTATICA

Las infecciones fúngicas prostáticas se encuentran comúnmente en forma incidental en la autopsia o en muestras retiradas quirúrgicamente. Se ha informado que *C. neoformans* raramente infecta la próstata en pacientes tratados con inmunosupresivos, y con trastornos hematológicos, cirrosis, diabetes, sarcoidosis y más recientemente con SIDA.^{4,76} Las infecciones prostáticas fúngicas son usualmente infiltrativas y granulomatosas. Los abscesos prostáticos fúngicos son extremadamente raros.⁸¹

La afección del tracto genitourinario es inusual; el riñón, próstata, epidídimo y testículos son afectados en orden descendente de frecuencia. La criptococosis prostática es generalmente asintomática pero pueden presentarse síntomas de micción irritante o incluso obstrucción. Aun en ausencia de complicación alguna del tracto genitourinario demostrable, los cultivos de orina positivos son frecuentes en pacientes con criptococosis.⁸¹ Experiencias recientes en pacientes con SIDA y enfermedad criptococósica han demostrado que la próstata es un sitio común de infección persistente después de un tratamiento sistémico efectivo aparentemente para otro órgano involucrado, tal como las meninges.⁷⁶ Este hallazgo puede explicar el 50% de recidivas de meningitis criptococósica seguida de la terapia. En un reporte, los urocultivos en tales pacientes fue positivo en el

29% de los casos después del masaje prostático, a pesar de la ausencia de síntomas urinarios.^{4,76,78-81}

Los pacientes con abscesos prostáticos pueden presentar síntomas de micciones obstruyentes, retención urinaria, pirexia, epididimitis, malestar rectal, dolor en la espalda o hematuria. La patogénesis de la formación del absceso involucra alguno de los dos mecanismos siguientes: enfermedad de la parte baja del tracto genitourinario o, diseminación metastásica de un foco séptico en otra parte del cuerpo. Este último mecanismo involucra a las infecciones fúngicas en la próstata.⁸¹

CRIPTOCOCOSIS DISEMINADA

En la enfermedad diseminada, virtualmente cualquier órgano o tejido del cuerpo puede presentar focos de infección; sin embargo, la localización de la infección fuera del pulmón y el cerebro es rara.

Criptococosis Visceral

Se ha discutido bastante el problema de la participación cardiaca en el SIDA; no obstante, la miocarditis fulminante en pacientes con SIDA debida a infecciones fúngicas es rara. La participación de *C. neoformans* en el corazón es muy poco frecuente, aunque hay reportes de pericarditis y endocarditis. La miocarditis se ha informado en pacientes con SIDA y en aquellos sin SIDA.^{5,52,82,85,95}

Las infecciones proctológicas en pacientes con SIDA se presentan frecuentemente y a menudo tienen un origen viral, fúngico o parasitario. Si bien, *C. neoformans* es uno de los hongos más comunes que infectan a estos huéspedes inmunocomprometidos; las lesiones criptocócicas en tracto gastrointestinal son bastante raras,^{92,93} afectando principalmente al hígado, páncreas o el bazo.⁸⁹⁻⁹¹ Recientemente se informó el caso de un paciente con SIDA, el cual presentó un absceso criptocócico crónico en el recto con una fístula anal. La lesión se extirpó quirúrgicamente al no ceder al tratamiento.⁹⁰

Se tiene conocimiento de otras lesiones en el contexto de la criptococosis diseminada y severa en pacientes con SIDA, estas afecciones incluyen infección focal de la hipófisis anterior,⁸⁷ lesiones orales,^{83,84,95} laringitis criptocócica,⁹⁴ participación extensiva del espacio maternal o intervelloso de la placenta⁹¹ y mediastinitis criptocócica,^{54,86} infección criptocócica que se presentó como úlcera vulvar⁹⁷ y linfadenitis criptocócica.⁹⁶

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

La forma diseminada de la criptococosis en pacientes con SIDA, puede presentarse a veces, como una enfermedad peligrosa y fulminante, sugerente de "shock" séptico bacteriano. En este contexto, es crucial el diagnóstico oportuno de esta grave infección fúngica oportunista para permitir la pronta iniciación del tratamiento efectivo y otras terapias de ayuda, antes de la disponibilidad de los resultados del cultivo y antígeno para mejorar así la oportunidad de sobrevivencia en estos pacientes. El diagnóstico rápido consiste en la demostración del microorganismo en frotis de líquidos corporales (por ejemplo muestras de lavados bronquiales) y/o la presencia del antígeno criptococósico en LCR o sangre. El cultivo es frecuentemente confirmatorio de las técnicas diagnósticas inmediatas.¹⁰⁰

La toma de muestra depende del tipo de criptococosis, por lo que se pueden manejar expectoraciones, lavados bronquiales, LCR, exudados, biopsias, etc.

Examen Directo

En frotis fijados o coloreados las levaduras de *C. neoformans* son muy frágiles, y se pueden colapsar o convertirse en formas de media luna. A pesar de que se identifican sin dificultad en preparaciones en portaobjetos teñidos con

colorantes histopatológicos, el examen se debe llevar a cabo en montajes húmedos. La cápsula es tan característica que en material infectado (tal como LCR), mezclado con una gota de tinta China, nigrosina o cualquier medio de montaje coloidal coloreado, los microorganismos encapsulados son delineados por contraste negativo.^{2,98} En alrededor de 60% de los pacientes, se puede detectar al microorganismo por estas técnicas.⁴⁴ Se obtienen buenos resultados colocando una gota de fucsina básica (Ziehl-Neelsen) por un minuto y tiñendo posteriormente con tinta China; observándose a la levadura en color rojo-rosa, un halo blanco que corresponde a la cápsula y el fondo de la preparación en negro.¹ La tinción con mucicarmin es un método establecido para la identificación de la cápsula de *C. neoformans*.^{1,98} Se ha diseñado y estandarizado un método de tinción denominado TRC (tinción de resaltado capsular) en el cual el frotis se fija y después se tiñe con fucsina básica y se contrasta con tinta China.¹¹³

Cultivos

La meningitis es la principal manifestación de la enfermedad, la cual conduce a una expectativa de vida marcadamente reducida en pacientes con SIDA, comparada con otras infecciones oportunistas en estos pacientes. El diagnóstico y tratamiento temprano de las formas menos peligrosas de la enfermedad, tal como la pulmonar, podrían disminuir el impacto de la enfermedad en algún individuo dado. La criptococosis pulmonar se ha reportado

en tan sólo un pequeño número de pacientes con SIDA,^{28,101} a pesar del hecho de que los pulmones es probablemente la principal vía de entrada del microorganismo.² Esta baja frecuencia puede ser debida a que en los cultivos fúngicos de esputo convencionales usualmente también se desarrolla *C. albicans*, por la contaminación oral de las muestras de estos pacientes, debido a que la colonización e infección oral por esta levadura es muy común en pacientes con SIDA. La morfología de las colonias de *C. albicans* y *C. neoformans* pueden ser similares en un medio de aislamiento primario convencional en los primeros días de desarrollo. Además, *C. albicans* puede presentarse en mayor número en los cultivos, ocultando de este modo, la presencia de las colonias de *C. neoformans*.¹⁰¹

En los medios de cultivo habituales como son agar de dextrosa Sabouraud, extracto de levadura y agar BHI, *C. neoformans* desarrolla en forma de colonias mucoides, limitadas, convexas y brillantes de color blanco amarillento.¹ Las cepas patógenas de *C. neoformans* no son exigentes nutricionalmente y crecen bien a 37°C, sin embargo, muestran una sensibilidad variable a la cicloheximida (Actidione), la cual es incorporada a la mayor parte de los medios selectivos para hongos patógenos.^{1,2}

La identificación puede mejorarse utilizando un medio de cultivo selectivo para *C. neoformans*, el cual es preparado a base de extracto de semillas de alpiste (*Guizotia abyssinica*), en donde desarrolla colonias con pigmento cafe-

marrón, debido a que transforma el ácido cafeínico que contiene la semilla, en un compuesto similar a la melanina.^{1,2,98,101,113}

