

Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen

Hulde aan de Erevast Secretaris

DANIELLE SWINNE

Hommage à la Secrétaire perpétuelle honoraire

Académie Royale des Sciences d’Outre-Mer

2014

Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen

Hulde aan de Erevast Secretaris

DANIELLE SWINNE

Hommage à la Secrétaire perpétuelle honoraire

Académie Royale des Sciences d’Outre-Mer

2014

KONINKLIJKE ACADEMIE
VOOR
OVERZEESE WETENSCHAPPEN

ACADEMIE ROYALE
DES
SCIENCES D'OUTRE-MER

Louizalaan 231
B-1050 Brussel (België)

av. Louise 231
B-1000 Bruxelles (Belgique)

☎ 02.538.02.11 — Fax 02.539.23.53
E-mail: kaowarsom@skynet.be
Web: [http:// www.kaowarsom.be](http://www.kaowarsom.be)

ISBN 978-90-7565255-0
D/2014/0149/3

INHOUDSTAFEL

TABLE DES MATIERES

D. HUYGE. — Openingsrede / Discours d'ouverture	7
C. DE MEYER. — Hulde aan Danielle Swinne / Hommage à Danielle Swinne	11
F. PORTAELS. — La tridimensionnalité de Danielle Swinne.	15
F. HAGEN. — The Dynamic Taxonomy of a Human Fungal Pathogen: The Case of <i>Cryptococcus gattii</i> and <i>Cryptococcus neoformans</i> .	19
S. DE WIT. — Aspects cliniques et thérapeutiques de la cryptococose chez le patient VIH positif	51
P. PIOT. — Hoe aids <i>global health</i> creëerde.	59
P. GOYENS. — Hulde / Hommage	67
D. SWINNE. — Dankwoord / Remerciements.	73



Openingsrede / Discours d'ouverture

door / par

Dirk HUYGE*

Madame la Secrétaire perpétuelle honoraire, Excellencies, Excellences, Mijnheer de Vast Secretaris, Mesdames et Messieurs les Secrétaires perpétuels et perpétuels honoraires des Académies, waarde Consororen en Confraters, Mesdames et Messieurs,

Het is mij een buitengewoon genoegen om U zo talrijk te mogen verwelkomen op deze toch wel erg bijzondere gemeenschappelijke zitting van de drie Klassen van onze Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen.

Elke academie die zichzelf eer aandoet, heeft haar „monumenten”. Ik ben ervan overtuigd dat ik in naam van alle aanwezige — én afwezige — Consororen en Confraters spreek, als ik verklaar dat wij vandaag een waar „monument” van onze Academie huldigen.

Gedurende acht jaar, van 2005 tot 2012, heeft Consoror Danielle Swinne onze Academie als Vast Secretaris geleid en gediend. Dat heeft zij met een bewonderenswaardige overgave gedaan. Zij heeft met andere woorden de lat voor onze huidige Vast Secretaris wel bijzonder hoog gelegd.

Il ne m'appartient pas de décrire la carrière de notre chère Consœur. Les orateurs qui me suivent le feront sans doute en détail. Et c'est un peu un soulagement... J'ai eu le plaisir d'étudier de plus près l'impressionnant *curriculum vitae* de Danielle Swinne et la longue liste de ses publications scientifiques regorge de noms d'organismes microbiologiques que j'ai peine à prononcer.

Ik ben geassocieerd lid geworden van de Academie in 2006, dus tijdens het secretariael „bewind” van Danielle Swinne, als ik dat zo mag uitdrukken. Persoonlijk heb ik haar ervaren als een bevlogen, doortastende, maar

* Voorzitter 2013 van de Academie; Koninklijke Musea voor Kunst en Geschiedenis, Jubelpark 10, B-1000 Brussel (België) / Président 2013 de l'Académie; Musées royaux d'Art et d'Histoire, Parc du Cinquantenaire 10, B-1000 Bruxelles (Belgique).

immer hulpvaardige Vast Secretaris, met de opmerkelijke en zeldzame capaciteit om een grote openheid en belangstelling aan de dag te leggen voor wetenschapsdomeinen die niet onmiddellijk de hare zijn. Ik kijk met veel genoegen terug op de academische activiteiten die wij de voorbije jaren in overleg hebben georganiseerd, en uiteraard in het bijzonder op de internationale conferentie van 2010 *The Signs of Which Times? Chronological and Palaeoenvironmental Issues in the Rock Art of Northern Africa*. Al zou het misschien een zweem van twijfel werpen op uw onberispelijke wetenschappelijke staat van dienst, waarde Erevast Secretaris, zou het geen mooie bekroning van onze goede relatie zijn, mocht U er ooit nog in slagen een vroege afbeelding van „uw” *Cryptococcus neoformans* te ontdekken in „mijn” prehistorische Noord-Afrikaanse rotskunst?

Le programme qui suit, avec six orateurs d’envergure, est chargé, mais sera heureusement allégé par des intermèdes musicaux. La «lourdeur» du programme se devait d’être directement proportionnelle au poids, tridimensionnel selon une de nos Consœurs, que Danielle Swinne a eu pour notre Académie, qu’elle a toujours, et qu’elle aura, espérons-le, encore pour très longtemps.

Ik geef nu met veel genoegen het woord aan onze eerste spreker van vandaag, Confrater Christian De Meyer van de Klasse voor Technische Wetenschappen, die een persoonlijke *hommage* aan onze Erevast Secretaris zal brengen.



Hulde aan Danielle Swinne / Hommage à Danielle Swinne

door / par

Christian DE MEYER*

Dames en Heren Academici,
Beste Consororen, Beste Confraters,

Wij zijn hier vandaag samen om hulde te brengen aan onze dierbare Consoror Danielle Swinne, Erevast Secretaris van onze gewaardeerde Academie.

Ik moet toegeven dat ik zeer vereerd was toen Confrater Philippe Goyens, haar opvolger, mij vroeg het woord te nemen bij deze huldiging als vertegenwoordiger van de Klasse voor Technische Wetenschappen.

Toen ik de uitnodiging in handen kreeg en constateerde dat ik de eerste spreker was, voelde ik mij een beetje voor schut gezet: diegenen die mij kennen weten dat ik het af en toe niet kan laten een grapje te maken. Nu, helaas, ben ik verplicht ... of moet ik zeggen veroordeeld? ... om serieus te blijven, wat in feite tegen mijn principes is.

Bovendien, is mij de keuze van de wapens ontzegd, of beter de taal waarin ik jullie mag toespreken. En dat is niet de eerste keer. Hieruit blijkt eens te meer dat onze Belgische Academie op nationaal vlak een voorbeeld is.

Qu'à cela ne tienne, nous sommes réunis pour parler et rendre hommage à notre chère Consœur Danielle Swinne, Secrétaire perpétuelle honoraire de notre Académie. Cela sonne très pompeux, maar volgens mijn bescheiden mening volkomen terecht.

Ik ga niet uitweiden over de professionele carrière van Danielle, en evenmin over markante feiten of de vruchten van haar studiewerk; andere sprekers zullen hiertoe ruimschoots de gelegenheid krijgen.

Acht jaar Vast Secretaris ... ze zijn voorbijgevlogen als een zucht ...

* Lid van de Academie / Membre de l'Académie.

Ik herinner me nog alsof het gisteren was de verkiezing van Danielle, op een zaterdagmorgen in de Defacqzstraat, op krakende stoelen, in een lugubere zaal, die wellicht ooit op een mooie dag kraaknet moet zijn geweest.

Verkozen met eenparigheid van stemmen, het bewijs dat Yola ons ervan had overtuigd met Danielle een waardige en bekwame opvolger te hebben gevonden, die de kostbare fakkel van het „vast secretariaat” kon overnemen.

Zich bewust zijnde van het feit dat Yola opvolgen geen sinecure was, heeft zij zich meteen met hart en ziel ingezet, met de toewijding die wij intussen van haar kennen.

Zij nam bovendien alle tijd die zij nodig achtte om de verdere toekomst van onze prestigieuze academie te bestendigen.

Zij heeft dit acht jaar lang gedaan, zonder haar positieve en enthousiaste blik te verliezen, niettegenstaande haar bijna permanente bezorgdheid dat iets zich onverwachts zou kunnen voordoen, iets waarop niemand voorbereid was ...

Telkens we rechtstonden aan het einde van een klassezitting of van een vergadering van het Bureau of van een commissie zag je op haar gezicht de opluchting dat alles goed verlopen was en van dan af kon zij zich ontspannen.

Waarde Confraters, sta me toe nog eenmaal naar het Frans te grijpen omdat ik er niet in slaag volgende zin met dezelfde accenten en exact dezelfde finesse in het Nederlands te zeggen: si disponible, si bienveillante avec son regard mutin et son sourire affectueux, Danielle n'entreprenait rien qu'elle ne puisse achever correctement avec élégance, justesse et précision.

Zo heeft zij belangrijke en delicate zaken tot een goed einde gebracht, waaronder de titanenverhuis van de Academie. Dat heeft haar de gelegenheid geboden een goede relatie met het hoofd van Belspo uit te bouwen. Zij is er bovendien in geslaagd een prachtige ruimte te bekomen voor onze unieke bibliotheek, iets wat opvallend contrasteert met het donkere gedoe in de Defacqzstraat.

Ik maak van de gelegenheid gebruik, beste Consororen en Confraters, de staf van de Academie te betrekken bij onze erkentelijkheid, onze felicitaties en onze oprechte waardering voor de enorme inspanningen en het resultaat van het geleverde werk.

Dankzij Danielle werden wij constant op de hoogte gehouden van de werkzaamheden van de andere Klassen en van de in diverse beleidsvergaderingen genomen beslissingen.

Zij moedigde de organisatie van gezamenlijke bezoeken en zittingen aan, waarbij de Consororen en Confraters van alle Klassen de gelegenheid kregen met elkaar beter kennis te maken.

Zij is een warme persoonlijkheid die zeer dicht staat bij de leden van de Academie en goede relaties met verschillende onder ons weet te koesteren.

„J’aime l’Académie et j’aime y venir” mochten we menigmaal van haar horen.

Aujourd’hui, ma chère Secrétaire perpétuelle honoraire, je n’ai qu’un souci: que l’Académie te manque — mais, sois sans crainte, chère Danielle, elle t’est perpétuellement, ... heu ... pardon, éternellement reconnaissante et ...

En wees ervan verzekerd, wij zijn en zullen er altijd zijn om je in oprechte vriendschap te verwelkomen.



La tridimensionnalité de Danielle Swinne

par

Françoise PORTAELS*

C'est à la fois un honneur et un privilège de pouvoir présenter notre Secrétaire perpétuelle, le Professeur Danielle Swinne, sous d'autres aspects que ceux liés à sa carrière professionnelle.

En effet, pour avoir une vie épanouie, tout être humain doit être doté de qualités dans divers domaines. Tel est le cas de Danielle Swinne et j'ai choisi, pour la présenter, le terme «tridimensionnalité» qui résume très bien les multiples qualités et facettes de sa personnalité.

Nous nous connaissons depuis plus d'un demi-siècle, à savoir depuis 1963, année où nous nous sommes retrouvées sur les mêmes bancs de l'Université Libre de Bruxelles (ULB). Au cours de ces cinquante années, nos chemins professionnels et familiaux ont suivi des routes parallèles.

Dès le début des quatre années d'étude en sciences zoologiques, Danielle Swinne révèle ses compétences scientifiques et son désir de connaissance. La plus grande distinction obtenue à la fin de ses études en est la preuve.

En 1967, elle obtient son diplôme de licence en sciences zoologiques. Remarquée par le Professeur Raymond Vanbreuseghem, elle est directement engagée, la même année, comme assistante au laboratoire de parasitologie de l'ULB dont le Professeur Vanbreuseghem assure la direction, étant également chef du laboratoire de mycologie à l'Institut de Médecine Tropicale (IMT). Il propose à Danielle Swinne de suivre les cours de spécialisation en mycologie humaine et animale qu'il organise chaque année à l'IMT. Danielle Swinne obtient le diplôme de spécialisation en 1968, année au cours de laquelle je suis moi-même engagée à l'IMT, également sur proposition du Professeur Vanbreuseghem, dans le laboratoire de bactériologie dirigé par le Professeur Stefaan Pattyn.

En 1969, Danielle Swinne est nommée assistante au laboratoire de mycologie de l'IMT. Elle consacre ses recherches principalement à la cryptococcose, tout en assurant partiellement l'enseignement de la mycologie et la responsabilité des analyses cliniques.

* Membre de l'Académie; prof. hon. Institut de Médecine Tropicale (IMT).

En 1970, dans le cadre du cours de mycologie médicale et vétérinaire, j'effectue un mémoire sur la cryptococcose sous la direction de Danielle Swinne. Outre les liens d'amitié qui nous lient depuis plusieurs années, ce mémoire me permet d'apprécier les **qualités scientifiques et pédagogiques** de Danielle Swinne. Sa rigueur soigne à la fois le fond et la forme.

En 1977, Danielle Swinne obtient son diplôme de docteur en sciences en soutenant une thèse intitulée «*Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuillemin 1894 et l'épidémiologie de la cryptococcose». Je soutiens, l'année suivante, une thèse sur «L'étude des Actinomycétales isolées de l'homme et de son environnement en Afrique centrale». Appuyées par le même promoteur, le Professeur Vanbreuseghem, nous défendons des sujets similaires vu que les deux thèses concernent la recherche dans l'environnement du réservoir de maladies (la cryptococcose et l'ulcère de Buruli).

Après une riche carrière scientifique à l'IMT, au cours de laquelle l'enseignement de la mycologie médicale aux médecins et vétérinaires occupe une place importante, le Professeur Swinne est promue à l'éméritat en décembre 2009.

Au cours de ces nombreuses années, notre amitié se consolide, grâce à un covoiturage quotidien Bruxelles-Anvers et retour, au cours duquel Danielle se montre une conductrice experte. Ces trajets sont l'occasion de nombreux partages non seulement d'un point de vue scientifique et philosophique, mais aussi social et familial. Nos liens se sont encore resserrés en 1975, avec la naissance de son fils et de ma fille, à deux mois d'intervalle!

La figure 1 résume la tridimensionnalité de Danielle Swinne, en y présentant les trois aspects (**professionnel, social et familial**) de sa personnalité. Les trois cercles s'entrecroisent et mettent en valeur, à leur intersection, la **dimension humaniste** de Danielle Swinne. Aux qualités professionnelles évoquées plus haut, s'ajoutent une rare sincérité et fidélité en amitié ainsi qu'un sens précieux de la famille.

Les initiales de Danielle Swinne (DS) et sa personnalité tridimensionnelle permettent aussi de se référer à certaines «déesses» présentes dans des cultures aussi diverses que les cultures indienne, grecque ou égyptienne.

Trois «déesses» sont choisies pour illustrer les qualités de notre «DS» :

- **Artémis**: déesse grecque de la chasse et des animaux, également déesse des bêtes sauvages, de l'eau, de la végétation et de l'agriculture. En tant que docteur en sciences zoologiques et maman d'un docteur en agronomie, Artémis présente plusieurs points communs avec Danielle Swinne.
- **Saraswati**: déesse indienne de la connaissance, de l'intelligence, de l'écriture et des sciences. La comparaison est évidente vu la carrière professionnelle de Danielle Swinne et ses talents pour la rédaction de documents.

— **Maat**: déesse égyptienne de la vérité, de l'ordre et de la justice. Elle représente ses qualités d'intégrité, le sens de l'ordre et de la justice.

La tridimensionnalité de Danielle Swinne peut aussi s'exprimer à travers la pensée chinoise, qui dit que pour réussir sa vie il faut avoir planté un arbre, écrit un livre et avoir un fils. Vu sous cet angle, Danielle Swinne a donc réussi sa vie.

Les qualités de Danielle Swinne en «3D»

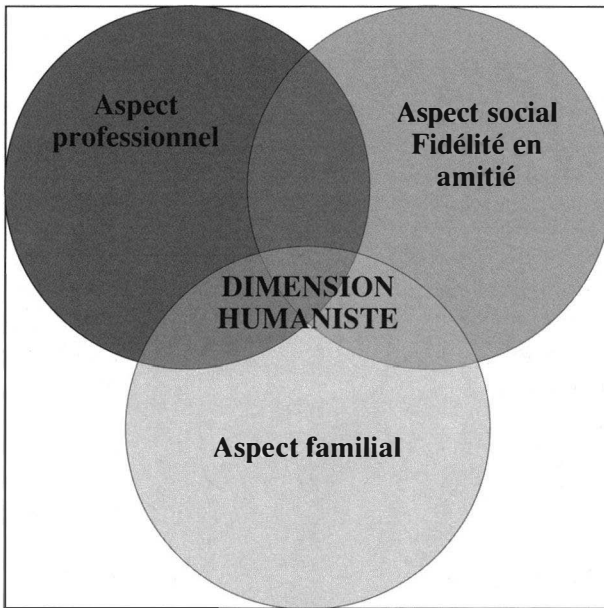


Fig. 1. — La tridimensionnalité de Danielle Swinne.

La séance d'hommage à notre Secrétaire perpétuelle a eu lieu le 20 septembre 2013, soit huit jours après le décès d'un grand humaniste, le biologiste Albert Jacquard (né en 1925).

Par sa vie professionnelle, sociale et familiale, Danielle Swinne a toujours témoigné d'un **humanisme profond** et d'une grande **ouverture sur le monde**. Sa diversité de pensée nous enrichit à l'image de celle d'Albert Jacquard qui disait: «Il faut prendre conscience de l'apport d'autrui, d'autant plus riche que la différence avec soi-même est plus grande» (Petite Philosophie à l'usage des non-philosophes. Le Livre de Poche, 1999).



The Dynamic Taxonomy of a Human Fungal Pathogen: The Case of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans**

by

Ferry HAGEN**

KEYWORDS. — *Cryptococcus gattii*; *Cryptococcus neoformans*; Taxonomy; Epidemiology; Molecular Biology.

SUMMARY. — The advent of molecular biology techniques in the field of medical mycology has ensured that the taxonomy of many fungal pathogens needed to be revised. While this has gone almost without a struggle for many fungal species, this is not the case for common pathogenic fungi, including *Cryptococcus neoformans*. More than a hundred years after the first description of a clinical case of cryptococcosis the taxonomy was carefully revised. But with the current knowledge gained by the rise of molecular biology the international research community is prepared to fully update the taxonomy of these major fungal pathogens.

