

Estudio clínico-epidemiológico de la criptococosis en Venezuela, años 1994-2003

Clinical-Epidemiological Study of Cryptococcosis in Venezuela, 1994-2003

**Pérez, Celina¹; Hernández, Yumaira²;
Guzmán, María E.³; Arias, Félix⁴;
Nweihed, Luzalba⁵; Landaeta, María E.⁵;
Borges, Rafael⁶; Madera, Carlos⁷;
Roselló, Arantza²; Colella, María T.²;
Hartung, Claudia² y Mata Essayag, Sofía²**

¹Laboratorio de Micología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA, Mérida.

²Sección de Micología Médica, Instituto de Medicina Tropical, UCV.

³Hospital Miguel Pérez Carreño, Caracas.

⁴Servicio de Enfermedades Infecciosas del Adulto, Hospital Universitario de Caracas,

⁵Cátedra de Microbiología, Escuela Luis Razetti, UCV.

⁶Instituto de Biomedicina, UCV.

⁷Cátedra de Medicina Tropical, Escuela Luis Razetti, UCV.

E-mail: celinaperezdesalazar@gmail.com

Resumen

La criptococosis es una enfermedad oportunista de distribución mundial. Frecuentemente es una infección definitoria de SIDA. El tratamiento antirretroviral ha disminuido su frecuencia. El impacto de esta entidad en Venezuela es desconocido. El objetivo de este trabajo es describir las características más relevantes de la criptococosis en nuestro país. Métodos: Se revisaron 110 historias clínicas de pacientes hospitalizados con el diagnóstico de criptococosis, entre 1994 y 2003, en 6 hospitales. Los datos recolectados incluyeron: características demográficas, clínicas, diagnósticas, terapéuticas y la evolución de los pacientes. Para el análisis se utilizaron los programas SPSS 10.0 y EpiInfo 6.04 (2001). Resultados: Dentro de los 110 pacientes evaluados se incluyeron 17 protocolos de autopsia. Uno solo de los pacientes tenía 8 años de edad, el resto era mayor de 15

años. 91 eran del sexo masculino y 19 femenino. 91 (82,73%) tenían SIDA y 19 (17,27%) eran VIH negativo. En los pacientes con SIDA el valor promedio de CD4+ fue < 200 cel/mm³ y la carga viral era > 30000 copias/mL; 52 (57,14%) de los casos no tenían otra infección oportunista y 39 (42,86%) tenían otras condiciones asociadas, tales como tuberculosis (30,97%), neumocistosis (28,21%), y toxoplasmosis (20,51%). En los pacientes VIH negativo, el uso de esteroides (25%) fue el factor de riesgo predominante. Dos pacientes eran embarazadas. En 107 (57,27%) se encontró infección del SNC. 12 (13,19%) de los pacientes con SIDA tenían alteración de pares craneales. Se encontró afectación pulmonar en 4 (3,77%) pacientes, 1 de ellos con SIDA. La criptococosis fue la enfermedad definitoria de SIDA en el 61,54% de los casos. 33 (30%) de los pacientes fallecieron. Conclusiones: En la mayoría de los pacientes la criptococosis se asoció a SIDA. A pesar de la eficacia del tratamiento antirretroviral, esta micosis es todavía importante en Venezuela. Esto puede ser debido al diagnóstico tardío de la infección por VIH.

Palabras clave: *Cryptococcus neoformans*, criptococosis, SIDA, meningoencefalitis.