Las placas de agar de alpiste, se pueden incubar a 30°C, temperatura a la cual permite el crecimiento de todas las especies de *Cryptococcus* y otras levaduras. Debido a que a esta temperatura, otras levaduras además de *C. neoformans* pueden producir en forma rara colonias pigmentadas de color café, y por otra parte, especies raras de esta levadura no generarían colonias con este color; la identificación presuntiva puede ser posible únicamente en agar de alpiste, usado como un medio de aislamiento primario e incubado a 37°C. El desarrollo a 37°C es virtualmente universal (aunque no el óptimo) en *C. neoformans* var. *neoformans* (regularmente todas las infecciones criptocócicas en pacientes con SIDA son causadas por esta variedad); sin embargo, la mayor parte de otras especies criptocócicas y un gran número de otras levaduras no desarrollan a 37°C. Por lo tanto, la incubación del medio de agar de alpiste podría incrementar la selectividad por la inhibición de la mayoría otras levaduras productoras de ureasa.¹⁰¹

El uso de medios selectivos para el aislamiento específico de patógenos no es nuevo entre los microbiólogos, pero es rara su utilización para hongos patógenos. En un medio selectivo descrito por Vogel, la producción de ureasa se detecta como un halo rosa alrededor de las colonias de *C. neoformans*, el cual no se forma alrededor de las colonias de *C. albicans*.^{2,101} Se ha descubierto

también la combinación del agar de bilis de bovino de Littman (el cual inhibe el crecimiento saprofítico) con un extracto de las semillas de *G. abyssinica*, pero no se ha aplicado en microbiología clínica. De la misma manera, tampoco se utiliza como un método de aislamiento primario a un medio que contiene inositol, urea y ácido caféico, que tienen buen éxito para la identificación de *C. neoformans*. El agar de alpiste suplementado con antibióticos o con bifenil (para inhibir hongos filamentosos) se ha utilizado como un medio primario para mejorar la detección de *C. neoformans*.¹⁰¹

En la mayor parte de los textos sobre diagnóstico de laboratorio de enfermedades micóticas, no se hace mención sobre el uso de agar de alpiste. Esto puede ser debido a que antes del advenimiento del SIDA, la combinación de criptococosis pulmonar relativamente silenciosa y la candidiasis oral no era frecuente.¹⁰¹

El diagnóstico específico de *C. neoformans* requiere del estudio de varios factores que incluyen la identificación microscópica de la cápsula, la diferenciación de las colonias en los cultivos en base al efecto de color café específico en agar de alpiste (*G. abyssinica*), tolerancia a la temperatura, pruebas bioquímicas además de la detección del antígeno criptocócico en suero, LCR y otros líquidos corporales.^{1,2,98,101}

TABLA 2. DIFERENCIACION FISIOLÓGICA DE ESPECIES DE *C. neoformans*.

	PRODUCCION DE UREASA	ASIMILACION DE NITRATOS	CRECIMIENTO A 37°C	PATOLOGIA ANIMAL	ASIMILACION DE CARBONO						
					Gal	Mai	Lac	Mel	Erit	Galtol	Suc
<i>C. neoformans</i>	+	-	+V	+	+	+	-	-	-	+	+
<i>C. laurentii</i> y var.	+	-	V	-	+	+	+	+/-	+/-	V	+
<i>C. albidus</i> y var.	+	+	V	-	+V	+	+/-	+V	-W	V	+
<i>C. terreus</i>	+	+	-	-	+	V	+W	-	-	V	-
<i>C. luteolus</i>		-	-	-	+	+	-W	-W	+	+	+
<i>C. melobiosum</i>		-	-	-	+	-	W	+	-	-	-
<i>C. flavus</i>		-	-	-	+	+	+	+	+	W	+

Gal= galactosa Mel= melobiosa Suc= sacarosa
 Mai= maltosa Erit= eritrítol W= débil
 Lac= lactosa Galtol= galactitol V= variable

TABLA 3. PROPIEDADES DE LOS DIVERSOS HONGOS LEVADURIFORMES DE INTERES MEDICO.

PRODUCCION	<i>C. neoformans</i>	<i>Candida</i> sp.	<i>Torulopsis</i> sp.	<i>Saccharomyces</i> sp.	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Trichosporum</i> sp.
FORMACION DE CAPSULA	+	-	-	-	-	-
PRODUCCION DE UREASA	+	-	-	-	-	-
PRODUCCION DE PSEUDOHIFAS	+/-	+	-	-	+	+
PIGMENTO EN MEDIO DE ALPISTE	+	-	-	-	-	-
ASCOSPORAS	-	-	-	+	+	-
BASIDIOSPORAS	+	-	-	-	-	-

Pruebas Inmunológicas

Los exámenes sanguíneos y de LCR sistemáticos, por lo general no son útiles en el diagnóstico de la infección criptocócica. La prueba para el antígeno criptocócico, es sensible y específica, y suele ser positiva tanto en el suero como en el LCR. La identificación del hongo en el examen con tinta China y el cultivo de *C. neoformans* confirma el diagnóstico.¹⁰⁶

El serodiagnóstico de la infección criptocócica ha recibido mucha atención, y en la actualidad se está convirtiendo en un procedimiento estandarizado útil. Debido a la naturaleza inerte, desde el punto de vista inmunológico, del polisacárido capsular, es poca la reacción humoral o alérgica que provoca la infección con *C. neoformans*.^{1,2,106} Por esta razón no se ha desarrollado una prueba cutánea instantánea o pruebas inequívocas de fijación de complemento o de hemaaglutinación. Hasta ahora, las pruebas diagnóstica y pronóstica se pueden utilizar con el fin de medir el antígeno capsular criptocócico en suero y LCR. La prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes y la prueba de fijación de complemento se utilizan para descubrir la aparición de anticuerpos. La presencia de antígeno se determina mediante la prueba de aglutinación de partículas de látex. En resumen, las pruebas serológicas para la criptococosis son útiles pero debe hacerse notar que se presentan resultados positivos falsos y negativos falsos.¹²

La prueba de aglutinación en látex tiene una sensibilidad de aproximadamente un 90% y una especificidad cercana el 100%, cuando las muestras son calentadas y se incluyen controles apropiados para la aglutinación inespecífica. Los títulos del antígeno en muestras de suero y LCR se han utilizado para el diagnóstico, pronóstico y el monitoreo de la terapia antifúngica.^{99,101-103,106} Con el incremento en el número de infecciones de *C. neoformans* causadas por la epidemia del SIDA, la detección del antígeno es una

prueba inmunológica importante para el laboratorio clínico microbiológico. Aproximadamente el 90% de los pacientes con meningitis criptocócica pueden presentar antígeno detectable en el LCR por pruebas de aglutinación en látex.¹⁰²

La especificidad de la prueba de aglutinación en látex para el antígeno criptocócico es afectada principalmente por la presencia de factores de interferencia en las muestras, las cuales pueden traer como consecuencia reacciones positivas falsas.^{102,115} Se ha sugerido que los resultados positivos falsos pueden presentarse en muestras de pacientes con anomalías inmunológicas o infecciones no criptocócicas. Estos resultados se atribuyen a reacciones cruzadas no específicas y frecuentemente son debidos al factor reumatoide u otros factores.^{9,11,99,102,106} Aunque la IgM anti-IgG, presente en el suero de la mayor parte de los pacientes con artritis reumatoide, puede interferir en las reacciones de aglutinación en látex, tales inmunoglobulinas se encuentran raramente en el LCR; esto puede explicar algunas de las reacciones falsas positivas.¹⁰² Se sugiere que cuando se procese el LCR, se tenga cuidado de no contaminar la muestra con el líquido de sinéresis (superficie de condensación) de las placas de agar, el cual aun en pequeñas cantidades pueden producir falsos positivos en los resultados de la prueba de aglutinación en látex. Se recomienda que las pruebas de aglutinación en látex para el antígeno de *C. neoformans* se realice antes del cultivo o en una muestra separada.^{2,102,115}

Lo anterior a dado como resultado en el desarrollo de modificaciones en la prueba de aglutinación en látex para eliminar los resultados positivos falsos o los títulos bajos falsos, que incluyen el tratamiento de las muestras con calor, digestión enzimática (pronasa) o ditiotreitól; la extracción con EDTA-calor y el uso de un reactivo control (partículas de látex recubiertas con globulina de conejo no inmune), o pretratamiento con 2-β-mercaptoetanol el cual es utilizado principalmente para eliminar la reactividad no específica.^{99,102,103,106,115}