Introduction

Within the domain of eukaryotic organisms the kingdom of Fungi is the second-largest group; only the kingdom of Insects has a higher species richness than the estimated 1.5 million fungal species (HAWKSWORTH 1991, MUELLER & SCHMIT 2007). Roughly over a hundred thousand fungal species have been described, which includes a number of amply one thousand five hundred unicellular species: the yeasts (BOEKHOUT 2005, KURTZMAN *et al.* 2011, MUELLER & SCHMIT 2007). While the majority of fungi do not cause any harm, on the contrary some fungi are highly beneficial to mankind since they can be exploited for food, drug and industrial applications (BOEKHOUT 2005, NIELSEN & HEITMAN 2007). However,

* This manuscript was published in 2011 as the introduction-section of the author's thesis "*Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* – Cosmopolitans on the Move". The current version was slightly modified.

** Department of Yeast and Basidiomycetous Research, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht (The Netherlands); Department of Medical Microbiology & Infectious Diseases, Canisius-Wilhelmina Hospital, Nijmegen (The Netherlands).

since the onset of the HIV pandemic the number of fungal species that frequently cause disease in humans has rapidly expanded (NIELSEN & HEITMAN 2007). Approximately 0.3 % of the currently recognized fungal species is known to cause infections in humans (WOOLHOUSE & GAUNT 2007). A handful of these pathogenic fungal species can be regarded as the major cause of morbidity and mortality among immunocompromised individuals (AMPEL 1996, WALSH & GROLL 1999). The most prevalent occurring human pathogenic fungi are *Candida* species which are a major cause of nosocomial blood stream infections, *Aspergillus* species which are a frequent cause of mortality in patients who underwent bone marrow transplantation, and *Cryptococcus neoformans*, which is the major cause of meningoencephalitis among HIV-infected individuals (MITCHELL & PERFECT 1995, WALSH & GROLL 1999, WARKENTJEN & CRUM-CIANFLONE 2010).

A first attempt to estimate the global impact on human health by a fungal pathogen was carried out for *C. neoformans* and revealed that every year approximately one million HIV-infected individuals develop cryptococcal meningitis (PARK *et al.* 2009). Yearly, cryptococcal infections account for an estimated number of nearly six hundred twenty-five thousand fatalities, mainly in Sub-Saharan Africa where a relatively high incidence of HIV infections has placed cryptococcal meningitis at the fourth position as a HIV-related cause of death (PARK *et al.* 2009, WARKENTJEN & CRUM-CIANFLONE 2010).

Not only immunocompromised patients, but also immunocompetent individuals are threatened by fungal pathogens. This has been demonstrated by expanding outbreaks of the primary pathogenic yeast *Cryptococcus gattii* which has caused serious disease in hundreds of people and animals living in North America (BYRNES *et al.* 2010; DATTA *et al.* 2009; HAGEN *et al.* 2012a, 2013; KIDD *et al.* 2004).

Taxonomic History of *Cryptococcus*

Over the past three decades, *Cryptococcus neoformans* became one of the most prevalent causes of fungal disease. Until the early 1980s the species was regarded as a rare cause of infection among immunocompromised and immunocompetent individuals (MITCHELL & PERFECT 1995). The first description of a cryptococcal infection dates back to 1894, the German physicians Otto Busse and Abraham Buschke cultivated the yeast *Saccharomyces hominis* from a lesion of a woman's tibia (BARNETT 2010, BUSCHKE 1895, BUSSE 1894). In the same year, Francesco Sanfelice, an Italian researcher, found similar yeast cells in fermenting peach juice and proved that the yeast obtained was pathogenic when injected in laboratory

animals (BARNETT 2010, SANFELICE 1894). The French mycologist Jean-Paul Vuillemin discovered in 1901 that the *S. hominis* isolates were unable to produce ascospores and placed them in the genus *Cryptococcus*. Vuillemin decided, basing himself on the morphological characteristics, to rename the clinical isolate from Busse and Buschke to *Cryptococcus hominis* and the environmental isolate cultivated by Sanfelice as *Cryptococcus neoformans* (BARNETT 2010, VUILLEMIN 1901). The type-strain of *C. hominis* was not preserved and thus became *C. neoformans* the valid species name. During the first decades of the 20th century, several case reports described infections similar to cryptococcosis but introducing new synonyms for the same infectious microorganism: *C. neoformans*. This has led to an extensive list of nearly fifty synonyms as listed in table 1 (BARNETT *et al.* 2010, BOVERS *et al.* 2008a).

In the 1950s, it was found that *C. neoformans* could be divided into three groups based on capsular antigen properties and these were designated as serotypes A, B and C. Two decades later, a fourth serotype was identified and subsequently logically named serotype D (EVANS 1950, WILSON *et al.* 1968). In the 1970s, the sexual phase of *C. neoformans* was described and the opposite mating-types were designated as **a** and **α** (KWON-CHUNG 1975). The sexual state of serotype A and D isolates differed microscopically from that of serotype B and C isolates. Therefore, both groups were accommodated in the genus *Filobasidiella* as *F. neoformans* for serotype A and D isolates and *F. bacillispora* for serotype B and C isolates (KWON-CHUNG 1976a,b). The latter species was a few years later reduced to a variety of *F. neoformans* as *F. neoformans* variety *bacillispora*. Since then, *C. neoformans* has split into *C. neoformans* variety *neoformans* (serotype A and D) with the teleomorphic phase *F. neoformans* variety *neoformans*, and *C. neoformans* variety *gattii* (serotype B and C) with the teleomorphic phase *F. neoformans* variety *bacillispora* (KWON-CHUNG *et al.* 1982a). The proposal to divide the two serotypic groups into two taxonomic varieties was further strengthened by biochemical characteristics and the ecological and geographical differences between serotype A and D versus serotype B and C isolates (BENNETT *et al.* 1977, 1978; KWON-CHUNG & BENNETT 1984; VANBREUSEGHEM & TAKASHIO 1970).

The last major changes in the taxonomy of *C. neoformans* was the proposal to raise the group of serotype A isolates to a separate variety level named *C. neoformans* variety *grubii* (FRANZOT *et al.* 1999). This was based on the distinct phylogeny, epidemiological and biochemical differences, when compared to serotype D isolates that were represented by the novel variety *C. neoformans* variety *neoformans* (FRANZOT *et al.* 1999). Finally, phylogenetic analyses, biochemical, ecological and epidemiological differences were the major reasons to raise *C. neoformans* variety *gattii* to the species level named *C. gattii*, a proposal that was immediately

Table 1
Overview of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* synonyms

Year	Synonym	Comment (^T = type-strain)	Reference
1895	<i>Saccharomyces neoformans</i>	Isolated from fruit juice, first description; CBS132 ^T	SANFELICE 1895
1895	<i>Saccharomyces litogenes</i>		SANFELICE 1896
1895	<i>Megelococcus myxoides</i>		CURTIS 1895
1896	<i>Saccharomyces subcutaneous tumefaciens</i>	CBS1622 ^T	CURTIS 1896
1901	<i>Cryptococcus hominis</i>		VUILLEMIN 1901
1901	<i>Cryptococcus lithogenes</i>	Replacing <i>S. litogenes</i>	VUILLEMIN 1901
1901	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Replacing <i>S. neoformans</i> ; CBS132 ^T	VUILLEMIN 1901
1901	<i>Saccharomyces hominis</i>	CBS879 ^T	COSTANTIN 1901
1901	<i>Saccharomyces plimmeri</i>		COSTANTIN 1901
1902	<i>Torula klein</i>		WEIS 1902
1902	<i>Torula neoformans</i>	Original strain of <i>S. neoformans</i> ; CBS132 ^T	WEIS 1902
1902	<i>Torula plimmeri</i>		WEIS 1902
1904	<i>Cryptococcus kleinii</i>		GUEGUEN 1904
1908	<i>Cryptococcus plimmeri</i>		NEVEU-LEMAIRE 1908
1909	<i>Atelosaccharomyces busse-buschii</i>		DE BEURMANN & GOUGEROT 1909
1910	<i>Saccharomyces blanchardii</i>		GUIART 1910
1912	<i>Cryptococcus gotti</i>		NEVEU-LEMAIRE 1912
1912	<i>Cryptococcus guilliermondii</i>		BEAUVIERE & LESIEUR 1912
1913	<i>Atelosaccharomyces breweri</i>		VERDUN 1913

Year	Synonym	Comment (T = type-strain)	Reference
1913	<i>Atelosaccharomyces hominis</i>	Synonym of <i>C. hominis</i>	VERDUN 1913
1916	<i>Torula histolytica</i>		STODDARD & CUTLER 1916
1918	<i>Cryptococcus costantini</i>		FERNANDES & FROILANO DE MELLO 1918
1919	<i>Cryptococcus breweri</i>	Synonym of <i>C. breweri</i>	CASTELLANI & CHALMERS 1919
1921	<i>Saccharomyces breweri</i>	Synonym of <i>A. breweri</i>	NEVEU-LEMAIRE 1921
1922	<i>Blastomyces lithogenes</i>		SASAKAWA 1922
1927	<i>Cryptococcus histolyticus</i>	Name change of <i>Torula histolytica</i>	CASTELLANI 1927
1928	<i>Torula nasalis</i>	CBS882 ^T	HARRISON 1928
1930	<i>Cryptococcus psicrophilicus</i>	Description and drawing of yeast cells; CBS996 ^T	SPERONTI <i>et al.</i> 1930
1931	<i>Cryptococcus cerebriiloculosis</i>		FREEMAN 1931
1931	<i>Torulopsis hominis</i>	Synonym of <i>C. hominis</i>	REDAELLI 1931
1933	<i>Torulopsis breweri</i>	Synonym of <i>A. breweri</i> , <i>C. breweri</i> and <i>S. breweri</i>	DE ALMEIDA 1933
1933	<i>Torulopsis costantini</i>	Synonym of <i>C. costantini</i>	DE ALMEIDA 1933
1933	<i>Torulopsis lithogenes</i>	Synonym of <i>B. lithogenes</i> , <i>C. lithogenes</i> and <i>S. lithogenes</i>	DE ALMEIDA 1933
1933	<i>Torulopsis plimмери</i>	Synonym of <i>C. plimмери</i> and <i>S. plimмери</i>	DE ALMEIDA 1933
1933	<i>Cryptococcus hondurians</i>	CBS883 ^T	CASTELLANI 1933
1933	<i>Torulopsis histolytica</i>		CASTELLANI & JACONO 1933
1934	<i>Blastomyces neoformans</i>	Considered to be <i>C. hominis</i> and <i>S. neoformans</i>	LODDER 1934
1934	<i>Torulopsis neoformans</i>	Considered to be <i>C. hominis</i> and <i>S. neoformans</i>	LODDER 1934
1935	<i>Cryptococcus meningitidis</i>	Synonym of <i>Torula histolytica</i>	DODGE 1935
1935	<i>Cryptococcus nasalis</i>	Synonym of <i>Torula nasalis</i>	DODGE 1935

Year	Synonym	Comment (^T = type-strain)	Reference
1935	<i>Torulopsis neoformans</i> var. <i>sheppei</i>	CBS919 ^T	GIORDANO 1936
1936	<i>Debaryomyces hominis</i>		TODD & HERMANN 1935
1937	<i>Debaryomyces neoformans</i>		REDAELLI <i>et al.</i> 1937
1954	<i>Rhodotorula histolytica</i>	Synonym of <i>Torula histolytica</i>	KURSANOV <i>et al.</i> 1954
1954	<i>Torulopsis nasalis</i>	Synonym of <i>Torula nasalis</i>	KURSANOV <i>et al.</i> 1954
1960	<i>Lipomyces neoformans</i>		CIFERRIM 1960
1970	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gattii</i>	CBS6289 ^T	VANBREUSEGHEM & TAKASHIO 1970
1975	<i>Filobasidiella neoformans</i>	Teleomorphic phase of <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	KWON-CHUNG 1976a
1976	<i>Filobasidiella bacillispora</i>	Teleomorphic phase of <i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i>	KWON-CHUNG 1976b
1978	<i>Cryptococcus bacillisporus</i>	Synonym of <i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> ; CBS6955 ^T	KWON-CHUNG <i>et al.</i> 1982
1982	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gattii</i>	<i>C. neoformans</i> serotype B and C isolates; CBS6289 ^T	KWON-CHUNG <i>et al.</i> 1982
1982	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	<i>C. neoformans</i> serotype A and D isolates	KWON-CHUNG <i>et al.</i> 1982
1983	<i>Cryptococcus shanghaiensis</i>	CBS7229 ^T	LIAO <i>et al.</i> 1983
1999	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i>	<i>C. neoformans</i> serotype A isolates; CBS8710 ^T	FRANZOT <i>et al.</i> 1999
1999	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	<i>C. neoformans</i> serotype D isolates; CBS882 ^T	FRANZOT <i>et al.</i> 1999
2002	<i>Cryptococcus gattii</i>	Replaces <i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> ; CBS6289 ^T	KWON-CHUNG <i>et al.</i> 2002

embraced by the cryptococcal research community (KWON-CHUNG *et al.* 2002). As a consequence, the teleomorphic species name *F. bacillispora* was reintroduced for the sexual phase of *F. neoformans* variety *bacillispora* (KWON-CHUNG *et al.* 2002).

The advance of molecular biological techniques in the field of medical mycology (see below) has clearly shown that the current taxonomy of *C. neoformans* and *C. gattii* needs a thorough revision. Again, epidemiological and phylogenetic differences between the different genetic groups within both *Cryptococcus* species play an important role in the proposals to be made to raise varieties to species level in the future and, probably, to recognize genotypes as varieties (BOEKHOUT *et al.* 2011; BOVERS *et al.* 2008a,b; D'SOUZA *et al.* 2011; KWON-CHUNG & VARMA 2006; NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009).

Conventional Identification of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*

Microscopically, yeast cells of *C. neoformans* and *C. gattii* can hardly be differentiated from each other since their yeast cells are both globose and ovoidal. A shared and major characteristic of both species is their thick polysaccharide capsule (fig. 1) (KWON-CHUNG *et al.* 1982a). Differences between *C. neoformans* and *C. gattii* become visible when they enter the teleomorphic phase (KWON-CHUNG 1975, 1976a,b). However, differentiation can only be made between *C. gattii* versus *C. neoformans* var. *grubii* and var. *neoformans*. During the teleomorphic phase the latter varieties (*F. neoformans*) produce spherical to cylindrical basidiospores which are 1.8-2.5 μm in diameter and have fine roughened walls, while basidiospores of *F. bacillispora*, the teleomorph of *C. gattii*, are thin-walled and narrow to rod-shaped (1.0-1.5 $\times$ 3-8 μm) (fig. 1) (FRANZOT *et al.* 1999; KWON-CHUNG 1975, 1976a,b; KWON-CHUNG *et al.* 2002).

Several media-based differentiation methods have been developed to distinguish *C. neoformans* from *C. gattii* and use the property that the latter is resistant or less susceptible to L-canavanine or cycloheximide (IROKANULO *et al.* 1994, KWON-CHUNG *et al.* 1982b, SALKIN & HURD 1982). The method based on L-canavanine-glycine-bromothymol blue (CGB) medium is more accurate when compared to glycine-cycloheximide-phenol red or creatinine-dextrose-bromothymol blue media (tab. 2) (KWON-CHUNG *et al.* 1982b). The latter has been further improved by the addition of thymine which allows further differentiation between the different serotypes of *C. neoformans* and *C. gattii*, based on the colour of the media and the colonies (tab. 2) (IROKANULO *et al.* 1994). This improved medium seems to be neglected since the CGB medium is more widely used in research settings and routine laboratories, despite the observation

that false positive and negative results can occur (KLEIN *et al.* 2009, McTAGGART *et al.* 2011, KWON-CHUNG *et al.* 1982b).

Based on the polysaccharide capsule cryptococcal isolates were grouped into serotypes. Serotype A and D represent *C. neoformans* var. *grubii* and var. *neoformans*, respectively, while serotype B and C represent *C. gattii* (tab. 2) (KWON-CHUNG *et al.* 1982a). However, combinations between these serotypes exist, as shown by hybrid isolates between both *C. neoformans* varieties (AD hybrids) and interspecies hybrids between *C. neoformans* and *C. gattii* (AB and BD hybrids) (tab. 2) (BOVERS *et al.* 2006, 2008c). Serotype determination based on cryptococcal capsular antigens was frequently used since it was a reliable method to distinguish *C. neoformans* from *C. gattii* (IKEDA *et al.* 1982, KABASAWA *et al.* 1991). Unfortunately, the commercial serotyping test is no longer available and only a few agglutination methods and enzyme immunoassays are now commercially available, but these lack the possibility to differentiate between the four serotyping groups (GADE *et al.* 1991, JAYE *et al.* 1998, TEMSTET *et al.* 1992).

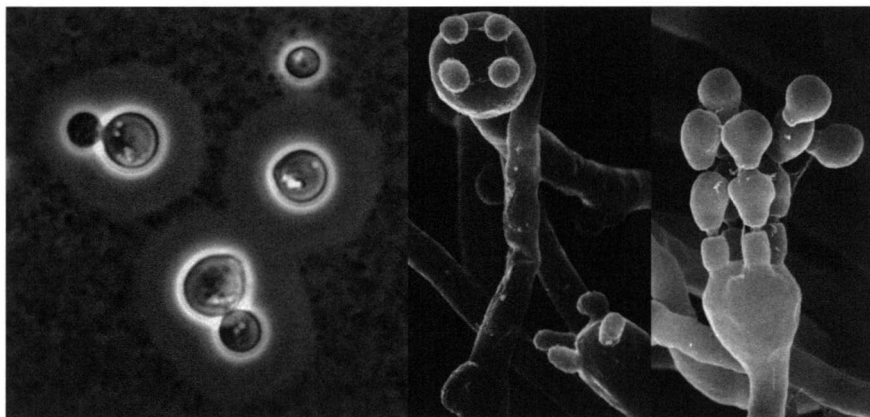


Fig. 1. — Left panel: 1 000 × magnification of a negative ink staining of *C. gattii* strain CBS883; centre and right panel: scanning electron microscopy photographs of the teleomorphic phase of *C. neoformans* (*Filobasidiella neoformans*).

