

Recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de la infección por *Cryptococcus* spp.

Recommendations for the diagnosis and treatment of infection by *Cryptococcus* spp.

Eduardo López Mora^{1,2}, Jorge Espinoza Rojas^{1,3}, Jeannette Dabanch Peña^{4,5}, Peggy Vieille Oyarzo⁴ y Rodrigo Cruz Choappa^{4,6}

¹Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

²Hospital San Camilo de San Felipe, Chile.

³Hospital Dr. Gustavo Fricke de Viña del Mar, Chile.

⁴Centro de Diagnóstico e Investigación de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Valparaíso (CDIEI-UV).

⁵Hospital Clínico de la Universidad de Chile, Santiago, Chile.

⁶Hospital de Quilpué, Chile.

Los autores declaran NO tener conflictos de interés.

Financiamiento: Universidad de Valparaíso.

Recibido: 1 de septiembre de 2021 (segunda versión: 14 de marzo de 2022) / Aceptado: 12 de noviembre de 2022

Resumen

Las infecciones por levaduras del género *Cryptococcus* pueden causar un abanico amplio de manifestaciones clínicas, dependiendo de si se trata de una infección invasora o no. Los pacientes susceptibles, especialmente de las formas invasoras, comparten el compromiso de la inmunidad celular, ya sea por afecciones primarias o secundarias. El grupo más estudiado es el de personas que viven con VIH. La mortalidad es alta, especialmente en entornos de recursos reducidos. El esquema de tratamiento es en fases, inicialmente combinado, para luego continuar con monoterapia por un periodo prolongado, dependiendo de la duración del factor de riesgo subyacente. Hacemos una revisión de la evidencia y recomendaciones actualizadas.

Palabras clave: *Cryptococcus*; diagnóstico; tratamiento; VIH; no VIH.

Abstract

Infection by yeast of the *Cryptococcus* genus can cause a wide range of clinical manifestations, depending on whether it is an invasive infection or not. Susceptible patients, especially those with invasive forms, share the compromise of cellular immunity, either due to primary or secondary conditions. The most studied group is that of people living with HIV. Mortality is high, especially in resource-poor settings. The treatment scheme is in phases, initially combined, to then continue with monotherapy for a prolonged period, depending on the duration of the underlying risk factor. We review the evidence and update recommendations.

Keywords: *Cryptococcus*; diagnosis; treatment; HIV; no-HIV.

Introducción

La criptococosis es una infección fúngica sistémica provocada por levaduras del género *Cryptococcus*. Éstas son capsuladas y de amplia distribución mundial^{1,2}.

Cryptococcus neoformans y *C. gatti* son las principales especies causantes de enfermedad y crecen a 37°C en distintos medios de cultivo³. Otras especies como *C. albidus*, *C. laurentii*, *C. adeliensis*,

C. curvatus y *C. uniguttulatus* también pueden provocar infecciones ocasionalmente¹.

Cryptococcus neoformans, variedad *grubii* (serotipo A, tipo molecular VN I, VN II), causa aproximadamente 95% de los casos de infección humana y tiene distribución mundial; *C. neoformans*, variedad *neoformans* (serotipo D, tipo molecular VN IV) y *C. neoformans* híbrido (serotipo AD, tipo molecular VN III) son primariamente observados en algunos países europeos^{1,2}. *Cryptococcus*

Correspondencia a:

Rodrigo Cruz Choappa
Rodrigo.cruz@uv.cl

neoformans se encuentra en altas concentraciones en el excremento de palomas y en nidos de aves, donde pueden permanecer viables por un periodo prolongado. Producen enfermedad principalmente en pacientes inmunocomprometidos^{1,2}. *Cryptococcus gattii* (serotipos B y C, tipos moleculares VG I, VG II, VG III, VG IV) posee capacidad para infectar individuos inmunocompetentes y ha sido localizado principalmente en diversas especies de eucaliptos de áreas tropicales y subtropicales; sin embargo, en las últimas décadas se ha aislado en otras zonas geográficas y especies de árboles¹⁻⁴.

