



Caracterización de infecciones por *Cryptococcus spp* en adultos atendidos en un hospital de cuarto nivel

Autor:  
Alejandra Marcela Contreras Torres

Trabajo presentado como requisito para optar por el título de  
Especialista en Infectología

Bogotá, Colombia  
2023

Caracterización de infecciones por *Cryptococcus spp* en adultos atendidos en un hospital de cuarto nivel

Autor

Alejandra Marcela Contreras Torres

Tutores

Álvaro Ignacio Arango Duque– Especialista en infectología

Daniel Alejandro Buitrago Medina- Magíster en Salud Pública

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

Especialización en Infectología

Universidad del Rosario

Bogotá, Colombia

2023

## **Identificación del proyecto**

Institución académica: Universidad del Rosario

Dependencia: Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

Título de la investigación: Caracterización de infecciones por *Cryptococcus spp* en adultos atendidos en un hospital de cuarto nivel

Instituciones participantes: Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología

Tipo de investigación: Estudio observacional descriptivo, tipo serie de casos

Investigador principal: Alejandra Marcela Contreras Torres

Asesor clínico o temático: Álvaro Ignacio Arango Duque – Especialista en infectología

Asesor metodológico: Daniel Alejandro Buitrago Medina- Epidemiólogo, Magister en Salud Pública

“La Universidad del Rosario no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

## Resumen

**Introducción:** La criptococosis es una infección fúngica que tiene gran impacto entre población con inmunosupresión y se estima que excede los 220.000 casos anuales. En Colombia la notificación de esta enfermedad no es obligatoria por lo que los datos epidemiológicos son limitados.

**Objetivo:** Caracterizar los factores sociodemográficos, clínicos y de laboratorio de pacientes con criptococosis atendidos en la Fundación Cardioinfantil en el período 2011-2021.

**Métodos:** Se identificaron 46 pacientes adultos con infección por *Cryptococcus spp* durante el periodo propuesto; se analizaron las características sociodemográficas, clínicas y de laboratorio; se realizó una comparación entre pacientes con y sin infección por VIH.

**Resultados:** La infección por VIH fue la condición que se asoció con mayor frecuencia a la criptococosis (37%), seguido por el uso de esteroides (26.5%). La forma de presentación más frecuente fue la meningoencefalitis y las manifestaciones clínicas más importantes incluyeron cefalea (48.9%) y alteración del estado de conciencia (40%); cerca de la mitad de los pacientes presentaron coinfecciones de diversas etiologías. Se identificó que en pacientes con condiciones de inmunosupresión diferentes al VIH predomina el sexo femenino, hay una mayor frecuencia de anormalidades en la radiografía de tórax, se presentan más formas diseminadas y extrameningeas, y una mayor mortalidad.

**Conclusión:** Se identificó que los pacientes con criptococosis y condiciones de inmunosupresión diferentes a la infección por VIH tienen peores resultados clínicos; lo anterior resalta la importancia de reconocer tempranamente la enfermedad en poblaciones de alto riesgo y así posibilitar un tratamiento oportuno que permita mejorar los desenlaces.

## 1. Introducción

### 1.1. Planteamiento del problema

La criptococosis es una enfermedad fúngica causada por la levadura *Cryptococcus spp* (1), tiene un impacto importante entre población con deficiencias del sistema inmune, especialmente pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), sin embargo, cada vez se reconoce más su capacidad patogénica en personas aparentemente inmunocompetentes (2,3). Existen más de 30 especies de *Cryptococcus* en el mundo, no obstante, la enfermedad en humanos se atribuye principalmente a *C. neoformans* y *C. gattii* (4).

*Cryptococcus spp* posee melanina y una cápsula polisacárida que le permiten evadir el sistema inmunológico del huésped (5,6). La melanina se sintetiza a partir de L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) y se cree que la afinidad por este sustrato es responsable del neurotropismo del hongo (6,7), por su parte, la cápsula está compuesta por glucoronoxilomanano (GXM) y glucuronoxilomanogalactano (GXMGal) (7,8,9), es capaz de inhibir la fagocitosis, resguardar de factores nocivos (6,7,8,9), y se induce en respuesta a diversas circunstancias del hospedero tales como pH, aumento de dióxido de carbono y supresión de hierro (10,11,12,13).

Las infecciones por *Cryptococcus spp* ocurren por inhalación de propágulos provenientes de reservorios ambientales, se depositan en los alvéolos pulmonares y son internalizados por las células del epitelio pulmonar (3,14); posteriormente entran en contacto con los macrófagos alveolares que reclutan otras células del sistema inmune a través de citocinas y quimiocinas que provocan una respuesta de predominio Th1 e inflamación granulomatosa (3,7), cuando el hongo logra escapar al control inmunológico se disemina fuera del pulmón (14). Lo anterior explica porque los defectos en la inmunidad celular tales como la infección por VIH, uso de esteroides, trasplante de órganos, leucemia, linfoma, hepatopatía crónica y sarcoidosis representan los mayores factores de riesgo para padecer la enfermedad (15).

*Cryptococcus spp* afecta de forma predominante el sistema nervioso central, los pulmones, y con menor frecuencia puede comprometer otros sitios como piel, próstata, ojos, hueso y articulaciones (3). Se estima que la criptococosis meníngea excede los 220.000 casos anuales a nivel mundial, la mayoría concentrados en África subsahariana (16). Como se mencionó anteriormente, el factor de predisposición más común a nivel

mundial para criptococosis es la infección por VIH (7) por lo que aproximadamente 15% de las muertes asociadas a síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) son atribuidas a criptococosis meníngea (16). En Colombia la información más reciente proviene de la encuesta nacional voluntaria realizada por el Instituto Nacional de Salud (INS) que recogió 526 casos entre 2006 y 2010, se reporta una incidencia general de 2.4 casos por millón de habitantes y 3.3 casos por 1000 en pacientes con SIDA, siendo el compromiso de la sistema nervioso central la forma clínica más común (81.8%) y la infección por VIH el principal factor de riesgo (80.7%), lo que concuerda con los datos mundiales (17). Para el periodo epidemiológico IX de 2021 se notificaron 14698 casos de VIH (18), desafortunadamente en Colombia la criptococosis no es una enfermedad de notificación obligatoria por lo que los datos epidemiológicos son escasos y no se cuenta con información actualizada que pueda impactar en la forma como se aborda y maneja la enfermedad.

### *1.2. Justificación*

La Fundación cardioinfantil es un hospital de alta complejidad, reconocido como uno de los mayores trasplantadores a nivel nacional y centro de referencia en hepatología, por lo cual atiende población con importantes factores de riesgo para criptococosis. Lograr identificar las principales características sociodemográficas, clínicas y de laboratorio de los pacientes con infección por *Cryptococcus spp* que se atienden en la institución contribuirá a optimizar la identificación, el diagnóstico temprano y la toma de decisiones terapéuticas, además de aportar datos relevantes a la epidemiología regional y nacional.

## 2. Marco Teórico

La criptococosis es una enfermedad fúngica causada por levaduras encapsuladas mundialmente distribuidas del filo Basidiomycota, género *Cryptococcus* (1). Las especies *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* causan la mayoría de infecciones criptocócicas en humanos, la primera de forma preferente en pacientes inmunosuprimidos (1), siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en personas con infección por el VIH (2). *C. neoformans* fue identificado como patógeno humano por primera vez en el siglo XIX (3), y en las últimas décadas ha tomado especial importancia por el aumento de la población susceptible a la infección (3).

### Patógenos

El género *Cryptococcus* abarca más de 30 especies ampliamente distribuidas en el medio ambiente (3). Desde su identificación, las infecciones se habían atribuido a la especie *Cryptococcus neoformans* (4), que de forma característica causa enfermedad en personas con defectos del sistema inmunitario (1,3,4); posteriormente, tras la mejoría en los métodos de identificación basados en biología molecular, se logró la distinción de *Cryptococcus gattii* como una especie independiente que se ha asociado a infección en pacientes aparentemente inmunocompetentes (3), las diferencias en la presentación clínica de estas especies están determinadas por la predilección del hospedero y sus subtipos moleculares (3). Tradicionalmente el género se ha clasificado en variedades y subtipos basados en la estructura del polisacárido de la cápsula y las características moleculares (3), actualmente se acepta la siguiente división: *C. neoformans* var. *grubii* (subtipo A, tipo molecular VNI-VNII), hídrico (serotipo AD, tipo molecular VNIII), *C. neoformans* var. *neoformans* (subtipo D, tipo molecular VNIV) y *C. gatti* (serotipos B y C, tipos moleculares VGI- VGIV) (3,5,6).

### **Factores de virulencia**

Los factores de virulencia se definen como elementos del patógeno que causan daño en el hospedero (6); *C. neoformans* tiene una variedad de componentes capaces de desencadenar lesión tisular, sin embargo, merecen especial atención la presencia de cápsula y la melanina, que además le confieren protección frente a la respuesta inmune del hospedero (6,7).

### **Cápsula polisacárida**

Se compone principalmente por dos tipos de polisacárido: glucuronoxilomanano (GXM) y glucuronoxilomanogalactano (GXMGal) (7,8,9), también incluye manoproteínas, ácido hialurónico y ácido siálico (6,7). Es capaz de incrementar varias veces el diámetro de la célula en espesor, una característica singular entre los hongos (5); se induce en respuesta a diversas circunstancias del hospedero tales como pH, aumento de dióxido de carbono y supresión de hierro (10,11,12,13). La cápsula no es indispensable para la vida de la levadura, ya que se han descrito mutantes acapsulares que pueden sobrevivir y replicarse in vitro a costa de defectos de virulencia (6,11). La cápsula tiene un papel protector durante la infección (6): es capaz de inhibir la fagocitosis y resguarda de factores estresantes como la deshidratación y los radicales libres (6,7,8,9,12). Como se mencionó, también constituye un factor de virulencia (6); se ha demostrado que los polisacáridos capsulares inducen múltiples efectos en la respuesta inmune del hospedero (6); GXM puede inhibir a través de propiedades quimio-atrayentes la migración de neutrófilos al limitar su salida desde los vasos sanguíneos, también disminuye la expresión de receptores de quimiocinas e inhibe la unión de leucocitos al endotelio vascular al inducir la liberación de L-selectina y E-cadherina de los neutrófilos (6,13). GXM y GXMGal alteran la producción de citocinas y afectan la maduración de las células dendríticas y por tanto la presentación antigénica, adicionalmente son potentes inductores de apoptosis (6).

### **Melanina**

La melanina es un pigmento oscuro que puede encontrarse en animales y hongos (6), *C. neoformans* la produce en presencia de componentes exógenos, especialmente L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) y la sintetiza a través de la enzima difenol oxidasa, codificada en los genes *LAC1* y *LAC2* (6,7). La melanina tiene un rol en la protección contra fagocitosis, muerte por parte de las células del hospedero, oxidantes y péptidos microbicidas; adicionalmente se ha reportado su papel en protección frente a agentes antifúngicos como la Anfotericina B, caspofungina y azoles (7).

Otros factores que favorecen la capacidad de *Cryptococcus spp* de causar enfermedad en humanos incluyen: habilidad de sobrevivir y prosperar a 37°C, producción de manitol correlacionada con una mayor resistencia al estrés osmótico, térmico y oxidativo (5),

producción de fosfolipasas que alteran el microambiente de la infección y pueden favorecer la supervivencia de *C. neoformans* en el hospedador (10).

### **Ciclo de vida**

*C. neoformans* y *C. gattii* son levaduras haploides heterotálicas (7), con formas sexuales y asexuales (3). La forma asexual se reproduce por mitosis con gemación y se encuentra en muestras clínicas y ambientales (3); el estado sexual se observa bajo ciertas condiciones de laboratorio, resultando en meiosis entre dos tipos de apareamiento MAT $\alpha$  y MATa (3,7). Las cepas MAT $\alpha$  predominan en la naturaleza, secretan feromonas MF $\alpha$  en respuesta a su pareja de apareamiento y forman tubos de conjugación para permitir la fusión y producir hifas, por su parte las cepas MATa secretan feromonas MFa y experimentan un crecimiento isotrópico (3).

### **Patogénesis**

Las infecciones por *Cryptococcus spp* ocurren por inhalación de propágulos provenientes de reservorios ambientales y se depositan en los alvéolos pulmonares (3,14). *C. neoformans* penetra el alveolo, se adhiere y es internalizado por las células del epitelio pulmonar; los neumocitos tipo II tienen un receptor para GXM in vitro (14). Posteriormente entran en contacto con los macrófagos alveolares que reclutan otras células del sistema inmune a través de citocinas y quimiocinas como factor de necrosis tumoral (TNF), interferón  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) e interleucina 2 (IL -2) , provocando una respuesta de tipo Th1 e inflamación granulomatosa (3,7). Incluso dentro del macrófago, *C. neoformans* puede sobrevivir y evitar la muerte por lo que se considera un patógeno intracelular facultativo (6); es capaz de replicarse dentro del fagosoma conduciendo a su extrusión o la explosión del macrófago del hospedero y puede ingresar inmediatamente a otro macrófago no infectado sin estar expuesto al ambiente extracelular (14). Una vez escapa al sistema de defensa del hospedero en el pulmón, *Cryptococcus* se disemina a otros órganos (14). También puede establecer una infección latente con levaduras durmientes en los nódulos linfáticos torácicos o granulomas pulmonares que persisten en individuos asintomáticos (3); cuando se suprime la inmunidad local, las levaduras pueden crecer y diseminarse fuera del pulmón.

La invasión cerebral se da con un atrapamiento mecánico del hongo en los vasos post-capilares, daño endotelial y proliferación con siembras en los espacios meníngeos (14).

Se proponen tres mecanismos de migración a través de la barrera hematoencefálica: paso transcelular a través de células endoteliales, ingreso por una ruta paracelular o dentro de los monocitos en un modelo de “caballo de Troya” (14).

