

Таларомикоз (пенициллез): характеристика возбудителя и лабораторная диагностика

А.В. Липницкий, Н.В. Половец, Р.С. Суркова, О.А. Шергина, Д.В. Викторов, А.В. Топорков

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Волгоград, Россия

Talaromycosis (penicilliosis): characteristics of ethiological agent and laboratory diagnosis

A.V. Lipnitsky, N.V. Polovets, R.S. Surkova, O.A. Shergina, D.V. Victorov, A.V. Toporkov

Federal Government Health Institution «Volograd Plague Control Research Institute» of Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Volograd, Russia

Аннотация

Таларомикоз (пенициллез) (ТМ) - системный микоз иммунокомпрометированных субъектов в эндемичных регионах Юго-Восточной Азии. Бамбуковые крысы (*Rhizomyces spp. and Cannomyces spp.*) и почва из их нор - ведущие резервуары гриба во внешней среде. Обычно ТМ у людей связывали с приобретением синдрома иммунодефицита, вследствие ВИЧ-инфекции. В последние годы описано повышение количества не ВИЧ-инфицированных больных ТМ, с другими факторами иммуносупрессии. *Talaromyces (Penicillium marneffei)* - единственный известный температурозависимый диморфный гриб рода *Talaromyces*. Диагностика ТМ обычно проводится путем идентификации гриба в клинических образцах с помощью микроскопии и культивирования. Поскольку большинство пациентов с диссеминированным ТМ имеет низкие титры антител к грибу и высокие уровни антигенемии, многие диагностические методы сфокусированы на выявлении антигенов гриба в сыворотке и других клинических образцах. Основанные на ПЦР технологии обеспечивают альтернативу существующей диагностике ТМ и мониторингу больных, подвергающихся лечению антимикотиками.

Ключевые слова

Таларомикоз, *Talaromyces marneffei*, диагностика, полимеразная цепная реакция, эндемические микозы

Таларомикоз (пенициллез) (ТМ) - тяжелое, часто смертельное заболевание иммунокомпрометированных субъектов в тропических регионах Юго-Восточной Азии. Зоны эндемичности ТМ включают Таиланд, Южный Китай, Вьетнам, северо-восток Индии, Гонконг, Тайвань, Лаос,

Summary

Talaromycosis (Penicilliosis) (TM) is a systemic fungal infection of immunocompromised subjects in endemic regions in Southeast Asia. Bamboo rat (*Rhizomyces spp. and Cannomyces spp.*) and the soil of its burrows are the important environmental reservoirs of the fungus. Traditionally infection in human was mainly associated with acquired immunodeficiency syndrome caused by HIV-infection. In recent years there has been an increasing number of TM-infections reported in non-HIV infected patients with other immunocompromised factors. *Talaromyces (Penicillium) marneffei* is the only known thermally dimorphic species of the genus *Talaromyces*. The diagnosis of TM is commonly made by identifying the fungus in clinical specimens by microscopy and culture. Since the majority of patients with disseminated TM have a low titers of antibodies to fungus and high level of antigenemia, many diagnostic methods have focused on antigen detection in serum and other clinical samples. PCR-based technologies offer a good alternative to conventional diagnosis of TM and monitoring of patients under antifungal treatment.

Keywords

Talaromycosis, *Talaromyces marneffei*, diagnostic methods, polymerase chain reaction, endemic mycoses

Малайзию, Мьянму, Камбоджу [1-3]. В настоящее время увеличение числа заболеваний связано не только с ВИЧ-инфекцией, но и другими факторами иммуносупрессии (злокачественные поражения крови, трансплантация органов, системная красная волчанка, аутоантитела против

гамма-интерферона, новые средства иммунотерапии). Возбудитель заболевания - патогенный диморфный гриб *Talaromyces marneffeii*, ранее известный как *Penicillium marneffeii* [4], впервые был обнаружен в 1955 г., в печени китайской бамбуковой крысы (*Rhizomys sinensis*), погибшей от диссеминированного микоза в блоке экспериментальных животных института Пастера в Южном Вьетнаме [5]. Гриб был назван *P. marneffeii* в честь *Hubert Marneffe* - директора этого института [6].

Впоследствии этот гриб был выделен и от других видов бамбуковой крысы, принадлежащих к подсемейству *Rhizomyzinae*, таких как *R. pruinosus* (седая бамбуковая крыса), *R. sumatrensis* (большая бамбуковая крыса) и *Cannomys badius* (малая бамбуковая крыса) [7-9].