Patogenia

Estas levaduras están cubiertas por una cápsula con polisacáridos, manosa y alfa-glucano, la que le otorga virulencia, especialmente en presencia de ferropenia, dióxido de carbono, urea y suero. La pared celular posee melanina, la que también constituye un factor de virulencia, además de otorgar protección contra el estrés oxidativo³.

La vía de adquisición de la infección es por inhalación de las levaduras presentes en el ambiente, las que alcanzan los alvéolos pulmonares^{3,4}; sin embargo, se han descrito casos de inoculación traumática directa en tejidos como la piel⁵.

La infección puede seguir tres caminos:

- En un individuo inmunocomprometido, las levaduras proliferan y se diseminan, causando enfermedad clínica.
- Eliminación de las levaduras debido a una efectiva respuesta inmunológica del hospedero.
- Las levaduras producen complejos en los ganglios linfáticos hiliares y focos pulmonares, permaneciendo en estado de latencia⁴.

Factores de riesgo

Los pacientes que presentan un mayor riesgo para desarrollar una infección por *Cryptococcus* spp. son personas que viven con VIH (PVVIH), especialmente si el recuento de linfocitos T CD4 se encuentra por debajo de 100 células/ μ l^{6,7}.

Entre otros factores de riesgo descritos están el trasplante de órganos sólidos, linfomas, leucemias linfocíticas y otros desórdenes linfoproliferativos, linfopenias idiopáticas de células T CD4 (+), sarcoidosis, terapia corticoidal prolongada, diabetes mellitus, enfermedad pulmonar crónica, falla renal, diálisis peritoneal, cirrosis hepática, síndromes de hiper IgM e hiper IgE, y usuarios de anticuerpos monoclonales (infiximab, adalimumab, alemtuzumab). Estos factores de riesgo pueden coexistir y potenciarse en algunos casos^{3,4}.

Manifestaciones clínicas

Cryptococcus neoformans y *C. gattii* tienen tropismo por el sistema nervioso central y los pulmones; sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos también pueden diseminarse e infectar la mayoría de los órganos⁴.

En el sistema nervioso central, la infección puede manifestarse como meningitis aguda, subaguda o crónica, criptococomas cerebrales, granuloma medular o, en etapas avanzadas, con deterioro cognitivo³. Los síntomas pueden ser inespecíficos tales como alteraciones conductuales, alucinaciones, confusión, cefalea progresiva, fiebre y fopsias. Los signos meníngeos se observan solo en un tercio de los pacientes⁷.

Su localización pulmonar puede presentarse con tos, disnea e incluso, como una insuficiencia respiratoria aguda grave con infiltrados pulmonares, de manera similar a una neumonía causada por *Pneumocystis jirovecii*⁷. El estudio de imágenes pulmonares puede mostrar infiltrados intersticiales, nódulos únicos o múltiples, cavidades, masas endobronquiales, adenopatías hiliares y mediastínicas, derrames pleurales y neumotórax³.

Otras localizaciones menos frecuentes incluyen la piel (manifestándose con lesiones que simulan molusco contagioso, lesiones ulceradas, eritematosas o nodulares), la próstata (glándula que puede actuar como reservorio) y ojos, huesos y articulaciones.

Diagnóstico de laboratorio

Para la confirmación de la sospecha diagnóstica, el estudio de laboratorio debe incluir muestras para hemocultivos, líquido cefalorraquídeo y de otros sitios u órganos según cuáles sean los hallazgos clínicos⁸.

- *Hemocultivos*: Ampliamente disponibles, pueden ser la primera evidencia microbiológica en centros con opciones diagnósticas limitadas. Tienen una sensibilidad menor a 50% en los casos de infección diseminada⁹.
- *Líquido cefalorraquídeo (LCR)*: Debe incluir estudio citoquímico, el que por lo general muestra características levemente inflamatorias con menos de 50 leucocitos/ml (de predominio mononuclear en la mayoría de los casos), proteínas aumentadas y puede asociarse frecuentemente a hipoglucorraquia. Una característica importante a evaluar es la presión de salida del LCR que tiende a ser elevada (≥ 25 cm H₂O) en 60 a 80% de los pacientes, pudiendo tener un rol terapéutico en aquellos pacientes con compromiso de conciencia secundario a la hipertensión endocraneal⁷.