### **Respuesta inmune innata**

El complemento es la primera línea de defensa frente a las infecciones criptocócicas, estimula la quimiotaxis de células fagocíticas y mejora la captación de levaduras a través de la opsonización (15). Por su parte, las células dendríticas son las principales iniciadoras de la inmunidad protectora mediada por células ya que inducen de forma más eficiente la activación de las células T (15); los neutrófilos también contribuyen a la respuesta inmune frente a la criptococosis, sin embargo, se encuentran en pequeños números en los tejidos infectados y en estadios tempranos de la infección, parecen tener un rol regulador más que antimicrobiano (15).

*Cryptococcus spp* tiene la capacidad de sobrevivir y proliferar dentro de los fagosomas de los macrófagos, posteriormente se libera provocando lisis celular o a través de un mecanismo de expulsión que no mata la célula hospedera, evitando así la respuesta inflamatoria local (15), también es capaz de transferirse lateralmente de un macrófago a otro en un proceso dependiente de actina (15).

### **Respuesta inmune adaptativa**

Los anticuerpos tienen función protectora a través de la opsonización dependiente del receptor Fc y la activación del complemento por la vía clásica, dependiendo de su isotipo y cantidad pueden ser no protectores o incluso potenciadores de la enfermedad (15). Por otra parte, la respuesta inmune mediada por células es una de las piedras angulares en la defensa contra infecciones criptocócicas, por esa razón los individuos con condiciones que provocan defectos en la inmunidad celular como VIH, uso de esteroides, trasplante de órganos, leucemia, linfoma y sarcoidosis representan los mayores factores de riesgo para padecer la enfermedad (15). Las células asesinas naturales (NK) y los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> tienen actividad antimicrobiana directa contra *C. neoformans*, pueden provocar lisis y permeabilización del criptococo con la secreción de granulinas y perforina (15). Las citocinas Th1 como el TNF alfa y el IFN $\gamma$  se asocian con mejor control de la infección, mientras que la IL-4 e IL-13, citoquinas de fenotipo Th2, reducen la habilidad del hospedero de lidiar con la enfermedad y los linfocitos Th17 tienen un rol

regulador; los pacientes con infección por VIH tienen una pérdida de respuesta Th1 y los trasplantados un predominio de perfil Th2 lo que se relaciona con la mayor incidencia de criptococosis en estas poblaciones (15).

### **Epidemiología**

Se estima que la criptococosis meníngea excede los 220.000 casos anuales a nivel mundial, la mayoría concentrados en África subsahariana (16). El factor de predisposición más común a nivel mundial para criptococosis es la infección por VIH (7) por lo que aproximadamente 15% de las muertes asociadas a SIDA son atribuidas a criptococosis meníngea y en general tiene una mortalidad entre el 41 y 61% en esta población (16). Otros factores asociados a infección por *C. neoformans* incluyen el tratamiento prolongado con esteroides, trasplante de órganos, malignidad avanzada, diabetes, cirrosis, sarcoidosis y linfopenia CD4 idiopática (7); la criptococosis es la tercera causa de micosis invasiva en pacientes receptores de trasplante de órgano sólido en los Estados Unidos, 25-54% desarrollan enfermedad pulmonar (6). Las cepas de *C. neoformans* tipo molecular VNI son el agente etiológico predominante en los aislamientos a nivel mundial (63%), seguido por el VNII/VNIII (6% cada uno) y el tipo VNIV (5%) (7); por su parte, la criptococosis causada por *C. gattii* es significativamente menos frecuente globalmente (<20%) que *C. neoformans* (80%), tiene una prevalencia pronunciada en zonas tropicales y subtropicales, y los factores de riesgo aun son desconocidos ya que afecta personas aparentemente sanas (7).

En Estados Unidos la incidencia de meningitis criptocócica en pacientes con VIH varía de 2 a 7 casos por 1000 personas año, con una mortalidad del 12 al 25%; en México se estiman menos de 1000 casos anuales y en Canadá menos de 500 casos (16).

Los pacientes no VIH con infección criptocócica tienden a ser de mayor edad y predominan las formas diseminadas sobre el compromiso meníngeo, adicionalmente la población no VIH/ no trasplante tiene desenlaces más pobres con altas tasas de morbimortalidad (46% vs 19% inmunosuprimidos y 15% en VIH positivo) posiblemente asociado al diagnóstico tardío y el efecto deletéreo de la respuesta inmune sobreexpresada (16).

En Colombia la criptococosis no es una enfermedad de notificación obligatoria por lo que los datos epidemiológicos disponibles provienen de series de casos y la encuesta nacional voluntaria realizada por el Instituto Nacional de Salud (17). En 2012 se publicó el análisis correspondiente al periodo 2006-2010 que recoge 526 casos, se reporta una incidencia

general de 2.4 casos por millón de habitantes y 3.3 casos por 1000 en pacientes con SIDA; relación hombre mujer de 3.3:1; el principal factor de riesgo fue la infección por VIH (83.5%), seguido de la enfermedad autoinmune (3.9%), el uso de esteroides y los tumores sólidos (1.2% cada uno) (17). La neurocriptococosis fue la forma clínica más común (81.8%) y en segundo lugar la enfermedad diseminada (14.1%); la especie predominante en pacientes con y sin VIH fue el *C. neoformans* var. *grubii* serotipo A (17). En 2014 se publicaron datos adicionales de esta encuesta, recogiendo las características de la infección causada por *Cryptococcus gattii* entre 1997 y 2011, se identificaron 45 casos correspondientes al 3.7% del total analizado, 41 de estos pacientes (91.1%) no tenían ningún factor predisponente para desarrollar la infección, lo que concuerda con datos en la literatura que sugieren que esta especie afecta de forma predominante a pacientes sin inmunosupresión aparente (19); Norte de Santander fue el departamento con mayor incidencia de infecciones por *C. gattii* con 0.8 casos por millón de habitantes año, sin embargo, la incidencia total en Colombia sigue siendo baja con 0.07 casos por millón por año (19).

Cortes et al, identificó al *Cryptococcus neoformans* como la cuarta causa más frecuente de fungemia en pacientes hospitalizados en unidad de cuidados intensivos y sala general (2.2 y 7.9%, respectivamente) en 27 hospitales de tercer nivel de toda Colombia entre 2001 y 2007 (20). Escandón et al, realizó un análisis acumulado de los datos recolectados en la encuesta nacional del Instituto Nacional de Salud entre 1997 y 2016, durante este periodo se recibieron un total de 1974 encuestas provenientes de 29 departamentos (21); la infección fue más común en el grupo de edad de 26 a 40 años (46.1%) con una relación hombre: mujer 3.9:1, nuevamente el SIDA se identificó como el mayor factor de riesgo (76.2%), seguido por el uso de esteroides (3.7%) y la enfermedad autoinmune (1%), la forma clínica más frecuente fue la neurocriptococosis y en la inmensa mayoría de los casos se obtuvieron cultivos positivos (99.6%) de LCR, sangre u otras muestras (21); el tratamiento utilizado fue reportado en 1480 casos, llama la atención que 62.9% de los pacientes recibieron anfotericina B o fluconazol en monoterapia a pesar de que las recomendaciones actuales aconsejan el uso de terapia combinada como primera elección en el manejo de meningoencefalitis criptocócica (21). Los últimos datos publicados de la encuesta nacional recogen un subanálisis de los casos del Atlántico entre 2015 y 2017, informan una prevalencia de 5.08 casos por millón de habitantes, nuevamente con predominio hombres (81.6%) y pacientes con VIH (76.3%) (22).

El fondo colombiano de enfermedades de alto costo analiza la situación del VIH en Colombia, la última publicación al respecto muestra que de 134636 personas viviendo con VIH prevalente, 2215 (1.65%) presentaron criptococosis extrapulmonar como enfermedad definitoria de SIDA en el 2021 (23).

### **Manifestaciones clínicas**

*Cryptococcus spp* afecta de forma predominante el sistema nervioso central y los pulmones, con menor frecuencia puede encontrarse infección en otros sitios como la piel, próstata, ojos, hueso y articulaciones (3); los signos y síntomas varían de acuerdo con el estado inmunológico del huésped, van desde infección asintomática hasta forma diseminada en los pacientes gravemente inmunosuprimidos (3,14).

### **Infección pulmonar**

El tracto respiratorio es la puerta de entrada más importante para *Cryptococcus spp* (3). El espectro clínico va desde la colonización asintomática de la vía aérea hasta la neumonía grave que amenaza la vida (3), comúnmente afecta pacientes inmunocomprometidos, sin embargo, se ha convertido en una enfermedad emergente en inmunocompetentes (23). Usualmente se presenta con síntomas respiratorios inespecíficos como tos, dolor torácico y fiebre; al examen físico puede encontrarse disminución de los ruidos respiratorios, estertores y/o matidez a la percusión indicativa de derrame pleural (23). Los hallazgos radiológicos más frecuentes incluyen nódulos pulmonares únicos o múltiples no calcificados de predominio periférico (3,23), también pueden encontrarse consolidaciones segmentarias, cavitación, bronconeumonía bilateral, apariencia similar a masa y patrón miliar difuso, sobretodo en pacientes inmunocomprometidos (24). El antígeno polisacárido (CrAg) sérico suele ser negativo en casos de compromiso pulmonar único, pero ocasionalmente puede ser positivo incluso en ausencia de infección meníngea (3). En pacientes inmunocomprometidos siempre hay que considerar la punción lumbar para descartar enfermedad del sistema nervioso central (3). La medición del CrAg en muestras respiratorias como esputo, líquido pleural y lavado broncoalveolar (LBA) no está estandarizada, sin embargo, varios estudios reportan una sensibilidad y especificidad cercana al 100% en muestras de LBA tanto en paciente VIH positivo como en inmunocompetentes (24, 25, 26).

### **Infección del sistema nervioso central**

La criptococosis es la causa más común de meningitis fúngica y la presentación extrapulmonar más frecuente de las infecciones por *Cryptococcus spp* (28). Las manifestaciones clínicas son variables, sin embargo, típicamente se presenta como una meningoencefalitis subaguda con un curso de días a semanas, el tiempo promedio desde el inicio de los síntomas hasta la atención médica es de 2 semanas en pacientes con VIH y hasta 12 semanas en las personas VIH negativo (28). Los signos y síntomas incluyen cefalea, fiebre, neuropatía craneal, alteración del estado de conciencia y pérdida de memoria (3), los clásicos signos de irritación meníngea como rigidez nuchal se presentan solo en el 20-30% de los pacientes (28). La presión intracraneal está elevada en más del 75% de los hospederos, se hipotetiza que el mecanismo es la obstrucción del flujo de salida de líquido cefalorraquídeo (LCR) por una alta carga de levaduras y polisacáridos que obstruyen las vellosidades aracnoideas (29), puede dejar secuelas como hidrocefalia, ceguera y pérdida de audición (14,28). El compromiso en sistema nervioso central puede complicarse con lesiones tipo masa mayores a 1 cm llamadas criptocomas, son más comunes en infecciones por *C. gattii* que con *C. neoformans* (28).

### **Infección cutánea**

El compromiso en piel es la tercera manifestación clínica más frecuente de criptococosis y abarca una amplia variedad de lesiones por lo que el estudio histopatológico es fundamental para establecer un diagnóstico definitivo (3). La forma primaria cutánea es muy rara y usualmente se asocia a inoculación traumática, por lo tanto, la mayoría de las veces las lesiones en piel suelen presagiar la infección diseminada (3,30). Las cepas de *C. neoformans* serotipo D se han asociado con más frecuencia a compromiso cutáneo, por otra parte, los serotipos B y C de *C. gattii* causan criptococosis cutánea localizada en inmunocompetentes (30).

Los receptores de trasplante de órgano sólido en terapia con tacrolimus son más susceptibles a desarrollar compromiso de piel, tejido blando e infección osteoarticular (31).

### **Infección en otros sitios**

La glándula prostática puede ser un importante reservorio para el *Cryptococcus*, es un sitio raro de infección usualmente asintomática (32). Se ha documentado enfermedad retinal con o sin vitreitis, y puede causar ceguera irreversible como resultado de la infiltración del nervio óptico por levaduras (3).

*C. neoformans* puede afectar cualquier órgano del cuerpo, de hecho el primer aislamiento en humanos se obtuvo de una muestra de osteomielitis tibial en el siglo 19 (33).

### **Diagnóstico**

El diagnóstico definitivo se realiza con el aislamiento de *Cryptococcus* de un espécimen clínico o mediante la detección del hongo con tinta china en fluidos corporales; otros estudios incluyen la histopatología, el inmunodiagnóstico y las técnicas moleculares (3).

### **Tinta china**

Es el método más rápido para visualizar el hongo en un examen directo de microscopía de líquido cefalorraquídeo; *Cryptococcus* se ve como una célula de levadura encapsulada de 5 a 20  $\mu\text{m}$  de diámetro (3). La tinción tiene una sensibilidad variable dependiendo de la carga fúngica, se encuentra alrededor de 30 a 50% personas sin infección por VIH y más del 80% en pacientes VIH positivo (3). Pueden darse falsos positivos por linfocitos intactos, otras células tisulares o levaduras no viables (34).

### **Cultivo**

El *Cryptococcus* puede ser cultivado de múltiples muestras biológicas (esputo, líquido cefalorraquídeo, piel, lavado broncoalveolar) con óptimo crecimiento en agar sangre o dextrosa Sabouraud incubado a 30°C, las colonias tienen aspecto mucoso de color blanco o crema y normalmente se forman en 2 a 5 días, pueden tornarse naranjas o marrón después de una incubación prolongada (3, 34). En pacientes con VIH y meningitis criptocócica los cultivos de LCR y sangre son positivos en más del 90 y 70% de los casos respectivamente, se usa de forma seriada para evaluar la eficacia del tratamiento (3).

