



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
ESPECIALIZACIÓN EN INFECTOLOGÍA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”**

**“Criptococosis en población VIH y No-VIH  
atendidos en el INCMNSZ  
Experiencia de un centro de tercer nivel en 25  
años”**

**TESISTA DE POSGRADO  
PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA  
PRESENTA**

**DRA VIDA VERÓNICA RUIZ HERRERA**

México, D.F. 2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**DIRECTOR DE ENSEÑANZA**  
DR SERGIO PONCE DE LEÓN ROSALES  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR  
ZUBIRÁN”

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE INFECOLOGÍA**  
DR. GUIMERMO MIGUEL RUIZ PALACIOS Y SANTOS  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR  
ZUBIRÁN”

**TUTOR DE TESIS**  
DRA. BRENDA ELOÍSA CRABTREE RAMÍREZ  
MEDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE INFECOLOGÍA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR  
ZUBIRÁN”

**TESISTA DE POSGRADO**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA**  
**PRESENTA**  
DRA VIDA VERÓNICA RUIZ HERRERA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR  
ZUBIRÁN”

**Criptococosis en población VIH y No-VIH atendidos en el INCMNSZ**  
**Experiencia de un centro de tercer nivel en 25 años**

## **Agradecimientos**

- A mi asesora y amiga Brenda Crabtree, por su infinita paciencia y compromiso, un gran ejemplo a seguir.
- Al Dr Juan Sierra, por su asertividad y confianza.
- Al Dr. Pedro Torres por su apoyo incondicional.
- Al todo el personal de laboratorio de microbiología, de quienes aprendemos día a día.
- A Yanin Caro quien con su apoyo y determinación, hizo posible este proyecto.
- Por último y no menos importante, mi familia, a la cual le debo esto, y siempre estaré agradecida.

# ÍNDICE

- I Marco teórico
  - Introducción
  - Epidemiología
  - Microbiología
  - Desenlaces
  
- II. Planteamiento del problema
  
- III Objetivos
  - Primario
  - Secundario
  
- IV Métodos
  - Diseño del estudio
  - Estrategia de búsqueda de casos
  - Criterios de inclusión
  - Criterios de exclusión
  - Universo
  - Variables y definiciones operacionales
  - Análisis estadístico
  
- V Resultados
  
- VI Discusión
  - Hallazgos principales
  - Literatura: diferencias y similitudes con tus hallazgos
  - Fortalezas y Limitaciones del estudio
  - Resumen
  
- VII Conclusiones
  
- VIII Tablas y figuras
  - Tabla.1.- Características clínicas y demográficas
  - Tabla 2.- Características del líquido cefalorraquídeo
  - Tabla 3.- Factores de riesgo a mortalidad general
  - Tabla 4.- Factores de riesgo a mortalidad atribuida a criptococosis
  - Tabla 5.- Factores de riesgo a mortalidad atribuida a criptococosis meníngea
  - Figura 1.- Frecuencia anual de Criptococosis por grupo de riesgo
  - Figura 2.- Curva de sobrevida (K-M) mortalidad en general
  - Figura 3.- Curva de sobrevida (K-M) mortalidad atribuida a criptococosis
  - Figura 4.- Curva de sobrevida (K-M) mortalidad atribuida a criptococosis meníngea
  
- IX Bibliografía

# **Criptococosis en población VIH y No-VIH atendidos en el INCMNSZ**

## **Experiencia de un centro de tercer nivel en 25 años**

### **I. MARCO TEÓRICO**

#### **1.- Introducción**

La Criptococosis es considerada una micosis invasiva global, responsable de una alta morbi-mortalidad, afectando predominantemente a pacientes con inmunidad celular deficiente. El Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el principal factor de riesgo, representa el 95% de los casos en países de medianos y bajos recursos, y el 80% de los casos en países desarrollados [1].

#### **2.- Epidemiología**

La principal causa de Meningitis en el adulto en países en vías de desarrollo, es la Criptocócica, con más de 1 millón de casos, constituyendo una de las infecciones oportunistas más frecuentes en pacientes con infección por VIH (cabe mencionar que dicha población ha ido incrementado de manera exponencial en los últimos años), si bien el aumento al acceso de terapia antirretroviral ha resultado en una reducción sustancial de la incidencia de la Criptococosis meníngea en países desarrollados, sigue siendo una de las principales causas de mortalidad relacionada con el VIH donde el acceso a terapia antirretroviral es insuficiente y/o se ha iniciado en una etapa avanzada de la misma, además del retraso en la diagnóstico de la meningitis y el pobre acceso a los medicamentos antimicóticos, contribuyen a que la mortalidad relacionada con SIDA, en 90 días de hasta 600.000 muertes por año, y variable según la región desde 9% en América del Norte y Europa, comparada hasta 55% en Asia y Sudamérica, hasta un 70% en África subsahariana. [1,2]

Otras formas de presentación menos frecuentes no meníngeas son la Pulmonar, cutánea o Fungemia. [1-2]

Afecta particularmente a pacientes con inmunocompromiso, sin embargo en algunas ocasiones puede afectar pacientes inmunocompetentes. Se han establecido lineamientos según la Sociedad Americana de Infectología, acerca del tratamiento entre estos 3 grupos de riesgo: pacientes con infección por VIH (virus de inmunodeficiencia humana), pacientes trasplantados, y un tercer grupo heterogéneo constituido por pacientes no-VIH, no trasplantados [3,4]. Estos pacientes presentan algún grado de inmunosupresor. En la era previa al VIH en el Reino Unido, la incidencia de Criptocosis por cada 1.000 personas aumentó de 1,4 en 1963-1968 a 7,4 en 1973 a 1978, fue atribuido al aumento en el uso de inmunosupresores, incluyendo esteroides, agentes citotóxicos, y anticuerpos monoclonales.

El tratamiento antifúngico para la meningitis criptocócica se basa en tres fármacos antifúngicos: anfotericina B desoxicolato, flucitosina y fluconazol.

Las directrices actuales, ampliamente aceptados para el manejo de meningoencefalitis criptocócica (CM) según la Sociedad Americana de Enfermedades infecciosas recomiendan la anfotericina B combinada con flucitosina (5-FC) por 2 semanas como tratamiento de primera línea, de inducción [3]. Sin embargo, el acceso a la flucitosina en África, Asia y gran parte de América Latina, como lo es el caso de México, impactando en gran parte en morbi-mortalidad. La investigación sobre la identificación de combinaciones de antifúngicos sin flucitosina, que sean eficaces y bien tolerados continúa, y cada vez existen mayores pruebas in vitro, in vivo y clínicas comparando con otros Antifúngicos como dosis altas de fluconazol. [7]

Por lo tanto tratamiento en México representa un reto, debido a falta de disponibilidad y/o acceso a fármacos de primera línea como lo es flucitosina.

### **3.- Microbiología**

El género *Cryptococcus* está conformado por levaduras pertenecientes al grupo de los basidiomicetos. Se han caracterizado 19 especies del género *Cryptococcus*, sin embargo los principales patógenos humanos: *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*. *C. neoformans* fue identificado por San Felice en

1894, se pueden dividir en dos subtipos sobre la base capsular de aglutinación, *C. neoformans var.grubii* (serotipo capsular D) es el más común, y causa 82% de la criptococosis en todo el mundo. *Var. neoformans* (serotipo capsular A) es responsable del 20% -30% de CM asociada al VIH en el norte de Europa (especialmente Francia, Italia y Dinamarca), pero es menos común en otras regiones. Aunque ambos subtipos predominantemente causa enfermedad en personas inmunodeprimidas, varios informes de la EE.UU y Asia sugieren que la variante *var. criptococosis grubii* en pacientes con sistemas inmunes normales es más común de lo que se suponía anteriormente. El reservorio ambiental de ambos subtipos es el guano de aves, materia orgánica en descomposición.