Se ha demostrado que el método de tratamiento con pronasa elimina los factores de interferencia e incrementa la sensibilidad de la prueba de aglutinación en látex.⁹⁹

Las reacciones falsas negativas son raras en los equipos de pruebas de aglutinación en látex. La mayor parte se corrigen con la dilución o el tratamiento con pronasa de la muestra. El fenómeno de pro-zona en muestras de suero y LCR se pueden resolver también con la dilución de estas muestras.¹⁰³

El tratamiento con pronasa de las muestras de suero mejora la detección y titulación del antígeno criptocócico por la revelación y resolución de los resultados falsos negativos en un fenómeno de pro-zona y las variables de las determinaciones del antígeno en la titulación de punto final.¹⁰³

En un estudio reciente se menciona que en las muestras de LCR el tratamiento rutinario con pronasa no es necesario.¹⁰³

En pacientes con SIDA y enfermedad criptocócica, el serodiagnóstico usualmente se realiza en una prueba de aglutinación en látex en la cual las partículas se recubren con antisuero policlonal dirigido en contra del material polisacárido capsular;^{104,106,107} aunque ha probado ser un examen útil, tiene un cierto número de desventajas, particularmente con respecto a los falsos positivos generados por la presencia del factor reumatoide o por reacciones cruzadas. Sin embargo, la mayor limitación de la prueba en pacientes con SIDA es la detección de altos títulos persistentes del antígeno capsular carbohidrato, lo cual puede resultar en el fracaso para eliminar al polisacárido, así como a los microorganismos por sí mismos. Esto hace a la prueba de menor valor en la determinación de las consecuencias de la enfermedad y el curso correcto de la terapia. Por lo tanto, se necesitarían anticuerpos específicos de especie que reconozcan los exoantígenos no carbohidratos, para su uso en el diagnóstico y seguimiento de la infección en pacientes con SIDA.^{104,106,107}

Aunque se han producido anticuerpos monoclonales en contra de *C. neoformans*, todos ellos son dirigidos en contra del carbohidrato cápsula.^{104,114} Recientemente se han desarrollado anticuerpos monoclonales específicos en contra de los antígenos no carbohidratos de varios patógenos fúngicos los cuales es posible utilizarlos en el serodiagnóstico, particularmente en pacientes con SIDA e infección con *C. neoformans*. Estos anticuerpos monoclonales son dirigidos en contra del antígeno citoplásmico de *C. neoformans*.¹⁰⁴

La eliminación de los factores interferentes es posible por la digestión proteolítica (pronasa) de las muestras antes de llevar a cabo la prueba de aglutinación el látex;^{99,110} pero este paso de pretratamiento enzimático agrega de 20 a 30 minutos extra al tiempo de ensayo de la aglutinación el látex. Recientemente se desarrolló un inmunoensayo enzimático (EIA) para la detección del antígeno criptocócico. Esta prueba no requiere de un pretratamiento enzimático de las muestras, no reacciona con el factor reumatoide, proporciona resultados objetivos, espectrofotométricamente definidos y detecta a los cuatro serogrupos (A,B,C y D) de *C. neoformans*.^{105,107,110}

Desafortunadamente la criptococosis se diagnostica en forma frecuente en la fase secundaria de la enfermedad, cuando el tratamiento es menos eficaz y se presenta una alta proporción de recidivas. El diagnóstico temprano de la infección primaria puede, por lo tanto ser la clave de una terapia exitosa.¹⁰⁸

En la actualidad se han desarrollado métodos para la identificación de aislamientos fúngicos, tal como las pruebas para la detección de ADN específicos de especie por medio de quimioluminiscencia que disminuyen el tiempo de identificación a la vez de mantener un alto grado de precisión. Las secuencias medias repetitivas del ADN de *C. neoformans* específicas de especie y variedad, se pueden utilizar en pruebas de hibridación para distinguirlo de otros hongos levaduriformes tal como *C. albicans*, la cual se presenta frecuentemente en forma abundante en las secreciones respiratorias de los

pacientes con SIDA. Los "primers" de oligonucleótidos desarrollados de estas secuencias hacen posible la realización de pruebas basadas en la reacción de la cadena de la polimerasa (RCP) para el diagnóstico de la criptococosis en la fase temprana de la infección en los pacientes con SIDA, cuando está limitada a los pulmones y está presente en las secreciones del tracto respiratorio en un nivel más bajo que pueda ser detectado por los métodos comunes, y antes que la diseminación y colonización de órganos internos haya tenido lugar. Este método es muy útil también en la identificación e investigación de especies para estudios epidemiológicos de la criptococosis en pacientes con SIDA.^{108,109,111,113,116}

La mayor ventaja de la utilización de estas pruebas, además de su sensibilidad y especificidad (100%), es la identificación inmediata de los aislamientos de *C. neoformans*. En estas técnicas sólo se utiliza un pequeño inóculo, en contraste de la prueba de exoantígenos, en la cual se requiere de un crecimiento confluyente en un medio inclinado o placa. Los resultados de las pruebas positivas o negativas son fácilmente diferenciados. Una ventaja adicional es el corto periodo de tiempo para realizar la prueba (aproximadamente de 2 h). Las desventajas asociadas a la utilización de esta prueba incluyen el requerimiento de una instrumentación cara y la vida media de la prueba la cual es de aproximadamente 6 meses, la cual puede ser insuficiente para laboratorios pequeños que reciben pocas muestras.¹¹¹

TRATAMIENTO

TRATAMIENTO PRIMARIO: Anfotericina B y 5-fluorocitosina

La anfotericina B es un antibiótico fungistático efectivo contra *C. neoformans*. Ejerce su efecto al unirse a los esteroides de la membrana de la levadura para alterar la permeabilidad y producir la muerte de la misma. En una proporción del 95% se une a las lipoproteínas del plasma, y por consiguiente, no es muy hidrosoluble, por lo que no penetra bien en el LCR. A dosis habituales, las concentraciones séricas del medicamento fluctúan entre 0.21 y 1.15 mcg/ml. Los efectos colaterales que se presentan durante o inmediatamente después de la administración son fiebre, escalofríos, náusea y vómito; además de otros efectos tales como anemia, trombocitopenia, acidosis tubular renal, hipocaliemia e hipomagnesemia.¹⁰⁶ La alteración de la función renal en relación con la dosis diaria se presenta en la mayoría de los pacientes y suele ser reversible cuando la dosis diaria se reduce o se suspende. Si bien la reducción puede revertir el daño, también puede disminuir su eficacia.^{106,117,128,132}

La 5-fluorocitosina es también fungistática para *C. neoformans*, ya que evita la síntesis de ácido nucleico. Se une en baja proporción a las proteínas del suero y por lo tanto se dializa en grado significativo; las concentraciones séricas de más de 100 mcg/ml se asocian a efectos colaterales tóxicos, por lo que deben vigilarse y mantenerse en valores límite de 25-50 mcg/ml. Se sabe que ocurre

resistencia al medicamento cuando se utiliza la 5-fluorocitosina como único tratamiento en la criptococosis^{106,117,127} y, por tanto, siempre se emplea combinada con anfotericina B. Los efectos colaterales significativos de la 5-fluorocitosina son anemia, leucopenia, leucocitopenia, trombocitopenia, náusea, vómito y enterocolitis; estos efectos son más frecuentes en los pacientes con alteración renal preexistente o con concentraciones séricas elevadas del medicamento.^{106,117}

Todavía se desconoce la dosis total eficaz de la anfotericina B en el tratamiento primario y de hecho, es probable que varíe entre un paciente y otro. Las dosis simples fluctúan entre 0.4 y 0.8 mg/kg/día. En casi todos los estudios, las dosis total por lo general sobrepasan 1 g y a veces se acercan a 4 g, y suele continuarse el tratamiento diario mientras se mantengan positivos los cultivos de LCR o de cualquier otro sitio extraneural.^{106,117,132}

Antes de la epidemia del SIDA, pruebas clínicas demostraron que la combinación de Anfotericina B y 5-fluorocitosina era el mejor régimen de tratamiento disponible. Sin embargo, con la aparición del SIDA y la reciente introducción de agentes antifúngicos adicionales han complicado el resultado de la terapia para la criptococosis.^{117,131}