### **Citología e histopatología**

Las levaduras se visualizan mejor con las tinciones que tiñen la cápsula polisacárida como ácido periódico de Schiff, mucicarmín y azul Alcian; por su parte, la tinción de Fontana-Mason identifica la melanina, Calcoflúor se une a la quitina y la plata metenamina de Gomori tiñe la pared celular (2, 34, 35).

### **Inmunodiagnóstico**

El antígeno capsular de *Cryptococcus* en suero y LCR se ha convertido en el método diagnóstico favorito por su alta sensibilidad y especificidad que oscila entre 93-100% y

93-98% respectivamente (3, 35). Actualmente existen dos métodos disponibles, la aglutinación de látex y el ensayo de flujo lateral, el primero es más costoso, requiere más tiempo y experticia para su procesamiento en el laboratorio y no está disponible en lugares de bajos recursos; La segunda es una prueba diseñada para realizarse en el punto de atención (“point-of-care”) por lo que no requiere preparación de la muestra y tiene un menor costo (34). Pueden existir falsos negativos derivados del efecto prozona o la baja carga fúngica en la enfermedad crónica o muy temprana y la toma inadecuada de la muestra, especialmente en la prueba de aglutinación de látex (3). La presencia de factor reumatoideo sérico puede ocasionar falsos positivos, también existe una tasa muy baja de reacciones cruzadas con *Trichosporon*, mucormicosis, talaromicosis e histoplasmosis (35). Los títulos basales CrAg se correlacionan con la carga fúngica y tienen valor pronóstico en la meningitis criptocócica, sin embargo, no es útil realizar seguimiento seriado de para evaluar la respuesta al tratamiento ya que la eliminación del antígeno es lenta y poco predecible (3).

## **Tratamiento**

### **Meningoencefalitis**

#### **Paciente con infección por VIH**

Terapia primaria: inducción y consolidación

- Anfotericina B deoxicolato 0.7-1.0 mg/kg intravenosos (IV) por día + flucitosina 100 mg/kg por día vía oral (VO) dividido en 4 dosis por al menos dos semanas, seguido por fluconazol 800 mg por día VO (6 mg/kg) por mínimo 8 semanas (36).
- Alternativas para sustituir la Anfotericina B deoxicolato en pacientes con predisposición a la disfunción renal: Anfotericina B liposomal 3-4 mg/kg IV por día y anfotericina B complejo lipídico 5 mg/kg IV por día, por al menos 2 semanas (36).

Alternativas para la inducción y consolidación

- Anfotericina B deoxicolato 0.7-1 mg/kg IV por día, anfotericina B liposomal 3-4 mg/kg IV día o anfotericina B complejo lipídico 5 mg/kg IV día por 4 a 6 semanas (36). Anfotericina B liposomal puede darse de forma segura a dosis de 6 mg/kg IV día en meningoencefalitis criptocócica y podría considerarse en falla terapéutica o alta carga fúngica (36).

- Anfotericina B deoxicolato 0.7-1 mg/kg IV por día + fluconazol 800 mg VO día por 2 semanas, seguido de fluconazol 800 mg VO día por un mínimo de 8 semanas (36).
- Fluconazol  $\geq$ 800 mg VO día (se prefiere 1200 mg VO día ) + flucitosina 100 mg/kg VO día por 6 semanas (36).
- Fluconazol 800-2000 mg VO día por 10-12 semanas; se prefiere una dosis  $\geq$ 1200 mg por día si se administra fluconazol solo (36).
- Itraconazol. 200 mg cada 12 horas VO día por 10-12 semanas, aunque se desaconseja el uso de este agente (36).

Recientes ensayos clínicos realizados en países africanos han aportado nueva evidencia acerca de la posibilidad de utilizar dosis menores de anfotericina B en la inducción para limitar los efectos adversos de éste fármaco, reducir los costos y acortar la duración de la estancia hospitalaria, los resultados son prometedores por lo que podrían constituir el estándar de manejo en los próximos años (37,38,39).

- Anfotericina B liposomal 10 mg/kg IV dosis única + flucitosina 100 mg/kg/día VO y fluconazol 1200 mg día VO por 14 días (37).
- Anfotericina B deoxicolato 1 mg/kg/día IV + flucitosina 100 mg/kg/día por 7 días + fluconazol 1200 mg VO día por 7 días (38).

#### Mantenimiento y terapia profiláctica

- Fluconazol 200 mg VO día (36).
- Itraconazol 200 mg cada 12 horas VO día (36).
- Anfotericina B deoxicolato 1 mg/kg IV por semana; menos efectivo que los azoles y se asocia a infecciones relacionadas con el catéter; uso en pacientes intolerantes a azoles (36).
- Considerar suspender la terapia supresora en pacientes que usan tratamiento antirretroviral (TAR) con linfocitos T CD4  $>$ 100 cel/ $\mu$ L y carga viral indetectable o muy baja de forma sostenida  $\geq$ 3 meses (mínimo 12 meses de terapia antifúngica); considerar el reinicio de la terapia de mantenimiento si los CD4 descienden por debajo de 100 cel/ $\mu$ L (36).
- En pacientes asintomáticos con antigenemia debe realizarse estudio de LCR y cultivos; si es positivo dar tratamiento como se indicó antes (36). Si se descarta tratar con fluconazol 400 mg VO día hasta que exista reconstitución inmune (36).

## **Receptores de trasplante de órgano**

### **Enfermedad en sistema nervioso central**

- Anfotericina B liposomal 3-4 mg/kg IV día o anfotericina B complejo lipídico 5 mg/kg IV + flucitosina 100 mg/kg día dividido en 4 dosis por al menos dos semanas para la inducción, seguido de fluconazol 400-800 mg VO día (6-12 mg/kg por día) por 8 semanas y fluconazol 200-400 mg VO día por 6 a 12 meses (36). Si la inducción no incluye flucitosina se debe considerar administrar anfotericina B en forma lipídica por al menos 4-6 semanas, preferir anfotericina B liposomal a dosis 6mg/kg IV día en alta carga fúngica o recaída (36).

### **Enfermedad leve a moderada fuera del sistema nervioso central**

- Fluconazol 400 mg (6mg/kg) por día de 6 a 12 meses (36).

### **Enfermedad moderadamente grave a grave fuera del sistema nervioso central o enfermedad diseminada (>1 sitio no contiguo)**

- Tratar igual que en enfermedad del sistema nervioso central (36).

Debe continuarse terapia de mantenimiento con fluconazol por al menos 6-12 meses (36).

Debe considerarse reducir la inmunosupresión iniciando con la dosis de esteroides (36).

La anfotericina B deoxicolato no es la primera elección por el riesgo de nefrotoxicidad en receptores de trasplante (36).

## **No infectado con VIH, no trasplantado**

- Anfotericina B deoxicolato 0.7-1 mg/kg IV día + flucitosina 100 mg/kg VO día dividido en 4 dosis por al menos 4 semanas para la terapia de inducción. La inducción de 4 semanas se reserva para personas con meningoencefalitis sin complicaciones neurológicas y cultivo de LCR negativo después de 2 semanas de tratamiento. En pacientes con complicaciones neurológicas se debe considerar extender la terapia de inducción por 6 semanas en total. Evaluar la toxicidad de la anfotericina B deoxicolato para sustituirla a la segunda semana por forma lipídica. Después iniciar la consolidación con fluconazol 400 mg día por 8 semanas (36).

- Si la flucitosina no es administrada o es interrumpida debe considerarse prolongar la terapia de inducción con anfotericina B por al menos dos semanas (36).
- Pacientes con bajo riesgo de falla terapéutica (diagnóstico temprano, sin enfermedad subyacente no controlada o inmunosupresión, buena respuesta clínica al ciclo inicial de 2 semanas) puede considerarse inducción de 2 semanas con combinación de anfotericina B + flucitosina, seguido de consolidación con fluconazol 800 mg día (12 mg/kg) VO por 8 semanas (36).
- Después de la terapia de inducción y consolidación, iniciar terapia de mantenimiento con fluconazol 200 mg (3mg/kg) día VO por 6-12 meses (36).

## **Complicaciones**

### **Persistencia**

- Evaluar que se hayan tomado medidas para mejorar el sistema inmune (inicio de TAR, ajuste de inmunosupresores) (36).
- Reiniciar fase de inducción por un tiempo mayor (4-10 semanas) (36).
- Considerar aumentar la dosis de anfotericina B si se usó la dosis en el límite inferior sugerido (36).
- En pacientes intolerantes a polienos considerar fluconazol  $\geq 800$  mg VO día + flucitosina 100 mg/kg VO día dividido en 4 dosis (36).
- En pacientes intolerantes a flucitosina considerar anfotericina B + fluconazol (36).
- Revisar si existió cambio en la concentración mínima inhibitoria (CIM) respecto a la cepa original,  $\geq 3$  diluciones de diferencia sugieren el desarrollo de resistencia. Una CIM  $\geq 16$   $\mu\text{g/ml}$  para fluconazol o  $\geq 32$   $\mu\text{g/ml}$  para flucitosina debe considerarse resistente (36).

### **Recaída**

- Reiniciar la fase de inducción y verificar la susceptibilidad de la cepa (36).
- Después de la fase de inducción y verificar la susceptibilidad in vitro, considerar terapia de salvamento con fluconazol 800-1200 mg VO día, Voriconazol 200-400 mg cada 12 horas VO día, posaconazol 200 mg VO 4 veces al día o 400 mg cada 12 horas al día por 10-12 semanas (36).

### **Manejo de la presión intracraneal**

Obtener la presión de apertura basal en todos los pacientes, la hipertensión intracraneal es común durante la fase temprana de la terapia, el tratamiento incluye la punciones lumbares seriadas (diaria hasta que la presión se estabilice >2 días), inserción de drenaje lumbar, ventriculostomía o derivación ventriculoperitoneal si se desarrolla hidrocefalia obstructiva (3). Otras estrategias no están recomendadas (3).

### **Síndrome de reconstitución inmune (IRIS)**

- No debe alterarse la terapia antifúngica (36).
- No se requiere intervención específica para tratar las manifestaciones leves de IRIS (36).
- Cuando existan complicaciones mayores como inflamación en sistema nervioso central con aumento de la presión intracraneal, considerar esteroides a dosis de 0.5-1 mg/kg día de prednisolona o equivalente, pueden usarse dosis mayores de dexametasona cuando existan signos o síntomas graves en sistema nervioso central (36).
- El curso de esteroides debe administrarse de forma concomitante con el antifúngico (36).
- Retrasar el inicio de la terapia antirretroviral al menos 4 semanas (3).

### **Criptocomas cerebrales**

- Inducción con anfotericina B deoxicolato 0.7-1 mg/kg IV día, anfotericina B liposomal 3-4 mg/kg IV día o anfotericina B complejo lipídico 5 mg/kg día IV + flucitosina 100 mg/kg VO día dividido en 4 dosis por al menos 6 semanas (36).
- Consolidación y mantenimiento con fluconazol 400-800 mg VO día por 6 a 18 meses (36).
- Esteroides cuando exista efecto de masa y edema circundante (36).
- Cirugía en lesión  $\geq 3$  cm, lesiones accesibles con efecto de masa, lesiones con aumento de tamaño que no sea explicado por IRIS (estudio histológico) (36).

### **Criptococosis no meníngea**

#### **Compromiso pulmonar (inmunosuprimidos)**

- Síntomas leves a moderados, ausencia de infiltrados pulmonares difusos, ausencia de inmunosupresión grave y estudios para descartar enfermedad diseminada negativos: fluconazol 400 mg VO día por 6 -12 meses (36).
- Paciente con VIH que reciben TAR con CD4 >100 cel/ $\mu$ L y CrAg  $\leq$ 1:512 y/o no en incremento, considerar suspender el mantenimiento después de 1 año (35).
- Considerar cirugía para las lesiones que no respondan a la terapia antifúngica (36).

#### **Pulmonar (no inmunosuprimidos)**

- Síntomas leves a moderados, fluconazol 400 mg VO día por 6-12 meses. La persistencia de CrAg sérico no es indicación para prolongar la terapia (31).
- Enfermedad grave administrar el mismo tratamiento que en compromiso del sistema nervioso central (36).
- Si el fluconazol no disponible o contraindicado: Itraconazol 200 mg VO cada 12 horas, Voriconazol 200 mg cada 12 horas VO día o posaconazol 400 mg cada 12 horas VO día son alternativas razonables (36).
- Considerar cirugía para las lesiones que no respondan a la terapia antifúngica (36).

#### **No meníngeo no pulmonar**

- Criptococemia o enfermedad diseminada (dos sitios no contiguos o CrAg  $\geq$ 1:512) tratar como enfermedad en sistema nervioso central (36).
- Infección en sitio único con fungemia descartada y sin factores de riesgo para inmunosupresión: fluconazol 400 mg (6 mg/kg) VO día por 6 -12 meses (36).

### 3. Pregunta de investigación

¿Cuáles son las características sociodemográficas, clínicas y de laboratorio de los pacientes con infección por *Cryptococcus spp* atendidos en la Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología entre 2011 y 2021?

### 4. Objetivos

#### 4.1. Objetivo general

Caracterizar los factores sociodemográficos, clínicos y de laboratorio de pacientes con infección por *Cryptococcus spp* atendidos en la Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología en el periodo 2011-2021

#### 4.2. Objetivos específicos

1. Describir las características sociodemográficas de la población.
2. Caracterizar las principales formas clínicas de infección por *Cryptococcus spp*.
3. Describir los signos y síntomas más frecuentes en la infección por *Cryptococcus spp*.
4. Detallar los principales hallazgos paraclínicos e imagenológicos de los pacientes con infección por *Cryptococcus spp*.
5. Caracterizar las principales complicaciones asociadas a la infección por *Cryptococcus spp*.
6. Describir la sensibilidad de *Cryptococcus neoformans* a los antifúngicos de primera línea para tratamiento.
7. Comparar las características clínicas de la infección por *Cryptococcus spp* entre pacientes con infección por virus de inmunodeficiencia humana y pacientes sin esta condición.