Técnicas diagnósticas

Examen microbiológico microscópico

- *Tinción de tinta china*: Técnica sencilla, de bajo costo, ampliamente disponible, aunque requiere personal

entrenado. Permite apreciar la cápsula de la levadura, al teñir el fondo de la muestra; en la mayoría de los casos no permite diferenciar entre levaduras viables y aquellas que no lo son, salvo evidencia de gemación, siendo el cultivo clave en esta interpretación. Se puede realizar en LCR, orina u otras muestras líquidas, tras su centrifugación. Se reporta una sensibilidad entre 50 y 80% en PVVIH, representando una aceptable aproximación diagnóstica en este grupo; sin embargo, no descarta el diagnóstico ya que es poco sensible al principio de la enfermedad cuando las concentraciones de levaduras son menores a 1.000 ufc/ml^{3,9}.

- **Blanco de calcoflúor:** Tiene utilidad en muestras no líquidas y cuando el número de levaduras es reducido. Mejora la sensibilidad en laboratorios con personal menos experto, y requiere disponer de un microscopio de fluorescencia. Contrasta las levaduras con claridad por la unión del blanco de calcoflúor con la pared fúngica^{3,8-10}.
- **Tinción argéntica de Gomori-Grocott:** Tiene utilidad en muestras como lavado broncoalveolar o biopsias. Tiñe la pared celular de color café⁸.
- **Otras tinciones para muestras histológicas:** mucicarmín de Mayer, hematoxilina-eosina, tinción de PAS y de Fontana - Masson (para cepas con cápsula de menor tamaño, tiñendo la pared con melanina)^{3,8,9}.

Antígeno capsular

Se puede buscar en LCR, suero, orina o LBA. Permite identificar la presencia de antígenos de la cápsula de *Cryptococcus* mediante anticuerpos contra polisacáridos capsulares, a través de una reacción antígeno/anticuerpo. Están disponibles tres métodos: aglutinación en látex, examen de flujo lateral y ELISA. Los resultados pueden ser cualitativos o semicuantitativos, en base a titulación. Las pruebas en suero pueden ser particularmente útiles cuando la punción lumbar está contraindicada, ya que existe evidencia de que títulos séricos elevados se relacionan directamente con un aumento de la mortalidad. En el caso de la técnica de flujo lateral con títulos > 1:160, la enfermedad diseminada se vuelve más probable y con títulos > 1:640, se debe presumir compromiso diseminado y/o del SNC, si se acompaña de una expresión clínica compatible. Cabe resaltar que no existe una correlación de títulos entre las diferentes técnicas. Tiene falsos positivos, tales como antígeno con reactividad cruzada en la muestra con *Trichosporon* spp. y falsos negativos, en caso de una exploración diagnóstica temprana, cuando proviene de muestras de LCR^{3,8,9}. En meningitis y formas diseminadas en PVVIH, la sensibilidad en LCR es > 95% y en suero > 90%, dependiendo de la técnica evaluada⁴.

Reacción de polimerasa en cadena (RPC)

Están disponibles varias técnicas, tanto RPC en

tiempo real para detección de *C. neoformans*, o como parte de paneles multiplex; el más difundido es el panel de meningitis/encefalitis BioFire FilmArray[®] (Biofire Diagnostics, Salt Lake City, UT). Esta RPC multiplex analiza 14 objetivos, incluidos *C. neoformans* y *C. gattii*. Se han reportado resultados falsos negativos cuando hay una baja carga de levaduras. En un estudio, cuando hubo < 100 ufc/mL, la sensibilidad de la prueba cayó a 50%. Por esta razón, en la sospecha de meningitis por estas levaduras se sugiere algún test de antígeno y/o cultivo¹⁰.

Cultivos

Ampliamente disponible, en muestras de LCR de PV-VIH que cursan con meningitis la sensibilidad reportada es sobre 80%.

En medios convencionales de cultivo, tales como agar Sabouraud o agar extracto de Malta se logra obtener crecimiento en 48 a 72 horas a 37°C. El aspecto macroscópico de la colonia es mucoso (dado por la cápsula de la levadura), de color blanco/amarillenta cremosa^{3,8,9}.