Se ha establecido el papel de la anfotericina B más 5-fluorocitosina en el manejo de la meningitis criptococócica en pacientes sin SIDA.^{117,130} Sugiriéndose que la terapia combinada es más efectiva y menos tóxica que altas dosis de anfotericina B sola, ya que se logra más rápidamente la negativización del

LCR.^{93,99,103} Así mismo, también se ha determinado que los pacientes con enfermedad leve sin inmunosupresión podrían tener un tratamiento con buen resultado en tan sólo cuatro semanas con una terapia combinada. El resultado del tratamiento para pacientes inmunocomprometidos es menos favorable, debido a lo cual presentan una mortalidad inicial alta y más fracasos clínicos.¹²⁵

En el manejo de las infecciones fúngicas en pacientes con SIDA se observa una experiencia similar. Se ha informado una tasa de mortalidad aguda del 10-40% y una proporción total de negativización del LCR del 40-60% en pacientes tratados con anfotericina B (con o sin 5-fluorocitosina). Por otra parte, la utilidad de la terapéutica con 5-fluorocitosina ha sido cuestionada; se han informado altas proporciones de efectos tóxicos en pacientes con SIDA a los que se les administra una terapia combinada con 5-fluorocitosina, particularmente neutropenia y efectos gastrointestinales adversos.^{117,120} Así mismo, estas dificultades de la terapéutica se resaltan en pacientes que requieren, además, otras terapias mielotóxicas (tal como la zidovudina) y en quienes su reserva de médula ósea puede ser dañado por otros agentes terapéuticos o por el VIH mismo.^{126,128}

La dosis óptima y duración del tratamiento con anfotericina B en el manejo de la meningitis criptocócica asociada al SIDA permanecen también inciertas. Parte de esta incertidumbre ha surgido debido a que la realización de esta terapia es poco usual en la población de pacientes con SIDA y porque se

necesita de una terapia supresiva prolongada de forma indefinida para prevenir recidivas o enfermedad recurrente. La proporción de recidivas entre los pacientes que no reciben alguna forma de terapia supresiva prolongada es de alrededor del 50-60%. Por lo tanto, la terapia primaria junto con la terapia de mantenimiento se acepta ahora como un estándar de tratamiento normal en individuos infectados con VIH y meningitis criptocócica.^{126,127,130,131}

Aunque se ha reportado el éxito de la terapia combinada con 5-fluorocitosina en pacientes seleccionados y, se ha sugerido un aumento en la tasa de supervivencia; todos estos estudios están limitados por su tamaño pequeño, naturaleza retrospectiva y falta de controles, así como por la diferencia de opinión entre los clínicos.^{126,131}

La base del tratamiento de la meningitis criptocócica en pacientes con SIDA es la anfotericina B,^{106,129} sin embargo, nuevos medicamentos ofrecen algunas ventajas con respecto a la anfotericina B, tanto en lo que se refiere al tratamiento primario como al de sostén.^{106,130}

Azoles antimicóticos.

Los nuevos agentes en el tratamiento de las micosis sistémicas son los imidazoles y los triazoles,^{106,127} Estos inhiben las vías del citocromo celular P450 interfiriendo en la síntesis del esteroide de membrana.^{106,117,119}

El ketoconazol es un derivado del imidazol que se metaboliza en el hígado y se une a las proteínas en un 90% y por lo tanto no es dializable. La absorción por vía oral es variable. La dosis usual es de 400 mg/día; la penetración en el LCR es menor al 10%. Los efectos colaterales más frecuentes son la anorexia relacionada con la dosis, náusea y vómito; observándose también exantema y alteraciones asintomáticas en las pruebas de funcionamiento hepático. El ketoconazol en la actualidad no constituye una alternativa eficaz para el tratamiento primario de la meningitis criptocócica en pacientes con SIDA, aunque puede ser eficaz cuando se le utiliza como tratamiento supresor.^{106,117}

El itraconazol es un derivado triazol, se une a las proteínas en un 90% y no es muy dializable.^{106,117,126} Se ha estudiado muy poco en el tratamiento de la meningitis criptocócica, debido en parte a su pobre penetración en el LCR.¹¹⁷ No obstante, se ha observado que es eficaz en la meningitis criptocócica de modelos animales. Se han informado experiencias en el tratamiento de la meningitis criptocócica asociada al SIDA con itraconazol; sin embargo, estos estudios carecen de controles; los resultados preliminares sugieren que el itraconazol es eficaz en algunos pacientes con SIDA y meningitis criptocócica, informándose una tasa de respuesta completa o parcial del 64% entre pacientes sin tratamiento previo. Además, parece ser que tiene una buena efectividad en el control de la enfermedad en pacientes en los cuales la terapia con anfotericina B fracasó. Aunque, parecen presentarse recidivas debidas a una terapia

discontinúa con este fármaco.^{106,127} El itraconazol es bien tolerado, presentándose pocos efectos colaterales tales como náusea, elevación asintomática de las enzimas hepáticas, hipocalcemia, edema transitorio en los pies y raras veces cefalea.^{106,121,126,136}

El fluconazol es un derivado del triazol con un perfil farmacocinético muy diferente. Debido a la toxicidad asociada a la anfotericina B, hay un interés considerable en este nuevo agente antifúngico, especialmente porque los niveles en el LCR son del 50 al 100% a los encontrados en el suero, y debido también a que pueden conseguirse los niveles terapéuticos con la administración oral.^{106,117,119,126,132,135} Los efectos colaterales son mínimos y los más frecuentes son náusea y meteorismo, alteración asintomática en las pruebas de funcionamiento hepático en un pequeño porcentaje de los pacientes,^{106,134} y exantema. Se ha sugerido en varios estudios pequeños no controlados, que el fluconazol (200-400 mg/día) es eficaz en el tratamiento de pacientes con SIDA y meningitis criptocócica aguda, informándose una tasa de respuesta de aproximadamente del 60% en pacientes que no recibieron una terapia previa.^{106,131,134,136,137} Además, la terapia con fluconazol se ha utilizado con buenos resultados en pacientes en quienes el tratamiento con anfotericina B falló, o en quienes desarrollaron una toxicidad por dosis-límite a la anfotericina B.^{106,117,118}

Se ha evaluado la asociación de la 5-fluorocitosina con fluconazol para el tratamiento de la meningitis criptocócica en pacientes con SIDA con el

propósito de reducir la toxicidad y mejorar los resultados, observándose un éxito clínico a las 10 semanas del 63%; el cual es similar a lo informado para la combinación de anfotericina B y 5-fluorocitosina. Los resultados de este trabajo sugieren que esta combinación mejora la efectividad del fluconazol y disminuye la toxicidad de la 5-fluorocitosina.^{126,128}

Recientemente se ha estudiado la eficacia de otro agente antifúngico triazol, el SCH 39304, en el tratamiento de la meningitis criptocócica. El análisis preliminar de los primeros pacientes tratados indican una tasa de respuesta del 43% con una mejoría en más del 10%; los resultados de este estudio no controlado fueron similares a los encontrados en estudios previos de otros triazoles. Sin embargo, informes recientes de carcinogenicidad en roedores han detenido el estudio de esta droga.^{106,117,119}

TERAPIA DE MANTENIMIENTO

La terapia óptima para la criptococosis depende de la severidad de la enfermedad. Para los pacientes con enfermedad aguda la mayor parte favorece el uso de la anfotericina B como terapia inicial. Los azoles juegan un papel muy importante en la terapia de mantenimiento después de que la enfermedad aguda se ha tratado.¹³⁰

En la mayor parte de los pacientes con SIDA, en los cuales se observa un buen resultado con la terapia inicial completa para la meningitis criptocócica, permanece aún el riesgo para una recidiva. Estudios retrospectivos han informado una tasa de recidivas del 50 al 60% y expectativas de corta vida entre los pacientes que no han recibido forma alguna de terapia supresiva crónica.^{124,126,127,132} La mayoría de estas infecciones recurrentes probablemente representan el fracaso de la terapia inicial para erradicar totalmente el microorganismo antes de una nueva infección. Un posible factor en la alta tasa de recurrencia, es la observación de que la terapia normal que es exitosa en la negativización del LCR puede no erradicar la infección de sitios extrameningeos, tal como la próstata, sirviendo éste como un foco de recidiva.^{126,132} Se ha informado en alrededor del 20% de los pacientes de terapia completa con anfotericina B, la presencia de un foco urinario persistente de infección (presumiblemente de origen prostático).¹²⁸