*C. gattii* es tradicionalmente asociado con la enfermedad en personas inmunocompetentes de las regiones tropicales y subtropicales, recientemente, cuatro subtipos moleculares de *C. gattii* se han identificado con características epidemiológicas distintas que desafían esta perspectiva. *C. gattii* es ahora endémico en zonas de Norteamérica. Además, *C. gattii* subtipos VGIII y -IV tienen más probabilidades de encontrarse en el VIH infectadas que los pacientes inmunocompetentes. Estas cepas pueden ser responsables de un 2,4% -30% de la criptococosis asociada al VIH en algunas partes de América Central y del Sur y el sur de África. La carga de la enfermedad humana debida a *C. gattii* es probablemente subestimada, ya que muchos laboratorios no realiza la especiación detallada de criptococo. [15]

Los reservorios ambientales de *C. gattii* se conocen por completo. En Australia, la India y otros países asiáticos, se ha aislado en árboles de eucalipto. En Columbia Británica, se ha aislado de especies de árboles no Eucaliptus, suelo, aire, agua dulce, y agua salada, descubrimiento de este organismo en zonas biogeoclimáticas heterogéneas sugiere que su nicho ecológico fue previamente subestimado o que su distribución se expandió, como una posible explicación para una distribución cambiante en el tiempo, incluyen el cambio climático o las prácticas de uso del suelo alterado, como la tala. [1]

## **Desenlaces**

La mortalidad en infecciones severas por *Criptococo* sigue siendo alta en todos los grupos de pacientes con infección por VIH, post trasplantados y no VIH no trasplantados. [4] No se ha definido claramente las diferencias clínicas, diagnósticas, microbiológicas entre ambos grupos y si es que existe alguna diferencia que impacte en mortalidad, enfocados en países en vías de desarrollo. [10]

## **II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Existe pocos datos en nuestra región donde se describan las características clínicas, diagnóstico y tratamiento óptimo en estos dos grupos de pacientes, los cuales difieren en múltiples características, por lo cual es importante determinar estas características y de esta manera al conocer las similitudes o diferencias con el resto de la población, poder tener un impacto en cualquier punto en el curso de la enfermedad, desde el conocimiento diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la enfermedad.

## **III. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO PRIMARIO**

- Describir Mortalidad atribuida y no atribuida por infección por *Criptococo* en personas con VIH positivas y No-VIH en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”

### **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Describir las presentación clínica, el diagnóstico y el tratamiento entre ambos grupos
- Evaluar factores asociados a: Falla al tratamiento, recurrencia y muerte (de manera individual y/o en forma compuesta)

## **IV. METODOS**

### **1° Diseño de estudio**

Observacional, descriptivo y retrospectivo.

### **2° Estrategia de búsqueda de casos**

Estudio unicéntrico, realizado en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ), Hospital de alta especialidad (tercer nivel de salud) en la Ciudad de México, el cual es centro de referencia en el país.

Para la obtención de datos y reclutamiento de casos se enlisto por los siguientes métodos a pacientes adultos con registro definitivo del INCMNSZ los cuales contaran con lo siguiente:

- Pacientes con cultivo(s) positivo(s) para el género *Criptococo*, sin importar la especie, tomado de cualquier sitio anatómico, realizado por medio de la base de electrónica del laboratorio de Microbiología del INCMNSZ, la cual está vigente desde 2001
- Búsqueda de casos con el diagnóstico de *Criptococosis* según el sistema de Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE) en el archivo del Instituto Nacional de Ciencia Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ), por medio de base de datos electrónica del Archivo clínico del hospital.
- Por último se obtuvieron datos utilizando la plataforma de datos electrónica, de la Clínica de Inmuno-Infectología (VIH), la cual se encuentra en funcionamiento desde el 2002 con registro de cada una de las visitas del paciente con VIH donde se obtuvieron datos completos sobre antecedentes, exámenes de laboratorio, así como su estado virológico e inmunológico al evento de *Criptococosis* y actual.

- Se cotejaron las 3 listas para obtener los pacientes elegibles, de los cuales se estudiaron las diversas variables, por medio de la revisión del expediente clínico, tanto por medio físico como electrónico. Se incluyendo pacientes durante el periodo de Enero del 1990 a Junio de 2015.

### **3° Criterios de inclusión**

Pacientes adultos mayores de 18 años con registro en el INCMNSZ y que presentaran diagnóstico de Criptococosis con cultivo positivo

### **4° Criterios de exclusión**

Pacientes en los que no se localizó el expediente físico para información suficiente.

### **5° Universo**

Se seleccionó a 163 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se revisó el expediente clínico de donde se obtuvieron diversas variables. Se recabo información demográfica, antecedentes médicos, información clínica en cuanto al diagnóstico y tratamiento recibido para la infección por Criptococo, las manifestaciones clínicas al momento de la infección y sitio de afectación, además de resultados de estudios paraclínicos y de gabinete. En la mayoría de lo pacientes se logró identificar la especie del Criptococo, se documentó el sitio anatómico de donde se obtuvo la muestra, tratamiento recibido y desenlace. En pacientes con estudio de radiología e imagen, la descripción radiológica fue tomada de la interpretación oficial que emitió el servicio de Radiología del INCMNSZ.

### **6° Variables y definiciones operacionales**

- Caso de Criptococosis confirmado: enfermo cuyo diagnóstico de Criptococo ha sido comprobado por cultivo, aislado de sitio estéril.

- Cultivo positivo: Demostración de colonias en medio de cultivo sólido y posteriormente identificación del microorganismo por método bioquímico, y/o automatizado (VITEK).
- Enfermedad Severa: Involucro al SNC, Antígeno sérico por arriba del título >1: 512 ó demostración de criptococo en sangre (Fungemia).
- Enfermedad no Severa: Pulmonar, o la afección de un solo sitio estéril.
- Enfermedad Diseminada: Formas Meníngeas, Fungemia o aislamiento del criptococo en más de dos sitios estériles.
- Síndrome de Inflamación por Reconstitución Inmune (SIRI): Es el empeoramiento clínico paradójico que experimentan algunos pacientes tras iniciar el tratamiento antirretroviral.

## 7° Análisis estadístico

Los datos de las variables fueron capturados en el programa Access-Excel 2007® (Microsoft corporation) y se realizó el análisis estadístico con el software STATA® versión 0.98.507-2009 ©-20013 R Studio, Inc.

Se calcularon medias, desviaciones estándar, medianas y rangos intercuartílicos de las variables cuantitativas y proporciones para las variables cualitativas, para describir las características de presentación clínica al diagnóstico y tratamiento de criptococosis en los grupos de pacientes VIH-positivas y no-VIH positivas; y se compararon usando pruebas T, chi-cuadrado o de Fisher de acuerdo al tipo de variable. Se calcularon proporciones de muerte en los grupos, diferenciando por causa de muerte atribuida o no a criptococo, combinada u otra causa, en la población general y en la población con criptococosis meníngea. Se realizaron curvas de sobrevivencia para describir tiempo a muerte entre los grupos de pacientes y se compararon las curvas usando pruebas de log-rank.

## V. RESULTADOS

### CARACTERÍSTICAS SOCIO-DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN Y ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

El total de la población lo conforman 163 sujetos, 73 (44.78%) de ellos con infección por VIH, y 90 (55.21%) sin infección por VIH, la mayoría de los pacientes en el grupo con VIH son varones en el 86.30%, y en el grupo sin VIH solo el 46.66%, siendo mayor el género femenino (53.33%), la mediana de edad al momento de la infección fue menor en pacientes con VIH de 34 años, comparada con población no VIH donde la edad de presentación fue mayor siendo la mediana de 42 años.