Пенициллез человека впервые был описан как случай лабораторного заражения при работе с культурой гриба [10].

Характеристика возбудителя

Филогенетический анализ *P. marneffeii*, проведенный с помощью изучения нуклеотидных последовательностей ядерного и митохондриального регионов рРНК, показал, что *P. marneffeii* тесно связан с видами подрода *Penicillium* *Biberticillium* [11]. Однако, в 2011 г. на основе молекулярно-генетических исследований, включающих секвенирование большого субъединичного гена РНК-полимеразы II (*grb1*) и региона внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS), гриб был реклассифицирован, как принадлежащий к роду *Talaromyces* [4].

T. marneffeii - единственный представитель видов *Penicillium* / *Talaromyces*, обладающий зависимым от температуры диморфизмом, характерным для возбудителей эндемичных (особо опасных) системных микозов - грибов *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides sp.*, *Blastomyces spp.*, *Paracoccidioides spp.* При температурах ниже 37°C *T. marneffeii* растёт в виде мицелия с септированными гифами, образующими конидиофоры и конидии, характерные для рода *Penicillium*. При 37°C на искусственных питательных средах или в организме человека гриб развивается в дрожжеподобной форме с образованием характерных «рассечённых» клеток. Такие же клетки можно наблюдать внутри макрофагов инфицированных людей.

Существует мнение, что помимо *T. marneffeii* некоторые другие виды *Talaromyces* могут вызывать инвазивные формы микоза. К ним относят *T. amestolkiae* [12], *T. purpurogenus* [13, 14] и *T. piceum* [15, 16]. Анализ изолятов *Talaromyces* с

помощью полифазной таксономии выявил семь генетических клад, соответствующих недавнему описанию рода [17]. *T. marneffeii* может быть дифференцирован от других видов, в том числе продуцирующих характерный для этого гриба красный пигмент, конверсией в дрожжевую форму при 37°C. Появилось сообщение, что успешная идентификация всех изолятов *Talaromyces* до вида может быть проведена в MALDI-TOF-масс-спектрометрии на основе расширенной базы данных детально охарактеризованных штаммов этого рода. По мнению авторов этот метод полезен для быстрой первичной идентификации видов *Talaromyces* при лечении больных ТМ [18].

Конверсия конидий в дрожжи недавно была изучена у всех диморфных грибов с помощью транскрипционного профилирования [19]. При этом были идентифицированы 24 экспрессируемых гена, общих для паразитической фазы (сферул) *Coccidioides spp.* и дрожжевой фазы *H. capsulatum*. Только гомологи этих генов были обнаружены у *P. brasiliensis*, *B. dermatitidis* и *T. marneffeii* при экспрессии в дрожжевую форму. Ген 4-гидроксифенил пурват диоксигеназы, включенный в метаболизм тирозина и синтез меланина, необходимый для конверсии в дрожжи, экспрессировался в дрожжевой форме всех пяти видов диморфных грибов. Авторы подчёркивают, что транскрипционный профиль конверсии мицелия в дрожжи значительно отличается у различных видов этих грибов.

Используя двумерный гель-электрофорез в полиакриламидном геле вместе с масс-спектрометрией, Xi et al. [20] идентифицировали 26 белков, различно экспрессирующихся в клетках мицелиальной и дрожжевой фаз *T. marneffeii*. Chandler et al. [21] определили наборы генов, общих или специфичных для ранней стадии развития двух фаз. Протеины с повышенной экспрессией в дрожжевой фазе участвовали в биосинтезе клеточной стенки, общем метаболизме и ответе на тепловой шок. Предполагается, что белок RapA, ответственный за регуляцию митоза и мембранный транспорт, особенно важен в сигнальных механизмах диморфизма.

С помощью протеомного профилирования была выявлена глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа (GAPDH) как фактор адгезии конидий *T. marneffeii* [22]. Их прикрепление к фибронектину, ламинину и пневмоцитам подавлялось рекомбинантной GAPDH (rGAPDH) или анти-rGAPDH антителами, что может быть важно для установления ранней фазы инфекции в лёгких больных ТМ.