Prueba rápida de ureasa: Detecta la capacidad de metabolizar la urea por parte de *Cryptococcus*, que la diferencia de *Candida* spp. Pueden existir falsos positivos en caso de desarrollo de *Rhodotorula* spp y *Trichosporon* spp^{3,8,9}.

Producción de melanina en agar semilla alpiste de Staib: Permite la identificación, tanto de *C. neoformans* como de *C. gattii*. Estos metabolizan la semilla de alpiste negro, estimulando la producción de melanina y generando colonias que se tornan color café oscuro en el tiempo¹¹ (Tabla 1).

Métodos de identificación de la especie

Se puede diferenciar entre *C. gattii* y *C. neoformans* mediante un medio de cultivo a base de agar canavanina-glicina-azul de bromotimol. Este medio permite identificar

Tabla resumen sensibilidad y especificidad de técnicas diagnósticas^{7,12}

	Suero /sangre	LCR
Hemocultivos	S: < 50%	-----
Tinta china	-----	S: 42 - 86%
Ag. capsular - aglutinación en látex	S: 98% E: 86 - 100%	S: 97 - 98% E: 86 - 100%
Ag. capsular - Flujo lateral	S: 99% E: 99%	S: 99,3% E: 99,1%
RPC multiplex	-----	S: 96% E: 100%
Cultivo	-----	S: 94,2%

a *C. gattii*, que es resistente a L-canavanina, la degrada liberando amonio como compuesto final. El amonio en el medio eleva el pH, que pasa de 5,8 a 7 o más, virando el color del medio de amarillo verdoso a un azul de cobalto, por la presencia de azul de bromotimol¹¹.

El estudio con MALDI-TOF (desorción-ionización por láser en matriz con analizador de tiempo de vuelo) permite una identificación rápida y precisa, técnica que depende del aislamiento previo del hongo en cultivos y su disponibilidad aún es limitada en la mayoría de los centros^{3,9}.

Estudios de susceptibilidad a antifúngicos

Siempre es importante evaluar la susceptibilidad a antifúngicos, dado el aumento de los fenómenos de resistencia a antimicrobianos, aunque no hay un método estandarizado ni puntos de corte específicos para este género. Solo el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) en su versión 10.0 establece como punto de corte para anfotericina B una CIM $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ¹³. Si bien la resistencia primaria de *C. neoformans* a los antifúngicos de uso habitual es poco frecuente, existen cepas con CIM elevada que pueden asociarse a fallo terapéutico en infecciones graves¹. El Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) publicó en su guía M57S-Ed4, puntos de corte epidemiológicos para *Cryptococcus* y otras levaduras Basidiomycetes, los que siempre deben ser interpretados con cautela¹⁴.

Tratamiento de la infección meningea en paciente con infección por VIH/SIDA

La meningitis por *Cryptococcus* spp. es letal si no se trata; en PVVIH bajo tratamiento antirretroviral (TARV) se aproxima al 70% en los países de ingresos bajos, frente al 20%-30% en aquellos con ingresos altos, lo cual se explica por un diagnóstico y tratamiento oportunos. Tanto la disponibilidad de antifúngicos como la monitorización y manejo de complicaciones es crucial. Actualmente, existe consenso en que el tratamiento debe ser inicialmente combinado, prolongado y en fases.

Esquemas terapéuticos para fase de inducción

La evidencia actual se basa principalmente en estudios en entornos con recursos limitados. El estudio ACTA, ensayo clínico aleatorizado realizado en África que incluyó a 721 PVVIH, aleatorizados en tres grupos (grupo I: fluconazol 1.200 mg/día más flucitosina 100 mg/kg/día durante dos semanas; grupo II: anfotericina B deoxicolato (AnBd) 1 mg/kg/día por una semana; grupo III: AnBd 1 mg/kg/día por dos semanas. Cada paciente asignado para recibir AnBd también fue asignado al azar para recibir fluconazol o flucitosina como asociación). Los resultados

mostraron la no inferioridad con el esquema acordado de inducción que incluía AnBd y flucitosina, disminuyendo costos y toxicidad¹⁵.