El 43.55% de los pacientes radica en el Distrito Federal, el resto de los pacientes vive en orden de frecuencia en: Estado de México (22.69 %), seguido de Hidalgo (3%) luego Guerrero y Michoacán ambos (2.4%).

El número de casos por año fue muy variable desde 1990 hasta 2015, con 2.6 en promedio por año para población VIH y 3.4 por año para población no VIH.

El 91.11% del grupo de pacientes sin VIH tenía alguna comorbilidad, las cuales incluyeron Enfermedad reumatológica (LEG; AR, PGM, etc), Enfermedad Hepática, Diabetes, uso de esteroides o inmunomodulador. (Cuadro 1).

Se ha definido un tercer grupo enfocado en pacientes trasplantados, en este estudio, fueron 9 pacientes todos por Enfermedad renal crónica terminal, (ERCT), en tratamiento inmunosupresor, incluidos en el grupo de No VIH, sin embargo constituyen un grupo selecto, que pudiera estudiarse a fondo. [18]

Fueron 57 pacientes con uso de esteroide en total, de los cuales solo 7 pacientes con VIH. 15 pacientes recibieron bolos de metilprednisolona, siendo 3 la mediana de bolos (RIC 3-4). En población no VIH, el consumo de esteroide corresponde al 50 pacientes (55.55%), de los cuales 36 pacientes consumió más de 15 mg/dl (dosis considerada que presenta impacto negativo en la inmunidad), dosis diaria promedio 6 meses previos al diagnóstico de 20 mg/día (RIC 10-60).

Se determinó el uso de ciclofosfamida en el 15 pacientes (16.66%), la mediana de número de bolos administrados fue 4 (RIC 2-10) y a todos les fue administrado tanto tratamiento combinado, tanto ciclofosfamida y Metilprednisolona en forma de bolos, en población no VIH.

## **PRESENTACIÓN CLÍNICA**

En el grupo con VIH 62 (84%) pacientes se presentaron con formas meníngeas, de los cuales 10 tuvieron antígeno por arriba de 1:512 en LCR. LA presentación Pulmonar ocurrió en solo 4 (5.47%) pacientes, y por último la presentación No meníngea-No pulmonar se presentó en 7 pacientes siendo en el (100%) formas diseminadas, debido al aislamiento de 1 paciente con criptococo en dos sitios estériles, y los 6 pacientes restantes presentaron Fungemia.

En el población sin infección por VIH, fueron menos frecuentes las formas meníngeas, con 37 (41.11%) casos, y la forma No meníngea-No pulmonar la constituyen 37 casos (41.11%), seguida de la criptocosis pulmonar con 16 (43.24%) casos.

Criterios para enfermedad severa, se presentaron en 68 (93.16%) casos de pacientes con VIH y solo en 53 (58,88%) pacientes del grupo sin VIH. (Tabla 1).

En 44 (26.99%) casos de 163 no se identificó la especie, la mayoría de estas muestras corresponden a fechas previas al año 2000, en el resto de la población 119 (73%) se identificó la especie, correspondiendo de estos 91 (55.82%) casos atribuidas a *C. neoformans*, y 28 (17.17%) aislamientos con especies No *neoformans*, entre ambos grupos.

Los casos de Criptocosis meníngeas en pacientes con VIH, en su mayoría se atribuyó a *C. neoformans* en 34 (54.83%) casos, 27 de ellos no se identificó y solo 1 paciente con *C. albidus*, y en el grupo no VIH, las formas meníngeas fueron secundarias en 28 casos (75.67%) por *C. neoformans* solo 2 casos con especies No *neoformans* (1 caso por *C. uniguttulatus* y otro por *C. albidus*) en las formas extra

meníngeas, sobretodo pulmonar también predomino las especies de *C. neoformans*, tanto pacientes VIH como No VIH.

En cuanto a la presentación clínica, la mediana en duración de síntomas en tiempo fue de 18 días (7.75-30 RIC) en pacientes con VIH, y en grupo no VIH de 7 días (3-30 RIC). La presencia de fiebre se documentó en el 60.73 % de todos los casos y en las formas pulmonares el síntoma predominante fue tos y disnea todos los casos. En los casos de involucro meníngeo, los síntomas neurológicos más prevalentes se encontraron en el grupo con VIH fue la cefalea 61(83.56%) casos, alteración del estado mental 23 (31.50) pacientes seguido de signos meníngeos y focalización en 16 pacientes cada uno (21.9%) y crisis convulsivas solo en 13 pacientes (17.8%). En el grupo de pacientes sin infección por VIH, predomino la cefalea en 32 de 37 casos (86.48%) luego de nauseas y vómito en 29 pac (78.37%), las alteraciones mentales se presentaron en 21 pacientes (28.76%), con signos meníngeos y Crisis convulsivas en menor frecuencia, (16 y 24%) respectivamente.

Los hallazgos del LCR, fueron los siguientes: En el grupo con VIH se realizó punción lumbar en 62 casos, la Presión se midió solo en 21 (33.87%) pacientes siendo mediana de 24 cm de agua, (RIC 17-32), se requirieron alrededor de 1 punción lumbar terapéutica (RIC 1-3), se realizó prueba de tinta china en 50 de los 62 resultando positiva en 43 casos (86%), se realizó detección de Antígeno capsular en LCR para Criptococo, en 45 casos resultando positivo en 40 de los mismos, solo con 10 pacientes con dilución por arriba de 1:512, se realizó Citoquímico y cuenta celular en 40 pacientes, con mediana leucocitos de 7 (RIC2-47), hiperproteorraquia en 25 pac con mediana de proteínas de 89 mg/dL (RIC 69-150) e Hipoglucorraquia en 35 pacientes con medianas de 35 mg/dL (RIC 20-41), (Tabla 2).

En el grupo sin infección por VIH se encontró de las 37 formas meníngeas la realización de tinta china en 32 muestras resultando positivas 18, se realizó detección de Antígeno capsular en LCR para Criptococo, en 28/37 casos resultando positivo en 24 muestras, con detección de títulos por arriba de 1:512 en 4 pacientes. La presión de apertura se midió en solo 13 pacientes con mediana de 17 (RIC 15-

22), solo 3 pacientes con niveles por arriba de 25 cm de agua, se realizaron en promedio 2 punciones terapéuticas (RIC 1-3) en este grupo de pacientes.

Se realizó medición de Antígeno sérico para criptococo en 10 pacientes con infección por VIH resultando 9 positivos todos eran formas meníngeas, solo 2 de ellos con títulos por arriba de 1:512, y en el grupo de pacientes no VIH se midió en 14 pacientes resultando 7 positivos solo 2 de ellos con valores por arriba de dilución 1:512. En casos extra meníngeos se realizó antígeno sérico en 6 pacientes no VIH siendo positivo en 3 de estos, y solo 2 con títulos por arriba de 1:512. Y en el grupo con VIH, se realizó en 2 pacientes con formas extra meníngeas resultando negativo.

En cuanto a la resolución microbiológica, solo 21 casos (33.87%) resultaron negativos en el aislamiento a las 2 semanas de tratamiento en la muestra obtenida por punción lumbar con mejoría de todos los parámetros clínicos, en pacientes con VIH y en pacientes no VIH 25 pacientes de 37 presentaron cultivo negativo en la punción lumbar de control (67.56%) (Tabla 2).