## 5. Metodología

5.1. *Tipo y diseño de estudio*: Estudio observacional descriptivo, tipo serie de casos

### 5.2. *Población*

- *Población de referencia*: Pacientes con infección por *Cryptococcus spp* confirmada por métodos microbiológicos directos o inmunodiagnóstico.
- *Población objetivo*: Pacientes con infección por *Cryptococcus spp* en la Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología el periodo del 1 de enero de 2011 al 31 de diciembre de 2021
- *Población accesible*: Pacientes con infección por *Cryptococcus spp* en la Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología el periodo del 1 de enero de 2011 al 31 de diciembre de 2021

### 5.3. *Tamaño de muestra*

No se calculará un tamaño de muestra, se incluirán todos los pacientes que cumplen con los criterios de inclusión para ser caso.

### 5.4. *Criterios de selección*

#### 5.4.1. *Criterios de inclusión*

- Mayores de 18 años
- Infección confirmada por *Cryptococcus spp* por métodos microbiológicos directos o inmunodiagnóstico

#### 5.4.2. *Criterios de exclusión*

- Datos incompletos en la historia clínica

### 5.5. *Variables*

#### 5.5.1. *Variables dependientes*

No aplica dado que el diseño es descriptivo sin variable desenlace

#### 5.5.2. *Variables independientes*

No aplica dado que el diseño es descriptivo sin variables de exposición

Tabla 1. Definición de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Escala	Unidad de medida
Fecha de ingreso	Fecha en la que el paciente consulta por primera vez por el cuadro clínico que deriva en el diagnóstico de interés	Cuantitativa	Nominal	Día/mes/año
Fecha de diagnóstico	Fecha en la que se confirma diagnóstico de Criptococosis	Cuantitativa	Continua	Día/mes/año
Edad del paciente	Edad en años cumplidos al momento del diagnóstico	Cuantitativa	Discreta	Años
Sexo	Sexo del paciente	Cualitativa	Nominal	Masculino Femenino
Talla	Medida de la estatura	Cuantitativa	Continua	Metros
Peso	Medición de masa corporal del paciente	Cuantitativa	Continua	Kilogramos
Índice de masa corporal	Relación entre el peso y la talla	Cuantitativa	Continua	Kilogramos/ metro <sup>2</sup>
Infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH)	Infección confirmada por VIH	Cualitativa	Nominal	SI NO
Conteo de linfocitos T CD4	Última medición de linfocitos T en sangre	Cuantitativa	Continua	Células
Carga viral	Última medición de carga viral de VIH	Cuantitativa	Continua	Copias
Antiretrovirales	Uso actual de medicamentos antiretrovirales para VIH	Cualitativa	Nominal	SI NO
Tipo de terapia antiretroviral (TAR)	Medicamentos que usa para el tratamiento contra el VIH	Cualitativa	Nominal	TDF/FTC + EFV TDF/FTC+ RAL TDF/FTC+DTG AZT/3TC+EFV TDF/FTC+ATV/r ABC/3TC+RAL ABC/3TC+DTG ABC/3TC+DRV/r AZT/3TC+LPV/r AZT/3TC+ATV/r
Estatus de TAR al ingreso	Pacientes que venían recibiendo TAR al momento del diagnóstico	Cualitativa	Nominal	SI NO

Estatus de TAR al egreso	Pacientes que venían recibiendo TAR al egreso hospitalario	Cualitativa	Nominal	SI NO
Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)	HBA1C 6.5% >200 mg/dl Post-carga o toma al azar aleatorio > 126 en ayunas Antecedente conocido	Cualitativa	Nominal	SI NO
Control de DM2	Enfermedad controlada	Cualitativa	Nominal	SI NO
Trasplante órgano sólido (SOT)	Antecedente de recepción de trasplante órgano sólido	Cualitativa	Nominal	SI NO
Tipo SOT	Tipo de órgano recibido	Cualitativa	Nominal	Riñón Hígado Pulmón Corazón
Cirrosis	Antecedente conocido de cirrosis hepática	Cualitativa	Nominal	SI NO
Esquema inmunosupresor en trasplante	Fármacos inmunosupresores usados en el posquirúrgico inmediato	Cualitativa	Nominal	Cort CyA-Cort CyA-MMF/MPA CyA-MMF/MPA-Cort MMF/MPA MMF/MPA-Cort Tac Tac-Cort Tac-MMF/MPA Tac-MMF/MPA-Cort Tac-Otro anti metabolito-Cort Tac-Siro/Evero-Cort
Clasifican de cirrosis por Child Pugh	Sistema de estadificación usado para evaluar el pronóstico de la enfermedad hepática crónica	Cualitativa	Ordinal	Grado A: Enf. compensada 5-6 Grado B: Compromiso funcional 7-9 Grado C: Enf. descompensada 10-15
Uso de esteroides	Recibe terapia con esteroides	Cualitativa	Nominal	SI NO
Tiempo de uso de esteroides	Duración de la terapia con esteroides	Cualitativa	Discreta	<1 mes 1-3 meses 3-6 meses >6 meses
Dosis de esteroide	Dosis total diaria de esteroide en equivalente de prednisolona	Cuantitativa	Discreta	Hasta 5 mg 6-10 mg >10 mg
Enfermedad renal crónica (ERC)	Tasa de filtración glomerular (TFG) calculada <60 ml/min calculado por CKD-EPI	Cualitativa	Nominal	SI NO

				3A
Estadio de ERC	Clasificación de ERC de acuerdo a la TFG	Cualitativo	Ordinal	3B
				4
				5
Enfermedad autoinmune	Diagnóstico de enfermedad Inmunomediada	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Tumor sólido	Existencia de tumor sólido	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Malignidad hematológica	Existencia de malignidad hematológico	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Cefalea	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Fiebre	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Náusea y/o vómito	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Alteración de la conciencia	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Signos menígeos	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Tos	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Alteraciones visuales	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Hipertensión intracraneal	Presencia durante al momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Crisis convulsiva	Presencia durante el momento de la consulta	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Coinfección	Presencia de otra infección concomitante	Cualitativa	Nominal	Bacteriana
				Viral
				Fúngica
				Parasitaria
Muerte	Fallecimiento del paciente durante la hospitalización	Cualitativa	Nominal	SI
				NO
Estancia hospitalaria	Duración total de la hospitalización	Cuantitativa	Continua	Tiempo en días

Resistencia a Anfotericina B	Concentración inhibitoria mínima >1 µg/ml	Cualitativa	Nominal	SI NO
Resistencia fluconazol	≥16 µg/ml	Cualitativa	Nominal	SI NO
Esquema usado en la inducción	Medicamentos antifúngicos usados en la fase de inducción	Cualitativa	Nominal	Anfotericina B+ flucitosina Anfotericina B + fluconazol Anfotericina B monoterapia Fluconazol monoterapia Otro
Tipo de anfotericina B	Forma farmacéutica de la anfotericina B	Cualitativa	Nominal	Deoxicolato Liposomal
Resistencia a flucitosina	≥32 µg/ml	Cualitativa	Nominal	SI NO
Tiempo de inducción	Tiempo en semanas de duración de la fase de inducción del tratamiento	Cuantitativa	Discreta	2 semanas 2-4 semanas >4 semanas
Forma clínica	Localización anatómica de la infección	Cualitativa	Nominal	Sistema nervioso central Pulmón Piel Enfermedad diseminada Otro
Hallazgos radiológicos en tórax	Hallazgo predominante en imagen de tórax	Cualitativa	Nominal	Nódulos Consolidación Cavidad Derrame pleural Normal Otro
Hallazgos radiológicos en sistema nervioso central	Hallazgo predominante en imagen de tórax	Cualitativa	Nominal	Lesión focal Realce Meníngeo Signos de hipertensión endocraneana Signos de isquemia cerebral Normal Otro
Cultivo	Resultado de cultivo para hongos	Cualitativa	Nominal	Positivo Negativo
Lugar de procedencia del cultivo	Muestra a partir de la cual se obtuvo el cultivo	Cualitativa	Nominal	Sangre Líquido cefalorraquídeo LCR + otra muestra Lavado broncoalveolar Otra muestra
Antígeno capsular	Título de antígeno de antígeno capsular	Cualitativa	Nominal	Positivo Negativo

Lugar de procedencia del antígeno	Muestra a partir de la cual se obtuvo el antígeno	Cualitativa	Nominal	Sangre Líquido cefalorraquídeo
Biopsia	Lugar de obtención de la muestra (Si se realizó biopsia para confirmar el diagnóstico)	Cualitativa	Nominal	Pulmón Piel
PCR en LCR	Reacción en cadena de la polimerasa en líquido cefalorraquídeo	Cualitativa	Nominal	Positivo Negativo
ADA en LCR	Resultado de adenosin deaminasa realizada en líquido cefalorraquídeo	Cuantitativa	Discreta	Valor obtenido
Proteínas en LCR	Resultado de las proteínas en líquido cefalorraquídeo	Cuantitativa	Discreta	Valor obtenido
Leucocitos en LCR	Resultado de leucocitos en líquido cefalorraquídeo	Cuantitativa	Discreta	Valor obtenido
Glucosa en LCR	Resultado de glucosa en líquido cefalorraquídeo	Cuantitativa	Discreta	Valor obtenido
Hospitalización	Lugar de estancia	Cualitativa	Nominal	Unidad de cuidados intensivos Urgencias Hospitalización general

## 5.6. Hipótesis

### 5.6.1. Hipótesis nula

No aplica dado que el diseño es descriptivo

### 5.6.2. Hipótesis alterna

No aplica dado que el diseño es descriptivo

## 5.7. Plan de análisis

La información se analizará de acuerdo con la naturaleza de las variables, para las variables cualitativas se utilizarán las medidas de frecuencia absoluta y relativa, para las variables cuantitativas se utilizarán medidas de tendencia central y dispersión. La definición de las medidas se realizará en función de su comportamiento relacionado con la normal estándar, la normalidad se comprobará mediante la prueba de Shapiro wilk. Se realizará comparación cruda de las características clínicas entre pacientes infectados y no infectados por VIH mediante diferencia de proporciones o medias según la naturaleza de la variable.

La información se presentará en tablas y gráficas de acuerdo con la utilidad; el análisis se realizará con SPSS v28.

#### *5.8. Proceso de recolección de la información*

Se realizó una búsqueda de pacientes a partir de las pruebas positivas de Antígeno para *Cryptococcus* y PCR multiplex en LCR positivas para *Cryptococcus* en Athenea; los cultivos positivos para *Cryptococcus* en la plataforma WHONET y los CIE-10 B450 (criptococosis pulmonar), B451 (criptococosis cerebral), B452 (criptococosis cutánea), B453 (criptococosis ósea), B457 (criptococosis diseminada), B459 (criptococosis, no especificada) y B458 (otras formas de criptococosis) en el sistema de historia clínica Servinte.

Se analizó la información consignada en la historia clínica automatizada en el sistema Servinte de la Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología, los resultados de laboratorio incluidos en el sistema Athenea y las imágenes diagnósticas con sus respectivos reportes en el sistema Xero. Se recolectaron los datos correspondientes a las variables propuestas y fueron incluidos en una tabla de Excel; dicha información se almacenó en un solo computador propiedad del investigador principal que será responsable del manejo y la seguridad de los datos, será guardada durante el periodo de ejecución del estudio y un año posterior a la finalización, posteriormente será devuelta al servicio o a quien se designe para dicha actividad.

### **5.9 Control de sesgos**

#### *5.9.1 Sesgos de selección*

Se utilizaron todos los individuos que cumplieran los criterios de inclusión. Inferencia aplica a los sujetos.

#### *5.9.2 Sesgo de información*

No hubo acción por parte del investigado, se asume que la información consignada en la historia clínica es verdadera y se recolectó de forma objetiva en el acto médico.

Por parte del investigador se utilizó toda la información posible, guiado por los criterios de inclusión, sin predilección por ningún tipo de paciente.

#### *5.9.3 Sesgos del instrumento*

Se asumen las limitaciones de la historia clínica, la cual no está diseñada como herramienta de investigación y no asegura la veracidad absoluta de la información, sin embargo, se diseñó un instrumento para recolectar de forma objetiva los datos, y se realizó un control de calidad del 10% de la información para verificar la concordancia respecto a la historia clínica.

## **6. Aspectos éticos**

El estudio se realizó dentro de los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos según la Declaración de Helsinki - 64<sup>a</sup> Asamblea General, Fortaleza, Brasil, Octubre 2013 (40).

Se tuvo en cuenta las regulaciones locales del Ministerio de Salud de Colombia Resolución 8430 de 1993 en lo concerniente al Capítulo I “De los aspectos éticos de la investigación en seres humanos” (41), se limitará el acceso de los instrumentos de investigación únicamente a los investigadores según Artículo 8 de esta Resolución.

La presente investigación es clasificada dentro de la categoría riesgo mínimo, por lo anterior se consideró que este proyecto fuera eximido de consentimiento informado ya que se trata de un análisis retrospectivo de datos consignados en la historia clínica, no involucra modificaciones a los planes de estudio o tratamiento en los pacientes y se contempla completo anonimato de los datos.

Todos los integrantes del grupo de investigación estarán prestos a dar información sobre el estudio a entes organizados, aprobados e interesados en conocerlo siempre y cuando sean de índole académica y científica, preservando la exactitud de los resultados y haciendo referencia a datos globales y no a pacientes o instituciones en particular.