Анализ всех кодирующих последовательно-стей генома *T. marneffeii* показал, что он наиболее близко связан с другими плесневыми грибами из родов *Talaromyces*, *Penicillium* и *Aspergillus* [23]. В 1998 г. был клонирован ген MP1 и обнаружено, что кодируемый им белок Mrp1 является секретуемым антигенным маннопротеином клеточной стенки гриба [24]. На мышинной модели подтверждено, что Mrp1 - важный компонент вирулентности *T. marneffeii* [25]. Balb/c-мыши погибли после инъекции дикого штамма *T. marneffeii* PM1, тогда как все экспериментальные животные остались живыми после заражения MP1-нокаутным мутантом. Отмечено, что Mrp1 может взаимодействовать с пальмитиновой [26] и арахидоновой [27] кислотами, однако в дополнение к этим жирным кислотам он также способен связываться с большим количеством белков и фосфолипидов в организме экспериментальных животных. Это свидетельствует о сложности молекулярного механизма вирулентности гриба [23].

Известно, что мультилокусное сиквенс-типирование (MLST), включающее ПЦР-амплификацию и секвенирование 5-7 генов домашнего хозяйства, успешно используется для определения сиквенс-типа бактериальных штаммов. У *T. marneffeii* секвенирование набора генов домашнего хозяйства позволило установить идентичность сиквенсов всех изученных изолятов гриба. После секвенирования 5 локусов 44 штаммов *T. marneffeii*, выделенных от больных в Гонконге, выявлена высокая дискриминирующая способность предложенной схемы MLST. Тем не менее сиквенс-типы не были обусловлены эпидемиологическими параметрами (возраст, пол, ВИЧ-статус пациентов) [28].

Различная группа вторичных метаболитов (поликарбонильных соединений), продуцируемых микроорганизмами, носит название поликетидов (polyketides). Она включает соединения (пигменты, антибиотики, микотоксины), которые обеспечивают процессы их выживания. Поликетиды синтезируются поликетид-синтазами (PKS), которые в целом составляют комплекс ферментных систем. Показано, что геном штамма *T. marneffeii* PM1 содержит 23 гена PKS [29]. Эти PKS-гены распределены среди аналогичных генов других групп филогенетического дерева [30]. При нокдауне этих генов отмечено, что черный пигмент конидий был потерян в одном [31], диффундируемый красный пигмент мицелия - в другом [32] и желтый пигмент - в мицелии еще двух клонов [33]. Черный пигмент является меланином - фактором вирулентности гриба,

обеспечивающим его резистентность к действию перекиси водорода, а желтый пигмент способствует его выживанию в макрофагах [34, 35]. Недавно установлено, что sakA ген 4 *T. marneffeii* помимо активного участия в накоплении хитина, устойчивости к стрессам и выживании внутри макрофагов [36], влияет и на продукцию красного пигмента [37]. Биология PKS-генов и пигментов *T. marneffeii* подробно представлена в обзоре Tam et al. [30].

Важными регуляторными молекулами генов являются небольшие некодирующие эндогенные РНК - микроРНК (miRNAs). Они были идентифицированы в обеих фазах *T. marneffeii* [36]. Пока еще мало известно о функциях miRNAs у *T. marneffeii*, хотя потенциальные мишени генов для различных miRNAs определены. Предстоит выяснить их роль в генной регуляции.

Характеристика экспрессии генов, кодирующих белок теплового шока, глутатион-пероксидазу, цитохром-С-оксидазу и NADH-убихинон оксиредуктазу, различна в мицелиальной, конидиальной и дрожжевой фазах гриба. Гены, ответственные за голодание и тепловой шок, были более активны в конидиях по сравнению с мицелием. Это свидетельствует о том, что даже в «дремлющей» фазе конидии гриба готовы к экспрессии генов, ответственных за тепловой и окислительный стрессы, т.е. способны играть важную роль в процессе выживания гриба внутри макроорганизма в период инфекционного процесса [37]. Тем не менее, основные, связанные со стрессом гены, экспрессируются в дрожжевой фазе [38-40].

При внедрении гриба в макроорганизм первичной линией его защиты от конидий *T. marneffeii*, способных взаимодействовать с ламинином, являются фагоциты [41]. Макрофаги моноцитов способны поглощать грибок. Недостаточное количество CD4+Т-клеток в иммунной системе приводит к развитию диссеминированного микоза. Активация макрофагов цитокинами Т-клеток необходима для защиты от распространения гриба в организме [42]. При анализе *in vitro* течения инфекции у BALB/c мышей обнаружено, что протективный иммунитет развивается по Th1-типу с высокими уровнями интерлейкина-12 (ИЛ-12), гамма-интерферона (IFN- γ) и фактора некроза опухоли (TNF- α) [43]. Изучение роли человеческих нейтрофилов в защите от ТМ показало, что гранулоцито-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) усиливает их активность в отношении дрожжевых клеток, но не конидий *T. marneffeii* [44]. Подчеркивается,

что в целом исход таларомикозной инфекции у людей зависит от наличия сопутствующих заболеваний, вызывающих иммуносупрессию со снижением CD4-клеток и общего количества Т-лимфоцитов [45, 46].