## **TRATAMIENTO**

En el grupo de pacientes con VIH, el 90% (66/73) de los casos recibió algún tratamiento antifúngico, De estos recibieron tratamiento completo de inducción con Anfotericina solo 30 pacientes (45.45%), con tratamiento combinado Anfotericina mas fluconazol en 28 pacientes (42.42%), solo en 2 (3%) se dio inducción con fluconazol siendo en su totalidad formas pulmonares.

Seis pacientes (9%) iniciaron inducción con Anfotericina únicamente, sin embargo, se agregó tratamiento con azoles debido a evolución microbiológica y clínica desfavorable (2 voriconazol y el resto fluconazol).

En cuanto al tratamiento en población no VIH, de todas las formas de Criptococosis recibieron tratamiento 60 (66.66%) casos, siendo 33 formas meníngeas, 15 casos pulmonares, 5 fungemias, y el resto formas no meníngeas no pulmonares. El tratamiento fue con Anfotericina únicamente en 33 pacientes, inducción con fluconazol en 10 pacientes y tratamiento combinado Anfotericina mas

un azol (Fluconazol) en 3 pacientes, 6 de estos recibieron otro tratamiento (azol o terbinafina), en su totalidad formas no severas o cutáneas.

En población VIH, 20 (27.39%) pacientes presentaron recaída, de los cuales 8 de estos fue por mal apego al tratamiento de mantenimiento; pacientes no VIH tuvieron recaída en (4.44%).

## **MORTALIDAD Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS**

Al momento del realizar la recolección de datos se identificaron 73 pacientes vivos [28 del grupo de VIH (38.35%) y 45 del grupo no VIH (50%)], con seguimiento actual. En 29 pacientes [18 (24.65%) grupo de VIH y 11 (12.22%) del grupo no VIH], se perdieron en el seguimiento en los últimos 2 años.

Se encontraron 61 defunciones, 27 muertes en el grupo de VIH y 34 en el grupo no VIH. 23 pacientes murieron en forma temprana, es decir, en las primeras 2 semanas desde el diagnóstico de criptococosis, 8 pacientes en el grupo de VIH (todas atribuidas a complicaciones por criptococosis), y 15 en el otro grupo, donde se atribuyó la causa de muerte a criptococosis en 11 de estos pacientes (32.35%), la mayoría con formas meníngeas en el grupo de VIH con 24/27 muertes (88.88%) y en el grupo no VIH las defunciones fueron formas meníngeas en 11/34 (32.35).

La mortalidad luego de 20 semanas, ocurrió en 19/27 pacientes con VIH (70.37%), de las cuales solo 10 de estas se atribuyeron a complicaciones de la infección y el resto fueron por otras causas. En población no VIH la mortalidad luego de 20 semanas ocurrió en 19/34 (21.11%) pacientes, se los cuales fueron atribuidos a Criptococosis 13/19 (38.23%), de los cuales 5 (14.70%) fueron por complicaciones de Criptococosis únicamente, y 8 (23.52%) pacientes se atribuyó la causa de muerte a otra enfermedad, además de Criptococosis. El resto, 6 (17.64%) pacientes fallecieron por otra causa.

El grupo de pacientes con VIH, difiere en gran medida con el grupo de pacientes no VIH, desde características demográficas, como lo es en las formas de presentación y desenlace. (Tabla1)

Entre los factores de riesgo a mortalidad en general se encontró de manera significativa la edad, el haber presentado la infección previa al año 2001, y una tendencia (no estadísticamente significativo) de recibir, tratamiento subóptimo. (Tabla 3). En cuando a factores de riesgo a mortalidad atribuida a criptococosis se encontró significativo la forma de presentación severa con valor de  $p$  (0.007), de igual manera el tratamiento subóptimo con valor  $p$  (0.059). Y por último los factores de riesgo a mortalidad solo en las formas de criptococosis meníngea fueron: repetidamente la edad con un valor de  $p$  (0.03) y el tener niveles de antígeno en LCR de criptococo por arriba del título 1:512.

La curva de sobre vida, no tiene diferencia estadística para ambos grupos, en cuanto a mortalidad general con un valor de  $p$  de 0.7, sin embargo, la mortalidad en el grupo de los infectados con VIH se caracteriza por ser especialmente temprana (primeras dos semanas), pero a lo largo del tiempo igualan ambas curvas. (Figura 2). En cuanto a mortalidad atribuida a criptococosis, incluyendo pérdidas de seguimiento, tampoco existe diferencias entre los grupos con  $p$  0.90 (Figura 3). La mortalidad por Criptococosis meníngea, sin diferencias en cuanto a sobrevida como lo indica la curva de K-M (Figura 3) con  $p$  valor de 0.15.

## **VI DISCUSIÓN**

### **Hallazgos principales**

Los principales hallazgos de nuestro estudio radican, en el número de muestra, y en la alta proporción de sujetos población no VIH, es de enfatizar la

alta perdida de seguimiento, y la alta mortalidad previamente mencionada.

### **Literatura: diferencias y similitudes con tus hallazgos**

Los lineamientos según las guías de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas, en 2010 divide la Criptococosis según tres grupos de riesgo: (infección VIH, pacientes trasplantados y el resto). Sin embargo, no está definido en la literatura si el manejo debe ser distinto ni tampoco es muy claro si el descenso

clínico varía entre los grupos de riesgo. En nuestro estudio, existen diferencias claras entre la población comparada en cuanto a su presentación clínica, manejo y desenlaces.

Autores como *Emily Bratton y col*, en su publicación, en 2012, afirman que durante el primer periodo de estudio (14 años) el mayor número de casos estaba constituido por población con VIH, lo cual fue disminuyendo en el tiempo probablemente con el advenimiento del Tratamiento antirretroviral altamente activo (TARAA). Sin embargo, 42% de los pacientes VIH-positivos en esa cohorte habían recibido TARAA, lo cual hace hincapié en que a pesar de la terapia Antirretroviral, la criptococosis (sobre todo en las formas severas) sigue siendo una infección con una alta mortalidad. [4] Así lo mismo, en el presente estudio la prevalencia de criptococosis en pacientes VIH positivos fue aumentando con el tiempo y aun con un 41% de pacientes bajo TARAA la mortalidad por esta causa fue muy alta.

En los estudios publicados en América Latina, destaca un estudio retrospectivo en acerca de la Epidemiología y manifestaciones clínicas de infecciones por criptococo en Colombia, publicado por Lizarazo y col, en el cual detalla la microbiología involucrada en pacientes con VIH y criptococosis. Al igual que en el presente estudio la prevalencia de *C. Gatti* es muy baja, siendo *C. neoformans* el más frecuentemente encontrado. Donde las características biológicas y clínicas de la infección por *C. gattii*, menciona la prevalencia de *C. neoformans* en pacientes con infección por VIH, sin embargo *C. gattii* tiene predilección por pacientes inmunocompetentes, y es endémico en áreas tropicales y subtropicales. Recientemente se han descrito cepas altamente virulentas en zonas de Canadá, con una prevalencia de 3.7% entre todos los casos de Criptococosis siendo la más frecuente la meníngea en un 88% La identificación de dichas cepas virulentas puede cobrar relevancia dado que se ha asociado con peor pronóstico por una menor respuesta a tratamiento. Sin embargo su identificación requiere de infraestructura altamente especializada dado que sólo puede ser determinado con una prueba fenotípica especial (crecimiento en el medio de canavanina glicina y azul de bromotimol). [15] En este sentido nuestro estudio reporta una proporción

considerable de pacientes con mala respuesta al tratamiento (40.3% en pacientes con VIH y 32.4% en no VIH) debido a la persistencia de cultivo positivo posterior a las 2 semanas de manejo convencional, sin embargo, no contamos con esta identificación especializada y no hay información en nuestra región a cerca de la prevalencia de dichas cepas.