Hay varios datos que sugieren la eficacia de varios regímenes como terapia supresiva. Se ha indicado que la tasa de sobrevida en los pacientes que recibieron una terapia constante con ketoconazol fue mayor que en los pacientes que no recibieron terapia de mantenimiento. Sin embargo, el ketoconazol tiene algunas propiedades farmacológicas (notablemente su carencia de penetración en el LCR y su dependencia de la acidez gástrica para su absorción) que lo hacen un pobre candidato para obtener resultados satisfactorios en la supresión de largo tiempo de la enfermedad recurrente en pacientes con SIDA. Antes de la aparición del fluconazol, las infusiones semanales de anfotericina B (1 mg/kg) fue el régimen que se utilizó más frecuentemente para la terapia de supresión. No obstante, este régimen no está exento de complicaciones —la anfotericina B necesita ser administrada en forma intravenosa, ocasiona efectos tóxicos inmediatos que son desagradables, es nefrotóxico, puede contribuir a la anemia que complica el manejo de los pacientes con SIDA, y es asociada con superinfecciones bacterianas. No sorprende que su uso sea impopular entre los pacientes y médicos.^{124,126}

Estudios no controlados con fluconazol han informado su efectividad en la supresión de recidivas de la criptococosis en pacientes con SIDA.^{8,119,126,130,131,133,135-137} Se comparó al fluconazol con un placebo en una población seleccionada de pacientes quienes fueron tratados con anfotericina B para la meningitis criptocócica aguda. Este estudio incluye pacientes cuyos cultivos de muestras

de varios sitios, incluyendo el tracto urinario fueron negativos para patógenos. Los resultados mostraron que el fluconazol fue superior al placebo.^{122,127}

En un estudio multicéntrico extenso se comparó al fluconazol (200 mg/d) con infusiones semanales de anfotericina B (1 mg/kg). Observándose una dramática diferencia en el resultado del tratamiento entre los dos grupos en este estudio. La profilaxis fue exitosa en el 92% de los pacientes asignados aleatoriamente para recibir fluconazol y en únicamente el 67% de los pacientes que recibieron semanalmente anfotericina B. La profilaxis con anfotericina B fracasó en aproximadamente el 50% de los pacientes debido a la enfermedad recidiva.¹¹⁷ Este estudio aleatorizado indica que el fluconazol es por lo menos equivalente y probablemente superior a la anfotericina B como terapia supresiva después de la fase aguda de la meningitis criptocócica.^{124,126,130} Debido a que el fluconazol esta disponible como un medicamento oral y es generalmente bien tolerado podría ser referido como el tratamiento de elección en esta situación.^{126,132,135} Sin embargo, se observa, que en estos estudios todos los pacientes fueron tratados inicialmente con por lo menos 15 mg de anfotericina B por kg. Aún no esta claro si el fluconazol siga siendo efectivo como terapia de sostén si se administran inicialmente dosis más bajas de anfotericina B o si el fluconazol sólo fuera utilizado también como tratamiento primario.¹²⁶

Es evidente que aún no se establece la terapia óptima para la meningitis criptocócica en pacientes con SIDA.(TABLA 3) Nuevos agentes tales como el

complejo lípido de anfotericina B, la anfotericina B liposomal,^{123,125} el saperconazol y los inhibidores de la β -1,3 glucano sintetasa están en la fase temprana de su desarrollo clínico.^{126,127}

TABLA 3. MANEJO DE LA MENINGITIS CRIPTOCOCOSICA EN PACIENTES CON SIDA¹²⁸

Terapia inicial (primeras 6-10 sem.)

Anfotericina B (0.5-0.7 mg/kg.d) con o sin 5-fluorocitosina (75-100 mg/kg.d en dosis divididas)

Fluconazol (200 mg/d)

Alternativas potenciales para la terapia inicial en la infección aguda

Inducción (primeras 2 sem.) con anfotericina B seguida por la consolidación con fluconazol.

Altas dosis de fluconazol (800-1200 mg/d)

Itraconazol (200-400 mg/d)

Combinación de triazoles más 5-fluorocitosina

Complejo lípido de Anfotericina B

Anfotericina B liposomal

Se necesitan más consideraciones para administrar también altas dosis de anfotericina B y de triazoles, así como también terapias alternativas de combinación tales como anfotericina B más un triazol o 5-fluorocitosina más un triazol. Experiencias iniciales con altas dosis de fluconazol (800 mg/d) y con la combinación de fluconazol y 5-fluorocitosina^{126,128} no han revelado algún efecto

tóxico adicional. Sin embargo, no hay datos suficientes para hacer alguna conclusión acerca de la eficacia.¹²⁶

BIBLIOGRAFIA

1. Bonifaz A. *Criptococosis* in: *Micología Médica Básica*. 1ª. Méndez-Cervantes, Eds., México 1991; p. 305-317
2. Rippon J.W. *Criptococosis* in: *Micología*. 1988; p. 629-659
3. Loaiza L.S. *Criptococosis*. *Infectología*, 1988; 8(8): 387-396
4. Kovacs J.A.; Kovacs A.A.; Polis M.; et al. Cryptococcosis in Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Intern Med*, 1985; 103: 533-538
5. Zuger A.; Louie E.; Holzman R.S.; et al. Cryptococcal Disease in Patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Intern Med*, 1986; 104: 234-240
6. Sugar A. Overview Cryptococcosis in the Patient with AIDS. *Mycopathologia*, 1991; 114: 153-157
7. Ellis D.H. and Pfeiffer T.J. Natural Habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. *J Clin Microbiol*, 1990; 28: 1642-1644
8. Ellis D.H. and Pfeiffer T.J. Ecology, Life Cycle, and Infections Propagule of *Cryptococcus neoformans*. *Lancet*, 1990; 336: 923-925
9. Levitz S.M. The Ecology of *Cryptococcus neoformans* and the Epidemiology of Cryptococcosis. *Rev Infect Dis*, 1991; 13: 1163-1169
10. Bonifaz A., Flores R.P. y Araiza J. *Criptococosis* y su Diagnóstico de Laboratorio. *Lab-Acta*, 1995; 8: 37-43
11. Shimizu R.Y.; Howard D.H. and Clancy M.N. The Variety of *Cryptococcus neoformans* in Patients with AIDS [letter]. *J Infect Dis*, 1986; 154: 1042

12. Bottone E.J.; Salkin I.F.; Hurd N.J.; et al. Serogroup Distribution of *Cryptococcus neoformans* in Patients with AIDS [letter]. *J Infect Dis*, 1987; 156(1): 242
13. Clancy M.N.; Fleischmann J.; Howard D.H.; et al. Isolation of *Cryptococcus neoformans gattii* from a Patient with AIDS in Southern California [letter]. *J Infect Dis*, 1990; 161: 809
14. Warnock D.W. and Richardson M.D. *Immunological and others Defects Predisposing to Fungal Infection in the Compromised Host* in: *Fungal Infection in the Compromised Patient*. John Wiley and Sons; 1982. P 29-42
15. Levitz S.M.; Farrell T.P. and Maziarz R.T. Killing of *Cryptococcus neoformans* by Human Peripheral Blood Mononuclear Cells Stimulated in Culture. *J Infect Dis*, 1991; 163: 1108-1113
16. Murphy J.W. Influence of Cryptococcal Antigens on Cell-Mediated Immunity. *Rev Infect Dis*, 1988; 10(suppl 2): S432-435
17. Murphy J.W. and Cox R.A. Induction of Antigen-Specific Suppression by Circulating *Cryptococcus neoformans* Antigen. *Clin Exp Immunol*, 1988; 73: 174-180
18. Pettoello-Mantovani M.; Casadevall A.; Kollmann T.R.; et al. Enhancement of HIV-1 Infection by the Capsular Polysaccharide of *Cryptococcus neoformans*. *Lancet*, 1992; 339: 21-23
19. Levitz S.M. and Dupont M.P. Phenotypic and Functional Characterization of Human Lymphocytes Activated by Interleukin-2 to Directly Inhibit