DNA Fingerprinting Methods to Study *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*

The advance of molecular biological tools in cryptococcal research has resulted in a wide variety of techniques that differentiate *C. neoformans* from *C. gattii* more accurately than conventional methods (see tab. 2). One of the first molecular techniques applied was pulsed field gel electrophoresis

Table 2
Overview of key characteristics of *C. neoformans* and *C. gattii*

Phenotypically		DNA fingerprinting-based characterization				Sequence-based	
CGB/CDBT	Serotype	AFLP	(GACA)	M13 <i>PLB1</i> RFLP	<i>URA5</i> RFLP	<i>CAP1+GEF1</i> RFLP	ITS IGS
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>							
M=gold / C=pale	A	AFLP1	VN5 / VN6	VNI	A1	C1+G1 (αA) / C2+G2 (αA)	ITS1 1A, B
		AFLP1A/ VNB	–	VNII	A2	C1+G15 (αA) / C15+G2 (αA)	ITS1 1C
		AFLP1B	VN7	VNII	A2	C3+G3 (αA)	ITS1 1A
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>							
M=orange / C=bright red	D	AFLP2	VN1 / VN2	VNIV	A4	C6+G6 (αD) / C7+G7 (αD)	ITS2 2A-C
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> × <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>							
–	AD	AFLP3	VN3 / VN4	VNIII	A3	C4+G4 (αAαD) / C5+G5 (αDaA)	ITS2 2C
<i>C. gattii</i>							
M=green / C=dull red	B	AFLP4	–	VGI	A5	C8+G8 (αB) / C9+G9 (αB)	ITS3, 7 4
M=green / C=pale	C	AFLP5	–	VGIII	A7	C12+G12(αC) / C13+G13 (αC)	ITS5 5

Phenotypically		DNA fingerprinting-based characterization					Sequence-based	
M=green / C=dull red	B	AFLP6A	–	VGIIa	A6	C10+G10 (αB) / C11+G11 (αB)	ITS4	3
M=green / C=dull red	B	AFLP6B	–	VGIIb	A6	C10+G10 (αB) / C11+G11 (αB)	ITS4	3
M=green / C=dull red	B	AFLP6C	–	VGIIc	A6	C10+G10 (αB) / C11+G11 (αB)	ITS4	3
M=green / C=pale	C	AFLP7	–	VGIV	A8	C14+G14 (αC)	ITS6	6
M=green / C=dull red	B	AFLP10	–	VGIV	A8	–	–	–
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> × <i>C. gatii</i>								
–	BD	AFLP8	–	–	–	–	–	–
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i> × <i>C. gatii</i>								
–	AB	AFLP9	–	–	–	–	–	–

(PFGE), also referred to as karyotyping (PERFECT *et al.* 1989, POLACHECK & LEBENS 1989). With this technique, chromosomes are electrophoretically separated in an agarose gel, which resulted in a banding pattern based on chromosomal length differences. Contour-clamped homogeneous field gel electrophoresis (CHEF) and orthogonal field alteration gel electrophoresis (OFAGE) were applied on cryptococcal isolates (PERFECT *et al.* 1989, POLACHECK & LEBENS 1989). These explorative studies showed that there are clear differences between *C. neoformans* and *C. gattii* in terms of number of chromosomes and chromosome lengths, which was subsequently observed for a larger set of cryptococcal isolates (BOEKHOUT *et al.* 1997).

Restriction enzyme analysis of PCR products (REA-PCR), also called restriction fragment length polymorphism (RFLP) fingerprinting, made use of the ribosomal DNA locus to fingerprint a set of *C. neoformans* and *C. gattii* isolates, as well as other members of the genus *Cryptococcus* (VILGALYS & HESTER 1990). However, *C. neoformans* could not be distinguished from *C. gattii* after enzymatic digestion of the PCR products with four restriction enzymes (VILGALYS & HESTER 1990). This marked the start of a deluge of molecular biological approaches that made use of the PCR amplification technique. The use of DNA fingerprinting was further explored by MEYER *et al.* (1993, 1995) who tested several hybridization probes as single oligonucleotide primer PCR assays. Hybridization probes used for this approach were based on hypervariable and repetitive DNA sequences, such as the M13 phage core sequence, (GTG)₅ and (GACA)₄. These probes were previously used for conventional DNA fingerprinting for which genomic DNA was enzymatically digested and hybridized with probes that resulted in fingerprint patterns that could discriminate *C. neoformans* and *C. gattii*, but with varying success (DROMER *et al.* 1994, POLACHECK *et al.* 1992, SPITZER & SPITZER 1992, VARMA & KWON-CHUNG 1992, VARMA *et al.* 1995). The PCR fingerprinting approach as introduced for *Cryptococcus* by MEYER *et al.* (1993), also known as Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD), was a promising method to distinguish not only *C. neoformans* from *C. gattii*, but also the different groups of serotype A and D versus the less polymorphic DNA fingerprints of serotype B and C isolates. Another set of five oligonucleotide primers were tested by HAYNES *et al.* (1995) but these were not actively used by the *Cryptococcus* research community.

The first major epidemiological study that took advantage of molecular biological tools was performed on a dataset that included nearly three hundred fifty cryptococcal isolates from the USA. For this epidemiological study, another set of primers were used to perform RAPD (BRANDT *et al.* 1995, 1996). A first attempt was made to standardize the procedure of molecular typing, for which a set of over three hundred fifty globally collected clinical *C. neoformans* isolates were typed using previously

described methods (MEYER *et al.* 1999). This led to the establishment of four *C. neoformans* genotype designations named VNI and VNII for *C. neoformans* var. *grubii* (serotype A) VNIII for the hybrid between both *C. neoformans* varieties (serotype AD), and VNIV representing *C. neoformans* var. *neoformans* (serotype D). Subsequently, a second study focused on *C. gattii* and revealed the presence of four genotypes named VGI, VGII, VGIII and VGIV (SORRELL *et al.* 1996). Another research group using the same approach as MEYER *et al.* (1999) and SORRELL *et al.* (1996) introduced a nomenclature for *C. neoformans* named genotypes VN1 to VN7 and was concordant with other genotyping methods (see tab. 2) (COGLIATI *et al.* 2000, VIVIANI *et al.* 1997). Restriction fragment length polymorphism (RFLP) fingerprint methods based on amplification and enzymatic digestion of a particular gene, such as *PLB1* and *URA5*, were found to reveal similar genotypic groupings as were observed with M13 and (GACA)₄ fingerprinting and therefore they follow the same genotyping nomenclature (see tab. 2) (KIDD *et al.* 2004, LATOUCHE *et al.* 2003, MEYER *et al.* 2003, VELEGRAKI *et al.* 2001).

After the introduction of *URA5* RFLP by CASADEVALL *et al.* (1992), other RFLP methods were introduced but none reached the status of 'preferred method' (ENACHE-ANGOULVANT *et al.* 2007, JAIN *et al.* 2005, RAIMONDI *et al.* 2007). On the one hand, this was caused by the fact that the methods did not have sufficiently discriminative power to distinguish certain genotypes, especially within *C. gattii*. On the other hand, this was also due to the fact that M13 DNA fingerprinting and *URA5* RFLP were already well established (HAGEN *et al.* 2007). A promising RFLP method was developed based on the *CAP1* and *GEF1* gene, which was found to discriminate the mating and genotype combinations, but the banding patterns were difficult to interpret (see tab. 2) (FENG *et al.* 2008).

Due to its ease and cost-effectiveness, M13 DNA fingerprinting and *URA5* RFLP has remained the preferred method to genotype large sets of *Cryptococcus* isolates. However, the amplified fragment length polymorphism (AFLP) fingerprinting method has been found to be more accurate since it can discern subgenotypes and hybrid genotypes between the two varieties of *C. neoformans* as well as the interspecies hybrids between *C. neoformans* and *C. gattii* (see tab. 2) (BOEKHOUT *et al.* 2001; BOVERS *et al.* 2006, 2008c; DAY *et al.* 2011; GUINEA *et al.* 2010; HAGEN *et al.* 2010; LITVINTSEVA *et al.* 2006). Using AFLP fingerprinting, twelve AFLP genotypes can be discerned. Within *C. neoformans* var. *grubii*, three genotypes have been found (AFLP1, AFLP1A and AFLP1B), while *C. neoformans* var. *neoformans* is represented by one major genotype named AFLP2 (BARRETO DE OLIVEIRA *et al.* 2004, BOEKHOUT *et al.* 2001, GUINEA *et al.* 2010, LITVINTSEVA *et al.* 2006, MLINARIC-MISSONI *et al.* 2011). Hybrids between both *C. neoformans* varieties have been designated as genotype AFLP3. Within *C. gattii* there are five different haploid genotypes that

were named AFLP4, AFLP6 and AFLP10 (all contain serotype B isolates) and AFLP5 and AFLP7 (represented by serotype C isolates) (BOEKHOUT *et al.* 2001; HAGEN *et al.* 2010, 2012a). The AFLP fingerprinting technique is currently the only fingerprinting method that is able to discriminate between AFLP7 and AFLP10 isolates, and to detect interspecies (aneuploid) hybrids between *C. neoformans* var. *neoformans* AFLP2 $\times$ *C. gattii* AFLP4 (AFLP8) and *C. neoformans* var. *grubii* AFLP1 $\times$ *C. gattii* AFLP4 (AFLP9) (see tab. 2) (BOVERS *et al.* 2006, 2008c; HAGEN *et al.* 2010). Due to the existence of multiple nomenclatures for the *C. neoformans* and *C. gattii* genotypes, the *Cryptococcus* research community has recently adopted the method of MEYER *et al.* (1999) and SORRELL *et al.* (1996) as the best way to name genotypes as indicated in table 2 (MEYER *et al.* 2009).

Sequence-based Approaches to Study *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*

The publication of a large study on the phylogeny of basidiomycetous yeasts has paved the way for more detailed investigations of specific taxonomic groups (FELL *et al.* 2000). As a pathogenic basidiomycetous yeast, *Cryptococcus neoformans* was subsequently investigated using a ribosomal DNA sequence known as the Intergenic Spacer (IGS) region (DIAZ *et al.* 2000). This revealed that significant differences occurred in IGS sequences between and within the varieties of *C. neoformans*, at that time including *C. gattii* as a variety. The authors concluded that the *C. neoformans* complex had to be split into two species, with *C. neoformans* for serotype A and D isolates and *C. bacillisporus* (= *C. gattii*) for serotype B and C isolates (DIAZ *et al.* 2000). The same research group further explored the use of the IGS region for cryptococcal genotyping and observed that this approach yielded similar results as AFLP fingerprinting (see tab. 2) (DIAZ *et al.* 2005). Another locus that became into fashion as a phylogenetic interesting DNA region for yeast identification and typing was the Internal Transcribed Spacer (ITS), which revealed a similar grouping of *C. neoformans* isolates according to that of PCR fingerprinting (see tab. 2) (IMAI *et al.* 2000, KATSU *et al.* 2004).

The power of multi-locus sequence typing (MLST) was for the first time applied by SUGITA *et al.* (2001), who combined the sequences of the IGS, ITS, topoisomerase (*TOP1*) and a locus encoding for a capsule-associated protein (*CAP59*). With the passing years, MLST has become the standard for typing and epidemiological studies of eukaryotic pathogenic microorganisms, while this was already a well-established approach for prokaryotic pathogens (TAYLOR & FISHER 2003). A start was made to thoroughly revise the taxonomy of the fungal kingdom, with multi-gene phylogenetic analysis as the primary framework (HIBBETT *et al.* 2007,

JAMES *et al.* 2006). Various MLST studies were performed to investigate whether or not the *C. neoformans/C. gattii* species complex consists of multiple species (BOVERS *et al.* 2008b, 2009; NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009; XU *et al.* 2009). Additionally, several research groups focused on geographic regions to study cryptococcal populations; especially endemic regions in Africa, Asia, Australia and Vancouver Island were subjected to MLST analysis (BYRNES *et al.* 2009a,b, 2010; CARRICONDE *et al.* 2011; CHEN *et al.* 2008; CHOI *et al.* 2010; CHOWDHARY *et al.* 2011; FRASER *et al.* 2005; HIREMATH *et al.* 2008; KIDD *et al.* 2005; LITVINTSEVA *et al.* 2003, 2007, 2009, 2011; MIGLIA *et al.* 2011; SIMWAMI *et al.* 2011; XU *et al.* 2009; HAGEN *et al.* 2012). These MLST studies revealed that previous assumptions about the epidemiology of *C. neoformans* and *C. gattii* were incorrect. For example, it was observed that *C. gattii* played a major role in cryptococcosis among African HIV-infected individuals, which until then was exclusively conferred to *C. neoformans* (LITVINTSEVA *et al.* 2005). The opposite was also observed, in China the majority of patients who acquired a *C. neoformans* infection were immunocompetent (CHEN *et al.* 2008).

Due to the fact that the number of MLST studies increased quickly and that each study introduced different MLST schemes (tab. 3), a consensus MLST scheme was proposed (MEYER *et al.* 2009). The two largest MLST studies at that time, on *C. gattii* (FRASER *et al.* 2005) and *C. neoformans* (LITVINTSEVA *et al.* 2006), were used to determine which of the loci had the optimal discriminatory power and which combinations of loci were suitable to obtain the best level of diversity with the lowest number of loci to be studied. This showed that a seven-loci MLST scheme had an optimal discriminatory power and that the addition of more loci did not largely influence the genetic diversity observed. Therefore, a consensus MLST was proposed, which contains the seven unlinked nuclear loci *CAP59*, *GPD1*, *IGS1*, *LAC1*, *PLB1*, *SOD1* and *URA5* (MEYER *et al.* 2009).

However, it did not take long before MLST was overtaken by whole genome sequencing (WGS) as the favourable approach for sequence analysis. Over the past few years WGS went through turbulent developments which have speeded up the generation of reliable sequence data and their analysis and this has already resulted in more than thousand sequenced-yeast genomes (DUJON 2010). Among them are the genomes of reference strains representing *C. neoformans* variety *grubii* (H99), variety *neoformans* (JEC21) and *C. gattii* genotype AFLP4 and AFLP6 (WM276 and A1M-R265, respectively) (D'SOUZA *et al.* 2011, LOFTUS *et al.* 2005). The availability of genomic data from various genotypic cryptococcal strains has not only resulted in new sophisticated methodologies, such as microarray analysis, but also in new epidemiological typing methods that could be developed using whole genome databases. One of these typing methods is based on simple tandem repeat sequences, or microsatellites, which were found to be abundantly present in the genome of *C. neoformans* variety *grubii* when compared to other available fungal genomes (KARAOGLU *et al.*

Table 3
Overview of published multi-locus sequence typing schemes

[illegible]

Gene	SUGITA <i>et al.</i> 2001	LITVINTSEVA <i>et al.</i> 2003	FRASER <i>et al.</i> 2005	KIDD <i>et al.</i> 2005	LITVINTSEVA <i>et al.</i> 2005	LITVINTSEVA <i>et al.</i> 2007	BOVERS <i>et al.</i> 2008	BUI <i>et al.</i> 2008	CHEN <i>et al.</i> 2008	HIREMATH <i>et al.</i> 2008	BOVERS <i>et al.</i> 2009	BYRNES <i>et al.</i> 2009a	BYRNES <i>et al.</i> 2009b	NGAMSKULRUNGROJ <i>et al.</i> 2009	XU <i>et al.</i> 2009	BYRNES <i>et al.</i> 2010	CHOI <i>et al.</i> 2010	CARRICONDE <i>et al.</i> 2011	CHOWDARY <i>et al.</i> 2011	COLOM <i>et al.</i> 2011	LITVINTSEVA <i>et al.</i> 2011	MIGLIA <i>et al.</i> 2011	SIMWAMI <i>et al.</i> 2011
<i>MPD1</i>			X		X	X		X				X	X			X				X			
<i>MS1</i>													X										
<i>PLB1</i>			X		X	X		X	X			X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
<i>RPB1</i>		X					X				X												
<i>RPB2</i>							X				X												
<i>SOD1</i>					X	X		X	X								X	X		X	X	X	X
<i>SX11α</i>			X									X	X			X							
<i>SX12α</i>			X									X	X			X							
<i>TEF1</i>			X		X	X	X		X		X	X	X			X				X	X		
<i>TOP1</i>	X				X	X		X															
<i>TOR1</i>			X									X	X			X							
<i>URA5</i>				X										X			X	X	X	X	X		X
<i>URE1</i>			X		X	X			X														

al. 2005). Currently, multiple multi-locus microsatellite typing (MLMT) schemes are being developed for *C. neoformans* and *C. gattii*; it has been shown that this typing method is portable and cost-effective when compared to MLST (HANAFY *et al.* 2008; HAGEN *et al.* 2012b, 2013; ILLNAIT-ZARAGOZI *et al.* 2010, 2011; KARAOLU *et al.* 2008).

Impact of Molecular Typing on the Taxonomy of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*

Molecular typing has revealed the existence of discrepancies in the taxonomy of the fungal kingdom (HIBBETT *et al.* 2007, JAMES *et al.* 2006). For *C. neoformans* and *C. gattii*, recent molecular studies have not revealed

unexpected changes into the already established taxonomy, but it is not a surprise that molecular typing has fueled the debate to further differentiate the *C. neoformans*/*C. gattii* species complex into different species instead of using the genotypic classification based on AFLP fingerprinting, PCR fingerprinting and MLST (BOEKHOUT *et al.* 2011; BOVERS *et al.* 2008a,b; NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009). Over the past few years, the species delineation of the *C. neoformans*/*C. gattii* species complex served as an example of ongoing debate among fungal taxonomists, researchers and clinicians (KWON-CHUNG & VARMA 2006). MLST has repeatedly shown that *C. neoformans* and *C. gattii* contain monophyletic clusters, which is consistent with observations based on other genotypic and phenotypic methods (see tab. 2) (BOVERS *et al.* 2008b, FRASER *et al.* 2005, HAGEN *et al.* 2012a, NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009). Within *C. neoformans* variety *grubii*, three distinct fingerprint types have been observed (AFLP1, AFLP1A and AFLP1B), which is in agreement with MLST typing (see tab. 2) (BOEKHOUT *et al.* 2001, 2011; BOVERS *et al.* 2008; CHOI *et al.* 2010; LITVINTSEVA *et al.* 2006; NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009). Isolates that belong to variety *neoformans* consistently form a monophyletic cluster based on fingerprinting and sequence-based methods (BOEKHOUT *et al.* 2001, 2011; BOVERS *et al.* 2006; NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009). For *C. gattii*, it has already been suggested that the monophyletic clusters within this species, namely the five genotypes AFLP4, AFLP5, AFLP6, AFLP7 and AFLP10, should be raised to the variety level (BOEKHOUT *et al.* 2011, NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009). Similar to the phylogenetic observations of *C. neoformans*, monophyletic clusters are consistently observed within *C. gattii* and these may be interpreted as species (BOEKHOUT *et al.* 2001, 2011; BOVERS *et al.* 2008a,b,c; FRASER *et al.* 2005; HAGEN *et al.* 2012a; NGAMSKULRUNGROJ *et al.* 2009).

Based on an overwhelming number of molecular studies, taxonomists and researchers seem to be convinced of the necessity to further differentiate the *C. neoformans*/*C. gattii* complex into seven species (tab. 4). However, two hurdles must still be taken by taxonomists. First of all, appropriate species' names need to be chosen, not only based on historical descriptions of *C. neoformans* and *C. gattii* synonyms, but also on suggestions from research and clinical communities. Secondly, clinicians will not directly embrace the introduction of novel cryptococcal species that all show indistinguishable clinical signs, and that cannot be differentiated by microscopy or other easy-to-use microbiological methods. It is obvious that novel species will be introduced based on the monophyletic clusters within the *C. neoformans*/*C. gattii* species complex, but this will not go without any resistance from the various disciplines in the cryptococcal research field. Hence, such a decision should be based on various phenotypic and molecular epidemiological data to form a solid base for further debate on the taxonomic revision of these important fungal pathogens.