Así mismo la infección en personas no VIH/ no-trasplantados, pareciera compensar la reducción de la Criptococosis en pacientes infectados por VIH en años más recientes, debido al tratamiento agresivo con el gran número de inmunosupresores nuevos y más potentes, por lo que en este contexto la criptococosis, ha ido en aumento. [1]. Por otro lado, respecto a las manifestaciones clínicas, los autores señalan que la población VIH negativa, tuvo una mayor duración de los síntomas comparado con los sujetos VIH-positivos y/o receptores de trasplantes. En contraste, nuestro estudio reporta que los síntomas previos al ingreso son de mayor duración en población VIH comparada con la población, no VIH. [4, 20]

La frecuencia de SIRI en estudios previos, es de 3% en población no VIH, mientras que en población VIH positiva llega a ser hasta del 19%. Esta diferencia puede atribuirse a que la inmunosupresión o bien, el tratamiento inmunosupresor rara vez se suspende o modifica en aquellos sin infección por VIH. En cambio, en la población VIH el inicio de ARV condiciona un mejoramiento del estado inmunológico en forma mediata que favorece la incidencia de SIRI Bicanic T. y col desde 2009. [10, 13] Del mismo modo, en nuestro estudio en sujetos con involucro meníngeo, la diferencia del desarrollo de SIRI fue sustancial, siendo la población con VIH la más afectada (20.5 vs 2.2 %).

En cuanto a la mortalidad por criptococosis, esta sigue siendo muy alta en todos los grupos. [10] Existen reportes que la mortalidad en países de bajo y medianos recursos es mayor que en países desarrollados en el contexto de sujetos VIH positivos. [12] Lo anterior puede obedecer a que es una infección cuyo diagnóstico y tratamiento óptimo requiere una atención especializada y de tercer

nivel. Sin embargo infección por criptococosis en sí tiene una alta mortalidad a pesar de un diagnóstico oportuno y manejo apropiado.

Existen varias publicaciones a este respecto. En un estudio en Taiwan por Tseng H y col, describen las características de su población en el periodo de 1997 a 2010. Analizan 219 casos, 24.6% de ellos tenían infección por VIH y la población no VIH, la enfermedad hepática fue la comorbilidad más común. El factor de riesgo independiente a mortalidad a 10 semanas en este estudio, fue la enfermedad hepática subyacente y un Antígeno de Crip en LCR por arriba de 1:512 en aquellos con involucro a SNC. [16] Lo anterior obedece claramente a la clasificación de severidad en la que títulos altos séricos de Ag CRip, aislamiento en sangre y la afección a SNC son las catalogadas como formas graves y por tanto de peor pronóstico. EN este sentido, el estudio de Emily Bratton, y col, los casos de enfermedad severa, representaron el 89% de las muertes atribuibles criptococosis y el 86% de la mortalidad por todas las causas. [4] En el presente estudio los factores asociados a mortalidad fueron.

En pacientes receptores de órgano sólido, se ha asociado a una mayor mortalidad a las 12 semanas (21,2%) frente a aquellos con infección por VIH (15.9%), sin embargo, en este estudio existe una alta proporción de falta de seguimiento clínico en personas con VIH (41,1%). Lo anterior es consistente con nuestro estudio en el que la mortalidad tardía es más frecuente en sujetos no VIH (donde están incluidos 9 pacientes trasplantados) que en los VIH positivos, sin embargo esto debe interpretarse con cautela debido a una pérdida del seguimiento importante en la cohorte de sujetos VIH positivos.

### **Fortalezas y Limitaciones del estudio**

Las fortalezas del estudio radican en el tamaño de muestra en ambos grupos de estudio en una misma Institución, así como la capacidad de obtener información detallada para la conducción del presente análisis. Estudios similares han presentado cohortes con casuísticas similares o menores, que van de 100 a 200 en pacientes. [16, 17]

Así mismo el INCMNSZ cuenta con un laboratorio microbiológico de alta calidad, certificado y con infraestructura especializada que pudieran favorecer el rendimiento diagnóstico de las muestras de pacientes con sospecha de *Criptococo*. Sin embargo, aún no cuenta con la capacidad discriminación entre serotipos.

Dentro de las limitaciones se encuentra la naturaleza propia de un estudio retrospectivo y la alta prevalencia de pérdidas del seguimiento, en especial de los pacientes con VIH.

### **1- Resumen/conclusión**

En este estudio unicéntrico, la frecuencia de criptococosis no ha cambiado de manera importante en las últimas dos décadas, aunque la proporción cambió entre grupos a lo largo del tiempo. Las características clínicas entre los grupos VIH positivo y negativos son muy distintas.

La mortalidad atribuida a criptococosis continúa siendo alta, sin diferencia estadística entre grupos, por lo cual el diagnóstico oportuno y el acceso a los fármacos antifúngico más eficaces para tratamiento de la meningitis criptocócica, es necesario para mejorar la mortalidad por esta entidad. Los factores de riesgo para mortalidad general en la población con *criptococo* fueron infección por VIH, mayor edad, formas meníngeas con títulos por arriba de 1:512, las fromass severas, tratamiento subóptimo y haber sido diagnosticado previo al 2001. Se requieren estudios de a nivel regional para evaluar la epidemiología en forma global. [18]

## VIII. TABLAS Y FIGURAS

**Tabla.1.- Características clínicas y demográficas**

<b>TOTAL 163</b>	<b>POBLACIÓN VIH POSITIVA N= 73 (44.78 %)</b>	<b>POBLACIÓN VIH NEGATIVA N= 90 (55.21 %)</b>	<b>*p Valor</b>
<b>Género</b> Masculino Femenino	63 (86.30) 10 (13.69)	42 (46.66) 48 (53.33)	<b>&lt; 0.005</b>
<b>Edad (a); mediana (RIC)</b>	34 (29-42)	49 (32-63)	<b>&lt; 0.005</b>
<b>Síntomas duración (d); mediana (RIC)</b>	18 (7.75-30)	7 (3-30)	
<b>Escolaridad (a), mediana (RIC)</b>	10 (6-15)	12(10-15)	0.046
<b>Fecha de diagnóstico (a)</b> < 2001 > 2001	32 41	13 77	<b>&lt; 0.005</b>
<b>TIPO DE CRIPTOCOCOSIS</b> Meníngea Pulmonar No Meníngea, No pulmonar Fungemia >2 sitios Otros	62 (84.93) 4 (5.47) 7 (9.58) 6 1 -	37 (41.11) 16 (43.24) 37 (41.11) 13 2 22	<b>&lt; 0.005</b>  <b>&lt; 0.005</b>
<b>Enfermedad Severa</b>	68 (93.15)	53 (58.88)	<b>&lt; 0.005</b>
<b>Células CD4 al dx mediana (RIC)</b>	51 (24-71)	--	
<b>CV &gt;100 000 copias/mL al dx (n=14/73)</b>	9 (13.69)	--	
<b>Tratamiento ARV al dx</b>	30 (41.09)	--	