- Growth of *Cryptococcus neoformans* In Vitro. *J Clin Invest*, 1993; 91: 1490-1498
20. Murphy J.W.; Hidore M.R. and Wong S.C. Direct Interactions of Human Lymphocytes with the Yeast-Like Organism, *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Invest*, 1993; 91: 1553-1566
 21. Pettoello-Mantovani M.; Casadevall A.; Wong P.S.; et al. Enhancement of HIV Type 1 Infectivity In Vitro by Capsular Polysaccharide of *Cryptococcus neoformans* and *Haemophilus influenzae*. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1994; 10(9): 1079-1087
 22. Mitchell D.H.; Sorrel T.C.; Allworth A.M.; et al. Cryptococcal Disease of the CNS in Immunocompetent Host: Influence of Cryptococcal Variety on Clinical Manifestations and Outcome. *Clin Infect Dis*, 1995; 20: 611-616
 23. Speed B. and Dunt D. Clinical and Host Differences Between Infection with the Two Varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Infect Dis*, 1995; 21: 28-34
 24. Saag M.S. Clinical and Host Differences Between Infection with the Two Varieties of *Cryptococcus neoformans* [Editorial]. *Clin Infect Dis*, 1995; 21: 35-36
 25. González C.E.; Shetty D.; Lewis L.L.; et al. Cryptococcosis in Human Immunodeficiency Virus Infected Children. *Pediatr Infect Dis J*, 1996; 15: 796-800
 26. Speed B.R. and Kaldor J. Rarity of Cryptococcal Infection in Children [letter]. *Pediatr Infect Dis J*, 1997; 16(5): 536-537

27. Bava A.J. y Negroni N. Estudio del Primer Caso Autóctono Argentino de Criptococosis Producida por *Cryptococcus neoformans* var *gattii*. *Rev Iberoam Micol*, 1990; 7: 39-42
28. Wasser L. and Talavera W. Pulmonary Cryptococcosis in AIDS. *Chest*, 1987; 92(4): 692-695
29. Chechani V. and Kamholz S.L. Pulmonary Manifestations of Disseminated Cryptococcosis in Patients with AIDS. *Chest*, 1990; 98(5): 1060-1066
30. Miller W.T.; Edelman J.M. and Miller W.T. Cryptococcal Pulmonary Infection in Patients with AIDS: Radiographic Appearance. *Radiology*, 1990; 175(3): 725-728
31. Cameron M.L.; Bartlett J.A.; Gallis H.A.; et al. Manifestations of Pulmonary Cryptococcosis in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Rev Infect Dis*, 1991; 13: 64-67
32. Diamond R.D. The Growing Problem of Mycoses in Patients Infected with the Human Immunodeficiency Virus. *Rev Infect Dis*, 1991; 13: 480-486
33. Malabonga V.M.; Basti J. and Kamholz S.L. Utility of Bronchoscopic Sampling Techniques for Cryptococcal Disease in AIDS. *Chest*, 1991; 99(2): 370-372
34. Huffnagle G.B. and Lipscomb M.F. Pulmonary Cryptococcosis. *Am J Pathol*, 1992; 141(6): 1517-1520
35. Wagner R.P.; Levitz S.M.; Tabuni A.; et al. HIV-1 Envelope Protein (gp120) Inhibits the Activity of Human Bronchoalveolar Macrophages

- Against *Cryptococcus neoformans*. *Am Rev Respir Dis*, 1992; 146: 1434-1438
36. Levitz S.M.; Tabuni A.; Wagner R.; et al. Binding of Unopsonized *Cryptococcus neoformans* by Human Bronchoalveolar Macrophages: Inhibition by a Large-Molecular-Size Serum Component. *J Infect Dis*, 1992; 166: 866-873
37. Malanovich V.E.; Dismukes W.E. and Markowitz N. Cryptococcal Empyema: Case Report and Review. *Clin Infect Dis*, 1995; 20: 1396-1398
38. Meyohas M-C.; Roux P.; Bollens D.; et al. Pulmonary Cryptococcosis: Localized and Disseminated Infections in 27 Patients with AIDS. *Clin Infect Dis*, 1995; 21: 628-633
39. Levy R.M.; Bredesen D.E. and Roseblum M.L. Neurological Manifestations of the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS): Experience of UCSF and Review of the Literature. *J Neurosurg*, 1985; 62: 475-495
40. Helweg-Larsen S.; Jakobsen J.; Boesen F.; et al. Neurological Complications and Concomitants of AIDS. *Acta Neurol Scand*, 1986; 74: 467-474
41. Eider G.A. and Sever J.L. Neurologic Disorders Associated with AIDS Retroviral Infection. *Rev Infect Dis*, 1988; 10(2): 286-302
42. Dismukes W.E. Cryptococcal Meningitis in Patients with AIDS [editorial]. *J Infect Dis*, 1988; 157(4): 624-628

43. Gray F.; Gherardi R.; Keohane C.; et al. Pathology of the Central Nervous System in 40 Cases of Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). *Neuropathology and App Neurobiology*, 1988; 14: 365-380
44. Patterson T.F. and Andriole V.T. Current Concepts in Cryptococcosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1989; 8(5): 457-465
45. Popovich M.J.; Arthur R.H. and Helmer E. CT of Intracranial Cryptococcosis. *AJNR*, 1990; 11: 139-142
46. Clark R.A.; Greer D.; Atkinson W.; et al. Spectrum of *Cryptococcus neoformans* Infection in 68 Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Rev Infect Dis*, 1990; 12(5): 768-777
47. Tien R.D.; Chu P.K.; Hesselink J.R.; et al. Intracranial Cryptococcosis in Immunocompromised Patients: CT and MR Findings in 29 Cases. *AJNR*, 1991; 12: 283-289
48. Mathews V.P.; Alo P.L.; Glass J.D.; et al. AIDS-Related CNS Cryptococcosis: Radiologic-Pathologic Correlation. *AJNR*, 1992; 13: 1477-1486
49. Chang L.; Miller B.L.; McBride D.; et al. Brain Lesions in Patients with AIDS: H-1 MR Spectroscopy. *Radiology*, 1995; 197: 525-531
50. Aberg J.A. and Powderly W.G. Cryptococcosis. *The AIDS Knowledge Base*, 1998; p. 1-19
51. CNS Cryptococcal Infection. *A J R*, 1997; 169: 299
52. Eng R.H.; Bishburg E.; Smith S.M.; et al. Cryptococcal Infections in Patients with Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Am J Med*, 1986; 81: 19-23

53. Ricciardi D.D.; Sepkowitz D.V.; Berkowitz L.B.; et al. Cryptococcal Arthritis in a Patient with Acquired Immuno Deficiency Syndrome. Case Report and Review of the Literature. *J Rheumatol*, 1986; 13(2): 455-458
54. Witt D.; Mckay D.; Schwam L.; et al. Acquired Immuno Deficiency Syndrome Presenting as Bone Marrow and Mediastinal Cryptococcosis. *Am J Med*, 1987; 82: 149-150
55. Baldwin S.; Stagno S.; Odrezin G.T.; et al. Isolated *Cryptococcus neoformans* Osteomyelitis in a Immunocompetent Child. *Pediatric Infect Dis*, 1988; 7(4): 289-292
56. Behrman R.E.; Masci J.R. and Nicholas P. Cryptococcal Skeletal Infections: Case Report and Review. *Rev Infect Dis*, 1990; 12(2): 181-190
57. Pirofski L.A. and Casadevall A. Mixed Staphylococcal and Cryptococcal Epidural Abscess in a Patient with AIDS [letter]. *Rev Infect Dis*, 1990; 12(5): 964-965
58. Karcher D.S. and Frost A.R. The Bone Marrow In Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Related Disease. Morphology and Clinical Correlation. *Am J Clin Pathol*, 1991; 95(1): 63-71
59. Wong K.F.; Ma S.K.; Chan J.K.C.; et al. Acquired Immunodeficiency Syndrome Presenting as Marrow Cryptococcosis. *Am J Haematol*, 1993; 42: 392-394