Table 4
Nomenclature proposed for the *C. gattii* and *C. neoformans* species complexes

Current name	Genotype	Serotype	Proposed name	Type-strain	Reference
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	AFLP1	A	<i>C. neoformans</i>	CBS8710	FRANZOT <i>et al.</i> 1999
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	AFLP2	D	<i>C. deneoformans</i> *	CBS882	HARRISON 1928
<i>C. gattii</i>	AFLP4	B	<i>C. gattii</i>	CBS6289	CURTIS 1896
<i>C. gattii</i>	AFLP5	C	<i>C. bacillisporus</i>	CBS6955	KWON-CHUNG <i>et al.</i> 1982
<i>C. gattii</i>	AFLP6	B	<i>C. deuteroformans</i>	CBS10082	BOVERS <i>et al.</i> 2008
<i>C. gattii</i>	AFLP7	C	<i>C. tetragattii</i>	CBS10101	BOVERS <i>et al.</i> 2008
<i>C. gattii</i>	AFLP10	B	<i>C. decagattii</i>	CBS11687	HAGEN <i>et al.</i> 2010a
<i>C. neoformans</i> intervariety hybrid	AFLP3	AD	<i>C. neoformans</i> × <i>C. deneoformans</i>	CBS132	SANFELICE 1895
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> × <i>C. gattii</i>	AFLP8	BD	<i>C. deneoformans</i> × <i>C. gattii</i>	CBS10488	BOVERS <i>et al.</i> 2006
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i> × <i>C. gattii</i>	AFLP9	AB	<i>C. neoformans</i> × <i>C. gattii</i>	CBS10496	BOVERS <i>et al.</i> 2008c

REFERENCES

- AMPEL, N. M. 1996. Emerging disease issues and fungal pathogens associated with HIV infection. — *Emerg. Infect. Dis.*, **2**: 109-116.
- BARNETT, J. A. 2010. A history of research on yeasts. 14: (1) medical yeasts part 2, *Cryptococcus neoformans*. — *Yeast*, **27**: 875-904.
- BARRETO DE OLIVEIRA, M. T., BOEKHOUT, T., THEELEN, B., HAGEN, F., BARONI, F. A., LAZERA, M. S., LENGELER, K. B., HEITMAN, J., RIVERA, I. N. & PAULA, C. R. 2004. *Cryptococcus neoformans* shows a remarkable genotypic diversity in Brazil. — *J. Clin. Microbiol.*, **42**: 1356-1359.
- BEAUVIERE, J. & LESIEUR, C. 1912. Etude de quelques levures rencontrées chez l'homme dans certains exsudats pathologiques. — *J. Physiol. Pathol. Gen.*, **14**: 983-1008.
- BENNETT, J. E., KWON-CHUNG, K. J. & HOWARD, D. H. 1977. Epidemiologic differences among serotypes of *Cryptococcus neoformans*. — *Am. J. Epidemiol.*, **105**: 582-586.
- BENNETT, J. E., KWON-CHUNG, K. J. & THEODORE, T. S. 1978. Biochemical differences between serotypes of *Cryptococcus neoformans*. — *Sabouraudia*, **16**: 167-174.
- BOEKHOUT, T. 2005. Biodiversity: gut feeling for yeasts. — *Nature*, **434**: 449-451.
- BOEKHOUT, T., RENTING, M., SCHEFFERS, W. A. & BOSBOOM, R. 1993. The use of karyotyping in the systematics of yeasts. — *Antonie Van Leeuwenhoek*, **63**: 157-163.
- BOEKHOUT, T., VAN BELKUM, A., LEENDERS, A. C., VERBRUGH, H. A., MUKAMURANGWA, P., SWINNE, D. & SCHEFFERS, W. A. 1997. Molecular typing of *Cryptococcus neoformans*: taxonomic and epidemiological aspects. — *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **47**: 432-442.
- BOEKHOUT, T., HAGEN, F., THEELEN, B., KHAYHAN, K., SRIBUREE, P., KLAASSEN, C. H. W., MEIS, J. F. & COLOM, M. F. 2011. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* – the species complex revisited. — In: Proceedings of the 8th International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis (Charleston, SC, U.S.A.).
- BOEKHOUT, T., THEELEN, B., DIAZ, M., FELL, J. W., HOP, W. C., ABELN, E. C., DROMER, F. & MEYER, W. 2001. Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. — *Microbiology*, **147**: 891-907.
- BOVERS, M., HAGEN, F. & BOEKHOUT, T. 2008a. Diversity of the *Cryptococcus neoformans* – *Cryptococcus gattii* species complex. — *Rev. Iberoam. Micol.*, **25**: S4-S12.
- BOVERS, M., HAGEN, F., KURAMAE, E. E. & BOEKHOUT, T. 2008b. Six monophyletic lineages identified within *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* by multi-locus sequence typing. — *Fungal Genet. Biol.*, **45**: 400-421.
- BOVERS, M., HAGEN, F., KURAMAE, E. E., HOOGVELD, H. L., DROMER, F., ST-GERMAIN, G. & BOEKHOUT, T. 2008c. AIDS patient death caused by novel *Cryptococcus neoformans* × *C. gattii* hybrid. — *Emerg. Infect. Dis.*, **14**: 1105-1108.

- BOVERS, M., HAGEN, F., KURAMAE, E. E. & BOEKHOUT, T. 2009. Promiscuous mitochondria in *Cryptococcus gattii*. — *FEMS Yeast Res.*, **9**: 489-503.
- BOVERS, M., HAGEN, F., KURAMAE, E. E., DIAZ, M. R., SPANJAARD, L., DROMER, F., HOOGVELD, H. L. & BOEKHOUT, T. 2006. Unique hybrids between the fungal pathogens *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. — *FEMS Yeast Res.*, **6**: 599-607.
- BRANDT, M. E., HUTWAGNER, L. C., KUYKENDALL, R. J. & PINNER, R. W. 1995. Comparison of multilocus enzyme electrophoresis and random amplified polymorphic DNA analysis for molecular subtyping of *Cryptococcus neoformans*. — *J. Clin. Microbiol.*, **33**: 1890-1895.
- BRANDT, M. E., HUTWAGNER, L. C., KLUG, L. A., BAUGHMAN, W. S., RIMLAND, D., GRAVISS, E. A., HAMILL, R. J., THOMAS, C., PAPPAS, P. G., REINGOLD, A. L. & PINNER, R. W. 1996. Molecular subtype distribution of *Cryptococcus neoformans* in four areas of the United States. Cryptococcal Disease Active Surveillance Group. — *J. Clin. Microbiol.*, **34**: 912-917.
- BUSCHKE, A. 1895. Über eine durch Coccidien hervorgerufene Krankheit des Menschen. — *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, **21**: 14.
- BUSSE, O. 1894. Ueber parasitäre Zelleinschlüsse und ihre Züchtung. — *Zentralbl. Bakteriol. Orig. B.*, **16**: 175-180.
- BYRNES, E. J. 3rd, BILDFELL, R. J., FRANK, S. A., MITCHELL, T. G., MARR, K. A. & HEITMAN, J. 2009a. Molecular evidence that the range of the Vancouver Island outbreak of *Cryptococcus gattii* infection has expanded into the Pacific Northwest in the United States. — *J. Infect. Dis.*, **199**: 1081-1086.
- BYRNES, E. J. 3rd, LI, W., LEWIT, Y., PERFECT, J. R., CARTER, D. A., COX, G. M. & HEITMAN, J. 2009b. First reported case of *Cryptococcus gattii* in the Southeastern USA: implications for travel-associated acquisition of an emerging pathogen. — *PLoS One*, **4**: e5851.
- BYRNES, E. J. 3rd, LI, W., LEWIT, Y., MA, H., VOELZ, K., REN, P., CARTER, D. A., CHATURVEDI, V., BILDFELL, R. J., MAY, R. C. & HEITMAN, J. 2010. Emergence and pathogenicity of highly virulent *Cryptococcus gattii* genotypes in the northwest United States. — *PLoS Pathog.*, **6**: e1000850.
- CARRICONDE, F., GILGADO, F., ARTHUR, I., ELLIS, D., MALIK, R., VAN DE WIELE, N., ROBERT, V., CURRIE, B. J. & MEYER W. 2011. Clonality and α -a recombination in the Australian *Cryptococcus gattii* VGII population – an emerging outbreak in Australia. — *PLoS One*, **6**: e16936.
- CASADEVALL, A., FREUNDLICH, L. F., MARSH, L. & SCHARFF, M. D. 1992. Extensive allelic variation in *Cryptococcus neoformans*. — *J. Clin. Microbiol.*, **30**: 1080-1084.
- CASTELLANI, A. 1927. Fungi and fungous diseases. — *Arch. Derm. Syphilol.*, **16**: 383-425.
- CASTELLANI, A. 1933. Blastomycosis: a short general account. — *Med. Press Circ.*, **136**: 438-443.
- CASTELLANI, A. & CHALMERS, A. J. 1919. Manual of Tropical Medicine. — London, Baillière, Tindall and Cox (3rd ed.).
- CASTELLANI, A. & JACONO, I. 1933. Observations on fungi isolated from cases of *blastomycosis cutis* and *blastomycosis pulmonalis* in North America and Europe. Remarks on blastomycetin. — *J. Trop. Med. Hyg.*, **36**: 297-321.

- CHEN, J., VARMA, A., DIAZ, M. R., LITVINTSEVA, A. P., WOLLENBERG, K. K. & KWON-CHUNG, K. J. 2008. *Cryptococcus neoformans* strains and infection in apparently immunocompetent patients, China. — *Emerg. Infect. Dis.*, **14**: 755-762.
- CHOI, Y. H., NGAMSKULRUNGROJ, P., VARMA, A., SIONOV, E., HWANG, S. M., CARRICONDE, F., MEYER, W., LITVINTSEVA, A. P., LEE, W. G., SHIN, J. H., KIM, E. C., LEE, K. W., CHOI, T. Y., LEE, Y. S. & KWON-CHUNG, K. J. 2010. Prevalence of the VN1c genotype of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV-associated cryptococcosis in the Republic of Korea. — *FEMS Yeast Res.*, **10**: 769-778.
- CHOWDHARY, A., HIREMATH, S. S., SUN, S., KOWSHIK, T., RANDHAWA, H. S. & XU, J. 2011. Genetic differentiation, recombination and clonal expansion in environmental populations of *Cryptococcus gattii* in India. — *Environ. Microbiol.*, **13**: 1875-1888.
- CIFERRI, R. 1960. Manuale di Micologia Medica (Vol. 2). — Pavia, Cortina.
- COGLIATI, M., ALLARIA, M., TORTORANO, A. M. & VIVIANI, M. A. 2000. Genotyping *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* with specific primers designed from PCR-fingerprinting bands sequenced using a modified PCR-based strategy. — *Med. Mycol.*, **38**: 97-103.
- COSTANTIN, J. 1901. Sur les levures des animaux. — *Bull. Soc. Mycol. France*, **17**: 145-148.
- CURTIS, F. 1895. Note sur un nouveau parasite humain, *Megalococcus myxoides*, trouvé dans un néoplasme de la région inguinocurale. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, **2**: 715-718.
- CURTIS, F. 1896. Contribution à l'étude de la saccharomycose humaine. — *Ann. Inst. Pasteur* (Paris), **10**: 449-468.
- DATTA, K., BARTLETT, K. H., BAER, R., BYRNES, E., GALANIS, E., HEITMAN, J., HOANG, L., LESLIE, M. J., MACDOUGALL, L., MAGILL, S. S., MORSHED, M. G. & MARR, K. A. 2009. *Cryptococcus gattii* Working Group of the Pacific Northwest. Spread of *Cryptococcus gattii* into Pacific Northwest region of the United States. — *Emerg. Infect. Dis.*, **15**: 1185-1191.
- DAY, J. N., HOANG, T. N., DUONG, A. V., HONG, C. T., DIEP, P. T., CAMPBELL, J. I., SIEU, T. P., HIEN, T. T., BUI, T., BONI, M. F., LALLOO, D. G., CARTER, D., BAKER, S. & FARRAR, J. J. 2011. Most cases of cryptococcal meningitis in HIV-uninfected patients in Vietnam are due to a distinct amplified fragment length polymorphism-defined cluster of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* VNI. — *J. Clin. Microbiol.*, **49**: 658-664.
- DE ALMEIDA, F. 1933. As blastomycoses no Brasil. — *Ann. Faculd. Med. São Paulo*, **9**: 69-163.
- DE BEURMANN, L. & GOUGEROT, H. 1909. Les exascoses, endomycoses et paren-domycoses (muguet). Saccharomycoses (mycose de Busse-Buschke) et parasaccharomycoses. Zymonématoses (mycose de Gilchrist). Revision et démembrement de l'ancien groupe des blastomycoses. — *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôpitaux Paris*, **28**: 222-246.
- DIAZ, M. R., BOEKHOUT, T., KIESLING, T. & FELL, J. W. 2005. Comparative analysis of the intergenic spacer regions and population structure of the species

- complex of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. — *FEMS Yeast Res.*, **5**: 1129-1140.
- DIAZ, M. R., BOEKHOUT, T., THEELEN, B. & FELL, J. W. 2000. Molecular sequence analyses of the intergenic spacer (IGS) associated with rDNA of the two varieties of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. — *Syst. Appl. Microbiol.*, **23**: 535-545.
- DODGE, C. W. 1935. Medical Mycology. Fungous diseases of men and other mammals. — St Louis, Mosby.
- DROMER, F., VARMA, A., RONIN, O., MATHOULIN, S. & DUPONT, B. 1994. Molecular typing of *Cryptococcus neoformans* serotype D clinical isolates. — *J. Clin. Microbiol.*, **32**: 2364-3271.
- D'SOUZA, C. A., KRONSTAD, J. W., TAYLOR, G., WARREN, R., YUEN, M., HU, G., JUNG, W. H., SHAM, A., KIDD, S. E., TANGEN, K., LEE, N., ZEILMAKER, T., SAWKINS, J., MCVICKER, G., SHAH, S., GNERRE, S., GRIGGS, A., ZENG, Q., BARTLETT, K., LI, W., WANG, X., HEITMAN, J., STAJICH, J. E., FRASER, J. A., MEYER, W., CARTER, D., SCHEIN, J., KRZYWINSKI, M., KWON-CHUNG, K. J., VARMA, A., WANG, J., BRUNHAM, R., FYFE, M., OUELLETTE, B. F., SIDDQUI, A., MARRA, M., JONES, S., HOLT, R., BIRREN, B. W., GALAGAN, J. E. & CUOMO, C. A. 2011. Genome variation in *Cryptococcus gattii*, an emerging pathogen of immunocompetent hosts. — *Mbio*, **2**: e00342-10.
- DUJON, B. 2010. Yeast evolutionary genomics. — *Nat. Rev. Genet.*, **11**: 512-524.
- ENACHE-ANGOUUVANT, A., CHANDENIER, J., SYMOENS, F., LACUBE, P., BOLOGNINI, J., DOUCHET, C., POIROT, J. L. & HENNEQUIN, C. 2007. Molecular identification of *Cryptococcus neoformans* serotypes. — *J. Clin. Microbiol.*, **45**: 1261-1265.
- EVANS, E. E. 1950. The antigenic composition of *Cryptococcus neoformans*. I. A serologic classification by means of the capsular and agglutination reactions. — *J. Immunol.*, **64**: 423-430.
- FELL, J. W., BOEKHOUT, T., FONSECA, A., SCORZETTI, G. & STATZELL-TALLMAN, A. 2000. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. — *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **50**: 1351-1371.
- FENG, X., YAO, Z., REN, D. & LIAO, W. 2008. Simultaneous identification of molecular and mating types within the *Cryptococcus* species complex by PCR-RFLP analysis. — *J. Med. Microbiol.*, **57**: 1481-1490.
- FRANZOT, S. P., SALKIN, I. F. & CASADEVALL, A. 1999. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. — *J. Clin. Microbiol.*, **37**: 838-840.
- FRASER, J. A., GILES, S. S., WENINK, E. C., GEUNES-BOYER, S. G., WRIGHT, J. R., DIEZMANN, S., ALLEN, A., STAJICH, J. E., DIETRICH, F. S., PERFECT, J. R. & HEITMAN, J. 2005. Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. — *Nature*, **437**: 1360-1364.
- FREEMAN, W. 1931. *Torula* infection of the central nervous system. — *J. Psychol. Neurol.*, **43**: 236-345.
- FROILANO DE MELLO & FERNANDES, L. G. 1918. Ensaio de classificação de fungos pertencentes à classe dos 'Blastomyces'. — *Arq. Hig. Patol. Exóticas*, **6**: 207-316.