Todos los datos y registros generados durante este estudio se mantendrán confidenciales de acuerdo con las políticas institucionales sobre la privacidad del sujeto y se mantendrán bajo el sistema de custodia institucional. Los investigadores no utilizarán los registros para ningún otro propósito que no sea la realización del estudio de investigación, los datos serán almacenamientos durante el periodo de ejecución del estudio y un año posterior a su finalización, posteriormente pasarán a custodia de la institución y se eliminará cualquier copia digital que repose en dispositivos de uso personal de los investigadores.

El estudio se realizará con un manejo estadístico imparcial y responsable. No existe ningún conflicto de interés por parte de los autores del estudio que deba declararse.

## 7. Administración del proyecto

### 7.1. Cronograma

Actividades	Primer año				Segundo año			
	3	6	9	12	3	6	9	12
Planteamiento de la pregunta de investigación	X							
Presentación y aprobación de la pregunta de investigación		X						
Construcción del protocolo de investigación		X						
Revisión y ajustes del protocolo de investigación			X					
Aprobación por parte del comité de ética e investigaciones			X					
Recolección de información				X	X			
Análisis estadístico de datos						X		
Revisión y ajustes a cargo del tutor						X		
Informe final y conclusiones							X	

### 7.2. Presupuesto

Rubros	Descripción	Total
Recursos humanos	Honorarios investigadores	\$ 20'000.000
Materiales	Papel Carta 1 Resma, Tinta Impresora 1 Computadores portátiles, 6 esferos tinta negra, 2 cuadernos tamaño oficio	\$ 3'000.000
Recursos técnicos	Análisis estadísticos de datos. Traducción de texto final a segunda lengua para publicación en revista indexada.	\$ 3'500.000
Otros	Transporte y refrigerio de salidas para recolección de datos, gastos de publicación y gastos de presentación en un congreso nacional.	\$ 3'000.000
Total		\$ 29'500.000

## 8. Resultados

### Características sociodemográficas y clínicas de la población

Se identificaron 46 pacientes con diagnóstico de criptococosis confirmada por métodos microbiológicos o de inmunodiagnóstico en el periodo comprendido entre el 1 de enero de 2011 y el 31 de diciembre de 2021. El 78.3% de sexo masculino, una media de edad de 52 años y poco más de la mitad de con un índice de masa corporal normal (54.8%) (Tabla 1).

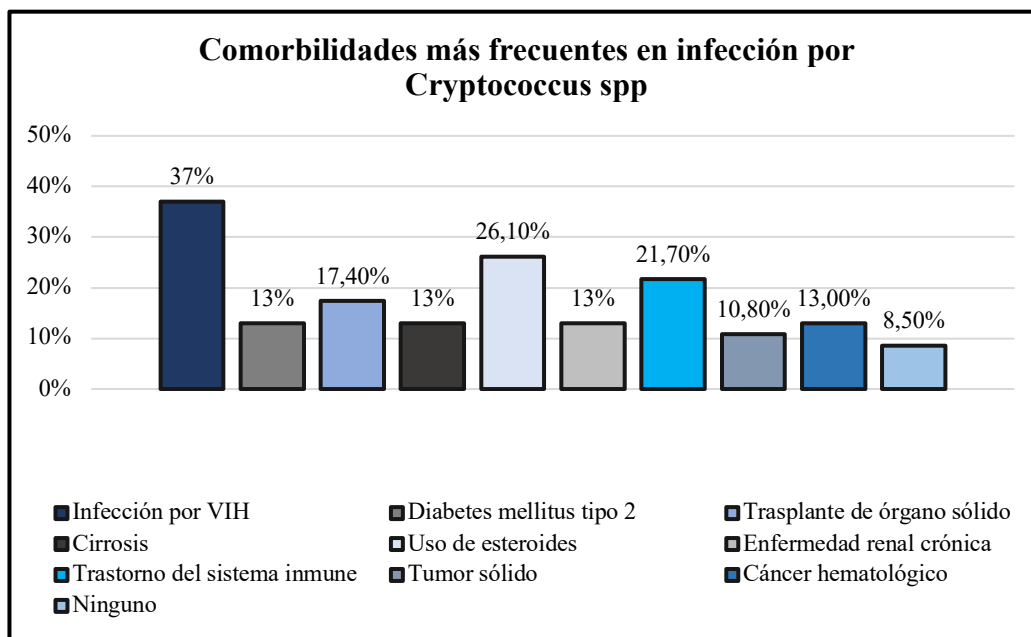
Tabla 1 Características demográficas

Características demográficas	
n = 46	
<b>Sexo</b>	
Hombre – n (%)	36 (78.3)
Mujer – n (%)	10 (21.7%)
<b>Edad (años)</b>	
Media	52
Rango	28-87
<b>IMC</b>	
Bajo peso – n (%)	7 (22.6%)
Normal – n (%)	17 (54.8)
Obesidad grado I – n (%)	2 (6.5%)
Sobrepeso – n (%)	5 (16.1%)

Las principales condiciones asociadas a la infección por *Cryptococcus spp* fueron en orden de frecuencia: infección por VIH (37%), uso de esteroides (26.1%), trastornos del sistema inmune (21.7%), trasplante de órgano sólido (17.4%), diabetes mellitus tipo 2, cirrosis, enfermedad renal crónica y malignidad hematológica comparten el quinto lugar con 13% y finalmente tumor sólido (10.8%), cabe resaltar que 4 pacientes (8.5%) no tenían ninguna enfermedad o trastorno del sistema inmunitario (Figura 1).

Los pacientes con infección por VIH tenían una media de linfocitos T CD4 de 66 cel/ul, alrededor del 60% presentaban conteos de menores a 50 cel/ul, cargas virales superiores a 100.000 copias/ml e iniciaron tratamiento antirretroviral previo al egreso hospitalario con esquemas que estaban recomendados como primera línea durante el periodo de estudio (Tabla 2).

**Figura 1 Comorbilidades más frecuentes**



**Tabla 2 Características clínicas de la población VIH positivo**

Infección por VIH – n (%)	17 (37)
<b>Conteo LTCD4+ (cel/uL)</b>	
Media (Rango)	66 (2-391)
<50 – n (%)	10 (62.5)
51-100 – n (%)	3 (18.8)
101-200 – n (%)	2 (12.5)
>200 – n (%)	1 (6.3)
<b>Carga viral (copias/ml)</b>	
Media (Rango)	229.572 (24-1'041.854)
<100.000 – n (%)	6 (40)
≥100.000 – n (%)	9 (60)
<b>Estatus de terapia antirretroviral</b>	
Uso de TAR al momento del diagnóstico de criptococosis – n (%)	2 (11.8)
Uso de TAR al egreso hospitalario – n (%)	10 (62.5)
<b>Terapia antirretroviral usada</b>	
TDF/FTC+EFV – n (%)	3 (30)
TDF/FTC+RAL – n (%)	3 (30)
TDF/FTC+DTG – n (%)	1 (10)
TDF/FTC+LPV/r – n (%)	1 (10)
ABC/3TC+EFV – n (%)	1 (10)
AZT/3TC+EFV – n (%)	1 (10)

El 83.3% de los pacientes con antecedente de diabetes mellitus tipo 2 estaban bien controlados; todos los receptores de trasplante de órgano sólido recibían esquemas inmunosupresores que incluían un inhibidor de calcineurina (tacrolimus), 62.5% usaban esteroides, 5 individuos eran receptores de hígado (62.5%) y 3 de riñón (37.5%), y 87.5% presentaron en infección en un periodo superior a 12 meses desde el trasplante. Dentro de los trastornos del sistema inmune se identificaron diversos tipos de enfermedad autoinmune e inmunodeficiencia primarias. El 23.8% de los pacientes presentaba algún tipo de neoplasia entre tumores sólidos y neoplasias hematológicas; entre los individuos que usaban esteroides, el 91.7% recibió la terapia por más de 6 meses, la mayoría de ellos a dosis menores de 10 mg día (Tabla 3).

**Tabla 3 Características clínicas de acuerdo a otras comorbilidades**

<b>Características clínicas según comorbilidad</b>	
<b>Diabetes mellitus tipo 2 – n (%)</b>	<b>6 (13)</b>
Controlada – n (%)	5 (83.3)
No controlada – n (%)	1 (16.7)
<b>Trasplante de órgano sólido – n (%)</b>	<b>8 (17.4)</b>
Tipo de órgano	
Hígado – n (%)	5 (62.5)
Riñón – n (%)	3 (37.5)
Tiempo desde trasplante	
6 – 12 meses – n (%)	1 (12.5)
> 12 meses – n (%)	7 (87.5)
Fármacos inmunosupresores	
Tac-Cort – n (%)	1 (12.5)
Tac-MMF/MPA – n (%)	3 (37.5)
Tac-MMF/MPA-Cort – n (%)	4 (50)
<b>Cirrosis – n (%)</b>	<b>6 (13)</b>
Child-Pugh	
Grado A – n (%)	0 (0)
Grado B – n (%)	5 (83.3)
Grado C – n (%)	1 (16.7)
<b>Uso de esteroides – n (%)</b>	<b>12 (26.1)</b>
Tiempo de uso (meses)	
<1 – n (%)	1 (8.3)
1-6 – n (%)	0 (0)
>6 – n (%)	11 (91.7)
Dosis (mg al día)	
>10 – n (%)	2 (16.7)
6-10 – n (%)	5 (41.7)
≤ 5 – n (%)	5 (41.7)

<b>Enfermedad renal crónica – n (%)</b>	<b>6 (13)</b>
<b>Estadio</b>	
3A – n (%)	1 (16.7)
3B – n (%)	2 (33.3)
4 – n (%)	2 (33.3)
5 – n (%)	2 (16.7)
<b>Trastorno del sistema inmune – n (%)</b>	<b>10 (21.7)</b>
Artritis reumatoide – n (%)	1 (10)
Colangitis biliar primaria + hepatitis autoinmune – n (%)	1 (10)
Colangitis esclerosante – n (%)	1 (10)
Colangitis esclerosante + colitis ulcerativa – n (%)	2 (20)
Inmunodeficiencia variable común – n (%)	1 (10)
LES + SAF – n (%)	1 (10)
LES + Sjögren – n (%)	1 (10)
Lupus cutáneo + Sjögren – n (%)	1 (10)
Hepatitis autoinmune – n (%)	1 (10)
<b>Tumor sólido</b>	<b>5 (10.8)</b>
Hepatocarcinoma – n (%)	2 (40)
Próstata – n (%)	1 (20)
Pulmón – n (%)	1 (20)
Carcinoma escamocelular – n (%)	1 (20)
<b>Malignidad hematológica – n (%)</b>	<b>6 (13)</b>
Gammapatía monoclonal – n (%)	1 (20)
Leucemia de células peludas – n (%)	1 (20)
Linfoma de células NK tipo nasal – n (%)	1 (20)
Linfoma no Hodgkin – n (%)	3 (50)
<b>Ninguno – n (%)</b>	<b>4 (8.5)</b>

### Principales manifestaciones y formas clínicas de la criptococosis

La manifestación clínica más frecuente fue la cefalea (48.9%), seguida por la alteración del estado de conciencia (40%), la hipertensión endocraneana (31.1%) y las crisis convulsivas; el 65.2% de los pacientes presentó meningoencefalitis, 10 pacientes cursaron con enfermedad diseminada (21.7%) y 4 (8.7%) compromiso pulmonar aislado (Tabla 4).

**Tabla 4 Manifestaciones y formas clínicas**

<b>Manifestaciones clínicas</b>	<b>n = 45</b>
Cefalea – n (%)	22 (48.9)
Fiebre – n (%)	7 (15.6)
Náuseas o vómito – n (%)	5 (11.1)
Alteración de la conciencia – n (%)	18 (40)
Signos meníngeos – n (%)	6 (13.3)
Tos – n (%)	4 (8.9)
Alteraciones visuales – n (%)	6 (13.3)
Hipertensión endocraneana – n (%)	14 (31.1)
Crisis convulsiva – n (%)	9 (20)

Formas clínicas	n = 46
Forma de presentación	
Meningoencefalitis – n (%)	30 (65.2)
Enfermedad diseminada – n (%)	10 (21.7)
Pulmonar – n (%)	4 (8.7)
Otro – n (%)	2 (4.3)
Colangitis – n (%)	1 (50)
Infección urinaria – n (%)	1 (50)

### Complicaciones asociadas a infección por *Cryptococcus spp*

Cerca de la mitad de los pacientes presentaron coinfecciones de diversas etiologías durante la hospitalización, siendo más frecuente el compromiso por enterobacterias y micobacterias (34.8%), 54.3% no desarrollaron ninguna coinfección a pesar de las condiciones de inmunosupresión de la mayoría de los pacientes (Tabla 5). La media de duración de la estancia hospitalaria fue de 31.5 días, el 21.7% de los individuos requirió atención en la unidad de cuidados intensivos y 10 pacientes fallecieron durante el curso de la hospitalización (Tabla 6).