<b>SIRI</b>	15 (20.54%)	2 (2.22%)	
<b>Comorbilidades</b>			
<b>Reumatológicas</b>	-	30 (33.33)	
<b>DM</b>	1 (1.36)	23 (25.55)	
<b>ERCT</b>	-	25 (27.77)	
<b>Malignidades/QT</b>	3 (4.10)	21 (23.33)	
<b>Hepatopatía</b>	5 (6.84)	11 (12.22)	
<b>Trasplante*</b>	-	9 (10)	0.004
<b>Otros **</b>			
<b>Inmunosupresor</b>			
<b>Esteroides</b>	7 (9.58)	50 (55.55)	<b>&lt;0.005</b>
<b>&gt;15 mg PDN</b>	6/7	36/50	
<b>&gt;6 meses</b>	3/7	29/50	
<b>Mediana (dosis mg)</b>	20 (15-45)	20 (10-60)	
<b>Otros***</b>	-	36 (40)	
<b>Bolos</b>			
<b>Metilprednisolona</b>	-	6 (6.66)	<b>&lt;0.005</b>
<b>Ciclofosfamida + Esteroide</b>	-	9 (10)	
<b>Co-infección Tuberculosis</b>	11 (15.06)	8 (8.8)	0.32
<b>Tratamiento</b>	66/73	60/90	
<b>Inducción</b>			
<b>Anfotericina sola</b>	30	33	0.07
<b>Anfotericina + azol</b>	28	11	<b>0.00015</b>
<b>Fluconazol</b>	2	10	0.06
<b>Otros</b>	6	6	
<b>Tratamiento completo</b>	29 (43.93)	18 (30)	<b>0.008</b>
<b>Tratamiento incompleto</b>	11 (16.66)	26 (43.33)	<b>0.002</b>
<b>Mortalidad</b>	27 (36.98)	34 (37.77)	1
<b>Atribuida a Criptococosis</b>			0.09
<b>&lt;2 semanas</b>	18/27	24/34	
<b>&lt;20 semana</b>	8	11	
<b>Atribuido a otra causa</b>	10	13	
<b>Atribuido a otra causa</b>	9	10	
<b>Mortalidad Forma Meníngea</b>	24/27	11/34	

<b>Recaída</b>	20 (27.39%)	4 (4.44%)	
----------------	-------------	-----------	--

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana; (a): años; (RIC 25%-75%): rango intercuartil percentila 25, percentila 75; (d): días; CD4: Células CD4; CV: Carga viral para VIH; ARV: antiretroviral; dx: diagnóstico; SIRI: síndrome inflamatorio de reconstitución inmune; DM: Diabetes Mellitus; ERCT: Enfermedad renal crónica terminal; QT: quimioterapia; PDN: Prednisona;

\* Trasplante: Renal en su totalidad (3 Donador cadavérico, 5 Transplantados renal de donador vivo relacionado, 1 desconocido);

\*\* Otras comorbilidades: gota e inmunodeficiencias primarias e Hipotiroidismo; Mg: miligramos;

\*\*\* Otros: Incluyen azatioprina, rituximab, tacrolimus, y micofenolato de mofetil.

\*  $\chi^2$  (variables categóricas) y U-Mann Whitney (variables continuas)

**Tabla 2.- Características del líquido cefalorraquídeo**

<b>Criptococosis Meníngea</b>	<b>VIH Positivos N=62 (84.93)</b>	<b>VIH Negativo N= 37 (41.11)</b>	<b>p Valor</b>
Tinta China	50/62	32/37	<b>&lt;0.0053</b>
Positiva	43 (86%)	18 (56.25%)	
<b>LCR</b>	21/62	13/37	
mediana PA	24 (RIC 17-31)	17 (RIC 15-22)	0.30
Leucocitos	7 (RIC 2-47)	11 (RIC 1.5-82.5)	
Glucosa	35 (RIC 20-41)	22 (RIC 12.5-40.25)	0.39
Proteínas	89 (RIC 69-150)	115 (RIC 82.25-144.5)	0.15
<b>PL terapéuticas</b>	1 (1-2)	2(1-3)	<b>&lt;0.045</b>
<b>Ag en LCR, n (%) Positivo &gt;1:512</b>	45/62 40 (88.88) 10 (22.22)	28/37 24 (85.71) 4 (14.28)	<b>0.19</b>
<b>Aislamiento C. neoformans C. spp C. no-neoformans</b>	34 (54.83%) 27 (43.54%) 1 (1.61%)	28 (75.67%) 7 (18.91%) 2 (5.40%)	<b>&lt;0.005</b>
<b>Positividad a las 2 semanas</b>	25/62 (40.32%)	12/37 (32.43%)	<b>&lt;0.05</b>

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana; LCR: Líquido cefalorraquídeo; PL: punción lumbar; Ag: Antígeno de criptococo en LCR (Ag LCR); dilución títulos >1:512; PA: presión de apertura; *C. spp*: *Criptococo especies*.

**Tabla 3.- Factores de riesgo a mortalidad general**

	ANALISIS MULTIVARIADO		
Co-variables	OR	*p	IC (95%)
VIH	1.16	0.77	(0.40-3.31)
Edad	2.28	<b>0.01</b>	(1.19-4.3)
Género	1.37	0.44	(0.60-3.10)
Severa	2.12	0.15	(0.74-6.03)
Esteroide	1.37	0.50	(0.51-3.48)
Fecha de diagnóstico (a) < 2001	2.67	<b>0.02</b>	(1.11-6.38)
Tx Subóptimo	0.39	<b>0.08</b>	(0.13-1.13)

Variable Dependiente: Mortalidad en general

OR: *odds ratio* (razón de ventajas), *p*\*: (*p* valor) <0.05 significancia estadística, IC: intervalo de Confianza (95%), VIH: virus de inmunodeficiencia humana, (a): años, Tx: tratamiento

**Tabla 4.- Factores de riesgo a mortalidad atribuida a Criptococosis**

	ANALISIS MULTIVARIADO		
Co-variables	OR	*p	IC (95%)
VIH	0.41	0.17	(0.11-1.47)
Edad	1.70	0.13	(0.85-3.42)
Género	0.83	0.71	(0.32-2.17)
Severa	7.8	<b>0.007</b>	(1.73-35.34)
Esteroide	0.43	0.15	(0.13-1.36)
Tx Subóptimo	0.25	0.059	(0.06-1.05)

Variable Dependiente (1): Mortalidad atribuida a criptococosis

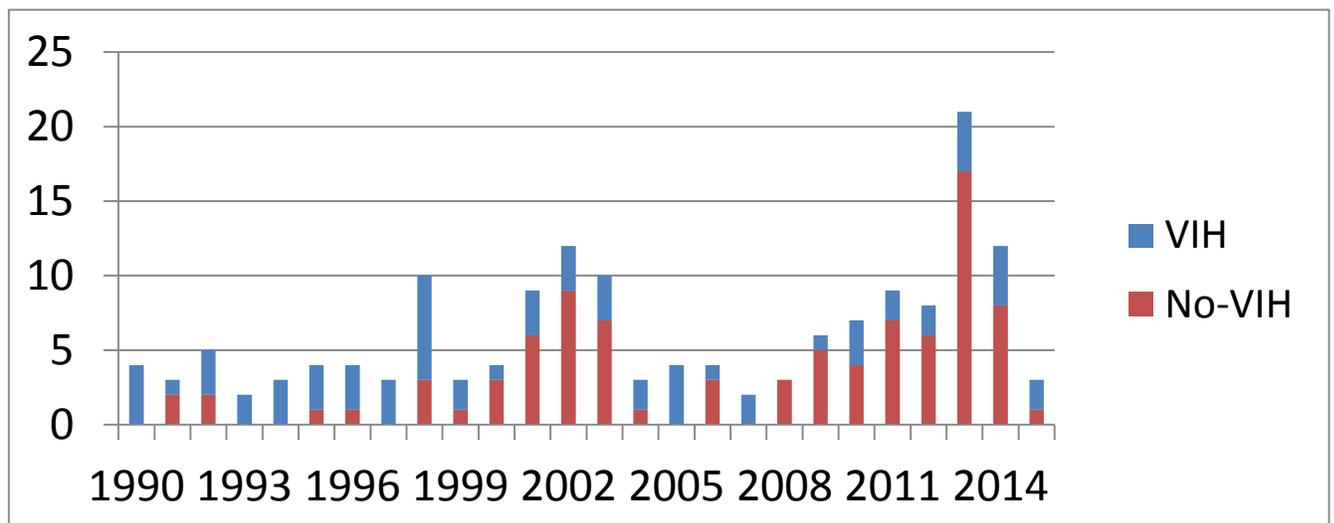
OR: *odds ratio* (razón de ventajas), *p*\*: (*p* valor) <0.05 significancia estadística, IC: intervalo de Confianza (95%), VIH: virus de inmunodeficiencia humana, Tx: tratamiento