Диагностика таларомикоза

Традиционная диагностика ТМ основана на микроскопической идентификации гриба и его культивировании на искусственных питательных средах. Обычно используемые клинические образцы включают кровь, аспират костного мозга, биоптаты кожи и лимфатических узлов, мокроту, бронхо-альвеолярный лаваж (БАЛ), плевральную и спинномозговую жидкость, мочу. Гриб может быть обнаружен и в гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, метенамином серебра по Грокотту, или методом Шиффа. Для специфической идентификации в гистологических срезах был предложен непрямой метод флуоресцирующих антител на основе кроличьих антиглобулинов к антигенам фильтрата дрожжевой фазы гриба [47]. Иммуноглобулины М (IgM) мышинных моноклональных антител к антигенам фильтрата мицелиальной фазы *T. marneffei* также реагируют в иммунофлуоресценции с дрожжевыми клетками при исследовании биоптатов тканей больных ТМ [48].

Точный диагноз диссеминированной формы ТМ основан на выделении культуры и составляет 100% при исследовании костного мозга, 76% - крови, и 90% - при биопсии кожи [49]. Для культивирования мицелиальной фазы гриба при 25°C используют агар Сабуро с глюкозой без циклогексимида.

Выявление специфических антител к *T. marneffei* было основано на том, что по меньшей мере, два иммунореактивных антигена дрожжевой фазы (50 и 54 кДа) относительно специфичны для *T. marneffei* [50]. Отсутствие перекрестных реакций при использовании этих антигенов, а также антигена в 61 кДа, с сыворотками больных другими микозами в дальнейшем было подтверждено [51]. Твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) для серодиагностики ТМ был разработан на основе рекомбинантного маннопротеина (Mр1р) *P. marneffei* [52]. Для количественного определения в моче антигена *T. marneffei* в ELISA использовали меченный флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ) иммуноглобулин G (IgG) кроличьей гипериммунной сыворотки [53].

Ограничения методов, направленных на выявление антител при ТМ, связаны с тем, что

заболевание наиболее часто встречается у ВИЧ-инфицированных пациентов, имеющих низкие титры антител. Поэтому обнаружение циркулирующих антигенов гриба в сыворотке становится основным в серологической диагностике болезни. Prakit et al. [54] разработали метод подавления ELISA - inhibition enzyme-linked immunosorbent assay (inh-ELISA), включающий моноклональные антитела (4D1) к специфическому маннопротеину дрожжевой фазы *T. marneffei*. Тест выявил антигемию у всех 45 пациентов с ТМ при средней концентрации антигена в 4,32 мкг/мл. Изучение сывороток 44 больных с другими микозами, вызванными *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, а также больных бактериальными инфекциями (туберкулез, стрептококкоз), перекрестных реакций не выявило. Кроме того отрицательные результаты получены с сыворотками ВИЧ-инфицированных больных, не страдающих микозами, и здоровых людей, проживающих в эндемичных по ТМ регионах. Для оценки потенциала inh-ELISA в мониторинге инфекции была прослежена динамика снижения антигемии у 6 больных ТМ, успешно леченных итраконазолом, из крови и органов которых культура гриба уже не выделялась. В отличие от них была отмечена корреляция повышения антигемии у пациентов с рецидивами ТМ, сопровождающимся прогрессированием клинических симптомов болезни и изоляцией культур из органов. По мнению авторов, использование inh-ELISA может быть полезным не только для больных ТМ с ВИЧ-инфекцией, но и страдающих от других заболеваний, ведущих к иммуносупрессии (диабет, рак, системная волчанка). Некоторые клинические симптомы у них отличаются от таковых ВИЧ-инфицированных и затрудняют установление диагноза ТМ.