Abstract

Cryptococcosis is an opportunistic disease of worldwide distribution. It is frequently an AIDS-defining infection. Antiretroviral treatment has reduced its occurrence. In Venezuela, the impact of this disease is unknown. The aim of this study is to describe the most relevant features of cryptococcosis in our country. Methods: 110 clinical records with a diagnosis of cryptococcosis hospitalized between 1994 and 2003 in 6 Venezuelan hospitals were analyzed. Data collected included demographic, clinical, diagnostic, therapeutic and outcome information. SPSS 10.0 software and EpiInfo 6, version 6.04 (2001) were used. Results: 110 patients with cryptococcosis were enrolled, including 17 autopsy protocols. One was 8 years old, the rest were over 15. Nineteen were female and 91 male; 91 (82.73%) had AIDS, 19 (17.27%) were HIV negative. Among the AIDS patients, average CD4+ count was < 200 cel/mm³ and viral load was > 30000 copies/ml; 52 (57.14%) did not have other opportunistic infections or AIDS-related disease, and 39 (42.86%) had other associated conditions, such as tuberculosis (30.97%), PCP (28.21%) and toxoplasmosis (20.51%). In HIV negative patients, use of steroids (25%) was the predominant risk factor. Two patients were pregnant. 107 (57.27%) presented CNS infection; 12 (13.19%) with AIDS had cranial nerve alterations. Pulmonary disease was found in 4 (3.77%), of which one had AIDS. Cryptococcosis was an AIDS-defining infection in 61.54% of cases; 33 (30%) of the patients died. Conclusions: In most of the patients, cryptococcosis was associated with AIDS. In spite of the efficacy of antiretroviral treatment, this mycosis is still significant in Venezuela, perhaps due to late HIV infection diagnosis.

Key words: *Cryptococcus neoformans*, cryptococcosis, AIDS, meningoencefalitis.

Introducción

La criptococosis, es una micosis sistémica causada por la levadura capsulada *Cryptococcus neoformans*. Fue reportada por primera vez por Busse en 1.894. Desde entonces

fue considerada una micosis oportunista. Es de distribución mundial (1-2).

A principios de los años 90, la criptococosis meníngea representó la enfermedad definitoria de SIDA en un 40-60% (1,3-5). Después de 1.996, en Estados Unidos este porcentaje bajó a 38%, debido a la introducción de la tera-

pia antirretroviral de alta eficacia (Highly Active Antirretroviral Therapy, HAART) (1,5-7). En Venezuela, el impacto de esta enfermedad era hasta ahora desconocido. En la literatura nacional, existen reportes aislados de pacientes con criptococosis (8-11).

C. neoformans puede cursar con compromiso pulmonar, el cual puede progresar, regresar espontáneamente o inclusive, permanecer estable durante largos períodos de tiempo (6,12-14). El hongo se puede diseminar por vía hematogena, a cualquier órgano o sistema, particularmente al SNC, en donde origina meningoencefalitis. La mortalidad reportada en la literatura internacional es de 10% (1, 15, 12, 3).

El propósito de este trabajo fue realizar un estudio clínico-epidemiológico de criptococosis en nuestra población, con la finalidad de conocer el estado actual de esta enfermedad en Venezuela.

Materiales y Métodos

Se revisaron las historias clínicas de pacientes con criptococosis (primer episodio), ingresados entre los años 1994-2003 en los siguientes centros asistenciales: Hospital Universitario de Caracas (HUC), Hospital de niños "J. M. de Los Ríos", Hospitales "Dr. Miguel Pérez Carreño", "Dr. José Gregorio Hernández", "Dr. Jesús Mata De Gregorio" y Central de Maracaibo. Además se tomaron en cuenta los pacientes a los cuales se les realizó la autopsia y resultaron con diagnóstico definitivo de criptococosis, en el Instituto Anatómopatológico "Dr. José A. O'Daly", de la UCV. A estos pacientes se les realizó el diagnóstico de la enfermedad en los mencionados centros asistenciales, en el Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" y en la Sección de Micología

Médica "Dr. Dante Borelli" del Instituto de Medicina Tropical, UCV.

No se tomaron en cuenta los pacientes con recaída de la enfermedad y los que no poseían estudio serológico para detectar la presencia o ausencia de la infección por el VIH.

Se llenó una ficha con datos epidemiológicos, clínicos y paraclínicos.

En los casos en los que se pudo recuperar la cepa aislada, se realizó la identificación de la especie por pruebas convencionales, en las cuales se usó auxanograma, termotolerancia, prueba de la ureasa; además, se realizó el cultivo en medio de canavanina-glicina-azul de bromotimol (16-18).

Análisis estadístico: Se realizó un estudio de tipo descriptivo, utilizando para el análisis de los datos el programa SPSS 10.0 de Windows en español y Epi Info 6, versión 6.04 de 2001. Se determinaron: frecuencias y porcentajes; media y desviación estándar (D.E.). Se utilizó prueba de Fisher (dos colas), prueba Binomial, test de Student (t) y razón. Además se realizó el análisis multivariante por la prueba de regresión logística. Se tomó como diferencia significativa un valor de $p < 0,05$.