Una revisión sistemática y meta-análisis comparó esquemas de inducción en un primer episodio de meningitis en PVVIH. Incluyó 13 estudios con cerca de 2.500 pacientes adultos. El esquema de AnBd y flucitosina durante una semana, seguida de fluconazol hasta completar 14 días redujo la mortalidad a las 10 semanas de seguimiento en 51% en comparación con una semana de AnBd y fluconazol. El esquema de inducción de AnBd y flucitosina de una semana redujo la mortalidad en 38% en comparación con dos semanas de AnBd con flucitosina y en 32% en comparación con dos semanas de flucitosina con fluconazol. No se evidenció diferencia significativa en mortalidad entre el esquema AnBd + fluconazol por dos semanas en comparación con la AnBd sola. Sin embargo, las dosis de fluconazol que se utilizaron en los estudios fueron menores que lo recomendado. El régimen acordado de AnBd y flucitosina de una semana tuvo una eficacia superior y 69% de menor riesgo de anemia de grado 3 ó 4 en comparación con dos semanas de AnBd y flucitosina^{16,17}. Se prefieren los esquemas en base a anfotericina B liposomal (AnB-L) sobre AnBd, ya que ha demostrado una eficacia equivalente y una mayor seguridad¹⁸.

Un ensayo clínico fase 2, estudió AnB-L en dosis de 10 mg /kg/día la que fue bien tolerada y eficaz en comparación con 14 días de dosis estándar (3 mg/kg/día) de AnB-L¹⁹. Está en desarrollo la fase 3 del estudio previamente mencionado, a la espera de publicar sus resultados²⁰ (Tabla 2).

Una revisión sistemática y meta-análisis de reciente publicación mostró mejores resultados con un esquema de anfotericina B asociado a flucitosina y un azol, a diferencia de la revisión sistemática Cochrane de Tenforde y cols., en la cual los mejores resultados se vieron en el esquema acordado en base a anfotericina B y flucitosina; sin embargo, este dato proviene de un solo estudio²².

Considerando la evidencia y recomendaciones, en el contexto nacional de ausencia de disponibilidad de flucitosina y datos que provienen del estudio ACTA, en el cual el esquema de no inferioridad incluyó fluconazol 1.200 mg/día¹⁵, proponemos como esquema de inducción:

- **Anfotericina B liposomal (3-4 mg/kg/día)/deoxicolato (0,7- 1 mg/kg/día) + fluconazol 1.200 mg/día durante dos semanas.**

Existe consenso en recomendar el control de cultivo de LCR al día 14 de tratamiento, el que debe ser negativo para continuar con la fase de consolidación, aunque las recomendaciones para la prevención y tratamiento de infecciones oportunistas en PVVIH entregadas por la Infectious Disease Society of America (IDSA), lo sujetan a la condición clínica del paciente.

Esquemas terapéuticos para fase de consolidación

Un estudio que incluyera un número reducido de casos comparó ocho semanas de fluconazol (400 o 600 mg/día) como tratamiento de consolidación, con itraconazol, sin encontrar diferencias en la resolución de síntomas o esterilización del LCR; sin embargo, cabe mencionar las mayores interacciones de itraconazol con algunas combinaciones de TARV²². En relación con la dosis de fluconazol, hay evidencia de mayor recaída con dosis de 400 mg comparada con 800 mg. Hay cierto consenso en recomendar una dosis de 800 mg/día durante ocho semanas²².

Dada la evidencia anterior proponemos como esquema terapéutico para fase de consolidación:

- **Fluconazol 800 mg/día durante ocho semanas**

Esquemas terapéuticos para fase de mantención

Entre las personas en TARV, fluconazol fue eficaz para prevenir la recaída en un ensayo controlado, aleatorizado. Fluconazol también fue superior como tratamiento de mantención al semanal empleando anfotericina B e itraconazol²³. En las guías de diagnóstico y tratamiento de infecciones oportunistas en adultos que viven con VIH, tanto por la IDSA (CDC/IDSA/NIH) como por la European AIDS Clinical Society (EACS) existe consenso en recomendar la suspensión del tratamiento de mantención luego de cumplir los siguientes criterios: al menos un año desde el inicio del tratamiento antifúngico, recuento de CD4 \geq 100 células/mm³ y carga viral indetectable^{7,10}.