Недавние публикации свидетельствуют о том, что MALDI-TOF-масс-спектрометрия - быстрый и надежный метод идентификации различных патогенных грибов [55, 56]. Он позволяет дифференцировать изоляты *T. marneffei* от морфологически близких непатогенных видов [57]. Хотя эти виды не проявляют температурного диморфизма, однако следует иметь в виду, что и конверсия *in vitro* мицелиальной формы *T. marneffei* в характерные дрожжевые клетки часто бывает неполной. Borman et al. [58] подтвердили, что штаммы *T. marneffei* можно быстро отличить от других непатогенных видов *Talaromyces / Penicillium spp.* с помощью MALDI-TOF-МС, однако для дифференциации может быть также использована конверсия *T. marneffei* в дрожжевую фазу после

интродукции гриба в среду с культивируемыми личинками восковой моли (*Galleria mellonella*). Ранее было показано, что она является отличной моделью беспозвоночных для изучения взаимодействия патогенных грибов с макроорганизмом [59-61]. В личинках моли, инкубированных при 37°C, через несколько дней после внесения конидий *T. marneffe* происходит их конверсия в дрожжевую форму [61-62]. Характерные клетки можно обнаружить в гемолимфе и жировом теле личинок уже через 24 часа после инокуляции *T. marneffe*, тогда как при внесении других непатогенных штаммов *Talaromyces* никаких изменений конидий не наблюдалось [58].

Гетерополисахарид галактоманнан (GM), состоящий из неиммуногенной маннановой внутренней части и иммунореактивных галактофурановых боковых цепей, присутствует в клеточных стенках большинства видов *Aspergillus* и *Talaromyces* [63, 64]. Исследования показали, что выявление GM в сыворотке перспективно для диагностики ТМ у ВИЧ-инфицированных [65]. Li et al [66] оценили эффективность метода выявления GM-антигена у больных ТМ, как инфицированных, так и неинфицированных ВИЧ. Они показали, что средние индексы оптической плотности - optical density (OD) были значительно выше у больных ТМ с фунгией, чем без неё и у ВИЧ-инфицированных больных, по сравнению с неинфицированными. Комбинация метода выявления GM и молекулярных методов дает наилучшие результаты при диагностике ТМ в эндемических очагах.

Молекулярные методы диагностики, использующие преимущественно полимеразную цепную реакцию (ПЦР), в настоящее время являются ведущими при специфической идентификации многих видов патогенных грибов. Олигонуклеотидный зонд, сконструированный на основе гена 18S рРНК *P. marneffe*, оказался специфичным в реакции ПЦР-гибридизации. Чувствительность метода составила 0,1 пг/мкл ДНК. Метод был использован и для выявления ДНК *P. marneffe* в обработанных ЭДТА образцах крови больных СПИДом в сочетании с таларомикозом [67]. Технически более простые методы обычной и гнездовой ПЦР были разработаны с применением других специфических последовательностей гена 18S рРНК [68]. Их чувствительность составила 1,0 пг/мкл и 1,8 фг/мкл соответственно. Метод полугнездовой ПЦР позволил идентифицировать ДНК *P. marneffe* как в чистой культуре, так и в клинических образцах [69].

Одним из критических факторов успешного использования ПЦР в клинической практике является выбор метода экстракции ДНК из образцов. По данным Lu et al. [70] с этой целью может быть использован коммерческий набор для экстрагирования ДНК как из пропитанных парафином тканей [71], так и образцов цельной сыворотки [72]. При сравнении различных фракций крови отмечено, что чувствительность ПЦР с плазмой выше, чем с цельной кровью или сывороткой [73, 74]. Предполагается, что эритроциты могут быть основным компонентом, подавляющим ПЦР. Некоторые исследователи рекомендуют проводить предварительную обработку образцов цельной крови гипотоническим буферным раствором с целью лизиса эритроцитов [75].

Варианты количественной ПЦР (qPCR) в последние годы часто используют для выявления многих патогенных грибов, в частности, возбудителей аспергиллеза, в клинических образцах [76]. Pornprasert et al. [77] разработали qPCR с праймерами на основе 5,8S рДНК. Метод обладал 100% специфичностью и позволил успешно выявлять ДНК *T. marneffe* в образцах цельной крови у 60% (12/20) пациентов. Hien et al. [78] применили qPCR с мишенью-геном MP1, кодирующим специфичный для *T. marneffe* белок клеточной стенки. Чувствительность и специфичность метода при исследовании образцов плазмы от больных таларомикозом, составили 70,4% и 100% соответственно. Li et al. [66] сконструировали TaqMan флуоресцентный зонд и праймеры с высокоспецифичными для *T. marneffe* регионами ITS1-5,8S-ITS2 рДНК, которые ранее не использовались. При испытании с образцами сывороток больных различными инвазивными микозами подтверждена специфичность метода. Результаты были положительными у всех 20 больных таларомикозом с фунгией и у большинства пациентов (11 из 16) с отрицательными результатами культивирования образцов крови, но с наличием культур из других органов.