Resultados

Se evaluó un total de 110 historias clínicas con diagnóstico definitivo de criptococosis; 105 (94,45%) estuvieron hospitalizados en el HUC, a 17 de los cuales se les realizó autopsia. Solo 1 de estos pacientes fue excluido, por no contar con serología para VIH.

En el Hospital de niños "J.M. de Los Ríos", se encontró 1 paciente. Los 5 pacientes restantes provinieron de los Hospitales "Pérez Carreño", "José Gregorio Hernández", "Jesús Mata De Gregorio" y Central de Maracaibo, respectivamente.

De los 110 pacientes incluidos, 91 (82,73%) tenían SIDA y 19 (17,27%) eran VIH seronegativos, relación 4,79:1. La criptococosis como infección definitoria de SIDA se presentó en el 61,54%. El diagnóstico serológico de infección por VIH se realizó al ingresar al hospital en 24,18% de los casos.

El rango de edad de los pacientes fue 8-79 años (media: 35,95 años). En los pacientes con SIDA la media fue de 35,08 años con D.E.: $\pm 9,87$ y en los VIH seronegativos fue de 40,11 años (D.E.: $\pm 16,39$) No hubo diferencia entre los pacientes con y sin SIDA ($p > 0,30$). En los pacientes con SIDA el sexo predominante fue el masculino (9,1:1), mientras que en los seronegativos la relación fue más equitativa (1,1:1).

En los VIH seronegativos, 10 de los 19 pacientes, tenían factores predisponentes: 4 LES, 1 tiroiditis crónica, 1 síndrome eosinofílico idiopático, 2 embarazo, 1 colocación de válvula ventrículo-peritoneal, 1 linfoma no Hodgkin. El resto no tenía antecedentes de importancia.

El nivel de CD4+ en los pacientes con SIDA, estuvo en el rango de 3 a 336 células/mm³ (media: 70; D.E.: $\pm 67,58$). El 93,33% tenían un conteo de CD4+ < 200 células/mm³. Se les determinó la carga viral al 23,08% de los casos, en los cuales se encontró un rango de 400 a 750.000 copias de ARN/mL (media: 239,652; D.E.: $\pm 242,506$).

De los 69 pacientes que tenían el diagnóstico de infección por VIH, previo a la criptococosis, 27 (39,13%) habían recibido tratamiento antirretroviral en algún momento, de los cuales solo 10 (37,04%), lo estaban recibiendo para el momento de la admisión. De estos, 7 recibían HAART y los otros presentaban la enfermedad antes del inicio del HAART. A pesar de que se observó que los pacientes abandonaban el tratamiento antirretroviral con mayor frecuencia antes del año 2000 y que de 2001 en adelante,

al comenzar a ser distribuido por el Ministerio de Salud, el abandono del tratamiento pareciera menor, el análisis estadístico dio una cifra límite ($p < 0,056$).

La forma de encefalitis/meningoencefalitis se presentó en el 97,27% de los casos, siendo las manifestaciones clínicas más frecuentes: cefalea, fiebre, vómito y alteración del estado de conciencia. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con y sin SIDA ($p > 0,05$).

El diagnóstico micológico (examen directo, cultivo y/o prueba de aglutinación con látex) se logró en el 98,10% de los pacientes (103/105). En 34 pacientes se logró recuperar la cepa de *Cryptococcus* spp aislada, identificándose 30 de ellas como *C. neoformans* y 4 como *C. gattii*. De estas, todas las cepas *C. neoformans* y 2 de *C. gattii* provenían de pacientes con SIDA y las otras 2, de individuos aparentemente inmunocompetentes.

Las localizaciones más frecuentes de la enfermedad en las autopsias revisadas fueron: SNC (97,27%) y pulmonar (16,36%). También: hígado, bazo, riñones, suprarrenales, páncreas, ganglios, sangre, piel, tiroides, corazón y un quiste en la porción distal de una válvula ventrículo-peritoneal.

La mortalidad general en los pacientes del estudio fue de 30,00%. En los pacientes con SIDA fue de 31,87%, y en los VIH seronegativos de 21,05%, con una razón de 7,3:1. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con y sin SIDA ($p > 0,4$).