**Tabla 5 Coinfecciones durante episodio de criptococosis**

Coinfección	n = 46
Bacteriana – n (%)	16 (34.8)
Episodios	n= 18
Artritis séptica – n (%)	1 (5.5)
Bacteriemia ( <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>S. mitis</i> ) – n (%)	4 (22.2)
Tuberculosis pulmonar – n (%)	2 (11.1)
Meningitis tuberculosa – n (%)	2 (11.1)
Tuberculosis ganglionar – n (%)	1 (5.5)
Bacteriascitis <i>L. garviae</i> – n (%)	1 (5.5)
Colangitis <i>E. cloacae</i> – n (%)	1 (5.5)
IVU ( <i>E. coli</i> -2, <i>P. mirabilis</i> ) – n (%)	3 (11.1)
Absceso cutáneo ( <i>S. marcescens</i> ) – n (%)	1 (5.5)
Osteomielitis maxilar inferior ( <i>C. freundii</i> y <i>E. cloacae</i> ) – n (%)	1 (5.5)
Neumonía	1 (5.5)
Fúngica – n (%)	3 (6.5)
Histoplasmosis – n (%)	1 (33.3)
Pneumocistosis pulmonar – n (%)	2 (66.7)
Viral – n (%)	2 (4.3)
Colitis por citomegalovirus – n (%)	2 (100)
Parasitaria – n (%)	0 (0)
Ninguna – n (%)	25 (54.3)

**Tabla 6 Estancia hospitalaria y muerte**

Características clínicas		n = 46
Lugar de hospitalización		
Hospitalización general – n (%)		36 (78.3)
Unidad de cuidado intensivo – n (%)		10 (21.7)
Días de hospitalización		
Media		31.5
Rango		1-120
<b>Muerte – n (%)</b>		<b>10 (21.7)</b>

### Tratamiento y susceptibilidad de *Cryptococcus spp* a los antifúngicos

El 62.2% de los pacientes recibieron como tratamiento terapia combinada con anfotericina B y flucitosina, 17.8% anfotericina B en monoterapia, 11.1% anfotericina B con fluconazol, 4.4% fluconazol en monoterapia y 4.4% otras terapias; entre la población que recibió anfotericina B, 53.8% se les administró la forma liposomal; la mayor proporción de individuos recibió la terapia de inducción por al menos 2 semanas (Tabla 7). Solo se realizó el procesamiento de la susceptibilidad a los antifúngicos en un pequeño grupo de pacientes (12 anfotericina B, 10 fluconazol y 3 flucitosina) sin identificar resistencia (Tabla 8)

**Tabla 7 Características del tratamiento**

Tratamiento		n = 45
Inducción		
Anfotericina B + flucitosina – n (%)		28 (62.2)
Anfotericina B + fluconazol – n (%)		5 (11.1)
Anfotericina B monoterapia – n (%)		8 (17.8)
Fluconazol monoterapia – n (%)		2 (4.4)
Otro – n (%)		2 (4.4)
Tipo de anfotericina B		
Deoxicolato – n (%)		18 (46.2)
Liposomal – n (%)		21 (53.8)
Tiempo de inducción (semanas)		
		n = 45
<2 – n (%)		1 (2.2)
2 – n (%)		20 (44.4)
2-4 – n (%)		17 (37.8)
>4 – n (%)		3 (6.7)
Muerte antes de completar inducción – n (%)		4 (8.9)

**Tabla 8 Concentración mínima inhibitoria**

MIC (µg/ml)	
Anfotericina B	n = 12
≤0.25 – n (%)	6 (50)
0.5 – n (%)	5 (41.7)
1 – n (%)	1 (8.3)
Fluconazol	n = 10
≤1 – n (%)	2 (20)
2 – n (%)	4 (40)
3 – n (%)	1 (10)
4 – n (%)	2 (20)
8 – n (%)	1 (10)
Flucitosina	n = 3
≤1 – n (%)	2 (66.7)
2 – n (%)	1 (33.3)

### Hallazgos paraclínicos e imagenológicos

En la mayoría de los pacientes el diagnóstico se realizó a partir de la positividad del antígeno capsular en líquido cefalorraquídeo (89.5%), solo se logró el aislamiento del hongo a través de cultivo en 23 pacientes (57.3%), todos correspondientes a *Cryptococcus neoformans* (1 paciente contaba con identificación extrainstitucional de *Cryptococcus gattii*); la muestra de obtención más común del cultivo nuevamente fue el LCR; 9 pacientes requirieron estudio histopatológico para la confirmación de la enfermedad (Tabla 9). Entre los individuos a quienes se les realizó imágenes de radiografía o tomografía pulmonar el hallazgo anormal más frecuente fue la presencia de nódulos (26.1%), por su parte, en las neuroimágenes predominaron los signos de isquemia cerebral (14.3%) y el realce meníngeo (11.4%) (Tabla 10).

**Tabla 9 Formas de diagnóstico**

Diagnóstico	
Cultivo	n = 40
Positivo – n (%)	23 (57.5)
Control a las 2 semanas	
Positivo – n (%)	1 (4.3)
Negativo – n (%)	14 (60.9)
No se tomó – n (%)	8 (34.8)
Muestra	
LCR – n (%)	33 (82.5)
LCR + otra muestra – n (%)	3 (7.5)
Lavado broncoalveolar – n (%)	1 (2.5)
Sangre – n (%)	1 (2.5)
Otra muestra – n (%)	2 (5)
Antígeno	n = 38

Positivo – n (%)	34 (89.5)
Muestra	
LCR – n (%)	34 (89.5)
LCR + sangre – n (%)	3 (7.8)
Sangre – n (%)	1 (3.7)
Biopsia	n = 9
Pulmón – n (%)	6 (66.7)
Piel – n (%)	1 (11.1)
Otro – n (%)	2 (22.2)

**Tabla 10 Características imagenológicas**

Imágenes	
Tórax	n = 39
Cavidad – n (%)	4 (10.3)
Nódulos – n (%)	12 (26.1)
Normal – n (%)	18 (39.1)
Otro – n (%)	5 (10.9)
Neuroimagen	n = 35
Lesión focal – n (%)	3 (8.6)
Realce meníngeo – n (%)	4 (11.4)
Signos de hipertensión endocraneana – n (%)	2 (5.7)
Signos de isquemia cerebral – n (%)	5 (14.3)
Normal – n (%)	14 (40)
Otros – n (%)	7 (20)

A 37 pacientes se les realizó estudio de líquido cefalorraquídeo que evidenció pleocitosis en el 65% (media 74 cel/mm<sup>3</sup>), hipogluorraquia en el 62.2% (media 36 mg/dl) e hiperproteorraquia en el 70.3% (media 134 mg/dl); para el estudio microbiológico se realizó coloración con tinta china en 36 pacientes con positividad del 55.6%, ADA en 30 pacientes con resultado superior a 5 en 8 pacientes (26.7%) y un valor máximo de 7.56, y panes de meningitis PCR multiplex en 11 individuos con positividad para *Cryptococcus neoformans/gattii* del 45.5% (Tabla 11).

**Tabla 11 Características del líquido cefalorraquídeo**

Estudio de LCR	
Tinta china	n = 36
Positivo – n (%)	20 (55.6)
PCR multiplex	n = 11
Positivo <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> – n (%)	5 (45.5)
ADA	n = 30
Media (Rango)	3.6 (0.91-7.56)
<5 – n (%)	22 (47.8)
≥5 – n (%)	8 (26.7)

Proteínas (mg/dl)	n = 37
Media (Rango)	134 (21-750)
<45 – n (%)	11 (29.7)
≥45 – n (%)	26 (70.3)
Leucocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	n = 37
Media (Rango)	74 (0-810)
<5 – n (%)	13 (35.1)
5-9 – n (%)	5 (13.5)
≥10 – n (%)	19 (51.4)
Glucosa (mg/dl)	n = 37
Media (Rango)	36 (5-136)
<40 – n (%)	23 (62.2)
≥40 – n (%)	14 (37.8)

### Infección por VIH vs otras comorbilidades

Al comparar las diferentes características sociodemográficas, clínicas y de laboratorio de acuerdo al estatus de infección por VIH se identificó que los pacientes sin compromiso retroviral presentan mayor afectación de mujeres, mayor porcentaje de pacientes con sobrepeso, menor frecuencia de cefalea y crisis convulsivas, más alteraciones de la radiografía de tórax con presencia de nódulos y cavitaciones, mayor frecuencia de coinfección bacteriana, más formas clínicas extrameníngicas y mayor cantidad de muertes al final de la hospitalización (Tabla 12).

**Tabla 12 Cuadro comparativo de pacientes de acuerdo al estatus de infección por VIH**

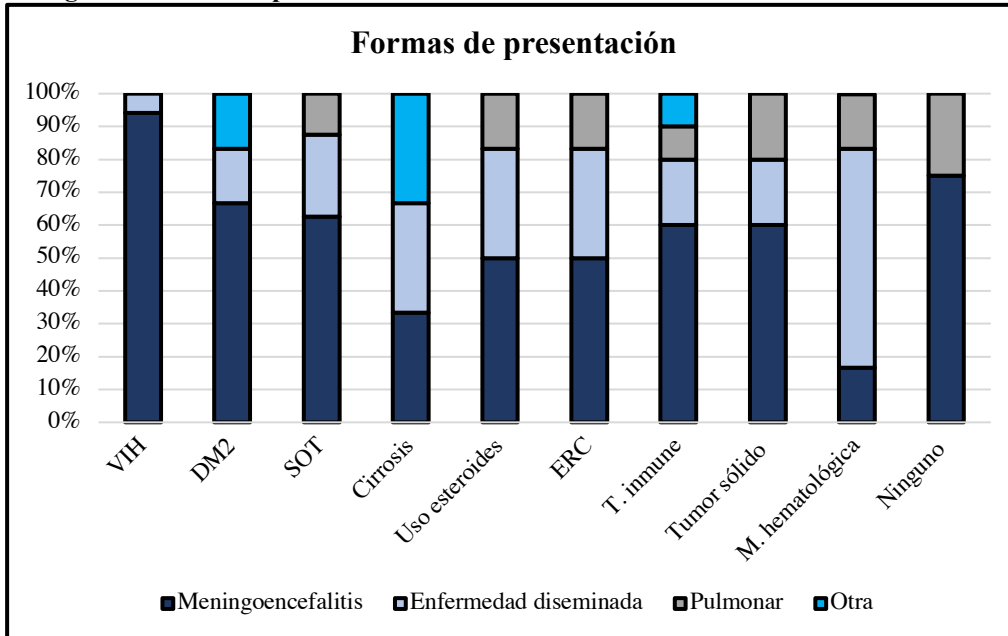
	VIH	No VIH	Valor de p
Sexo			<b>0.008</b>
Mujer – n (%)	0 (0)	10 (34.5)	
Hombre – n (%)	17 (100)	19 (65.5)	
IMC			<b>0.045</b>
Bajo peso – n (%)	5 (35.7)	2 (11.8)	
Normal – n (%)	8 (57.1)	9 (52.9)	
Sobrepeso – n (%)	0 (0)	5 (29.4)	
Obesidad grado I – n (%)	1 (7.1)	1 (5.9)	
Manifestaciones clínicas			
Cefalea – n (%)	12 (70.6)	10 (35.7)	<b>0.033</b>
Fiebre – n (%)	2 (11.8)	5 (17.9)	0.693
Náuseas/ vómito – n (%)	4 (14.3)	1 (5.9)	0.635
Alteración de la conciencia – n (%)	7 (41.2)	11 (39.3)	1.000
Signos meníngicos – n (%)	2 (11.8)	4 (14.3)	1.000
Tos – n (%)	3 (17.6)	1 (3.6)	0.144
Alteraciones visuales – n (%)	3 (17.6)	3 (10.7)	0.658
Hipertensión endocraneana – n (%)	8 (47.1)	6 (21.4)	0.101

Crisis convulsivas – n (%)	7 (41.2)	2 (7.1)	<b>0.017</b>
Imagen del tórax			<b>0.005</b>
Cavidad – n (%)	0 (0)	4 (18.2)	
Nódulos – n (%)	2 (11.8)	10 (45.5)	
Normal – n (%)	12 (70.6)	6 (27.3)	
Otro – n (%)	3 (17.6)	2 (9.1)	
Neuroimagen			0.221
Lesión focal – n (%)	3 (17.6)	0 (0)	
Realce meníngeo – n (%)	1 (5.9)	3 (16.7)	
Signos de hipertensión endocraneana – n (%)	1 (5.9)	1 (5.6)	
Signos de isquemia cerebral – n (%)	2 (11.8)	3 (16.7)	
Normal – n (%)	8 (47.1)	6 (33.3)	
Otros – n (%)	2 (11.8)	5 (27.8)	
Cultivo inicial positivo – n (%)	14 (56)	9 (60)	1.000
ADA			1.000
<5 – n (%)	10 (71.4%)	12 (75%)	
≥5 – n (%)	4 (28.6%)	4 (25%)	
Proteínas LCR			0.151
<45 – n (%)	7 (43.8%)	4 (19%)	
≥45 – n (%)	9 (56.3%)	17 (81%)	
Glucosa			0.515
<40 – n (%)	11 (68.8%)	12 (57.1%)	
≥40 – n (%)	5 (31.3%)	9 (42.9%)	
Leucocitos LCR			0.157
<5 – n (%)	4 (25%)	9 (42.9%)	
5-9 – n (%)	4 (25%)	1 (4.8%)	
≥10 – n (%)	8 (50%)	11 (52.4%)	
Coinfección			<b>0.010</b>
Bacteriana – n (%)	4 (23.5%)	12 (41.4%)	
Fúngica – n (%)	3 (17.6%)	0 (0)	
Viral – n (%)	2 (11.8%)	0 (0)	
Ninguna – n (%)	8 (47.1%)	17 (58.6%)	
Forma clínica			<b>0.005</b>
Meningoencefalitis – n (%)	16 (94.1%)	14 (48.3%)	
Enfermedad diseminada – n (%)	1 (5.9%)	9 (31%)	
Pulmón – n (%)	0 (0)	4 (13.8%)	
Otro – n (%)	0 (0)	2 (6.9%)	
Lugar de hospitalización			0.175
Hospitalización general – n (%)	15 (88.2%)	21 (72.4%)	
UCI – n (%)	2 (11.8%)	8 (27.6%)	
Muerte – n (%)	0 (0)	10 (34.5)	<b>0.008</b>