**Tabla 5.- Factores de riesgo a mortalidad por Criptococosis Meníngea**

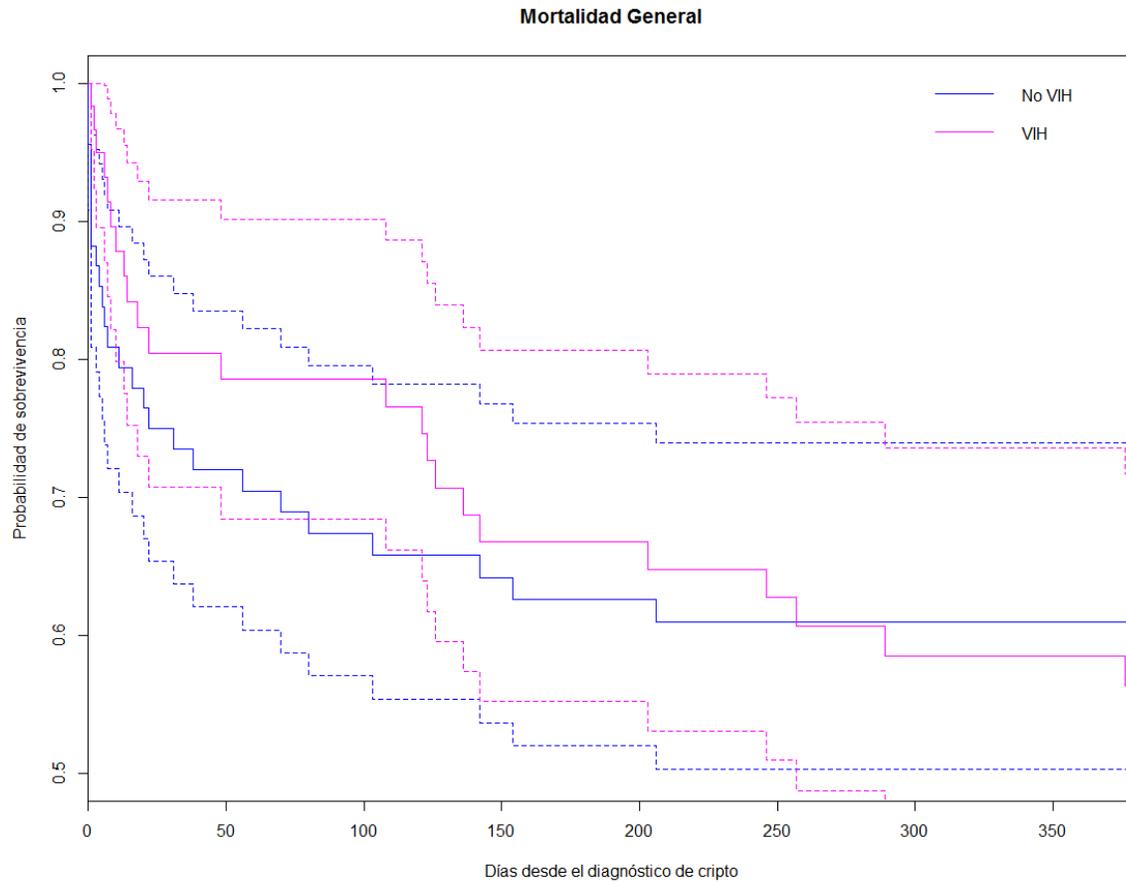
ANALISIS MULTIVARIADO			
Co-variables	OR	*p	IC (95%)
VIH	0.25	0.27	(0.02-1.06)
Edad	11.45	<b>0.03</b>	(1.20-109.68)
Género	0.13	0.15	(0.008-2.10)
Tx Subóptimo	0.10	0.16	(0.06-1.05)
Ag LCR >1:512	37.50	<b>&lt;0.005</b>	(2.95-475.66)

Variable Dependiente (1): Mortalidad atribuida a criptococosis meníngea

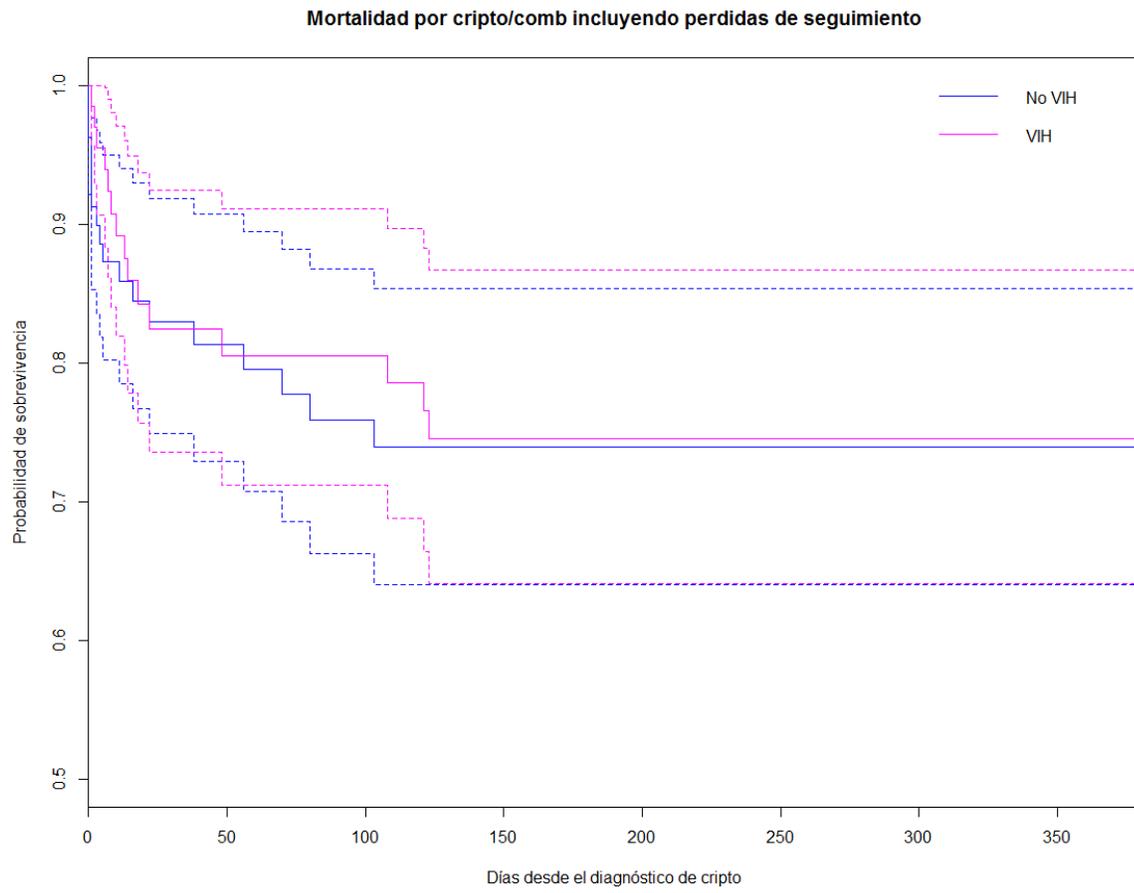
OR: *odds ratio* (razón de ventajas), *p*\*: (*p* valor) <0.05 significancia estadística, IC: intervalo de Confianza (95%), VIH: virus de inmunodeficiencia humana, Tx: tratamiento, Ag LCR: antígeno de criptococo en líquido cefaloraquídeo