De los 10 pacientes con SIDA que se encontraban recibiendo tratamiento antirretroviral, sólo 1 falleció. La probabilidad de que estos pacientes fallecieran a pesar de recibir tratamiento antirretroviral no fue diferente de aquellos que no lo recibían ($p > 0,18$).

De los 33 pacientes que fallecieron (29 con SIDA y 4 seronegativos), el tiempo de

hospitalización antes del fallecimiento estuvo entre 1 y 97 días (media: 12,55; D.E.:±19,44). Es de hacer notar que la moda fue de 1 y la mediana de 5 días.

Al aplicar el análisis multivariante para determinar los indicadores de mal pronóstico (predictores de mortalidad), se encontró que estos fueron: disnea, alteración del estado de conciencia ($p:<0,001$), hepatomegalia, pérdida de peso, expectoración, tinta china (+), compromiso extra-SNC. Se consideraron indicadores de buen pronóstico cefalea y vómitos.

Discusión

La criptococosis es una enfermedad ampliamente distribuida en el mundo y también en todo el territorio venezolano (6,10).

De los 110 casos incluidos en este trabajo, 91 (82,73%) tenían el diagnóstico de SIDA, lo cual refleja que este síndrome en nuestros pacientes, es una condición de base que con frecuencia predispone a la criptococosis. Otros autores afirman que esta entidad es una causa importante de morbilidad y mortalidad, siendo en muchos pacientes la enfermedad definitoria de SIDA (12, 15).

En los pacientes con SIDA en los cuales fue posible recuperar la cepa aislada, se encontró un predominio de *C. neoformans*, tal como se ha descrito en la literatura, sin embargo, se encontró en 2 de estos pacientes *C. gattii*, reportado con menor frecuencia asociado a SIDA. Los 4 pacientes con *C. gattii* provenían del campo, lo cual podría explicar el por qué de la infección por esta especie. Esta se ha encontrado en árboles como eucaliptos, entre otros, en ambientes rurales (6, 19, 20).

En nuestro estudio se encontró que la criptococosis como entidad que define al SIDA fue de un 61,54%. Este valor es significativamente mayor ($p:<0,001$) a lo reportado

en la literatura universal a principios de los años 90 (40-60%). Además, hubo una diferencia significativa ($p:<0,001$) con respecto al porcentaje (38%) reportado en Estados Unidos luego de la introducción de la terapia HAART (1, 3-5, 7). En este trabajo no fue posible analizar esta variable ya que resultaba en el límite de la significancia estadística, posiblemente debido al tamaño de la muestra.

El comportamiento encontrado en nuestros pacientes en relación a la edad, sexo, antecedentes, factores predisponentes y manifestaciones clínicas, no difiere de lo observado en la literatura universal, ni en reportes nacionales (3, 9-12, 20-25).

Los 10 pacientes con tratamiento anti-retroviral, cursaron con criptococosis probablemente debido al grado de inmunosupresión que presentaban, además del corto tiempo que tenían con el tratamiento (50% de los pacientes tenían 1 ó 2 meses con la terapia), tal como se reporta en otros estudios revisados (6, 26).

Entre los pacientes evaluados, se encontró uno sin infección por VIH, el cual era portador de una válvula ventrículo-peritoneal y se le demostró un quiste de consistencia gelatinosa en el extremo distal de la válvula, de cuyo contenido se logró aislar *Cryptococcus neoformans*. Aparentemente el implante de la válvula se debió a la presencia de hidrocefalia. Esta es una complicación que se ha descrito en la criptococosis meníngea (27-29).

En la población evaluada la letalidad estuvo representada por un 30,00%, siendo superior a lo reportado por Powderly en 1993 (10-15%) (3). Esto posiblemente es debido a que se incluyeron los pacientes autopsiados.

Llama la atención que el tiempo transcurrido entre el ingreso al hospital y el fallecimiento de la mayoría de los pacientes fue corto, entre 1 y 5 días; esto hace pensar que los pacientes acudieron tardíamente al hospital,

ingresaron en malas condiciones generales y fallecieron, a pesar de contar con el diagnóstico micológico y el tratamiento antifúngico oportuno. Este mal pronóstico ha sido descrito por Chayakulkeeree y Perfect en 2006 y Mirza y col. en 2003 (6, 7).