Tratamiento de la meningitis en pacientes sin infección por VIH/SIDA

Existe un grupo bien definido de pacientes seronegativos para VIH susceptibles de contraer una infección invasora: receptores de trasplante de órganos, enfermedad hemato-oncológica y otras patologías con impacto profundo en la inmunidad celular, incluyendo un grupo muy infrecuente de pacientes previamente reconocidos como sanos, que probablemente sean portadores de alguna inmunodeficiencia primaria no conocida.

El tratamiento se basa en fases, al igual que en PVVIH, destacando como particularidad que en la fase de induc-

Tabla 2. Esquemas de inducción. Adaptado de recomendaciones OMS 201821 - IDSA/NIH/CDC 2021⁷

Preferido	Anfotericina B liposomal 3-4 mg/kg/día + flucitosina 25 mg/kg c/6 hrs (vía oral) durante una semana y luego una semana fluconazol 1.200 mg/día (Nivel de evidencia AI). Anfotericina deoxicolato 0,7-1 mg/kg / + flucitosina 25 mg/kg c/6 hrs (vía oral) durante 1 semana y luego 1 semana fluconazol 1.200 mg/día (Nivel de evidencia AI).
Alternativos	- Anfotericina B liposomal 3-4 mg/kg/día + fluconazol 1.200 mg/día durante dos semanas (Nivel de evidencia BIII). - Anfotericina deoxicolato + fluconazol 1.200 mg/día durante dos semanas (Nivel de evidencia BII). - Flucitocina 25 mg/kg c/6 horas + fluconazol 1.200 mg/día durante dos semanas (vía oral) (Nivel de evidencia BII).

Tabla 3. Recomendación para terapias de consolidación y mantención de la OMS 2018

Consolidación	Fluconazol 800 mg/día por ocho semanas
Mantención	Fluconazol 200 mg/día

ción se recomienda una extensión mayor (2 a 6 semanas) dependiendo de la patología subyacente y su control. En relación a la fase de mantención, se recomiendan cursos de al menos 12 meses²⁴.

Tratamiento de la infección extra meníngea

La criptococosis extra-meníngea es poco frecuente; sin embargo, se debe tener presente especialmente en los PVVIH.

Tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunocomprometidos que cursan con una infección pulmonar leve a moderada, se sugiere utilizar fluconazol 400 mg (oral o intravenoso) al día, por un periodo de 6 a 12 meses. En la infección pulmonar grave o en la forma diseminada se sugiere el mismo esquema que en la infección meníngea²¹.

Referencias bibliográficas

- 1.- Cruz R, Vieille P, Stojanova J. Sensibilidad in vitro de cepas chilenas de *Cryptococcus neoformans* de origen clínico. Rev Chil Infectol. 2020; 37 (2): 124-8. <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000200124>.
- 2.- Tapia C, Correa N. Género *Cryptococcus*. Rev Chilena Infectol. 2014; 31 (6): 719-20. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000600012>.
- 3.- Perfect J R. Chapter 262: Cryptococcosis (*Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*). Mandell G, Bennett J, Dolin R. Enfermedades Infecciosas: Principios y Práctica. 9th ed. Philadelphia. Elsevier 2020; 3146-61.
- 4.- Vidal J, de Queiros F, Celi A, Ponzio V, Colombo A, Canteros C. Capítulo 07: Criptococosis. Riera F, Celi A, Thompson L, Rabagliati R. Manual Infecciones fúngicas sistémicas. Asociación Panamericana de Infectología. 3ra ed. Córdoba. Recfot. 2019; 91-106.
- 5.- Christianson J, Engber W, Andes D. Primary cutaneous cryptococcosis in immunocompetent and immunocompromised hosts. Med Mycol.