- GADE, W., HINNEFELD, S. W., BABCOCK, L. S., GILLIGAN, P., KELLY, W., WAIT, K., GREER, D., PINILLA, M. & KAPLAN, R. L. 1991. Comparison of the PREMIER cryptococcal antigen enzyme immunoassay and the latex agglutination assay for detection of cryptococcal antigens. — *J. Clin. Microbiol.*, **29**: 1616-1619.
- GIORDANO, A. 1935. Rôle du '*Torulopsis neoformans*' (Sanfelice) Red. en pathologie humaine. — *Bollettino della Sezione Italiana Soc. Int. Microbiol.*, **7**: 119-123.
- GUEGUEN, F. 1904. Les champignons parasites de l'homme et des animaux. — Paris, Joanin.
- GUIART, J. 1910. Précis de parasitologie. — Paris, Baillière.
- GUINEA, J., HAGEN, F., PELAEZ, T., BOEKHOUT, T., TAHOUNE, H., TORRES-NARBONA, M. & BOUZA, E. 2010. Antifungal susceptibility, serotyping, and genotyping of clinical *Cryptococcus neoformans* isolates collected during 18 years in a single institution in Madrid, Spain. — *Med. Mycol.*, **48**: 942-948.
- HAGEN, F., GARI-TOUSSAINT, M., BOEKHOUT, T. & CUA, E. 2007. Fatal *Cryptococcus gattii* infection in healthy French men. — *J. Chemother.*, **19** [S3]: 58.
- HAGEN, F., ILLNAIT-ZARAGOZI, M. T., BARTLETT, K. H., SWINNE, D., GEERTSEN, E., KLAASSEN, C. H., BOEKHOUT, T. & MEIS, J. F. 2010. *In vitro* antifungal susceptibilities and amplified fragment length polymorphism genotyping of a worldwide collection of 350 clinical, veterinary, and environmental *Cryptococcus gattii* isolates. — *Antimicrob. Agents Chemother.*, **54**: 5139-5145.
- HAGEN, F., COLOM, M. F., SWINNE, D., TINTELNOT, K., IATTA, R., MONTAGNA, M. T., TORRES-RODRIGUEZ, J. M., COGLIATI, M., VELEGRAKI, A., BURGGRAAF, A., KAMERMANS, A., SWEERE, J. M., MEIS, J. F., KLAASSEN, C. H. & BOEKHOUT, T. 2012a. Autochthonous and dormant *Cryptococcus gattii* infections in Europe. — *Emerg. Infect. Dis.*, **18**: 1618-1624.
- HAGEN, F., ILLNAIT-ZARAGOZI, M. T., MEIS, J. F., CHEW, W. H., CURFS-BREUKER, I., MOUTON, J. W., HOEPELMAN, A. I., SPANJAARD, L., VERWEIJ, P. E., KAMPINGA, G. A., KUIJPER, E. J., BOEKHOUT, T. & KLAASSEN, C. H. 2012b. Extensive genetic diversity within the Dutch clinical *Cryptococcus neoformans* population. — *J. Clin. Microbiol.*, **50**: 1918-1926.
- HAGEN, F., CERESINI, P. C., POLACHECK, I., MA, H., VAN NIEUWERBURGH, F., GABALDON, T., KAGAN, S., PURSALL, E. R., HOOGVELD, H. L., VAN IERSEL, L. J., KLAU, G. W., KELK, S. M., STOUGIE, L., BARTLETT, K. H., VOELZ, K., PRYSZCZ, L. P., CASTANEDA, E., LAZERA, M., MEYER, W., DEFORCE, D., MEIS, J. F., MAY, R. C., KLAASSEN, C. H. & BOEKHOUT, T. 2013. Ancient dispersal of the human fungal pathogen *Cryptococcus gattii* from the Amazon rainforest. — *PLoS One*, **8**: e71148.
- HANAFY, A., KAOCHAROEN, S., JOVER-BOTELLA, A., KATSU, M., IIDA, S., KOGURE, T., GONOI, T., MIKAMI, Y. & MEYER, W. 2008. Multilocus microsatellite typing for *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. — *Med. Mycol.*, **46**: 685-696.
- HARRISON, F. C. 1928. A systematic study of some torulae. — *Trans. R. Soc. Can.*, **3**: 187-225.

- HAWKSWORTH, D. L. 1991. The fungal dimension of biodiversity – magnitude, significance, and conservation. — *Mycol. Res.*, **95**: 641-655.
- HAYNES, K. A., SULLIVAN, D. J., COLEMAN, D. C., CLARKE, J. C., EMILIANUS, R., ATKINSON, C. & CANN, K. J. 1995. Involvement of multiple *Cryptococcus neoformans* strains in a single episode of cryptococcosis and reinfection with novel strains in recurrent infection demonstrated by random amplification of polymorphic DNA and DNA fingerprinting. — *J. Clin. Microbiol.*, **33**: 99-102.
- HIBBETT, D. S., BINDER, M., BISCHOFF, J. F., BLACKWELL, M., CANNON, P. F., ERIKSSON, O. E., HUHNDOF, S., JAMES, T., KIRK, P. M., LUCKING, R., THORSTEN LUMBSCH, H., LUTZONI, F., MATHENY, P. B., McLAUGHLIN, D. J., POWELL, M. J., REDHEAD, S., SCHOCH, C. L., SPATAFORA, J. W., STALPERS, J. A., VILGALYS, R., AIME, M. C., APTROOT, A., BAUER, R., BEGEROW, D., BENNY, G. L., CASTLEBURY, L. A., CROUS, P. W., DAI, Y. C., GAMS, W., GEISER, D. M., GRIFFITH, G. W., GUEIDAN, C., HAWKSWORTH, D. L., HESTMARK, G., HOSAKA, K., HUMBER, R. A., HYDE, K. D., IRONSIDE, J. E., KOLJALG, U., KURTZMAN, C. P., LARSSON, K. H., LICHTWARDT, R., LONGCORE, J., MIADLIKOWSKA, J., MILLER, A., MONCALVO, J. M., MOZLEY-STANDRIDGE, S., OBERWINKLER, F., PARMASO, E., REEB, V., ROGERS, J. D., ROUX, C., RYVARDEN, L., SAMPAIO, J. P., SCHUSSLER, A., SUGIYAMA, J., THORN, R. G., TIBELL, L., UNTEREINER, W. A., WALKER, C., WANG, Z., WEIR, A., WEISS, M., WHITE, M. M., WINKA, K., YAO, Y. J. & ZHANG, N. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. — *Mycol. Res.*, **111**: 509-547.
- HIREMATH, S. S., CHOWDHARY, A., KOWSHIK, T., RANDHAWA, H. S., SUN, S. & XU, J. 2008. Long-distance dispersal and recombination in environmental populations of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* from India. — *Microbiology*, **154**: 1513-1524.
- IKEDA, R., SHINODA, T., FUKAZAWA, Y. & KAUFMAN, L. 1982. Antigenic characterization of *Cryptococcus neoformans* serotypes and its application to serotyping of clinical isolates. — *J. Clin. Microbiol.*, **16**: 22-29.
- ILLNAIT-ZARAGOZI, M. T., MARTINEZ-MACHIN, G. F., FERNANDEZ-ANDREU, C. M., BOEKHOUT, T., MEIS, J. F. & KLAASSEN, C. H. 2010. Microsatellite typing of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* isolates from Cuba shows multiple genetic lineages. — *PLoS One*, **5**: e9124.
- IMAI, T., WATANABE, K., TAMURA, M., MIKAMI, Y., TANAKA, R., NISHIMURA, K., MIYAJI, M., POONWAN, N. & BRANCHINI, M. L. 2000. Geographic grouping of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* by random amplified polymorphic DNA fingerprint patterns and ITS sequence divergence. — *Clin. Lab.*, **46**: 345-354.
- IROKANULO, E. A., AKUESHI, C. O. & MAKINDE, A. A. 1994. Differentiation of *Cryptococcus neoformans* serotypes A and D using creatinine dextrose bromothymol blue thymine medium. — *Br. J. Biomed. Sci.*, **51**: 100-103.
- JAYE, D. L., WAITES, K. B., PARKER, B., BRAGG, S. L. & MOSER, S. A. 1998. Comparison of two rapid latex agglutination tests for detection of cryptococcal capsular polysaccharide. — *Am. J. Clin. Pathol.*, **109**: 634-641.

- JAIN, N., WICKES, B. L., KELLER, S. M., FU, J., CASADEVALL, A., JAIN, P., RAGAN, M. A., BANERJEE, U. & FRIES, B. C. 2005. Molecular epidemiology of clinical *Cryptococcus neoformans* strains from India. — *J. Clin. Microbiol.*, **43**: 5733-5742.
- JAMES, T. Y., KAUFF, F., SCHOCH, C. L., MATHENY, P. B., HOFSTETTER, V., COX, C. J., CELIO, G., GUEIDAN, C., FRAKER, E., MIADLIKOWSKA, J., LUMBSCH, H. T., RAUHUT, A., REEB, V., ARNOLD, A. E., AMTOFT, A., STAJICH, J. E., HOSAKA, K., SUNG, G. H., JOHNSON, D., O'ROURKE, B., CROCKETT, M., BINDER, M., CURTIS, J. M., SLOT, J. C., WANG, Z., WILSON, A. W., SCHUSSLER, A., LONGCORE, J. E., O'DONNELL, K., MOZLEY-STANDRIDGE, S., PORTER, D., LETCHER, P. M., POWELL, M. J., TAYLOR, J. W., WHITE, M. M., GRIFFITH, G. W., DAVIES, D. R., HUMBER, R. A., MORTON, J. B., SUGIYAMA, J., ROSSMAN, A. Y., ROGERS, J. D., PFISTER, D. H., HEWITT, D., HANSEN, K., HAMBLETON, S., SHOEMAKER, R. A., KOHLMAYER, J., VOLKMAN-KOHLMEYER, B., SPOTTS, R. A., SERDANI, M., CROUS, P. W., HUGHES, K. W., MATSUURA, K., LANGER, E., LANGER, G., UNTEREINER, W. A., LUCKING, R., BUDEL, B., GEISER, D. M., APTROOT, A., DIEDERICH, P., SCHMITT, I., SCHULTZ, M., YAHR, R., HIBBETT, D. S., LUTZONI, F., McLAUGHLIN, D. J., SPATAFORA, J. W. & VILGALYS, R. 2006. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. — *Nature*, **443**: 818-822.
- KABASAWA, K., ITAGAKI, H., IKEDA, R., SHINODA, T., KAGAYA, K. & FUKAZAWA, Y. 1991. Evaluation of a new method for identification of *Cryptococcus neoformans* which uses serologic tests aided by selected biological tests. — *J. Clin. Microbiol.*, **29**: 2873-2876.
- KARAOGU, H., LEE, C. M. & MEYER, W. 2005. Survey of simple sequence repeats in completed fungal genomes. — *Mol. Biol. Evol.*, **22**: 639-649.
- KARAOGU, H., LEE, C. M., CARTER, D. & MEYER, W. 2008. Development of polymorphic microsatellite markers for *Cryptococcus neoformans*. — *Mol. Ecol. Resour.*, **8**: 1136-1138.
- KATSU, M., KIDD, S., ANDO, A., MORETTI-BRANCHINI, M. L., MIKAMI, Y., NISHIMURA, K. & MEYER, W. 2004. The internal transcribed spacers and 5.8S rRNA gene show extensive diversity among isolates of the *Cryptococcus neoformans* species complex. — *FEMS Yeast Res.*, **4**: 377-388.
- KIDD, S. E., GUO, H., BARTLETT, K. H., XU, J. & KRONSTAD, J. W. 2005. Comparative gene genealogies indicate that two clonal lineages of *Cryptococcus gattii* in British Columbia resemble strains from other geographical areas. — *Eukaryot Cell*, **4**: 1629-1638.
- KIDD, S. E., HAGEN, F., TSCHARKE, R. L., HUYNH, M., BARTLETT, K. H., FYFE, M., MACDOUGALL, L., BOEKHOUT, T., KWON-CHUNG, K. J. & MEYER, W. 2004. A rare genotype of *Cryptococcus gattii* caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). — *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **101**: 17258-17263.
- KLEIN, K. R., HALL, L., DEML, S. M., RYSÄVY, J. M., WOHLFIEL, S. L. & WENGENACK, N. L. 2009. Identification of *Cryptococcus gattii* by use of L-canavanine glycine bromothymol blue medium and DNA sequencing. — *J. Clin. Microbiol.*, **47**: 3669-3672.

- KURSANOV, L. I., NAUMOV, N. A., KRASIL'NIKOV, N. A. & GORLENKO, M. V. 1954. Determination of the lower plants. Vol. 3: Fungi. — *In*: KURSANOV, L. I. (Ed.), State Publishing House 'Soviet Science', Moscow.
- KURTZMAN, C. P., FELL, J. W. & BOEKHOUT, T. (Eds.) 2011. The yeasts: a taxonomic study. — Amsterdam (The Netherlands), Elsevier.
- KWON-CHUNG, K. J. 1975. A new genus, *Filobasidiella*, the perfect state of *Cryptococcus neoformans*. — *Mycologia*, **67**: 1197-1200.
- KWON-CHUNG, K. J. 1976a. Morphogenesis of *Filobasidiella neoformans*, the sexual state of *Cryptococcus neoformans*. — *Mycologia*, **68**: 821-833.
- KWON-CHUNG, K. J. 1976b. A new species of *Filobasidiella*, the sexual state of *Cryptococcus neoformans* B and C serotypes. — *Mycologia*, **68**: 942-946.
- KWON-CHUNG, K. J. & BENNETT, J. E. 1984. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. — *Am. J. Epidemiol.*, **120**: 123-130.
- KWON-CHUNG, K. J. & VARMA, A. 2006. Do major species concepts support one, two or more species within *Cryptococcus neoformans*? — *FEMS Yeast Res.*, **6**: 574-587.
- KWON-CHUNG, K. J., BENNETT, J. E. & RHODES, J. C. 1982a. Taxonomic studies on *Filobasidiella* species and their anamorphs. — *Antonie van Leeuwenhoek*, **48**: 25-38.
- KWON-CHUNG, K. J., POLACHEK, I. & BENNETT, J. E. 1982b. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). — *J. Clin. Microbiol.*, **15**: 535-537.
- KWON-CHUNG, K. J., BOEKHOUT, T., FELL, J. W. & DIAZ, M. 2002. Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. hondurianus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). — *Taxon.*, **51**: 804-806.
- LATOUCHE, G. N., HUYNH, M., SORRELL, T. C. & MEYER, W. 2003. PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the phospholipase B (*PLB1*) gene for subtyping of *Cryptococcus neoformans* isolates. — *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**: 2080-2086.
- LEAL, A. L., FAGANELLO, J., BASSANESI, M. C. & VAINSTEIN, M. H. 2008. *Cryptococcus* species identification by multiplex PCR. — *Med. Mycol.*, **46**: 377-383.
- LITVINTSEVA, A. P. & MITCHELL, T. G. 2009. Most environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* (serotype A) are not lethal for mice. — *Infect. Immun.*, **77** (8): 3188-3195.
- LITVINTSEVA, A. P., THAKUR, R., RELLER, L. B. & MITCHELL, T. G. 2005. Prevalence of clinical isolates of *Cryptococcus gattii* serotype C among patients with AIDS in Sub-Saharan Africa. — *J. Infect. Dis.*, **192**: 888-892.
- LITVINTSEVA, A. P., THAKUR, R., VILGALYS, R. & MITCHELL, T. G. 2006. Multilocus sequence typing reveals three genetic subpopulations of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* (serotype A), including a unique population in Botswana. — *Genetics*, **172**: 2223-2238.
- LITVINTSEVA, A. P., LIN, X., TEMPLETON, I., HEITMAN, J. & MITCHELL, T. G. 2007. Many globally isolated AD hybrid strains of *Cryptococcus neoformans* originated in Africa. — *PLoS Pathog.*, **3**: e114.

- LITVINTSEVA, A. P., CARBONE, I., ROSSOUW, J., THAKUR, R., GOVENDER, N. P. & MITCHELL, T. G. 2011. Evidence that the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* may have evolved in Africa. — *PLoS One*, **6**: e19688.
- LITVINTSEVA, A. P., MARRA, R. E., NIELSEN, K., HEITMAN, J., VILGALYS, R. & MITCHELL, T. G. 2003. Evidence of sexual recombination among *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates in sub-Saharan Africa. — *Eukaryot Cell*, **2**: 1162-1168.
- LODDER, J. 1934. Die Anaskosporogenen Hefen, erste Hälfte. N.V. — Amsterdam, Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij.
- LOFTUS, B. J., FUNG, E., RONCAGLIA, P., ROWLEY, D., AMEDEO, P., BRUNO, D., VAMATHEVAN, J., MIRANDA, M., ANDERSON, I. J., FRASER, J. A., ALLEN, J. E., BOSDET, I. E., BRENT, M. R., CHIU, R., DOERING, T. L., DONLIN, M. J., D'SOUZA, C. A., FOX, D. S., GRINBERG, V., FU, J., FUKUSHIMA, M., HAAS, B. J., HUANG, J. C., JANBON, G., JONES, S. J., KOO, H. L., KRZYWINSKI, M. I., KWON-CHUNG, J. K., LENGELER, K. B., MAITI, R., MARRA, M. A., MARRA, R. E., MATHEWSON, C. A., MITCHELL, T. G., PERTEA, M., RIGGS, F. R., SALZBERG, S. L., SCHEIN, J. E., SHVARTSBEYN, A., SHIN, H., SHUMWAY, M., SPECHT, C. A., SUH, B. B., TENNEY, A., UTTERBACK, T. R., WICKES, B. L., WORTMAN, J. R., WYE, N. H., KRONSTAD, J. W., LODGE, J. K., HEITMAN, J., DAVIS, R. W., FRASER, C. M. & HYMAN, R. W. 2005. The genome of the basidiomycetous yeast and human pathogen *Cryptococcus neoformans*. — *Science*, **307**: 1321-1324.
- McTAGGART, L., RICHARDSON, S. E., SEAH, C., HOANG, L., FOTHERGILL, A. & ZHANG, S. X. 2011. Rapid identification of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, *C. neoformans* var. *neoformans*, and *C. gattii* using rapid biochemical tests, differential media, and DNA sequencing. — *J. Clin. Microbiol.*, **49**: 2522-2527.
- MEYER, W. & MITCHELL, T. G. 1995. Polymerase chain reaction fingerprinting in fungi using single primers specific to minisatellites and simple repetitive DNA sequences: strain variation in *Cryptococcus neoformans*. — *Electrophoresis*, **16**: 1648-1656.
- MEYERS W., MITCHELL, T. G., FREEDMAN, E. Z. & VILGALYS, R. 1993. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. — *J. Clin. Microbiol.*, **31**: 2274-2280.
- MEYER, W., CASTANEDA, A., JACKSON, S., HUYNH, M. & CASTANEDA, E. 2003. IberoAmerican Cryptococcal Study Group. Molecular typing of Ibero-American *Cryptococcus neoformans* isolates. — *Emerg. Infect. Dis.*, **9**: 189-195.
- MEYER, W., MARSZEWSKA, K., AMIRMOSTOFIAN, M., IGREJA, R. P., HARDTKE, C., METHLING, K., VIVIANI, M. A., CHINDAMPORN, A., SUKROONGREUNG, S., JOHN, M. A., ELLIS, D. H. & SORRELL, T. C. 1999. Molecular typing of global isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* by polymerase chain reaction fingerprinting and randomly amplified polymorphic DNA—a pilot study to standardize techniques on which to base a detailed epidemiological survey. — *Electrophoresis*, **20**: 1790-1799.