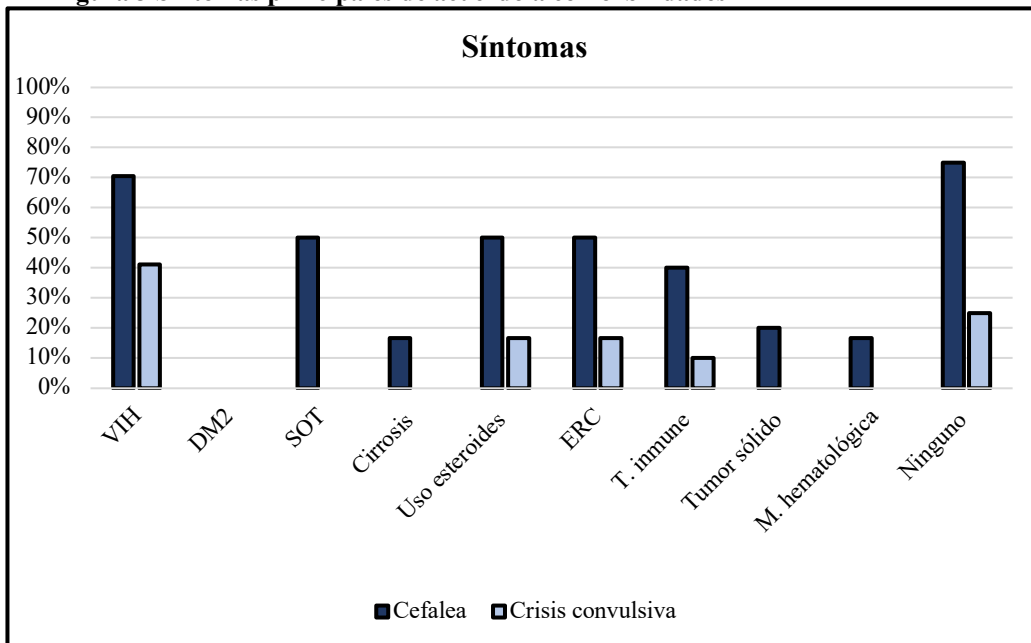
Al discriminar las diferentes comorbilidades de riesgo dentro de las variables que demostraron diferencias significativas, se identifica que los pacientes con malignidad hematológica tienen un predominio de formas diseminadas y entre los pacientes cirróticos resaltan las presentaciones de atípicas de criptococosis (colangitis e IVU) (Figura 2). Por su parte, la presencia de cefalea y crisis convulsivas se solapan con los grupos de riesgo que presentan predominio de formas meníngeas (Figura 3). Dentro de los hallazgos radiológicos en tórax, los individuos con enfermedad renal crónica y usuarios de esteroides muestran con mayor frecuencia cavitaciones, mientras que en la población con

malignidad hematológica predominan los nódulos (Figura 4). Respecto a las coinfecciones, se evidencia que el compromiso por otro agente fúngico o viral es exclusiva de la población con VIH en oposición con las otros grupos de riesgo donde sobresale la etiología bacteriana (Figura 5).

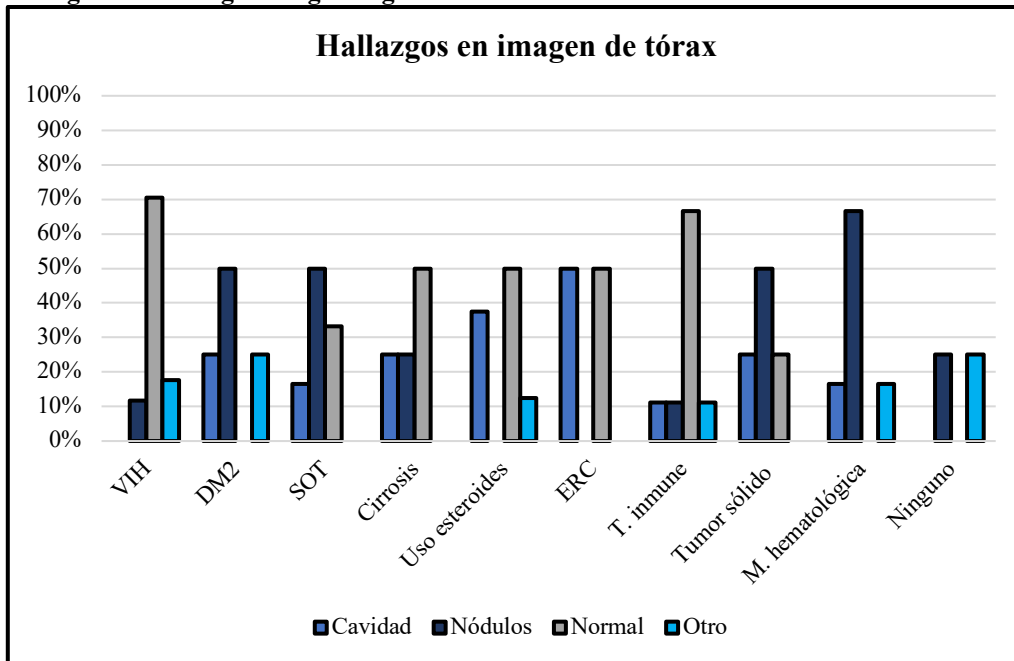
**Figura 2 Formas de presentación de acuerdo a las comorbilidades**



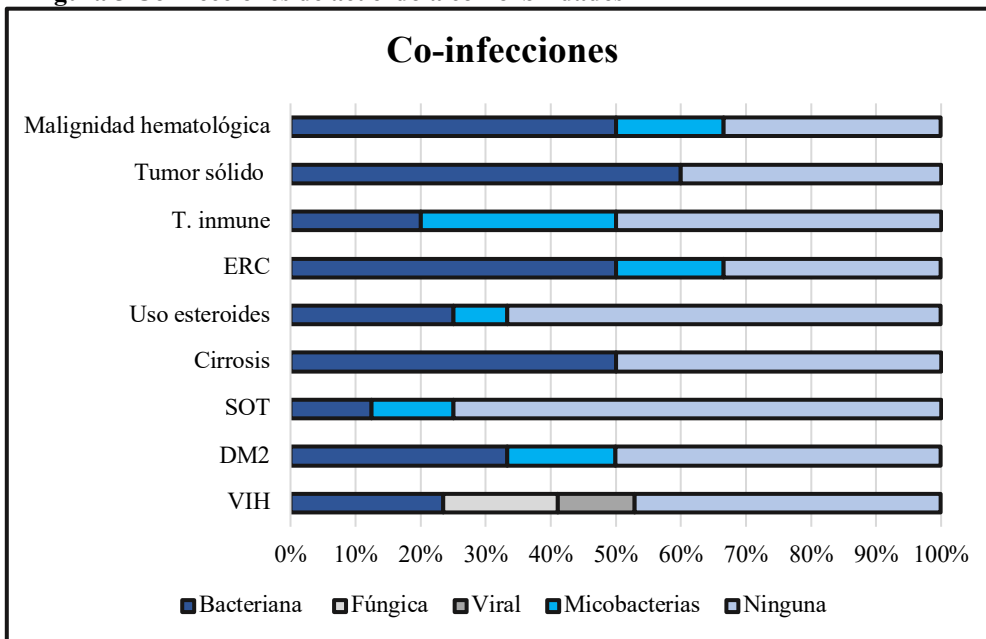
**Figura 3 Síntomas principales de acuerdo a comorbilidades**



**Figura 4 Hallazgos imagenológicos de acuerdo a comorbilidades**



**Figura 5 Coinfecciones de acuerdo a comorbilidades**



**Fallecidos**

Las principales características de los pacientes fallecidos en curso de la hospitalización se presentan en la tabla 13.

Tabla 13 Características de pacientes fallecidos

	Edad (años)	Factores de riesgo	Forma de presentación	Inducción	Tipo Anfotericina	Coinfección	Cuál	Estancia (días)	Lugar de hospitalización
1	28	Cirrosis (B) + uso esteroide + enfermedad autoinmune (HAI)	SNC	Anfotericina B+ flucitosina	Deoxicolato	NO	-	4	UCI
2	83	Enfermedad autoinmune (AR) + DM + uso esteroide + malignidad hematológica (LNH)	SNC	Anfotericina B+ flucitosina	Deoxicolato	Bacteriana	IVU <i>P. mirabilis</i>	26	Pisos
3	72	Tumor sólido (pulmón)	SNC	Anfotericina B+ flucitosina	Liposomal	Bacteriana	Neumonía	24	Pisos
4	76	Ninguno	SNC	Anfotericina B+ flucitosina	Deoxicolato	NO	-	8	UCI
5	30	Malignidad hematológica (LNH) + uso esteroide	Diseminada	Anfotericina B monoterapia	Deoxicolato	Bacteriana	Osteomielitis maxilar inferior <i>C. freundii</i> y <i>E. cloacae</i>	79	UCI
6	55	Ninguno	SNC	Anfotericina B+ flucitosina	Deoxicolato	NO	-	3	UCI
7	73	Cirrosis (C) + DM	Otro	Fallecido antes de inicio tratamiento		NO	-	1	UCI
8	67	Enfermedad autoinmune (LES/ SAF) + uso esteroide	SNC	Anfotericina B+ flucitosina	Deoxicolato	NO	-	75	UCI
9	63	Enfermedad autoinmune (CE/ EII:CU) + SOT (hígado)	SNC	Anfotericina B + fluconazol	Deoxicolato	NO	-	25	Pisos
10	84	Cirrosis (B) + enfermedad autoinmune (CE)	Otro	Anfotericina B monoterapia	Deoxicolato	Bacteriana	Colangitis <i>E. cloacae</i>	10	Pisos

HAI, Hepatitis autoinmune; AR, Artritis reumatoidea; LNH, Linfoma No Hodgkin; DM, diabetes mellitus; LES, Lupus eritematoso sistémico; SAF, Síndrome antifosfolípido; CE, colangitis esclerosante; EII: CU, Enfermedad inflamatoria intestinal: Colitis ulcerativa; SOT, trasplante de órgano sólido.

## Discusión

En este estudio la infección por VIH fue el principal factor predisponente para el desarrollo de criptococosis, tal como se ha descrito en otras poblaciones a nivel local y mundial (7,17); la serie está constituida de forma predominante por pacientes del sexo masculino, lo cual está influenciado sobre todo por un predominio de hombres entre la población con VIH (23). La media de edad se ubica hacia la sexta década de la vida, sin embargo, se observa una distribución heterogénea que incluye varios grupos etarios, lo

cual está determinado principalmente por la variedad de condiciones de inmunosupresión que funcionan como facilitadoras para el desarrollo de criptococosis.

Teniendo en cuenta que la inmunidad mediada por células T es la piedra angular en la defensa contra infecciones por *Cryptococcus spp* (15), no es sorprendente que las principales condiciones asociadas a esta enfermedad sean padecimientos que comprometen esta rama de la inmunidad, y a su vez, que exista un mayor número de personas afectadas cuanto mayor es la alteración de este componente: pacientes con VIH y conteo de LTCD4+ <50 cel/UL, trasplantados con regímenes inmunosupresores más citotóxicos, cirróticos con hepatopatía avanzada, uso de esteroides a mayor dosis y duración, nefropatía con TFG estimada < 45 ml/min/1.73m<sup>2</sup> y enfermedad neoplásica con predominio de cáncer hematológico.

Es importante destacar la presencia de 4 pacientes (8.5%) aparentemente inmunocompetentes y uno con infección por VIH controlada y conteo de LTCD4+ >200 cel/UL, aunque el *Cryptococcus* se comporta principalmente como un patógeno oportunista, es capaz de causar infección en cualquier individuo, especialmente la especie *C. gattii*, infortunadamente no se logró aislamiento microbiológico en más de la mitad de los pacientes de la serie, lo que limitó la adecuada caracterización de la especie. Adicionalmente, no se descarta la existencia de defectos inmunes no diagnosticados y poco sospechados (ej, anticuerpos anti factor estimulante de colonias granulocito-macrófago) (42).

La forma de presentación más frecuente de criptococosis dentro de la serie fue la meningoencefalitis, significativamente mayor al comparar personas que viven con VIH y pacientes con otras condiciones (p= 0.005). Uno de los principales factores de virulencia del *Cryptococcus spp* es la capacidad de sintetizar melanina a partir de L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) (5,6), este sustrato es abundante en el sistema nervioso central humano, la cual explica la frecuencia dominante de esta forma clínica (6,7). Como se mencionó antes, la severa depleción de linfocitos T CD4+ en pacientes con SIDA los ubica en una situación de particular vulnerabilidad frente a la multiplicación descontrolada del hongo (16). La mayoría de los pacientes presentaron al menos un signo o síntoma sugestivo de compromiso neurológico, con predominio significativo de cefalea y crisis convulsivas entre población con VIH (p = 0.033 y 0.017, respectivamente); los

signos de irritación meníngea estuvieron presentes tan solo en 6 individuos (13.3%), lo que pone de manifiesto el valor de una adecuada anamnesis y la necesidad de avanzar en estudios diagnósticos cuando existan otros indicios clínicos o de laboratorio, lo anterior con el objetivo de favorecer el diagnóstico precoz en población vulnerable.

La enfermedad diseminada fue significativamente más frecuente ( $p = 0.005$ ) entre pacientes VIH negativo, particularmente entre personas con malignidad hematológica; previamente se han descrito peores desenlaces en esta población comparada con personas que viven con VIH, no se conoce la causa, sin embargo, se presume que podría deberse al deterioro inmunológico, que suele ser irreversible, y al diagnóstico tardío por la baja sospecha (43). Se observó una mayor frecuencia de presentaciones clínicas atípicas (colangitis e infección urinaria) en pacientes con cirrosis, estos individuos además de tener disfunción de la inmunidad innata y adaptativa, presentan un shunt porto-sistémico del flujo sanguíneo que promueve la entrada intestinal de microorganismos y su diseminación a órganos abdominales (44).

Una notable cantidad de los pacientes presentaron otras infecciones durante el curso de la criptococosis, es importante destacar la presencia de otros gérmenes oportunistas (*Pneumocystis jirovecii*, citomegalovirus, *Toxoplasma gondii*), especialmente entre población con VIH, por lo que se resalta la conveniencia de completar el estudio diagnóstico a pesar de la confirmación de una infección que en apariencia puede explicar todo el cuadro clínico del paciente.