**Figura 1.** Frecuencia anual de Criptococosis por grupo de riesgo



**FIGURA 2. Prueba de log-rank 0.7**



**FIGURA 3 Prueba de log-rank 0.9**

Mortalidad por cripto Meningea incluyendo perdidas de seguimiento

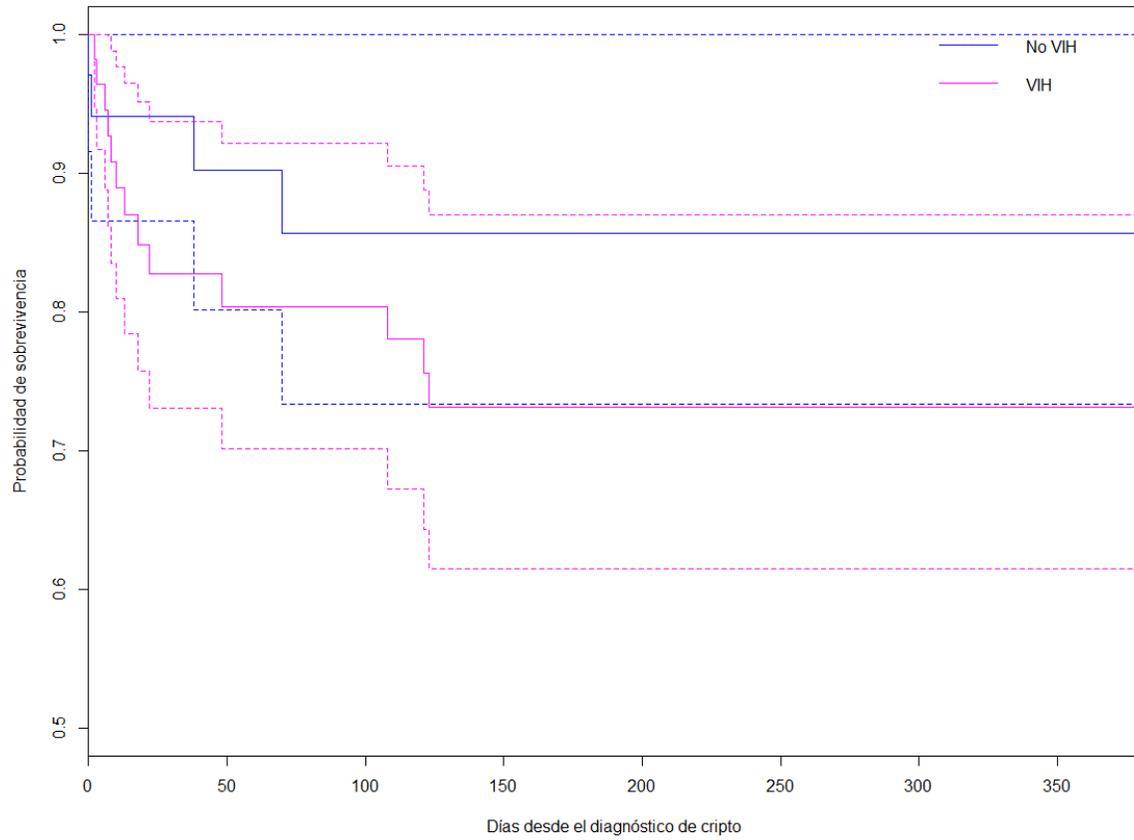


FIGURA 4. Prueba de log-rank Valor 0.15

## IX BIBLIOGRAFÍA

1. Sloan D., Parris V., **Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options.** *Clinical Epidemiology*, 2014.
2. Loyse A., Thangaraj H., *et al.* **Cryptococcal meningitis: improving access to essential antifungal medicines in resource-poor countries;** *Lancet Infect Dis*, 2013.
3. Perfect J., Dismukes W., *et al.* **Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America.** *Clinical Infectious Diseases*, 2010.
4. Bratton E., Hussein N., *et al.* **Comparison and Temporal Trends of Three Groups with Cryptococcosis: HIV-Infected, Solid Organ Transplant, and HIV-Negative/Non-Transplant.** *PLoS ONE*, 2012.
5. Sloan D., Dedicoat, M., *et al.* **Treatment of Cryptococcal Meningitis in Resource Limited Settings,** *Curr Opin Infect Dis*, 2009.
6. Davis J., Horn D., *et al.* **Central nervous system involvement in cryptococcal infection in individuals after solid organ transplantation or with AIDS.** *Transpl Infect Dis*, 2009.
7. Loyse A., Dromer F., *et al.* **Flucytosine and cryptococcosis: time to urgently address the worldwide accessibility of a 50-year-old antifungal.** *J Antimicrob Chemother*, 2013.
8. Panackal AA, Wuest SC, *et al.* **Paradoxical Immune Responses in Non-HIV Cryptococcal Meningitis.** *PLoS Pathog*, 2015.
9. LI-PING ZHU, JI-QIN WU, *et al* **Cryptococcal meningitis in non-HIV-infected patients in a Chinese tertiary care hospital, 1997–2007.** *Medical Mycolog*, 2010.
10. Jarvis J, Bicanic T., *et al.* **Determinants of Mortality in a Combined Cohort of 501 Patients with HIV-Associated Cryptococcal Meningitis: Implications for Improving Outcomes.** *Clinical Infectious Diseases*, 2014.

11. Khairullah S, Sulaiman H, et al. **Cryptococcal meningitis and SLE: a diagnostic and therapeutic challenge.** *ACTA REUMATOL PORT*, 2014.
12. Yi-Chien L, Wang J, et al. **Comparisons of clinical features and mortality of cryptococcal meningitis between patients with and without human immunodeficiency virus infection.** *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2011.
13. Boulware D., Meya D., et al. **Timing of Antiretroviral Therapy after Diagnosis of Cryptococcal Meningitis.** *N Engl J Med*, 2014.
14. Bicanic T, Meintjes G, et al. **Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-associated cryptococcal meningitis: a prospective study.** *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2009.
15. Lizarazo J, Escandón P, et al. **Retrospective study of the epidemiology and clinical manifestations of *Cryptococcus gatii* infections in Colombia from 1997-2011.** *PLoS Negl Trop Dis*, 2014.
16. Tseng H, Liu Chang, et al. **Microbiological, Epidemiological and clinical characteristics and outcomes of patients with cryptococcosis in Taiwan, 1997-2010.** *PLoS ONE*, 2013
17. Jarvis JN, et al. **Managing cryptococcosis in the immunocompromised host.** *Curr Opin Infect Dis*, 2008.
18. Brouwer AE, et al. **Combination antifungal therapies for HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomised trial.** *Lancet*, 2004.
19. Husain S, et al. ***Cryptococcus neoformans* infection in organ transplant recipients: variables influencing clinical characteristics and outcome.** *Emerg Infect Dis*, 2001.
20. Dromer F, et al. **Determinants of disease presentation and outcome during cryptococcosis: the CryptoA/D study.** *PLoS Medicine*, 2007.