60. Picon L.; Vaillant L.; Duong T.; et al. Cutaneous Cryptococcosis Resembling *Molluscum contagiosum*: A First Manifestations of AIDS. **Acta Derm Venereol**, 1989; 69: 365-367
61. Hernández A.D. Cutaneous Cryptococcosis. **Dermatologic Clinics**, 1989; 7(2): 269-273
62. Shuttleworth D.; Philpot C.M. and Knight A.G. Cutaneous Cryptococcosis: Treatment with Oral Fluconazole. **Br J Dermatol**, 1989; 120: 683-687
63. Piérard G.E.; Pierard-Franchimont C.; Estrada J.A. et al. Cutaneous Mixed Infections in AIDS. **Am J Dermatopathol**, 1990; 12(1): 63-66
64. Ricchi E.; Manfredi R.; Scarani P.; et al. Cutaneous Cryptococcosis and AIDS. **J Am Acad Dermatol**, 1991; 25(2): 335-336
65. Manrique P.; Mayo J.; Alvarez J.A. et al. Polymorphous Cutaneous Cryptococcosis: Nodular, Herpes-like, and *Molluscum*-like Lesions in a Patient with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. **J Am Acad Dermatol**, 1992; 26(1): 122-124
66. Song I. Ch. and Hunter J.G. Primary Cutaneous Cryptococcosis as the Presenting Manifestations of AIDS. **Plastic Reconst Surg**, 1992; 90(6): 1065-1067
67. Dimino-Emme L. and Gurevitch A.W. Cutaneous Manifestations of Disseminated Cryptococcosis. **J Am Acad Dermatol**, 1995; 32: 844-850
68. Ghigliotti G. and De Marchi R. Cutaneous Involvement with *Cryptococcus neoformans* in AIDS [letter]. **J Am Acad Dermatol**, 1995; 32(5): 820-821

69. Murakawa G.J.; Kerschmann R. and Berger t. Cutaneous *Cryptococcus* Infections and AIDS. Report of 12 Cases and Review of the Literature. ***Arch Dermatol***, 1996; 132: 545-548
70. Sandler B.; Potter T.S. and Hashimoto K. Cutaneous *Pneumocystis carinii* and *Cryptococcus neoformans* in AIDS. ***Br J Dermatol***, 1996; 134: 159-163
71. Lipson B.K.; Freeman W.R.; Beniz J. et al. Optic Neuropathy Associated with Cryptococcal Arachnoiditis in AIDS Patients. ***Am J Ophthalmol***, 1989; 107: 523-527
72. Good C.B. and Coax W.A. Cryptococcal Infections in Patients with AIDS [letter]. 1990; 322(10): 701-702
73. Denning D.W.; Armstrong R.W.; Fishman M. et al. Endophthalmitis in a Patient with Disseminated Cryptococcosis and AIDS who was Treated with Itraconazole. ***Rev Infect Dis***, 1991; 13: 1126-1130
74. Verma S. and Graham E.M. *Cryptococcus* Presenting as Cloudy Choroiditis in an AIDS Patient. ***Br J Ophthalmol***, 1995; 79(6): 618-619
75. Rajagopalan S.; Fong D.S. and Boyapalli R. Diagnosis: Choroidal Lesions of Disseminated Cryptococcosis [letter]. ***Clin Infect Dis***, 1997; 24: 1239
76. Larsen R.A.; Bozzette S.; McCutchan J.A. et al. Persistent *Cryptococcus neoformans* Infection of The Prostate after Successful Treatment of Meningitis. ***Ann Intern Med***, 1989; 111(2): 125-128

77. Milchgrub S.; Visconti E. and Avellini J. Granulomatous Prostatitis Induced by Capsule-Deficient Cryptococcal Infection. *J Urol*, 1990; 143: 365-366
78. King C.; Finley R. and Chapman S.W. Prostatic Cryptococcal Infection [letter]. *Ann Intern Med*, 1990; 113(9): 720
79. Bailly M.P.; Boibieux A.; Biron F. et al. Persistence of *Cryptococcus neoformans* in the Prostate: Failure of Fluconazole Despite High Doses. [letter] *J Infect Dis*, 1991; 164: 435-436
80. Adams J.R.; Mata J.A.; Culkin D.J. et al. Acquired Immunodeficiency Syndrome Manifesting as Prostate Nodule Secondary to Cryptococcal infection. *Urology*, 1992; 39(3): 289-291
81. Mamo G.J.; Rivero M.A. and Jacobs S.C. Cryptococcal Prostatic Abscess Associated with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *J Urol*, 1992; 148: 889-890
82. Brivet F.; Livartowski; Herve Ph; et al. Pericardial Cryptococcal Disease in Acquired Immuno Deficiency Syndrome [letter]. *Am J Med*, 1987; 82: 1273
83. Lynch D.P. and Naftolin I.Z. Oral *Cryptococcus neoformans* Infection in AIDS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1987; 64(4): 449-453
84. Glick et al. Oral Manifestations of Disseminated *Cryptococcus neoformans* in a Patient with AIDS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1987; 64(4): 454-459

85. Lafont A.; Wolff M.; Marche C.; et al. Overwhelming Myocarditis Due to *Cryptococcus neoformans* in an AIDS Patient [letter]. *Lancet*, 1987; 2(8568): 1145-1146
86. Torres R.A. Cryptococcal Mediastinitis Mimicking Lymphoma in the Acquired Immuno Deficiency Syndrome [letter]. *Am J Med*, 1987; 83: 1004-1005
87. Ferreiro J. and Vinters H.V. Pathology of the Pituitary Gland in Patients with the AIDS. *Pathology*, 1988; 20(3): 211-215
88. Scalfano F.P.; Prichard J.G.; Lawki N.; et al. Abdominal Cryptococcoma in AIDS. 1988;
89. Falk S., Muller H.; and Stutte A.J. The Spleen in AIDS. *Pathol Res Pract*, 1988; 183(4): 425-433
90. Van Calck M.; Motte S.; Rickaert F.; et al. Cryptococcal Anal Ulceration in a Patient with AIDS. *Am J Gastroenterol*, 1988; 83(11): 1306-1308
91. Kida M.; Abramowsky C.R. and Santoscoy C. Cryptococcosis of the Placenta in a Woman with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Hum Pathol*, 1989; 20(9): 920-921
92. Bonacini M.; Nussbaun J.; Ahluwalia C.; et al. Gastrointestinal, Hepatic, and Pancreatic Involvement with *Cryptococcus neoformans* in AIDS. *J Clin Gastroenterol*, 1990; 12(3): 295-297
93. Daly J.S.; Porter K.A.; Chong F.K.; et al. Disseminated, Nonmeningeal Gastrointestinal Cryptococcal Infection in an HIV-Negative Patient. *Am J Gastroenterol*, 1990; 85(10): 1421-1424

94. Browning D.G., et al. Cryptococcosis of the Larynx in a Patient with AIDS: An Unusual Case of Fungal Laryngitis. **South Med J**, 1992; 85(7): 762-764
95. Chen Ch-K.; Chang D-Y.; Chang Sh-Ch.; et al. Cryptococcal Infection of the Vagina. **Obstet Gynecol**, 1993; 81(5): 867-869
96. Triviño A.; De los Heros C.; Claros I. et al. Cryptococcal Lymphadenitis: Fine Needle Aspiration in Acquired Immunodeficiency Syndrome [letter]. **Acta Cytol**, 1995; 39(4): 840-841
97. Tomasini C.; Caliendo V.; Puiatti P.; et al. Granulomatous-Ulcerative Vulvar Cryptococcosis in a Patient with Advanced HIV Disease. **J Am Acad Dermatol**, 1997; 37: 116-117
98. Staib F. Cryptococcosis in AIDS-Mycolgical-Diagnostic and Epidemiological Observations. **AIDS-Forschung (AIFO)**, 1987; 2: 363-465
99. Gray L.D. and Roberts D. Experience with the Use of Pronase to Eliminate Interference Factors in the Latex Agglutination Test for Cryptococcal Antigen. **J Clin Microbiol**, 1988; 26(11): 2450-2451
100. Yao J.D.C.; Arkin C.F.; Doweiko J.P.; et al. Disseminated Cryptococcosis Diagnosed on Peripheral Blood Smear in a Patient with Acquired Immunodeficiency Syndrome. **Am J Med**, 1990; 89: 100-102
101. Denning D.W. et al. Comparison of *Guizotia abyssinica* Seed Extract (Birseed) Agar with Conventional Media for Selective Identification of *Cryptococcus neoformans* in Patients with Acquired