En nuestro estudio la probabilidad de que los pacientes fallecieran a pesar de estar recibiendo tratamiento antirretroviral fue muy alta, posiblemente debido al corto tiempo que estos estuvieron recibiendo el tratamiento. Como es bien sabido, los pacientes con inmunodeficiencia severa, al recibir HAART, tienen una recuperación inmunológica progresiva, por tal motivo no hay suficiente defensa contra *C. neoformans* durante los primeros meses del tratamiento. Otra probable explicación, es el efecto del síndrome inflamatorio de reconstitución inmunológica ejercido en ellos al iniciar el tratamiento antirretroviral, lo cual aumenta la morbimortalidad en estos pacientes (6, 28, 30, 31).

Los indicadores de mal pronóstico en los pacientes del estudio fueron alteración del estado de conciencia ($p < 0,001$), hepatomegalia, tinta china (+), compromiso extra-SNC lo cual es similar a lo reportado por Chayakulkeeree y Perfect en 2006, quienes encontraron como factores de mal pronóstico las enfermedades inmunosupresoras, la alta carga de microorganismos (tinta china y serología +) y la alteración de conciencia (6, 32). La presencia de cefalea y vómitos resultaron indicadores de buen pronóstico, por constituir señales de alerta, las cuales favorecieron la sospecha clínica precoz. No encontramos en la literatura revisada referencias a este respecto.

Este es el primer estudio multicéntrico realizado en nuestro país, en el cual se efectúa un análisis de las variables clínico-epidemiológicas presentes en los pacientes con criptococosis. Esta entidad, en nuestro medio, pre-

senta características similares a las reportadas en el resto del mundo. Falta realizar otros estudios con mayor número de pacientes, para corroborar estos hallazgos. A pesar de que la terapia con HAART ha disminuido la frecuencia de la criptococosis en los países más desarrollados, esta entidad sigue siendo importante en Venezuela. Es nuestra opinión que en la medida en que se mejore el diagnóstico precoz de infección por VIH, disminuirá la frecuencia de criptococosis en estos pacientes.

Referencias Bibliograficas

- (1) Hovette, P; Soko, TO; Raphenon, G; Camara, P; Burgel, P; Garraud, O. Cryptococcal meningitis in AIDS patients: an emerging opportunistic infection in Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1999; 93:308.
- (2) Torres H, Rivero G, Kontoyiannis D. Endemic mycoses in a cancer hospital. *Medicine.*2002; 81(3):201-212.
- (3) Powderly W. Cryptococcal meningitis and AIDS. *Clin Infect Dis.*1993; 17:837-42.
- (4) Kwon-Chung K, Sorrell TC, Dromer F, Fung E, Levitz M. Cryptococcosis: clinical and biological aspects. *Med Mycol.*2000; 38(S1):205-213.
- (5) Marques SA, Robles AM, Tortorano AM, Tuculet MA, Negroni R, Mendes RP. Mycoses associated with AIDS in the third world. *Med Mycol.*2000;38(S1):269-279.
- (6) Chayakulkeeree M, Perfect J. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am.*2006; 20:507-544.
- (7) Mirza S, Phelan M, RimLand D, Graviss E, Hamill R, Brandt M, et al. The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992–2000. *Clin Infect Dis.*2003; 36:789–94.
- (8) Ríos A. Infecciones micóticas en pacientes con cáncer. *Antibióticos e Infección.* 1994; 2(1):13-22.