- Meyer, W., AANENSEN, D. M., BOEKHOUT, T., COGLIATI, M., DIAZ, M. R., ESPOSTO, M. C., FISHER, M., GILGADO, F., HAGEN, F., KAOCHAROEN, S., LITVINTSEVA, A. P., MITCHELL, T. G., SIMWAMI, S. P., TRILLES, L., VIVIANI, M. A. & KWON-CHUNG, J. 2009. Consensus multi-locus sequence typing scheme for *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. — *Med. Mycol.*, **47**: 561-570.
- MIGLIA, K. J., GOVENDER, N. P., ROSSOUW, J., MEIRING, S. & MITCHELL, T. G. 2011. Group for Enteric, Respiratory and Meningeal Disease Surveillance in South Africa. Analyses of pediatric isolates of *Cryptococcus neoformans* from South Africa. — *J. Clin. Microbiol.*, **49**: 307-314.
- MLINARIC-MISSONI, E., HAGEN, F., CHEW, W. H., Vazic-Babic, V., BOEKHOUT, T. & BEGOVAC, J. 2011. *In vitro* antifungal susceptibilities and molecular typing of sequentially isolated clinical *Cryptococcus neoformans* strains from Croatia. — *J. Med. Microbiol.*, **60**: 1487-1495.
- MITCHELL, T. G. & PERFECT, J. R. 1995. Cryptococcosis in the era of AIDS – 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. — *Clin. Microbiol. Rev.*, **8**: 515-548.
- MUELLER, G. M. & SCHMIT, J. P. 2007. Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? — *Biodivers. Conserv.*, **16**: 1-5.
- NEVEU-LEMAIRE, M. 1908. Précis de parasitologie humaine. Maladies parasitaires dues à des végétaux et à des animaux. — Paris, De Rudeval (4th ed.).
- NEVEU-LEMAIRE, M. 1912. Parasitologie des animaux domestiques. Maladies parasitaires non bactériennes. — Paris, Lamarre.
- NEVEU-LEMAIRE, M. 1921. Précis de parasitologie humaine, — Paris, Lamarre (5th ed.).
- NGAMSKULRUNGROJ, P., GILGADO, F., FAGANELLO, J., LITVINTSEVA, A. P., LEAL, A. L., TSUI, K. M., MITCHELL, T. G., VAINSTEIN, M. H. & MEYER, W. 2009. Genetic diversity of the *Cryptococcus* species complex suggests that *Cryptococcus gattii* deserves to have varieties. — *PLoS One*, **4**: e5862.
- NIELSEN, K. & HEITMAN, J. 2007. Sex and virulence of human pathogenic fungi. — *Adv. Genet.*, **57**: 143-173.
- PARK, B. J., WANNEMUEHLER, K. A., MARSTON, B. J., GOVENDER, N., PAPPAS, P. G. & CHILLER, T. M. 2009. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. — *AIDS*, **23**: 525-530.
- PERFECT, J. R., MAGEE, B. B. & MAGEE, P. T. 1989. Separation of chromosomes of *Cryptococcus neoformans* by pulsed field gel electrophoresis. — *Infect. Immun.*, **57**: 2624-2627.
- POLACHECK, I. & LEBENS, G. A. 1989. Electrophoretic karyotype of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. — *J. Gen. Microbiol.*, **135**: 65-71.
- POLACHECK, I., LEBENS, G. A. & HICKS, J. B. 1992. Development of DNA probes for early diagnosis and epidemiological study of cryptococcosis in AIDS patients. — *J. Clin. Microbiol.*, **30**: 925-930.
- RAIMONDI, A., TICOZZI, R., SALA, G. & BELLOTTI, M. G. 2007. Genotype-based differentiation of the *Cryptococcus neoformans* serotypes by combined PCR-RFLP analysis of the capsule-associated genes *CAP10* and *CAP59*. — *Med. Mycol.*, **45**: 491-501.

- REDAELLI, P. 1931. Il problema delle Torulopsidacee e dei loro rapporti con l'uomo e con la patologia umana studiato particolarmente in Italia (Blastomiceti e blastomicosi). — *Riv. Biol.*, **13**: 171-235.
- REDAELLI, P., CIFERRI, R. & GIORDANO, A. 1937. Debaryomyces neoformans (Sanfelice) nobis, n. comb. pour les espèces du groupe Saccharomyces hominis – Cryptococcus neoformans – Torulahistolytica. — *Bolletino della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia*, **9**: 24-28.
- SALKIN, I. F. & HURD, N. J. 1982. New medium for differentiation of *Cryptococcus neoformans* serotype pairs. — *J. Clin. Microbiol.*, **15**: 169-171.
- SANFELICE, F. 1894. Contributo alla morfologia e biologia dei blastomiceti che si sviluppano nei succhi di alcuni frutti. — *Annali dell'Istituto d'Igiene della R. Università da Roma*, **4**: 463-495.
- SANFELICE, F. 1895. Sull'azione patogena dei blastomiceti. — *Annali d'Igiene Sperimentale*, **5**: 239-262.
- SANFELICE, F. 1895. Ueber einen neuen pathogenen Blastomyceten, welcher innerhalb der Gewebe unter Bildung kalkartig aussehender Massen degeneriert. — *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A*, **18**: 521-526.
- SASAKAWA, M. 1922. Zur Systematik pathogener und parasitischer Hefen. Morphologisch-biochemische Studie. — *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A*, **88**: 269-285.
- SIMWAMI, S. P., KHAYHAN, K., HENK, D. A., AANENSEN, D. M., BOEKHOUT, T., HAGEN, F., BROUWER, A. E., HARRISON, T. S., DONNELLY, C. A. & FISHER, M. C. 2011. Low diversity *Cryptococcus neoformans* variety *grubii* multi-locus sequence types from Thailand are consistent with an ancestral African origin. — *PLoS Pathog.*, **7**: e1001343.
- SORRELL, T. C., CHEN, S. C., RUMA, P., MEYER, W., PFEIFFER, T. J., ELLIS, D. H. & BROWNEE, A. G. 1996. Concordance of clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* by random amplification of polymorphic DNA analysis and PCR fingerprinting. — *J. Clin. Microbiol.*, **34**: 1253-1260.
- SPERONI, D., LLAMBIAS, J., PARODI, S. E. & NINO, F. L. 1930. Blastomicosis humana generalizada por criptococo (n. sp.). Estudio parasitológico, anatómopatológico, clínico y experimental. — *Bol. B. Aires Univ. Nac. Inst. Clin. Quir.*, **5**: 94-155.
- SPITZER, E. D. & SPITZER, S. G. 1992. Use of a dispersed repetitive DNA element to distinguish clinical isolates of *Cryptococcus neoformans*. — *J. Clin. Microbiol.*, **30**: 1094-1097.
- STODDARD, J. L. & CUTLER, E. C. 1916. *Torula* infection in man. A group of cases, characterized by chronic lesions of the central nervous system, with clinical symptoms suggestive of cerebral tumor, produced by an organism belonging to the *Torula* group (*Torulahistolytica* n. sp.). — *Stud. Rockefeller Inst. Med. Res. Repr.*, **25**: 1-98.
- SUGITA, T., IKEDA, R. & SHINODA, T. 2001. Diversity among strains of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* as revealed by a sequence analysis of multiple genes and a chemotype analysis of capsular polysaccharide. — *Microbiol. Immunol.*, **45**: 757-768.

- TAYLOR, J. W. & FISHER, M. C. 2003. Fungal multilocus sequence typing – it's not just for bacteria. — *Curr. Opin. Microbiol.*, **6**: 351-356.
- TEMSTET, A., ROUX, P., POIROT, J. L., RONIN, O. & DROMER, F. 1992. Evaluation of a monoclonal antibody-based latex agglutination test for diagnosis of cryptococcosis: comparison with two tests using polyclonal antibodies. — *J. Clin. Microbiol.*, **30**: 2544-2550.
- TODD, R. L. & HERRMANN, W. W. 1936. The life cycle of the organism causing yeast meningitis. — *J. Bacteriol.*, **32**: 89-103.
- VANBREUSEGHEM, R. & TAKASHIO, M. 1970. An atypical strain of *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice) Vuillemin 1894. II. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* var. nov. — *Ann. Soc. Belges Med. Trop. Parasitol. Mycol.*, **50**: 695-702.
- VARMA, A. & KWON-CHUNG, K. J. 1992. DNA probe for strain typing of *Cryptococcus neoformans*. — *J. Clin. Microbiol.*, **30**: 2960-2967.
- VARMA, A., SWINNE, D., STAIB, F., BENNETT, J. E. & KWON-CHUNG, K. J. 1995. Diversity of DNA fingerprints in *Cryptococcus neoformans*. — *J. Clin. Microbiol.*, **33**: 1807-1814.
- VELEGRAKI, A., KIOSSES, V. G., KANSOUZIDOU, A., SMILAKOU, S., MITROUSSIA-ZIOUVA, A. & LEGAKIS, N. J. 2001. Prospective use of RFLP analysis on amplified *Cryptococcus neoformans* *URA5* gene sequences for rapid identification of varieties and serotypes in clinical samples. — *Med. Mycol.*, **39**: 409-417.
- VERDUN, P. 1913. Précis de Parasitologie Humaine. — Paris, Doin (2nd ed.).
- VILGALYS, R. & HESTER, M. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. — *J. Bacteriol.*, **172**: 4238-4246.
- VIVIANI, M. A., WEN, H., ROVERSELLI, A., CALDARELLI-STEFANO, R., COGLIATI, M., FERRANTE, P. & TORTORANO, A. M. 1997. Identification by polymerase chain reaction fingerprinting of *Cryptococcus neoformans* serotype AD. — *J. Med. Vet. Mycol.*, **35**: 355-360.
- VUILLEMIN, P. 1901. Les blastomycètes pathogènes. — *Revue Générale des Sciences Pures et Appliquées*, **12**: 732-751.
- WALSH, T. J. & GROLL, A. H. 1999. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. — *Transpl. Infect. Dis.*, **1**: 247-261.
- WARKENTJEN, T. & CRUM-CIANFLONE, N. F. 2010. An update on *Cryptococcus* among HIV-infected patients. — *Int. J. STD AIDS*, **21**: 679-684.
- WEIS, J. D. 1902. Four pathogenic torulae (Blastomycetes). — *J. Med. Res.*, **7**: 280-311.
- WILSON, D. E., BENNETT, J. E. & BAILEY, J. W. 1968. Serologic grouping of *Cryptococcus neoformans*. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **127**: 820-823.
- WOOLHOUSE, M. & GAUNT, E. 2007. Ecological origins of novel human pathogens. — *Crit. Rev. Microbiol.*, **33**: 231-242.
- XU, J., YAN, Z. & GUO, H. 2009. Divergence, hybridization, and recombination in the mitochondrial genome of the human pathogenic yeast *Cryptococcus gattii*. — *Mol. Ecol.*, **18**: 2628-2642.



Aspects cliniques et thérapeutiques de la cryptococcose chez le patient VIH positif

par

Stéphane DE WIT*

MOTS-CLES. — HIV/SIDA; Immunodéficience; Cryptococcose; Méningite; Antifongiques; Immunorestauration.

RESUME. — La cryptococcose est aujourd'hui en ordre de fréquence la quatrième infection opportuniste associée au sida. Elle survient généralement chez les patients ayant moins de cent lymphocytes CD₄ par mm³. Sa présentation la plus classique est l'atteinte neuro-méningée mais elle peut aussi atteindre les poumons et la peau. Le diagnostic se fait par examen direct, culture et détection rapide de l'antigène. Cette dernière méthode permet un traitement préemptif. Le traitement curatif associe l'amphotéricine B à la 5-flucytosine, avec relais par le fluconazole. En raison de la sévérité des syndromes d'immunoreconstitution, il est recommandé de différer l'instauration de la thérapie antivirale de quelques semaines.

*
* *

La cryptococcose est une mycose cosmopolite due à une levure capsulée du genre *Cryptococcus*. Elle survient habituellement chez les patients à risque en raison de leur immunodépression. Aujourd'hui, c'est dans le cadre du sida qu'elle est le plus souvent rencontrée.

Epidémiologie

L'incidence annuelle de la cryptococcose chez les patients VIH négatifs est comprise entre 0,2 et 0,8 cas/100 000 personnes mais l'infection à VIH est présente dans plus de 80 % des cas de cryptococcose dans le monde. L'infection à cryptocoque est aujourd'hui en fréquence la quatrième infection opportuniste chez le patient sida. Son incidence a diminué dans les pays développés depuis l'utilisation des traitements antirétroviraux efficaces (HAART) mais l'infection reste fréquente dans les pays en développement, où elle affecte toujours 15 à 30 % des patients atteints du sida.

* Centre de Référence SIDA, CHU Saint-Pierre, rue Haute 322, B-1000 Bruxelles (Belgique).

On estime aujourd'hui à environ un million le nombre annuel de nouveaux cas. La région la plus affectée est l'Afrique subsaharienne (75 % des cas) suivie par l'Asie du Sud et du Sud-Est. La plupart des cas surviennent chez des patients VIH ayant moins de cent lymphocytes CD₄ par mm³ (KOVACS *et al.* 1985, POWDERLY 1993, MIRZA *et al.* 2003, PARK *et al.* 2009, DESALERMOS *et al.* 2012).

Aspects cliniques

- Pneumopathie à cryptocoque: le plus souvent, la primo-infection pulmonaire est asymptomatique et guérit spontanément. Elle peut se manifester par des signes non spécifiques: toux avec ou sans expectoration, douleurs thoraciques, fièvre et dyspnée. Il existe des formes cliniques avec détresse respiratoire aiguë.
- Méningo-encéphalite cryptococcique: le début est habituellement progressif et insidieux. Il s'agit de céphalées associées à une fièvre modérée. Puis surviennent les signes qui complètent le tableau clinique: vertiges, troubles de l'humeur, de la mémoire, déficits moteurs et sensoriels, raideur de la nuque. *C. neoformans* est capable d'envahir les méninges mais aussi tout le parenchyme cérébral. L'atteinte méningée signe en général l'existence d'une infection disséminée, une localisation extra-méningée étant mise en évidence dans plus de 50 % des cas chez les patients immunodéprimés.
- Autres localisations: l'atteinte cutanée survient dans 5 à 10 % des cas et témoigne de la dissémination hémotogène de l'infection. La lésion initiale est une papule qui grossit en pustule et finit par s'ulcérer. Ces lésions siègent au niveau du visage et des extrémités. Les inoculations cutanées provoquent des chancres limités. L'atteinte osseuse touche les épiphyses, les os du crâne et les vertèbres, et présente un aspect pseudotuberculeux. Les lésions sont souvent multiples, petites, lytiques et d'évolution lente. Au cours des formes disséminées, tous les organes peuvent être atteints et les hémocultures sont positives. Citons l'œil (choriorétinites, endophtalmies, conjonctives), le cœur (myocardite, endocardite, péricardite), les reins, la prostate, le foie, le pancréas, les surrénales, ...

Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique est avant tout mycologique et repose sur la mise en évidence de la levure. La recherche peut s'effectuer sur le liquide céphalorachidien (LCR), le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA),

le sang, les urines, le pus, ainsi que dans les ponctions d'organes ou pièces opératoires.

- Examen direct: effectué après centrifugation du prélèvement, une goutte du culot de centrifugation est mélangée à une goutte d'encre de Chine et examinée au microscope. Les cryptococoques apparaissent distinctivement sur fond noir, la capsule formant un halo incolore autour de la levure.
- Culture: *C. neoformans* pousse facilement sur gélose de Sabouraud additionnée d'antibiotiques.
- Recherche d'antigènes circulants: la recherche d'antigènes polysaccharidiques de *C. neoformans* se fait dans le sérum, le LCR, les urines ou le LBA. Il s'agit d'une technique d'agglutination de particules de latex portant des anticorps polyclonaux spécifiques anticryptococciques produits par le lapin pour la majorité des réactifs ou d'un anticorps monoclonal anti-GXM. La réaction est très sensible et très fiable dans les méningoencéphalites (jusqu'à 92 % de LCR positifs).

En 2009 a été développé un nouveau test de détection rapide du glucuronoxylomannan de la capsule polysaccharidique de *Cryptococcus*. Ce test LFA (pour *Lateral Flow immunoassay*), d'utilisation facile sous forme de tigelette, a une excellente spécificité et une sensibilité au moins équivalente, voire supérieure, au test classique. Son usage en tant qu'outil de monitoring thérapeutique semble également prometteur. Ce test a non seulement toutes les qualités d'un test *point-of-care* (POCT), à savoir la rapidité du résultat, la facilité de réalisation et d'interprétation (absence de nécessité d'une expertise technique), l'absence de nécessité d'une chaîne de froid et d'un équipement de laboratoire, mais il est également doté d'une excellente performance, le tout malgré un coût extrêmement concurrentiel, y compris face à l'examen de LCR à l'encre de Chine. Ce test prometteur pourrait changer la donne et étendre enfin l'accès à la prise en charge d'une des infections opportunistes les plus meurtrières (SAHA *et al.* 2009, KOZEL & BAUMAN 2012, MCMULLAN *et al.* 2012, JARVIS *et al.* 2011, LINDSLEY *et al.* 2011, LAWN & WOOD 2012).

Dépistage et traitement préemptif

Ce nouveau test relance également l'intérêt d'un dépistage systématique de la cryptococcose chez les sujets infectés par le VIH. Le taux de positivité est relativement important, y compris chez des sujets asymptomatiques, si l'on sélectionne des sujets avec $CD_4 < 100$, voire $200/mm^3$. Dans une cohorte sud-africaine rétrospective, ce dépistage a permis d'identifier

des sujets avant le développement d'une cryptococcose méningée symptomatique avec un impact majeur sur le pronostic grâce à la remarquable efficacité et simplicité du traitement préemptif par fluconazole. Ce dépistage est recommandé, assez prudemment, par l'OMS: il est à considérer chez les sujets ayant moins de $100 \text{ CD}_4/\text{mm}^3$ si la prévalence de la cryptococcose symptomatique est supérieure à 3 %. Ces recommandations reposent principalement sur une étude coût-efficacité publiée en 2010, démontrant que le coût du traitement de la cryptococcose symptomatique (avec amphotéricine B) dépassait celui du dépistage systématique dès que la prévalence de l'infection dans la population considérée était supérieure à 3 % (WHO 2011, MEYA *et al.* 2010).

Traitement curatif

Le traitement repose sur l'association d'amphotéricine B et de 5-fluorocytosine. Une étude récente a confirmé la supériorité en termes de mortalité de cette association (administrée pendant deux semaines) par rapport à la monothérapie à l'amphotéricine B. Le relais s'effectue ensuite à raison de dix semaines de traitement par le fluconazole à posologie élevée. En cas d'hypertension intracrânienne, des ponctions lombaires évacuatrices sont également effectuées. L'amélioration clinique est généralement lente, d'une à deux semaines, et la rémission n'est obtenue qu'après au moins six semaines de traitement d'attaque. Des séquelles peuvent persister après guérison si un nerf crânien a été touché (surdité, c c t ). Un traitement prophylactique des rechutes est systématique chez les patients atteints du sida tant qu'une reconstitution immunitaire franche et stable n'a pas été obtenue par les traitements antirétroviraux (DAY *et al.* 2013, PERFECT *et al.* 2010).

Cryptococcose et traitement antirétroviral

Dans les suites d'une infection opportuniste, la mise sous antirétroviraux (ARV) expose, outre le risque toxique lié aux interactions entre les traitements de l'infection et les ARV, au risque de syndrome inflammatoire de restauration immunité (IRIS). Ce risque est d'autant plus élevé que l'introduction des ARV est précoce. Toutefois, l'initiation retardée des ARV expose à un risque élevé de survenue d'autres infections, tout particulièrement lorsque les CD_4 sont inférieurs à $50/\text{mm}^3$. Au cours de l'infection par le VIH, les antirétroviraux permettent une restauration, au moins partielle, des réponses immunes et donc une diminution de l'incidence des infections opportunistes. Cette restauration immunité peut cependant être excessive et

entraîner des manifestations pathologiques qui sont regroupées sous le terme d'IRIS.