Respecto al diagnóstico, sobresale el valor del antígeno capsular como herramienta para la confirmación microbiológica, su alta sensibilidad y especificidad, y el reciente desarrollo de tecnologías “point of care” de fácil procesamiento y lectura lo convierten en una prueba indispensable para los centros que atienden población con factores de riesgo para criptococosis, su utilidad es visible en esta serie de casos ya que fue el marcador diagnóstico en casi la totalidad de los pacientes. Es fundamental destacar que la falta de anomalías del citoquímico del LCR, las imágenes diagnósticas y/o los cultivos no descartan la enfermedad, se identificó ausencia de pleocitosis, hipoglucoorraquia e hiperproteinoorraquia en 35.1%, 62.2% y 29.7% de los pacientes respectivamente, neuroimagen y radiología de tórax normales en cerca del 40% de los casos y cultivos negativos en 17 individuos, todos ellos tuvieron confirmación de la infección por otros métodos microbiológicos o histología. Dado que no se documentaron

casos aislados de criptococosis pulmonar en pacientes con VIH, es inequívoco el hallazgo de una diferencia significativa que demuestra mayores anormalidades en imágenes de tórax entre individuos con otras condiciones de inmunosupresión.

Alineado con las recomendaciones de tratamiento internacionales (15), se administró terapia de inducción combinada con anfotericina B y flucitosina durante 2 semanas en la mayoría de los sujetos, infortunadamente en Colombia no todas las instituciones de salud cuentan con disponibilidad de flucitosina debido a la no cobertura de este fármaco por parte del sistema general de seguridad social, por lo anterior debe hacerse uso de las alternativas terapéuticas que incluyen el uso de fluconazol y monoterapia con anfotericina.

Los pacientes con comorbilidades diferentes al VIH presentaron significativamente mayor mortalidad durante la estancia ( $p = 0.008$ ), y al observar sus características individuales es notable el predominio de compromiso meníngeo y una mayor gravedad determinada por la hospitalización en unidad de cuidado intensivo, también puede reconocerse un mayor uso de anfotericina B deoxicolato en estos individuos, sin embargo, la literatura disponible no apoya la existencia de inferioridad en la eficacia de este fármaco al compararlo con formas lipídicas (3). Es posible que estos resultados clínicos obedezcan al diagnóstico tardío debido a la menor sospecha de criptococosis en población no VIH.

### **Limitaciones**

El presente estudio incluye pacientes de un solo centro de alta complejidad por lo que los resultados pueden no ser extrapolables a otras poblaciones; durante el periodo de observación planteado evolucionaron los instrumentos de diagnóstico y la disponibilidad de diversos fármacos en Colombia para el tratamiento de la criptococosis, por lo anterior no todos los sujetos tuvieron acceso a herramientas como la PCR multiplex o las formas lipídicas de anfotericina B, lo que pudo impactar en los resultados clínicos. No se logró cumplir el objetivo de describir la susceptibilidad del *Cryptococcus spp* a los fármacos antifúngicos ya que se realizó el procesamiento de fungigrama en muy pocas muestras. Por otra parte, dado que la diferenciación entre las especies de *Cryptococcus* no es una práctica habitual en la clínica, no se realizó la remisión de las muestras a laboratorios de mayor complejidad para tal fin.

## **Conclusión**

A pesar de que la infección por VIH continúa siendo el principal factor predisponente para el desarrollo de infecciones por *Cryptococcus spp*, es fundamental no perder de vista otras condiciones de inmunosupresión que parecen asociarse con peores resultados clínicos, lo anterior resalta la importancia de reconocer tempranamente la enfermedad en poblaciones de alto riesgo y así posibilitar un tratamiento oportuno que permita mejorar los desenlaces.

## Referencias

1. Wang Y, Yang M, Xia Y, et al. Application and evaluation of nucleic acid sequence-based amplification, PCR and cryptococcal antigen test for diagnosis of cryptococcosis. *BMC Infect Dis*. 2021 Sep 29; 21 (1):1020
2. Chetchotisakd P, Govender N, Harrison T, et al. Guidelines for the diagnosis, prevention, and management of cryptococcal disease in HIV- infected adults, adolescents and children. Geneva: World Health Organization; 2018 Mar.
3. Maziarz E, Perfect J. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2016 March; 30(1): 179-206
4. May R, Stone N, Wiesner D, et al. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2016 Feb; 14(2): 106-17
5. Srikanta D, Santiago-Tirado F, Doering T. *Cryptococcus neoformans*: Historical curiosity to modern pathogen. *Yeast*. 2014 Feb; 31(2): 47-60
6. Zaragoza O. Basic principles of the virulence of *Cryptococcus*. *Virulence*. 2019 Dec;10(1): 490-501
7. Kwon-Chung K, Fraser J, Doering T, et al. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gatti*, the etiologic agents of cryptococcosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014 Jul 1; 4(7): a019760
8. Cherniak R, Jones RG, Reiss E. Structure determination of *Cryptococcus neoformans* serotype A- variant glucuronoxylomannan by <sup>13</sup>C-n.m.r-spectroscopy. *Carbohydr Res*. 1988; 172:113-138
9. Heiss C, Klitts JS, Wang Z, et al. The structure of *Cryptococcus neoformans* galactoxylomannan contains beta-D-glucuronic acid. *Carbohydr Res*. 2009; 344:915-920
10. Alspaugh JA. Virulence mechanisms and *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. *Fungal Genet Biol*. 2015 May;78:55-8
11. Chang YC, Kwon-Chung KJ. Complementation of a capsule-deficient mutation of *Cryptococcus neoformans* restores its virulence. *Mol Cell Biol*. 1994;14:4912–4919
12. Cordero RJ, Frases S, Guimaraes AJ, et al. Evidence for branching in cryptococcal capsular polysaccharides and consequences on its biological activity. *Mol Microbiol*. 2011;79:1101–1117
13. Ellerbroek PM, Ulfman LH, Hoepelman AI, et al. Cryptococcal glucuronoxylomannan interferes with neutrophil rolling on the endothelium. *Cell Microbiol*. 2004
14. Li SS, Mody CH. *Cryptococcus*. *Proc Am Thorac Soc*. 2010 May;7(3):186-96
15. Voelz K, May RC. Cryptococcal interactions with the host immune system. *Eukaryot Cell*. 2010 Jun;9(6):835-46.
16. Seagle EE, Williams SL, Chiller TM. Recent Trends in the Epidemiology of Fungal Infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2021 Jun;35(2):237-260.
17. Escandón, P., de Bedout, C., Lizarazo, J., Agudelo, C. I., Tobón, Ángela, Bello, S., Restrepo, Ángela, Castañeda, E., & para el Estudio de la Criptococosis, G. C. (2012). *Criptococosis en Colombia: resultados de la encuesta nacional, 2006-2010*. *Biomédica*, 32(3), 386-98
18. Informe de evento. Sivigila periodo epidemiológico XI, Instituto Nacional de Salud, Colombia, 2021. Disponible en <https://www.ins.gov.co/buscador/ eventos/Informesdeevento/VIH-SIDA%20PE%20XI%202021.pdf>

19. Lizarazo J, Escandón P, Agudelo CI, Firacative C, Meyer W, Castañeda E. Retrospective study of the epidemiology and clinical manifestations of *Cryptococcus gattii* infections in Colombia from 1997-2011. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Nov 20;8(11):e3272. doi: 10.1371/journal.pntd.0003272.
20. Cortés JA, Reyes P, Gómez C, Buitrago G, Leal AL; GREBO Group. Fungal bloodstream infections in tertiary care hospitals in Colombia. *Rev Iberoam Micol*. 2011 Apr-Jun;28(2):74-8. doi: 10.1016/j.riam.2010.12.002.
21. Escandón P, Lizarazo J, Agudelo CI, Castañeda E. Cryptococcosis in Colombia: Compilation and Analysis of Data from Laboratory-Based Surveillance. *J Fungi (Basel)*. 2018 Mar 1;4(1):32. doi: 10.3390/jof4010032.
22. Noguera MC, Escandón P, Arévalo M, García Y, Suárez LE, Castañeda E. Prevalence of cryptococcosis in Atlántico, department of Colombia assessed with an active epidemiological search. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019 Apr 25;52:e20180194. doi: 10.1590/0037-8682-0194-2018.
23. Situación del VIH y sida en Colombia 2021, Cuenta de alto costo, Fondo Colombiano de enfermedades de alto costo. Ministerio de salud y protección social, Ministerio de hacienda y crédito público, Colombia. Disponible en <https://cuentadealtocosto.org/site/publicaciones/situacion-del-vih-y-sida-en-colombia-2021/>
24. Setianingrum F, Rautemaa-Richardson R, Denning DW. Pulmonary cryptococcosis: A review of pathobiology and clinical aspects. *Med Mycol*. 2019 Feb 1;57(2):133-150.
25. Baughman RP, Rhodes JC, Dohn MN, Henderson H, Frame PT. Detection of cryptococcal antigen in bronchoalveolar lavage fluid: a prospective study of diagnostic utility. *Am Rev Respir Dis*. 1992 May;145(5):1226-9.
26. Kralovic SM, Rhodes JC. Utility of routine testing of bronchoalveolar lavage fluid for cryptococcal antigen. *J Clin Microbiol*. 1998 Oct;36(10):3088-9.
27. Liaw YS, Yang PC, Yu CJ, et al. Direct determination of cryptococcal antigen in transthoracic needle aspirate for diagnosis of pulmonary cryptococcosis. *J Clin Microbiol*. 1995;33(6):1588-1591. doi:10.1128/jcm.33.6.1588-1591.1995
28. Fisher KM, Montrieff T, Ramzy M, Koyfman A, Long B. Cryptococcal meningitis: a review for emergency clinicians. *Intern Emerg Med*. 2021 Jun;16(4):1031-1042.
29. Bicanic T, Harrison TS. Cryptococcal meningitis. *Br Med Bull*. 2005 Apr 18;72:99-118.
30. Noguchi H, Matsumoto T, Kimura U, Hiruma M, Kusuhara M, Ihn H. Cutaneous Cryptococcosis. *Med Mycol J*. 2019;60(4):101-107.
31. Singh N, Gayowski T, Wagener MM, et al. Clinical spectrum of invasive cryptococcosis in liver transplant recipients receiving tacrolimus. *Clin Transplant*. 1997; 11:66–70.
32. Larsen RA, Bozzette S, McCutchan JA, et al. Persistent *Cryptococcus neoformans* infection of the prostate after successful treatment of meningitis. California Collaborative Treatment Group. *Ann Intern Med*. 1989; 111:125–8.
33. Knoke M, Schwesinger G. One hundred years ago: the history of cryptococcosis in Greifswald. *Medical mycology in the nineteenth century*. *Mycoses*. 1994; 37:229–33.

34. Diamond RD, Bennett JE. Prognostic factors in cryptococcal meningitis. A study in 111 cases. *Ann Intern Med.* 1974 Feb;80(2):176-81
35. Negróni R. Cryptococcosis. *Clin Dermatol.* 2012 Nov-Dec;30(6):599-609.
36. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, Harrison TS, Larsen RA, Lortholary O, Nguyen MH, Pappas PG, Powderly WG, Singh N, Sobel JD, Sorrell TC. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis.* 2010 Feb 1;50(3):291-322.
37. Jarvis JN et al. Single-Dose Liposomal Amphotericin B Treatment for Cryptococcal Meningitis. *N Engl J Med.* 2022 Mar 24;386(12):1109-1120. doi: 10.1056/NEJMoa2111904.
38. Molloy SF, et al. ACTA Trial Study Team. Antifungal Combinations for Treatment of Cryptococcal Meningitis in Africa. *N Engl J Med.* 2018 Mar 15;378(11):1004-1017. doi: 10.1056/NEJMoa1710922.
39. Harrison TS, Lawrence DS, Mwandumba HC, Boulware DR, Hosseinipour MC, Lortholary O, Meintjes G, Mosepele M, Jarvis JN. How applicable is the single-dose AMBITION regimen for HIV-associated cryptococcal meningitis to high-income settings? *Clin Infect Dis.* 2022 Sep 27:ciac792. doi: 10.1093/cid/ciac792
40. Adoptada por la, 18a Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia junio 1964, y enmendada por la, 29a Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón octubre 1975, 35a Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia octubre 1983, 41a Asamblea Médica Mundial, Hong Kong septiembre 1989, et al. Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos – WMA – The World Medical Association [Internet]. 2014 [cited 2022 May 24]. Disponible <https://www.wma.net/es/politicas-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
41. República de Colombia ministerio de salud resolución No 008430 de 1993 (4 de octubre de 1993) [Internet]. [cited 2018 Sep 28]. Disponible:[http://www.urosario.edu.co/EMCS/Documentos/investigacion/resolucion\\_008430\\_1993/](http://www.urosario.edu.co/EMCS/Documentos/investigacion/resolucion_008430_1993/).
42. Stevenson B, Bundell C, Mulrennan S, McLean-Tooke A, Murray R, Bruschi A. The significance of anti-granulocyte-macrophage colony-stimulating factor antibodies in cryptococcal infection: case series and review of antibody testing. *Intern Med J.* 2019 Nov;49(11):1446-1450. doi: 10.1111/imj.14637
43. Nematollahi S, Dioverti-Prano V. Cryptococcal infection in haematologic malignancies and haematopoietic stem cell transplantation. *Mycoses.* 2020 Oct;63(10):1033-1046. doi: 10.1111/myc.13153
44. Zhou QH, Hu CQ, Shi Y, Wu FT, Yang Q, Guan J, Li AC, Chen Z. Cryptococcosis in patients with liver cirrhosis: Death risk factors and predictive value of prognostic models. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2021 Oct;20(5):460-468. doi: 10.1016/j.hbpd.2021.06.006