- 2003; 41 (3): 177-88. <http://dx.doi.org/10.1080/1369378031000137224>.
- 6.- Maziarz E K, Perfect J R. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2016; 30: 179-206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.006>.
 - 7.- Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents. Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/documents/Adult_OI.pdf.
 - 8.- Mazuelos E, Aller A. Aspectos microbiológicos de la criptococosis en la era post-TARGA. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28 (1): 40-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0213-005X\(10\)70007-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0213-005X(10)70007-0).
 - 9.- Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Capítulo 65: Micosis oportunistas. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Microbiología Médica.* 8a ed. España. Elsevier; 2017; 642-55.
 - 10.- Rhein J, Bahr N C, Hemmert A C, Cloud J L, Bellamkonda S, Oswald C, et al. ASTRO-CM Team. Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016; 84 (3): 268-73. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.017>.
 - 11.- Vieille P, Cruz R, León P, Cáceres N, Giusiano G. Isolation of *Cryptococcus gattii* VGIII from feline nasal injury. *Med Mycol Case Rep.* 2018; 22: 55-7. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2018.09.003>.
 - 12.- Rajasingham R, Wake RM, Beyene T, Katende A, Letang E, Boulware DR. Cryptococcal meningitis diagnostics and screening in the era of point-of-care laboratory testing. *J Clin Microbiol.* 2019; 57 (1): ce01238-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.01238-18>
 - 13.- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Clinical_breakpoints/AFST_BP_v10.0_200204_updated_links_200924.pdf.
 - 14.- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Epidemiological Cutuff Values for Antifungal Susceptibility Testing. CLSI supplement M57S.4th Edition.USA. 2022.
 - 15.- Molloy S F, Kanyama C, Heyderman R S, Loyse A, Kouanfack C, Chanda D, et al. ACTA Trial Study Team. Antifungal combinations for treatment of cryptococcal meningitis in Africa. *N Engl J Med.* 2018; 378 (11): 1004-17. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1710922>.
 - 16.- Tenforde M W, Shapiro A E, Rouse B, Jarvis J N, Li T, Eshun-Wilson I, Ford N. Treatment for HIV-associated cryptococcal meningitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2018. <https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD005647.pub3>.
 - 17.- Chen C H, Li H, Chen H M, Chen Y M, Chang Y J, Lin P Y, et al. Efficacy of induction regimens for cryptococcal meningitis in HIV-infected adults: a systematic review and network meta-analysis. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 8565. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-87726-6>.
 - 18.- Hamill R J, Sobel J D, El-Sadr W, Johnson P C, Graybill J R, Javaly K, et al. Comparison of 2 doses of liposomal amphotericin B and conventional amphotericin B deoxycholate for treatment of AIDS-associated acute cryptococcal meningitis: a randomized, double-blind clinical trial of efficacy and safety. *Clin Infect Dis.* 2010; 51: 225-32. <http://dx.doi.org/10.1086/653606>.
 - 19.- Jarvis J N, Leeme T B, Molefi M, Chofle A, Bidwell G, Tsholo K, et al. Short-course high-dose liposomal amphotericin b for human immunodeficiency virus-associated cryptococcal meningitis: A phase 2 randomized controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2019; 18: 68 (3): 393-401. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciy515>.
 - 20.- Jarvis J N, Leeme T B, Molefi M, Chofle A A, Bidwell G, Tsholo K, et al. Ambisome therapy induction optimization - intermittent high dose AmBisome® on a high dose fluconazole backbone for cryptococcal meningitis induction therapy in sub-Saharan Africa. Berlin: ISRCTN Registry. 2017. <http://www.isrctn.com/ISRCTN10248064>.
 - 21.- World Health Organization (WHO). The diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV -infected adults, adolescents and children. March. 2018. ISBN: 978-92-4-155027-7. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550277>.
 - 22.- Mootsikapun P, Chetchotisakd P, Anunnatsiri S, Choksawadphinyo K. The efficacy of fluconazole 600 mg/day versus itraconazole 600 mg/day as consolidation therapy of cryptococcal meningitis in AIDS patients. *J Med Assoc Thai.* 2003; 86: 293-8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12757072/>.
 - 23.- Powderly W G, Saag M S, Cloud G A, Robinson P, Meyer R D, Jacobson J M, et al. A controlled trial of fluconazole or amphotericin B to prevent relapse of cryptococcal meningitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. The NIAID AIDS Clinical Trials Group and Mycoses Study Group. *N Engl J Med.* 1992; 326 (12): 793-8. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199203193261203>.
 - 24.- Beardsley J, Sorrell T C, Chen S C. Central nervous system cryptococcal infections in non-HIV infected patients. *J Fungi (Basel).* 2019; 5 (3): 71. <https://doi.org/10.3390/jof5030071>.