Dans la cryptococcose, la fréquence de l'IRIS varie de 8 à 31 % selon les études, les manifestations surviennent en médiane trois mois après l'introduction des antirétroviraux. Les principales manifestations cliniques sont l'apparition d'une méningite aseptique, de fièvre et d'adénopathies nécrotiques souvent médiastinales ou superficielles.

Ces IRIS sont fréquemment graves et sont plus fréquents en cas d'initiation précoce des ARV. Dans un essai randomisé conduit au Zimbabwe où la cryptococcose neuroméningée était traitée par fluconazole 800 mg/jour (un traitement fongistatique insuffisant), la mortalité était significativement plus élevée (82 %) chez les patients qui initiaient le traitement ARV trois jours après celui de la cryptococcose versus 37 % dans le bras où les ARV étaient introduits après dix semaines. Des résultats similaires ont été obtenus dans un essai plus large conduit en Afrique du Sud et en Ouganda et comprenant un traitement fongicide de la cryptococcose par amphotéricine B et fluconazole. Dans cette étude, la mortalité était de 45 % chez les patients randomisés pour initier les ARV sept à onze jours après le traitement de la cryptococcose versus 30 % dans le bras où les ARV étaient introduits à cinq semaines. Cet essai a été interrompu prématurément à la demande du comité indépendant de surveillance. L'introduction précoce des ARV entraînait une surmortalité principalement chez les sujets ayant une vigilance altérée ou une cytorachie basse à l'inclusion, mais elle n'apportait pas de bénéfice clinique chez ceux ayant une vigilance normale. Il semble donc préférable d'attendre au moins quatre semaines de traitement antifongique bien conduit et avec une disparition des signes de souffrance cérébrale, en particulier chez ceux ayant des critères initiaux de sévérité, ou bien à la fin du traitement d'attaque de la cryptococcose lorsque celui-ci, pour des raisons logistiques, ne comporte pas d'amphotéricine B (BISSEON *et al.* 2013, MAKADZANGE *et al.* 2010, BOULWARE *et al.* 2013).

BIBLIOGRAPHIE

- BISSEON, G. P., MOLEFI, M., BELLAMY, S., THAKUR, R., STEENHOFF, A., TAMUHLA, N., RANTLERU, T., TSIMAKO, I., GLUCKMAN, S., RAVIMOHAN, S., WEISSMAN, D. & TEBAS, P. 2013. Early versus delayed antiretroviral therapy and cerebrospinal fluid fungal clearance in adults with HIV and cryptococcal meningitis. — *Clin. Infect. Dis.*, **56** (8): 1165-1173.
- BOULWARE, D., MEYA, D., MUZOORA, C., ROLFES, M., HUPPLER HULLSIEK, K., MUSUBIRE, A., TASEERA, K., NABETA, H., SCHUTZ, C., MEINTJES, G. & Cryptococcal Optimal ART Timing Trial 2013. ART initiation within the first two weeks of cryptococcal meningitis associated with higher mortality:

- a multisite randomized trial. — *In*: Program and abstracts of the 20th CROI, Atlanta, 2013 (Abstract 144).
- DAY, J. N., CHAU, T. T., WOLBERS, M., MAI, P. P., DUNG, N. T., MAI, N. H., PHU, N. H., NGHIA, H. D., PHONG, N. D., THAI, C. Q., THAI LE, H., CHUONG, L. V., SINH, D. X., DUONG, V. A., HOANG, T. N., DIEP, P. T., CAMPBELL, J. I., SIEU, T. P., BAKER, S. G., CHAU, N. V., HIEN, T. T., LALLOO, D. G. & FARRAR, J. J. 2013. Combination antifungal therapy for cryptococcal meningitis. — *N. Engl. J. Med.*, **368** (14): 1291-1302.
- DESALERMOS, A., KOURKOUMPETIS, T. K. & MYLONAKIS, E. 2012. Update on the epidemiology and management of cryptococcal meningitis. — *Expert. Opin. Pharmacother.*, **13** (6): 783-789.
- JARVIS, J. N., PERCIVAL, A., BAUMAN, S., PELFREY, J., MEINTJES, G., WILLIAMS, G. N., LONGLEY, N., HARRISON, T. S. & KOZEL, T. R. 2011. Evaluation of a novel point-of-care cryptococcal antigen test on serum, plasma, and urine from patients with HIV-associated cryptococcal meningitis. — *Clin. Infect. Dis.*, **53** (10): 1019-1023.
- KOVACS, J. A., KOVACS, A. A., POLIS, M., WRIGHT, W. C., GILL, V. G., TUAZON, C. U., GELMANN, E. P., LANE, H. C., LONGFIELD, R., OVERTURE, G. *et al.* 1985. Cryptococcosis in the acquired immunodeficiency syndrome. — *Ann. Intern. Med.*, **103** (4): 533-538.
- KOZEL, T. R. & BAUMAN, S. K. 2012. CrAg lateral flow assay for cryptococcosis. — *Expert. Opin. Med. Diagn.*, **6** (3): 245-251.
- LAWN, S. D. & WOOD, R. 2012. Point-of-care urine antigen screening tests for tuberculosis and cryptococcosis: potential for mortality reduction in antiretroviral treatment programs in Africa. — *Clin. Infect. Dis.*, **54** (5): 739-740.
- LINDSLEY, M. D., MEKHA, N., BAGGETT, H. C., SURINTHONG, Y., AUTTHATEINCHAI, R., SAWATWONG, P., HARRIS, J. R., PARK, B. J., CHILLER, T., BALAJEE, S. A. & POONWAN, N. 2011. Evaluation of a newly developed lateral flow immunoassay for the diagnosis of cryptococcosis. — *Clin. Infect. Dis.*, **53** (4): 321-325.
- MCMULLAN, B. J., HALLIDAY, C., SORRELL, T. C., JUDD, D., SLEIMAN, S., MARRIOTT, D., OLMA, T. & CHEN, S. C. 2012. Evaluation of the cryptococcal antigen (CrAg) lateral flow assay in a diagnostic mycology laboratory. — *Mycoses*, **55**: 75-76.
- MAKADZANGE, A. T., NDHLOVU, C. E., TAKARINDA, K., REID, M., KURANGWA, M., GONA, P. & HAKIM, J. G. 2010. Early versus delayed initiation of antiretroviral therapy for concurrent HIV infection and cryptococcal meningitis in sub-saharan Africa. — *Clin. Infect. Dis.*, **50** (11): 1532-1538.
- MEYA, D. B., MANABE, Y. C., CASTELNUOVO, B., COOK, B. A., ELBIREER, A. M., KAMBUGU, A., KAMYA, M. R., BOHJANEN, P. R. & BOULWARE, D. R. 2010. Cost-effectiveness of serum cryptococcal antigen screening to prevent deaths among HIV-infected persons with a CD4+ cell count < or = 100 cells/microL who start HIV therapy in resource-limited settings. — *Clin. Infect. Dis.*, **51** (4): 448-455.
- MIRZA, S. A., PHELAN, M., RIMLAND, D., GRAVISS, E., HAMILL, R., BRANDT, M. E., GARDTNER, T., SATTAH, M., DE LEON, G. P., BAUGHMAN, W. & HAJJEH, R. A.

2003. The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992-2000. — *Clin. Infect. Dis.*, **36** (6): 789-794.
- PARK, B. J., WANNEMUEHLER, K. A., MARSTON, B. J., GOVENDER, N., PAPPAS, P. G. & CHILLER, T. M. 2009. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. — *AIDS*, **23** (4): 525-530.
- PERFECT, J. R., DISMUKES, W. E., DROMER, F., GOLDMAN, D. L., GRAYBILL, J. R., HAMILL, R. J., HARRISON, T. S., LARSEN, R. A., LORTHOLARY, O., NGUYEN, M. H., PAPPAS, P. G., POWDERLY, W. G., SINGH, N., SOBEL, J. D. & SORRELL, T. C. 2010. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of America. — *Clin. Infect. Dis.*, **50** (3): 291-322.
- POWDERLY, W. G. 1993. Cryptococcal meningitis and AIDS. — *Clin. Infect. Dis.*, **17** (5): 837-842.
- SAHA, D. C., XESS, I., BISWAS, A., BHOWMIK, D. M. & PADMA, M. V. 2009. Detection of *Cryptococcus* by conventional, serological and molecular methods. — *J. Med. Microbiol.*, **58** (Pt 8): 1098-1105.
- WHO 2011. Rapid advice. Management of cryptococcal diseases in HIV-infected adults, adolescents and children. — WHO.



Hoe aids *global health* creëerde

door

Peter PIOT*

SAMENVATTING. — Toen de aidsepidemie in de jaren 80 zowel het rijke Westen als Afrika trof, was het helemaal niet duidelijk dat het zowel de dodelijkste moderne epidemie zou worden sinds de Spaanse griep, en ook een *disruptive* rol zou spelen qua benadering van wat sinds de eeuwwisseling *global health* wordt genoemd. Zo bracht de aidsbestrijding voor het eerst gezondheid in de top politieke agenda wereldwijd, en mobiliseerde talrijke sectoren die traditioneel niet geëngageerd waren in de volksgezondheid. Ze verminderde ook de traditionele kloof tussen volksgezondheid en klinische geneeskunde. Gezondheid als een recht, de stem van patiënten, en mensenrechten als een fundamentele basis voor de strijd voor betere gezondheid wereldwijd, werden deel van *global health*. Grensoverschrijdende nieuwe vormen van aids *advocacy* en activism werden overgenomen voor andere belangrijke gezondheidsproblemen. Voor het eerst hebben patiënten in ontwikkelingslanden toegang tot nieuwe medicamenten die nog onder patent zijn, aan sterk verminderde prijs. Niet alleen werden nieuwe financieringsmechanismen voor de wereldwijde aidsbestrijding opgezet, maar ook voor malaria en tuberculose, dankzij aids activisme (en recent ook voor zogenaamde *neglected tropical diseases*, zoals bij het Europese EDCTP). Internationale ontwikkelingsgelden werden voor het eerst op grote schaal aangewend om een levenslange behandeling te financieren, daarbij een taboe van ontwikkelingshulp doorbrekend. Tenslotte heeft de massale investering in aidsonderzoek de ontwikkeling gestimuleerd van *centres of excellence*, meer en meer geleid door lokale wetenschappers, hoewel de financiering en prioriteiten nog grotendeels gecontroleerd blijven door de VSA, Europa en Japan. Al deze innovaties hebben geleid tot een nieuwe en meer geïntegreerde benadering van gezondheid, in het Engels *global health* genoemd. De nieuwe krachtverhoudingen in de wereld zullen deze trends waarschijnlijk verder beïnvloeden in andere richtingen.

*

* *

* Lid van de Academie; London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street, London, WC1E 7HT (Verenigd Koninkrijk).

Toen de aidsepidemie in de jaren 80 van de vorige eeuw zowel het rijke Westen (MMWR 1981a,b) als Afrika trof (PIOT *et al.* 1984, QUINN *et al.* 1986) kon niet voorzien worden dat ze niet alleen de dodelijkste moderne epidemie sinds de Spaanse griep zou worden, maar ook een baanbrekende rol zou spelen in de benadering van volksgezondheidsproblemen en zou leiden tot de ontwikkeling van wat sinds de eeuwwisseling *global health* wordt genoemd (zie kader).

Hoe aids *global health* creëerde

- dichte de kloof tussen ziektepreventie en -behandeling;
- lag aan de basis van nieuwe vormen van „*disease advocacy*” en activisme;
- zorgde voor nieuwe globale verbintenissen m.b.t. de financiering van de gezondheidszorg;
- kon opmerkelijk veel privéfilantropie aantrekken;
- zette aan tot debatteren over de prijs van essentiële geneesmiddelen;
- eiste de erkenning van de fundamentele rechten.

BRANDT 2013

De aidsbestrijding heeft eerst gedurende twee decennia klassieke paden bewandeld: het verantwoordelijke virus werd geïdentificeerd (GALLO & MONTAGNIER 2003), diagnostische testen werden ontwikkeld en bijkomende preventieve maatregelen geïmplementeerd. Vóór het op de markt brengen van de antiretrovirale behandelingen legden volksgezondheidsexperts hoofdzakelijk de nadruk op de controle van privé- en sociaal-risicogedrag en raadden zij onthouding, maritale trouw en condoomgebruik aan. Risicoreductieprogramma's werden geïmplementeerd; er werd raad gegeven; de ziekte werd actief opgespoord; voorbehoeds-middelen werden uitgedeeld en naalduitwisselingsprogramma's ontwikkeld; ... Alles berustte op preventie, de enige uitweg die er leek te zijn. Desondanks greep de pandemie steeds verder om zich heen. Tien jaar na de identificatie van het virus waren tien miljoen mensen besmet. De epidemie breidde verder uit, o.a. op een explosieve manier naar Zuid-Afrika, maar eveneens naar Azië en gebieden die deel uitmaakten van het voormalige Sovjet-Rusland, ...

In het midden van de jaren 90 van de vorige eeuw werden actieve antiretrovirale middelen ontdekt en begonnen sterfte door aids en moeder-kind-transmissie — althans in de geïndustrialiseerde landen — af te nemen. In minder rijke landen, in het bijzonder in Afrika ten zuiden van de Sahara (PIOT *et al.* 2001), bleef de pandemie hoogtij vieren. Daaraan moet

toegevoegd worden dat de aidsbestrijding niet alleen met „virale resistentie” te kampen had. Volksgezondheidsexperts, internationale instellingen en ontwikkelingsagentschappen zoals de Wereldgezondheidsorganisatie (WGO) en Unicef, voorstanders van de „essentiële geneesmiddelenstrategie” en geldschieters zoals de Wereldbank en de Europese Commissie moesten eerst overtuigd worden van de noodzaak van een globalere benadering. Vergeten wij ook niet dat sommige politieke verantwoordelijken, en niet in het minst president Thabo Mbeki van Zuid-Afrika, de aidsrealiteit straal negeerden.

Het is pas tijdens het derde decennium van de pandemie dat de aidsbestrijding voor het eerst gezondheid wereldwijd op de politieke agenda plaatste en, naast volksgezondheids-experts, talrijke normaal niet bij volksgezondheid betrokken actoren mobiliseerde in het kader van een brede multisectoriële aanpak, waarbij artsen, verantwoordelijken uit het maatschappelijke middenveld, de politieke, zaken-, arbeiders-, militaire en juridische wereld, met een budget van meer dan vijftien miljard dollar per jaar (UNAIDS 2012), harmonieus samenwerkten. Deze inspanningen vereisten een globale coördinatie, die vanaf 1996 aan de *Joint United Nations Program on HIV/aids* (UNAIDS) toevertrouwd werd. In januari 2000 had het eerste debat over aids — een belangrijk veiligheidsprobleem — plaats voor de Veiligheidsraad van de Verenigde Naties, voorgezeten door Al Gore, vice-president van de Verenigde Staten van Amerika. In 2001 keurde de Algemene Vergadering van de Verenigde Naties de historische *Declaration of Commitment on HIV/aids* goed (UNAIDS 2001), verbintenis die in 2011 vernieuwd werd (UNAIDS 2011). Het concept „gezondheidsdiplomatie” werd herzien en er ontstond een nieuwe cultuur van verantwoording binnen de internationale ontwikkeling. Deze acties leidden tot de oprichting van de *Global Fund to fight AIDS, Tuberculosis and Malaria* voor de bestrijding van aids in ontwikkelingslanden.

Een opmerkelijk gevolg van de aidsbestrijding was het kleiner worden van de traditionele kloof tussen volksgezondheid en klinische geneeskunde. Een tekort aan gezondheidswerkers, onvoldoende beschikbaarheid van essentiële geneesmiddelen en zwakke punten in de primaire gezondheidszorg en de volksgezondheidssystemen kwamen aan het licht. De aandacht werd gevestigd op sociale en medische billijkheid en op mensenrechten, wat in sommige landen een positieve impact had op de belangstelling voor en de financiering van algemene gezondheidswesties en op de versterking van de diensten voor moeder- en kindergezondheid (EL-SADR & ABRAMS 2007, RASSCHAERT *et al.* 2011, HARRIES *et al.* 2009).

Gezondheid als een recht, de stem van de patiënt — zie bvb. de *Treatment Action Campaign* in Zuid-Afrika (AHMAD 2013) — en mensenrechten als fundamentele basis voor een betere gezondheid wereldwijd werden

een deel van *global health*. Voor het eerst kregen patiënten in ontwikkelingslanden tegen sterk verminderde prijzen toegang tot nieuwe medicijnen die nog onder patent waren. Tussen 1998 en 2003 werd de prijs van de door de WGO aanbevolen eerstelijns antiretrovirale combinatiebehandeling in Oeganda van tien- tot twaalfduizend US\$ per jaar teruggebracht tot honderd veertig US\$ (UNAIDS/WHO 2004). Vele factoren — waaronder de concurrentie van generieke geneesmiddelen, het activisme van personen met HIV en ook van de *Clinton Foundation*, en de technologie-overdracht door de Noord-Amerikaanse en Europese farmaceutische industrie naar het Zuiden toe, wat de oprichting van productie-eenheden van antiretrovirale geneesmiddelen in Latijns-Amerika, Zuid-Oost-Azië en Afrika mogelijk maakte (UNAIDS/WHO 2004) — hebben daarbij een rol gespeeld.

Internationaal ontwikkelingsgeld werd voor het eerst op grote schaal aangewend voor het financieren van een levenslange behandeling, waardoor een ontwikkelingstaboe sneuvelde. In sommige landen komt het hele budget voor aidsbehandeling uit internationale bronnen. Om de toegang tot antiretrovirale geneesmiddelen te verzekeren zijn vele lage-inkomenslanden nog steeds bijna uitsluitend aangewezen op internationale hulp.

Bijgevolg nam de beschikbaarheid van geneesmiddelen in aanzienlijke mate toe en steeg in lage- en middelgrote-inkomenslanden het aantal personen dat antiretroviraal behandeld werd van minder dan tweehonderd duizend in 2001 tot acht miljoen in 2011 (UNAIDS 2012), terwijl de sterftecijfers in sommige van de meest getroffen landen afnamen (BENDAVID *et al.* 2012, UNAIDS 2011).

Door de verschuiving van de focus van het gebruik van antiretrovirale middelen voor de behandeling van HIV-infectie naar hun profylactische gebruik voor het elimineren van virale transmissie bleek een aidsvrije generatie niet langer denkbeeldig.