Высокая чувствительность по выявлению *T. marneffe* зафиксирована при использовании ПЦР в режиме реального времени (real-time PCR) [70].

В целом, молекулярные технологии, реально конкурируют с приемами традиционной диагностики ТМ в клинической практике. Так, серологические методы дают отрицательные результаты у 50% иммунокомпрометированных больных с фунгией, вызванной *T. marneffe*. При этом перекрестные реакции как поликлональных, так

и моноклональных антител к *T. marneffeii* выявлены с другими патогенными грибами. Высокая чувствительность и специфичность современных

вариантов выявления ДНК *T. marneffeii* обуславливают необходимость их дальнейшего внедрения в диагностику таларомикоза.

Литература

1. Vanittanakom N., Cooper C.R., Fisher M.C. et al. Penicillium marneffeii infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects. Clin Microbiol Rev. 2006; 19(1):95-110. doi: 10.1128/CMR.19.1.95-110.2006.
2. Noe-Hayati S., Sahlawati M., Suresh-Kumar C. et al. A retrospective review on successful management of Penicillium marneffeii infections in patients with advanced HIV in Hospital Sungai Buloh. Med J Malaysia. 2012; 67(1):66-70.
3. Hu Y., Zhang J., Li X. et al. Penicillium marneffeii infection: an emerging disease in mainland China. Mycopathologia. 2013; 175(1-2):57-67. doi: 10.1007/s11046-012-9577-0.
4. Samson R.A., Yilmaz N., Houbraeken J. et al. Phylogeny and nomenclature of the genus Talaromyces and taxa accommodated in Penicillium subgenus Biverticillium. Stud Mycol. 2011; 70(1):159-83. doi: 10.3114/sim.2011.70.04.
5. Capponi M., Sureau P., Segretain C. Penicilliose de Rhizomys sinensis. Bull. Soc. Pathol. Exot., 1956; 49:418-421.
6. Segretain G. Description d'une nouvelle espece de penicillium: Penicillium marneffeii n. sp. Bull. Soc. Mycol. Fr., 1959; 75:412-416.
7. Deng Z.L., Yun M., Ajello L. Human penicilliosis marneffeii and its relation to the bamboo rat (Rhizomys pruinosus). J Med Vet Mycol. 1986; 24(5):383-9. doi:10.1080/02681218680000581.
8. Ajello L., Padhye A., Sukroongreung S. et al. Occurrence of Penicillium marneffeii infections among wild bamboo rats in Thailand. Mycopathologia. 1995; 131(1):1-8. doi:10.1007/bf01103897.
9. Chariyalertsak S., Vanittanakom P., Nelson K.E. Rhizomys sumatrensis and Cannomys badius, new natural animal hosts of Penicillium marneffeii. J Med Vet Mycol. 1996; 34(2):105-10.
10. Segretain G. Penicillium marneffeii n. sp. agent d'une mycose du systeme reticuloendothelial. Mycopathol. Mycol. Appl., 1959; 11:327-353.
11. LoBuglio K.F., Taylor J.W. Phylogeny and PCR identification of the human pathogenic fungus Penicillium marneffeii. J Clin Microbiol. 1995; 33(1):85-9.
12. Villanueva-Lozano H., Treviño-Rangel R.J., Renpenning-Carrasco E.W. et al. Successful treatment of Talaromyces amestolkiae pulmonary infection with voriconazole in an acute lymphoblastic leukemia patient. J. Infect. Chemother. 2017; 23(6):400-402. doi: 10.1016/j.jiac.2016.12.017.
13. Atalay A, Koc A.N., Akyol G. et al. Pulmonary infection caused by Talaromyces purpurogenus in a patient with multiple myeloma. Infez. Med. 2016; 24(2):153-7.
14. Lyratzopoulos G., Ellis M., Nerringer R. et al. Invasive infection due to penicillium species other than P. marneffeii. J. Infect. 2002; 45(3):184-95. doi:10.1053/jinf.2002.1056.
15. Santos P.E., Piontelli E., Shea Y.R. et al. Penicillium piceum infection: diagnosis and successful treatment in chronic granulomatous disease. Med. Mycol. 2006; 44(8):749-53. doi:10.1080/13693780600967089.