- (9) Ortiz A. Criptococosis, incidencia en el Hospital Universitario de Caracas en la última década. [Tesis Especial de Investigación]. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela; 1989.
- (10) Osorio-Herrera, RA. Contribución al estudio de la micosis del sistema nervioso central en Venezuela. [Tesis Doctoral]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1976.
- (11) Landaeta, M., Arocha F., Nuñez, MJ. Criptococosis diseminada en un paciente con SIDA. Reporte de un caso. Arch Venez Med Trop 1997;1(2): 24-28
- (12) Benetucci J. SIDA y enfermedades asociadas. 2a ed. Buenos Aires: Fundación de Ayuda al Inmunodeficiente (FUNDAI).2001.p.305-310.
- (13) Darzé C, Lucena R, Gomes I, Melo A. Características clínicas laboratoriais de 104 casos de meningoencefalite criptocócica. Rev Soc Bras Med Trop.2000; 33:21-26.
- (14) Li-Ping Z, Shi YZ, Weng XH, Müller F. Case reports. Pulmonary cryptococcosis associated with cryptococcal meningitis in non-AIDS patients. Mycoses. 2002; 45:111-117.
- (15) Mitchell, T; Perfect, J. Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. Clin Microbiol Rev.1995; 8(4):515-548.
- (16) Pérez C, Hernández Y, Colella M, Roselló A, Hartung C, Olaizola C, Mata S. Identificación de *Cryptococcus sp*, mediante el auxanograma modificado por Araujo. Kasmera.2004; 32:16-26.
- (17) Goitia K, Pérez C, Mata S, Hartung C, Colella MT, Hernández C, Villarroel M, Reyes H, Ontiveros Y, Magaldi S, Suarez R. Utilización del Caldo Urea de Stuart para el test de la ureasa, como prueba en el diagnóstico de las levaduras. Rev Soc Venez Microbiol.2002; 22:136-140.
- (18) Pérez C, Hernández Y, Colella MT, Rosello A, Hartung C, Olaizola C, Magaldi S, Mata S. Identificación de *Cryptococcus neoformans* var *gattii* mediante el uso del medio CGB. Rev Soc Venez Microbiol.2003; 23:158-162.
- (19) Villanueva E, Mendoza M, Torres E, Albornoz M. Serotipificación de 27 cepas de *Cryptococcus neoformans* aisladas en Venezuela. Acta Científica Venezolana. 1989; 40:151-154.
- (20) Tortorano AM, Viviani MA, Rigoni AL, Cogliati M, Roverselli, Pagano A. Prevalence of serotype D in *Cryptococcus neoformans* isolates from HIV positive and HIV negative patients in Italy. Mycoses.1997; 40:297-302.
- (21) Bava A, Robles AM, Negroni R, Arechavala A, Bianchi M. Estudio de algunos aspectos epidemiológicos de 253 casos de criptococosis. Rev Iberoam Micol. 1997; 14:111-114.
- (22) Manfredi R, Calza L, Chiodo F. Dual Candida albicans and Cryptococcus neoformans fungaemia in an AIDS presenter: a unique disease association in the highly active antiretroviral therapy (HAART) era. J Med Microbiol.2002; 51:1135-1137.
- (23) Guzmán M, Murillo J, Isturiz R, Hernandez D, López J. Estudio de 58 pacientes con SIDA atendidos en dos hospitales de la ciudad de Caracas. Gaceta Médica de Caracas.1988; 1-2-3:73-79.
- (24) Moosa MY, Coovadia YM. Cryptococcal meningitis in Durban, South Africa: A comparison of clinical features, laboratory findings, and outcome for human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative patients. Clin Infect Dis.1997; 24:131-4.
- (25) Chen S, Sorrell T, Nimmo G, Speed B, Currie B, Ellis D, et al. Epidemiology and host- and variety-dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. Clin Infect Dis.2000; 31:499-508.
- (26) Saag MS, Cloud GA, Graybill R, Sobel JD, Tuazon CU, Johnson PC, et al. A comparison of itraconazole versus fluconazole as maintenance therapy for AIDS-associated cryptococcal meningitis. Clin Infect Dis.1999; 28:291-6.
- (27) Park M, Hospenthal D, Bennett J. Treatment of hydrocephalus secondary to cryptococcal meningitis by use of shunting. Clin Infect Dis.1999; 28:629-33.
- (28) FIMUA Cryptococcosis Network. European Confederation of Medical Mycology (ECMM). Prospective survey of cryptococ-

- cosis: Report from Italy. *Med Mycol.*2002; 40: 507-517.
- (29) Rozenbaum R, Rios A. Clinical epidemiological study of 171 cases of cryptococcosis. *Clin Infect Dis.*1994; 18:369-80.
- (30) Shelburne S, Montes M, Hamill R. Immune reconstitution inflammatory syndrome: more answers, more questions. *J Antimicrob Chem.*2006; 57:167-170.
- (31) Lipman M, Breen R. Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV. *Curr Opin Infect Dis.*2006; 19(1):20-25.
- (32) Pappalardo M, Melhem M. Criptococosis: a review of the brazilian experience for the disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.*2003; 45:299-305.