- Immunodeficiency Syndrome. *J Clin Microbiol*, 1990; 28(11): 2565-2567
102. Heelan J.S.; Corpus L. and Kessiman N. False-Positive Reactions in the Latex Agglutination Test for *Cryptococcus neoformans* Antigen. *J Clin Microbiol*, 1991; 29(6): 1260-1261
103. Hamilton J.R.; Noble A.; Denning D.W.; et al. Performance of *Cryptococcus* Antigen Latex Agglutination Kits on Serum and Cerebrospinal Fluid Specimens of AIDS Patients Before and After Pronase Treatment. *J Clin Microbiol*, 1991; 29(2): 333-339
104. Hamilton A.J.; Bartholomew M.A.; Figueroa J.; et al. Production of Species-Specific Murine Monoclonal Antibodies against *Cryptococcus neoformans* which Recognize a Noncapsular Exoantigen. *J Clin Microbiol*, 1991; 29(5): 980-984
105. Gade W.; Hinnefeld S.W.; Babcock L.S.; et al. Comparison of the PREMIER Cryptococcal Antigen Enzyme Immunoassay and the Latex Agglutination Assay for Detection of Cryptococcal Antigens. *J Clin Microbiol*, 1991; 29: 1616-1619
106. Sande M.A., Volberding P.A. *Meningitis Criptocócica en Pacientes con SIDA* in: Manejo Médico del SIDA. 2ª Ed. Interamericana. McGraw-Hill. Eds., México 1992; p. 272-285
107. Temsted A.; Roux P.; Poirot J-L.; et al. Evaluation of a Monoclonal Antibody Based Latex Agglutination Test for Diagnosis of Cryptococcosis: Comparison with Two Tests Using Polyclonal Antibodies. *J Clin Microbiol*, 1992; 30(10): 2544-2550

108. Polacheck I.; Lebens G. and Hicks J.B. Development of DNA Probes for Early Diagnosis and Epidemiological Study of Cryptococcosis in AIDS Patients. *J Clin Microbiol*, 1992; 30(4): 925-930
109. Varma A. and Kwon-Chung K.J. DNA Probe for Strain Typing of *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol*, 1992; 30(11): 2960-2967
110. Frank U.K.; Nishimura S.L.; Li N.C.; et al. Evaluation of an Enzyme Immunoassay for Detection of Cryptococcal Capsular Polysaccharide Antigen in Serum and Cerebrospinal Fluid. *J Clin Microbiol*, 1993; 31(1): 97-101
111. Huffnagle K.E., and Gander R.M. Evaluation of Gen-Probe's *Histoplasma capsulatum* and *Cryptococcus neoformans* AccuProbes. *J Clin Microbiol*, 1993; 31(2): 419-421
112. Stockman L.; Clark K.A.; Hunt J.M. et al. Evaluation of Commercially Available Acridinium Ester-Labeled Chemiluminescent DNA Probes for Culture Identification of *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, and *Histoplasma capsulatum*. *J Clin Microbiol*, 1993; 31(4): 845-850
113. Bonifaz A. y González I.M. Diagnóstico Clínico Integral de la Criptococosis Meningea Mediante Pruebas Inmunológicas y Micológicas.
114. Dromer F.; Gueho E.; Ronin O.; et al. Serotyping of *Cryptococcus neoformans* by Using a Monoclonal Antibody Specific for Capsular Polysaccharide. *J Clin Microbiol*, 1993; 31(2): 359-363

115. Whittier S.; Hopfer R.L. and Gilligan P. Elimination of False Positive Serum Reactivity in Latex Agglutination Test for Cryptococcal Antigen in Human Immunodeficiency Virus-Infected Population. *J Clin Microbiol*, 1994; 32(9): 2158-2161
116. Varma A.; Swinne D.; Staib F.; et al. Diversity of DNA Fingerprints in *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol*, 1995; 33(7): 1807-1814
117. Sugar A.M.; Stern J.S. and Dupont B. Overview: Treatment of Cryptococcal Meningitis. *Rev Infect Dis*, 1990; 12(suppl 3): S338-348
118. Robinson P.A.; Knirsch A.K. and Joseph J.A. Fluconazole for Life-Threatening Fungal Infections in Patients who Cannot be Treated with Conventional Antifungal Agents. *Rev Infect Dis*, 1990; 12(suppl 3): S349-363
119. Galgiani S.N. Fluconazole a New Antifungal Agent. *Ann Intern Med*, 1990; 113(3): 177-179
120. Larsen R.A.; Leal M. and Chan L.S. Fluconazole Compared Amphotericin B plus Flucytosine for Cryptococcal Meningitis in AIDS. A Randomized Trial. *Ann Intern Med*, 1990; 113(3): 183-187
121. Denning D.W.; Tucker R.M.; Hanson L.H.; et al. Itraconazole in Opportunistic Mycoses: Cryptococcosis and Aspergillosis. *J Am Acad Dermatol*, 1990; 23: 602-607
122. Bozzette S.A.; Larsen R.A.; Chiu J.; et al. A Placebo-Controlled Trial of Maintenance Therapy with Fluconazole After Treatment of Cryptococcosis Meningitis in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *N Engl J Med*, 1991; 324: 580-584

123. Schürman D.; De Matos M.B.; Grünewald T.; et al. Safety and Efficacy of Liposomal Amphotericin B in Treating AIDS-Associated Disseminated Cryptococcosis [letter]. *J Infect Dis*, 1991; 164: 620-622
124. Powderly W.G., Saag M.S.; Cloud G.A.; et al. A Controlled Trial of Fluconazole or Amphotericin B to Prevent Relapse of Cryptococcal Meningitis in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *N Engl J Med*, 1992; 326(12): 793-798
125. Coker R. and Horner P.J. Short-Course Treatment and Response to Liposomal Amphotericin B in AIDS-Associated Cryptococcosis [letter]. *J Infect Dis*, 1992; 165: 593-594
126. Powderly W.G. Therapy for Cryptococcal Meningitis in Patients with AIDS. *Clin Infect Dis*, 1992; 14(suppl 1): S54-59
127. Graybill J.R. Future Directions of Antifungal Chemotherapy. *Clin Infect Dis*, 1992; 14(suppl 1): S170-181
128. Larsen R.A.; Bozzette S.A.; Jones B.E.; et al. Fluconazole Combined with Flucytosine for Treatment of Cryptococcal Meningitis in Patients with AIDS. *Clin Infect Dis*, 1994; 19: 741-745
129. Nightingale S.D. Initial Therapy for Acquired Immunodeficiency Syndrome-Associated Cryptococcosis with Fluconazole. *Arch Intern Med*, 1995; 155: 538-540
130. Pinner R.W.; Hajjeh R.A. and Powderly W.G. Prospects for Preventing Cryptococcosis in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis*, 1995; 21(suppl1): S103-107

131. Quagliarello V.J.; Viscoli C. and Horwitz R.I. Primary Prevention of Cryptococcal Meningitis by Fluconazole in HIV-Infected Patients. *Lancet*, 1995; 345: 548-552
132. De Lalla F.; Pellizzer G.; Vaglia A.; et al. Amphotericin B as Primary Therapy for Cryptococcosis in Patients with AIDS: Reliability of Relatively High Doses Administered over a Relatively Short Period. *Clin Infect Dis*, 1995; 20: 263-266
133. Powderly W.G.; Finkelstein D.M.; Feinberg J.; et al. A Randomized Trial Comparing Fluconazole with Clotrimazole Troches for the Prevention of Fungal Infections in Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med*, 1995; 332: 700-705
134. Guillaume M-P.; De Prez C. and Cogan E. Subacute Mitochondrial Liver Disease in a Patient with AIDS: Possible Relationship to Prolonged Fluconazole Administration. *Am J Gastroenterol*, 1996; 91(1): 165-168
135. Manfredi R.; Mastroianni A.; Coronado O.V.; et al. Fluconazole as Prophylaxis Against Fungal Infection in Patients with Advanced HIV Infection. *Arch Intern Med*, 1997; 157: 64-69
136. USPHS/IDSA Prevention of Opportunistic Infections Working Group. Preface to the 1997 USPHS/IDSA Guidelines for the Prevention of Opportunistic Infections in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis*, 1997; 25 suppl 3: S299-312
137. USPHS/IDSA Prevention of Opportunistic Infections Working Group. 1997 USPHS/IDSA Guidelines for the Prevention of Opportunistic Infections in Persons Infected with Human

Immunodeficiency Virus: Disease-Specific Recommendations. *Clin Infect Dis*, 1997; 25 suppl 3: S313-335