16. Horré R., Gilges S., Breig P. et al. Case report. Fungaemia due to Penicillium piceum, a member of the Penicillium marneffeii complex. Mycoses. 2001; 44(11-12):502-4. doi:10.1046/j.1439-0507.2001.00710.x.
17. Yilmaz N., Visagie C.M., Houbraeken J. et al. Polyphasic taxonomy of the genus Talaromyces. Stud Mycol. 2014; 78:175-341. doi: 10.1016/j.simyco.2014.08.001.
18. Li L., Chen K., Dhungana N. et al. Characterization of Clinical Isolates of Talaromyces marneffeii and Related Species, California, USA. Emerg Infect Dis. 2019; 25(9):1765-1768. doi: 10.3201/eid2509.190380.
19. Kirkland T. A few shared up-regulated genes may influence conidia to yeast transformation in dimorphic fungal pathogens. Med Mycol. 2016; 54(6):648-53. doi: 10.1093/mmy/myw019.
20. Xi L., Xu X., Liu W. et al. Differentially expressed proteins of pathogenic Penicillium marneffeii in yeast and mycelial phases. J Med Microbiol. 2007; 56(Pt 3):298-304. doi:10.1099/jmm.0.46808-0.
21. Chandler J.M., Treece E.R., Trenary H.R. et al. Protein profiling of the dimorphic, pathogenic fungus, Penicillium marneffeii. Proteome Sci. 2008; 6:17. doi: 10.1186/1477-5956-6-17.
22. Lau S.K., Tse H., Chan J.S. et al. Proteome profiling of the dimorphic fungus Penicillium marneffeii extracellular proteins and identification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as an important adhesion factor for conidial attachment. FEBS J. 2013; 280(24):6613-26. doi: 10.1111/febs.12566.
23. Lau K., Tsang C., Woo P. Talaromyces marneffeii Genomic, Transcriptomic, Proteomic and Metabolomic Studies Reveal Mechanisms for Environmental Adaptations and Virulence. Toxins (Basel). 2017; 9(6). pii: E192. doi: 10.3390/toxins9060192.
24. Cao L., Chan C.M., Lee C. et al. Mp1 encodes an abundant and highly antigenic cell wall mannoprotein in the pathogenic fungus Penicillium marneffeii. Infect Immun. 1998; 66(3):966-73.
25. Woo P.C., Lau S.K., Lau C.C. et al. Mp1p Is a Virulence Factor in Talaromyces (Penicillium) marneffeii. PLoS Negl Trop Dis. 2016; 10(8):e0004907. doi: 10.1371/journal.pntd.0004907.
26. Liao S., Tung E.T., Zheng W. et al. Crystal structure of the Mp1p ligand binding domain 2 reveals its function as a fatty acid-binding protein. J Biol Chem. 2010; 285(12):9211-20. doi: 10.1074/jbc.M109.057760.
27. Sze K.H., Lam W.H., Zhang H. et al. Talaromyces marneffeii Mp1p Is a Virulence Factor that Binds and Sequesters a Key Proinflammatory Lipid to Dampen Host Innate Immune Response. Cell Chem Biol. 2017; 24(2):182-194. doi: 10.1016/j.chembiol.2016.12.014.
28. Woo P., Lau C., Chong K. T. et al. Mp1p homologue-based multilocus sequence system for typing the pathogenic fungus Penicillium marneffeii: a novel approach using lineage-specific genes. J Clin Microbiol. 2007; 45(11):3647-54. doi:10.1128/JCM.00619-07.
29. Woo P., Lau S., Liu B. et al. Draft genome sequence of Penicillium marneffeii strain PM1. Eukaryot Cell. 2011; 10(12):1740-1. doi: 10.1128/EC.05255-11.
30. Tam E.W., Tsang C.C., Lau S.K. et al. Polyketides, toxins and pigments in Penicillium marneffeii. Toxins (Basel). 2015; 7(11):4421-36. doi: 10.3390/toxins7114421.
31. Woo P., Tam E., Chong K. et al. High diversity of polyketide synthase genes and the melanin biosynthesis gene cluster in Penicillium marneffeii. FEBS J. 2010; 277(18):3750-8. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07776.x.
32. Woo P., Lam C., Tam E. et al. The biosynthetic pathway for a thousand-year-old natural food colorant and citrinin in Penicillium marneffeii. Sci Rep. 2014; 4:6728. doi: 10.1038/srep06728.