De ultieme doelstellingen, m. n. de gezondheid verbeteren, de overlevingskansen vergroten en HIV-besmetting voorkomen, kunnen enkel bereikt worden als er in elke fase van het zorgcontinuüm succes wordt geboekt. Men is het erover eens dat geen enkele alleenstaande interventie de verspreiding van HIV kan stoppen en dat combinatiepreventie de beste aanpak is. Door effectieve biomedische interventies, samen met gedrags- en structurele benaderingen, kan men nu met succes de incidentie van HIV-infectie tot zeer lage niveaus terugdringen en uiteindelijk de epidemie onder controle krijgen (*The Economist* 2011).

Maar, de grensoverschrijdende nieuwe vormen van „*aids advocacy*” en activisme werden overgenomen voor andere belangrijke gezondheidsproblemen. Nieuwe financierings-mechanismen werden niet alleen voor de wereldwijde aidsbestrijding opgezet, maar ook voor malaria en tuberculose, en onlangs ook voor zgn. *neglected tropical diseases*, zoals in het

kader van het *European & Developing Countries Clinical Trials Partnership* (EDTCP) (MATEE *et al.* 2009).

Ten slotte heeft de massale investering in aidsonderzoek de ontwikkeling van steeds vaker door lokale wetenschappers geleide expertise-centra in het Zuiden gestimuleerd, hoewel de financiering en prioriteiten nog grotendeels door de Verenigde Staten van Amerika, Europa en Japan gecontroleerd worden (tab. 1). Al deze innovaties leidden tot een nieuwe en meer geïntegreerde benadering van gezondheid, in het Engels *global health* genoemd. Duurzame gezondheid erkent het essentiële supranationale karakter van ziekten en het centrale karakter van gerechtigheid, mensenrechten en wetenschappelijke vanzelfsprekendheid; betreft besmette personen en gemeenschappen bij het multisectoriële beheer; combineert curatieve geneeskunde, preventie en structurele interventies; maakt snel gebruik van wereldwijd beschikbare middelen en innovatie; en doet een beroep op globale solidariteit. De nieuwe krachtsverhoudingen in de wereld zullen deze trends waarschijnlijk in andere richtingen verder beïnvloeden.

Tabel 1

Hoe wordt onderzoek gevoerd in het kader van *global health*?

	Vóór de <i>global health</i> periode	Tijdens de <i>global health</i> periode
Vraagstelling	In Noord-Amerika en Europa	Wereldwijd
Onderzoek	In — vooral biomedische — onderzoekscentra	In multidisciplinaire expertise-centra
Onderzoeksdomeinen	Infectieziekten Moeder- en kindergeneeskunde	Algemene gezondheidskwesties
Type onderzoek	Klinische proeven Epidemiologie	Globaal onderzoeksspectrum
Doelstelling	„ <i>Delivery of innovation</i> ”	„ <i>Innovation of delivery</i> ”
Wetenschappers	Braindrain	Circulaire migratie

DANKBETUIGING

Graag wil ik Prof. Dr. Philippe Goyens danken voor zijn redactionele ondersteuning.

REFERENTIES

- AHMAD, H. 2013. The treatment action campaign and the three dimensions of lawyering: Reflections from the rainbow nation. — *Journal of Social Aspects of HIV/AIDS*, **10**: 17-24.
- BENDAVID, E., HOLMES, C., BHATTACHARYA, J. & MILLER, G. 2012. HIV development assistance and adult mortality in Africa. — *JAMA*, **307**: 2060-7.
- BRANDT, A. M. 2013. How AIDS Invented Global Health. — *New Engl. J. Med.*, **368**: 2149-2152.
- EL-SADR, W. M. & ABRAMS, E. J. 2007. Scale-up of HIV care and treatment: can it transform healthcare services in resource-limited settings? — *AIDS*, **21** (Suppl. 5): S65-S70.
- GALLO, R. C. & MONTAGNIER, L. 2003. The discovery of HIV as the cause of AIDS. — *New Engl. J. Med.*, **349**: 2283-2285.
- HARRIES, A. D., ZACHARIAH, R., JAHN, A., SCHOUTEN, E. J. & KAMOTO, K. 2009. Scaling up antiretroviral therapy in Malawi – implications for managing other chronic diseases in resource-limited countries. — *J. Acquir. Immune Def. Syndr.*, **52** (Suppl. 1): S14-S16.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) 2001. Declaration of commitment on HIV/AIDS. — United Nations General Assembly special session on HIV/AIDS (25-27 June 2001). Geneva, UNAIDS.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) 2011. World AIDS day report 2011 – how to get to zero: Faster. Smarter. Better. — Geneva, UNAIDS.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) 2012. Global AIDS response progress reporting 2012. — Geneva, UNAIDS.
- MATEE, M. I., MANYANDO, C., NDUMBE, P. M., CORRAH, T., JAOKO, W.G., KITUA, A. Y., AMBENE, H. P. A., NDOUNGA, M., ZIJENAH, L., OFORI-ADJEI, D., AGWALE, S., SHONGWE, S., NYIRENDA, T. & MAKANGA, M. 2009. European and Developing Countries Clinical Trials Partnership (EDCTP): the path towards a true partnership. — *BMC Public Health*, **9**: 249 (doi:10.1186/1471-2458-9-249).
- Morbidity and Mortality Weekly Report 1981a. Pneumocystis pneumonia. — *MMWR*, **30** (21): 250-252.
- Morbidity and Mortality Weekly Report 1981b. Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men – New York City and California. — *MMWR*, **30** (25): 305-308.
- PIOT, P., QUINN, T. C., TAELEMAN, H. *et al.* 1984. Acquired immunodeficiency syndrome in a heterosexual population in Zaire. — *Lancet*, **2**: 65-69.
- PIOT, P., BARTOS, M., GHYS, P. D., WALKER, N. & SCHWARTLANDER, B. 2001. The global impact of HIV/AIDS. — *Nature*, **410**: 968-973.
- QUINN, T. C., MANN, J. M., CURRAN J. W. & PIOT, P. 1986. AIDS in Africa: an epidemiologic paradigm. — *Science*, **234**: 955-963.
- RASSCHAERT, F., PIRARD, M. & PHILIPS, M. P. *et al.* 2011. Positive spill-over effect of ART scale up on wider health systems development: evidence from Ethiopia and Malawi. — *J. Int. AIDS Soc.*, **14** (Suppl. 1): S3.

The Economist (June 2, 2011). Thirty years of a disease. The end of AIDS?

UNAIDS/WHO 2004. Report on the global AIDS epidemic: 4th global report.
— Geneva, UNAIDS.

UNAIDS 2012. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic
2012. — Geneva, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS
(UNAIDS).



Hulde / Hommage

door / par

Philippe GOYENS*

Geachte Heer Voorzitter,
Mevrouw de Erevast Secretaris,
Excellenties,
Erevast Secretarissen van de Academies,
Beste Consororen en Confraters,
Dames en Heren,

Wij brengen vandaag, traditiegetrouw, hulde aan Consoror Danielle Swinne, die gedurende acht jaar de functie van Vast Secretaris van de Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen vervuld heeft.

Confrater Huyge, Voorzitter van de Academie en lid van de Klasse voor Menswetenschappen, en Confrater De Meyer, lid van de Klasse voor Technische Wetenschappen, hebben de activiteiten van onze Erevast Secretaris uit de invalshoeken eigen aan beide Klassen belicht.

Consoror Portaels, lid van de Klasse voor Natuur- en Geneeskundige Wetenschappen, waartoe ook onze Erevast Secretaris behoort, is bijzonder goed geplaatst om haar persoonlijkheid en haar wetenschappelijke verdiensten „in reliëf” te beschrijven. Ik ben hen hiervoor zeer erkentelijk.

Onze gastsprekers, Collega Ferry Hagen en Professor Stéphane De Wit, hebben op zeer elegante wijze gewezen op het vooruitstrevende karakter en op het belang van het fundamentele wetenschappelijk onderzoek van Consoror Danielle Swinne en op de klinische en epidemiologische betekenis van haar onderzoek. Vervolgens heeft Confrater Piot op meesterlijke wijze toegelicht hoe deze wetenschappelijke activiteit haar plaats vindt in een planetaire problematiek. Ik wens onze gastsprekers en Confrater Piot hiervoor van harte te bedanken.

* Vast Secretaris van de Academie, Louizalaan 231, B-1050 Brussel (België) / Secrétaire perpétuel de l'Académie, avenue Louise 231, B-1050 Bruxelles (Belgique).

Madame la Secrétaire perpétuelle honoraire,

Votre élection au titre de Secrétaire perpétuelle était le couronnement d'une carrière scientifique sur laquelle je ne vais pas revenir dans la mesure où les orateurs précédents s'en sont chargés.

Je souhaite par contre me pencher quelques instants sur la relation que vous entretenez avec les académies.

Apparemment, dès le début de votre carrière scientifique, vous aviez les académies dans le collimateur, puisqu'en 1981, vous étiez lauréate des concours annuels de l'Académie Royale des Sciences d'Outre-mer, et en 1986 lauréate des concours ordinaires supplémentaires de l'Académie Royale de Médecine de Belgique. Vous avez publié à deux reprises dans le *Bulletin* de l'Académie Royale de Médecine. J'ai retrouvé quatre contributions scientifiques de votre main dans le *Bulletin* de l'ARSOM, en plus d'un ouvrage consacré au «*Cryptococcus neoformans* en région tropicale» dans la série des *Mémoires* de l'ARSOM.

Finalement, c'est l'outre-mer qui l'emporte puisque c'est à l'Académie Royale des Sciences d'Outre-mer de Belgique et à l'Académie des Sciences d'Outre-Mer de France que vous avez été élue.

Vous avez été nommée membre associé de l'ARSOM le 26 août 1997. Vous étiez certainement un bon élément, puisqu'à peine un an plus tard, le 20 septembre 1998, vous étiez nommée membre titulaire. Vous n'étiez pourtant pas particulièrement assidue; j'ai relevé vos présences aux séances de la 2^e Classe: trente-cinq présences pour vingt et une absences. Mais, par contre, très disciplinée: toujours excusée à une exception près si je ne me trompe. Vous vous êtes très fort impliquée dans les travaux de la Commission administrative. Cela a apparemment beaucoup impressionné notre Consœur Yola Verhasselt, secrétaire perpétuelle à l'époque. J'imagine que ce n'était pas le seul argument pour vous proposer de lui succéder.

U bent in januari 2005 in functie getreden. Hoe kunnen wij uw acht-jarige ambtstermijn karakteriseren? Globaal gesproken heeft U de fakkel die U van Consoror Yola Vehasselt overnam zeer hoog gehouden, zij het niet altijd op dezelfde manier. De continuïteit was in elk geval perfect verzekerd.

We zouden uw activiteit ook op een boekhoudkundige wijze kunnen evalueren: zoveel conferenties en colloquia, meer dan tachtig nieuwe leden, en zo verder. Maar U zult het met mij eens zijn dat deze droge opsomming helemaal niet bij U past.

Kort samengevat, kom ik tot de conclusie dat uw aanpak op drie pijlers steunde.

Le premier pilier est un subtil mélange de discrétion et de dynamisme qui, allié à une ténacité certaine et beaucoup de méticulosité, fait que vous disposez en réalité d'une grande force de travail et de persuasion, à laquelle peu de problèmes semblent pouvoir résister.

A titre d'illustration, je n'en voudrais pour preuve que le fait que, le 19 avril 2005, donc moins de quatre mois après votre entrée en fonction, et moins de quatre mois après les événements, vous organisiez déjà une séance commune consacrée au tsunami qui a ravagé les côtes de l'océan Indien le 26 décembre 2004. Cette séance commune n'était en réalité que la première d'une longue liste de colloques, conférences et symposiums, dont, si je ne me trompe, neuf ont donné lieu à la publication d'actes, certains dans un délai de moins de douze mois!

Témoin de votre souci du travail bien fait, je ne puis passer sous silence que vous m'avez remis, lors de mon entrée en fonction, un véritable mode d'emploi de l'Académie, qui ne compte pas moins de onze pages, d'une redoutable précision. Il est certain que ce précieux document a grandement contribué à faciliter la transition.

Een tweede pijler is uw zin voor vernieuwing. Ik denk hierbij niet alleen aan een grotere inburgering van de nieuwe technologieën, maar ook aan de frisse wind die door de Academie waaide en ze jonger en dynamischer maakte. U heeft niet gearzeld de statuten van de Academie grondig af te stoffen en nieuwe activiteiten in te voeren, hetgeen waarschijnlijk wel af en toe op een zekere weerstand stuitte. Uw zin voor moderniteit heeft ook toegelaten van de verhuizing van de zetel van de Academie een *success story* te maken. U heeft er onder andere voor gezorgd dat het secretariaat nu over bijzonder aangename en heldere lokalen beschikt, op maat van de verschillende medewerkers gesneden.

Mais ce qui, à mon sens, caractérise le plus votre action en tant que Secrétaire perpétuelle — et j'en parle d'autant plus volontiers que j'en ai bénéficié en particulier au moment de reprendre le flambeau du secrétariat —, ce sont votre gentillesse, votre sens des relations humaines et de l'accueil. Vous avez toujours été extraordinairement accessible, ouverte à toute question et toute proposition.

C'est certainement cette préoccupation des contacts humains qui vous a amenée à introduire dans notre Académie des activités à caractère plus convivial et culturel, en apparence moins sérieuses peut-être mais certainement non moins importantes, qui font que l'Académie n'est pas moins qu'auparavant une société savante regroupant trois Classes, mais également un cercle de femmes et d'hommes, amis par-delà les disciplines; en

d'autres termes, vous souhaitiez favoriser l'innovation dans l'articulation des savoirs: sciences, art et société.

Madame la Secrétaire perpétuelle honoraire,
Chère Danielle,

Grâce à vos grandes qualités, grâce à l'énergie que vous avez déployée dans l'exécution de votre fonction, j'ai trouvé, au moment de reprendre le flambeau, une académie en parfait état de marche, prête à affronter les défis qui l'attendent, s'appuyant sur un secrétariat motivé et efficace. Je profite de l'occasion pour me faire leur interprète et vous dire combien les membres du secrétariat ont apprécié travailler avec vous. Au nom de l'Académie et au nom de son personnel, je tiens à vous remercier très chaleureusement.

En guise de conclusion, je voudrais remercier notre président, le confrère Dirk Huyge, notre consœur Françoise Portaels, quelques initiés parmi les membres de l'Académie, et l'ensemble du personnel du secrétariat, qui m'a aidé à préparer cette séance d'hommage. Je souhaite également remercier Monsieur Abdulasol d'avoir assuré avec délicatesse les intermèdes musicaux, qui nous ont rappelé que l'ARSOM se doit de porter le regard sur des horizons lointains, dans ce cas-ci l'Irak.



Dankwoord / Remerciements

door / par

Danielle SWINNE*

Mijnheer de Voorzitter, Mevrouw de Voorzitster, Excellenties, Mevrouw en Heren Vast en Erevast Secretarissen van de Academiën, waarde Consororen en Confraters, beste vrienden.

Monsieur le Président, Madame la Présidente, Excellences, Madame et Messieurs les Secrétaires perpétuels et perpétuels honoraires des Académies, chers Consœurs et Confrères, chers amis.

Onze Voorzitter, Dirk Huyge, heeft het voorrecht gehad U te mogen verwelkomen en ik had daar graag een woordje van dank aan toegevoegd voor uw aanwezigheid op deze huldezitting. Ik wil er ook bij vertellen dat het programma tot deze namiddag voor mij een wel bewaard geheim is gebleven, en mij dus écht verrast heeft.

En effet, réussir à rassembler Ferry Hagen, qui est un des tout grands spécialistes de *Cryptococcus neoformans*, un clinicien de l'envergure de Stéphane De Wit, et enfin notre Confrère Peter Piot que j'essaie d'inviter depuis huit ans mais qui n'est jamais disponible, son agenda étant superchargé, est un réel défi. Notre Confrère Philippe Goyens l'a relevé et je l'en remercie bien chaleureusement. Et je remercie bien évidemment les trois orateurs de m'avoir fait l'honneur de participer à cette séance.

Ik was reeds enkele jaren lid van ons genootschap toen mij werd voorgesteld de functie van vast secretaris te bekleden, en ik heb niet lang geaarzeld. Ik had immers gedurende meer dan veertig jaar aan het Instituut voor Tropische Geneeskunde gewerkt in een multiculturele omgeving, en had de gelegenheid gehad om overzee te werken. Daarnaast wou ik ook wel een beetje aan de medische mycologie ontsnappen en andere wetenschappelijke disciplines ontdekken. De Academie had alles om mij te bevallen: haar multidisciplinariteit en haar wetenschappelijke doeleinden.

* Erevast Secretaris van de Academie / Secrétaire perpétuelle honoraire de l'Académie.

J'ai donc accepté et je ne l'ai jamais regretté. Très rapidement, je me suis sentie aussi à l'aise au sein de la Classe des Sciences humaines et de la Classe des Sciences techniques qu'au sein de la Classe des Sciences naturelles et médicales à laquelle j'appartiens. Je tiens à remercier les Consœurs et les Confrères pour l'accueil qu'ils m'ont réservé, pour leur participation aux diverses activités que j'ai programmées, pour leur soutien et leurs encouragements. Ma gratitude va tout particulièrement aux présidents de l'Académie, aux présidents des commissions et des groupes de travail, aux directeurs de Classes avec qui j'ai travaillé en étroite collaboration.

Consoror Yola Verhasselt en Confrater Jean-Jacques Symoens, erevast secretarissen, wil ik vandaag nog eens heel hartelijk danken omdat zij mij met raad en daad hebben bijgestaan. En *last but not least*, wens ik mijn dankbaarheid te betuigen aan de leden van het secretariaat die mij gedurende acht jaar met het dagelijkse beheer van onze genootschap hebben geholpen. Els, Elske, Nancy, Patricia, Philippe, Renaud, Sophie en Thomas, jullie zijn uitstekende medewerkers geweest, nauwgezet, toegewijd, betrouwbaar: het was zeer aangenaam met jullie samen te werken.

Enfin, ma gratitude va à mes Confrères Christian De Meyer et Philippe Goyens qui, tous deux, ont évoqué mon passage à l'Académie, et à ma Consœur Françoise Portaels qui, elle, s'est penchée sur mes parcours professionnel et familial qu'elle connaît fort bien puisque nos chemins se croisent et se recroisent depuis un demi-siècle.

Je remercie enfin Monsieur Osama Abdulrasol pour l'accompagnement musical empreint du charme de l'Orient.

Ten slotte nog hartelijk dank aan mijn opvolger, Philippe Goyens, voor de organisatie van deze huldezitting en ik hoop dat hij evenveel voldoening zal vinden als ik in het dienen van onze Academie.



Muzikale omlijsting

Encadrement musical

Q'anūn

door

par

Osama ABDULRASOL

Osama ABDULRASOL

semaii lami

*
* *

semaii nihawent

*
* *

huzun

*
* *

sufi 7