33. Woo P, Lam C., Tam E. et al. First discovery of two polyketide synthase genes for mitorubrinic acid and mitorubrinol yellow pigment biosynthesis and implications in virulence of *Penicillium marneffei*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6(10):e1871. doi: 10.1371/journal.pntd.0001871.
34. Nimmanee P., Woo P.C., Kummasook A. et al. Characterization of sakA gene from pathogenic dimorphic fungus *Penicillium marneffei*. *Int J Med Microbiol*. 2015; 305(1):65-74. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.11.003.
35. Nimmanee P., Tam E., Woo P.C. et al. Role of the *Talaromyces marneffei* (*Penicillium marneffei*) sakA gene in nitrosative stress response, conidiation and red pigment production. *FEMS Microbiol Lett*. 2017; 364(8). doi: 10.1093/femsle/fnw292.
36. Lau S., Chow W., Wong A. et al. Identification of microRNA-like RNAs in mycelial and yeast phases of the thermal dimorphic fungus *Penicillium marneffei*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013; 7(8):e2398. doi: 10.1371/journal.pntd.0002398.
37. Pongrom M., Vanittanakom P. Stress adaptation in *Talaromyces marneffei*. *Chiang Mai. Med. J*. 2016; 55(Suppl1):23-30. doi: 10.14456/cmmj.2016.3.
38. Feng P., Xie Z., Sun J. et al. Molecular cloning, characterization and expression of PmRsr1, a Ras-related gene from yeast form of *Penicillium marneffei*. *Mol Biol Rep*. 2010; 37(7):3533-40. doi: 10.1007/s11033-009-9947-y.
39. Kummasook A., Tzaphraag A., Thirach S. et al. *Penicillium marneffei* actin expression during phase transition, oxidative stress, and macrophage infection. *Mol Biol Rep*. 2011; 38(4):2813-9. doi: 10.1007/s11033-010-0427-1.
40. Liu D., Wei L., Guo T. et al. Detection of DOPA-melanin in the dimorphic fungal pathogen *Penicillium marneffei* and its effect on macrophage phagocytosis in vitro. *PLoS One*. 2014; 9(3):e92610. doi: 10.1371/journal.pone.0092610. eCollection 2014.
41. Hamilton A.J., Jeavons L., Youngchim S. et al. Recognition of fibronectin by *Penicillium marneffei* conidia via a sialic acid-dependent process and its relationship to the interaction between conidia and laminin. *Infect Immun*. 1999; 67(10):5200-5.
42. Kudeken N., Kawakami K., Saito A. Cytokine-induced fungicidal activity of human polymorphonuclear leukocytes against *Penicillium marneffei*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1999; 26(2):115-24. doi:10.1111/j.1574-695X.1999.tb01378.x.
43. Sisto F., Miluzio A., Leopardi O. et al. Differential cytokine pattern in the spleens and livers of BALB/c mice infected with *Penicillium marneffei*: protective role of gamma interferon. *Infect Immun*. 2003; 71(1):465-73. doi:10.1128/iai.71.1.465-473.2003.
44. Kudeken N., Kawakami K., Saito A. Mechanisms of the in vitro fungicidal effects of human neutrophils against *Penicillium marneffei* induced by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Clin Exp Immunol*. 2000; 119(3):472-8. doi:10.1046/j.1365-2249.2000.01158.x.
45. Qiu Y., Liao H., Zhang J. et al. Differences in clinical characteristics and prognosis of Penicilliosis among HIV-negative patients with or without underlying disease in Southern China: a retrospective study. *BMC Infect Dis*. 2015; 15:525. doi: 10.1186/s12879-015-1243-y.
46. Wong S.C.Y., Sridhar S., Ngan A.H.Y. et al. Fatal *Talaromyces marneffei* Infection in a Patient with Autoimmune Hepatitis. *Mycopathologia*. 2018; 183(3):615-618. doi: 10.1007/s11046-017-0239-0.
47. Kaufman L., Standard P.G., Anderson S.A. et al. Development of specific fluorescent-antibody test for tissue form of *Penicillium marneffei*. *J Clin Microbiol*. 1995; 33(8):2136-8.
48. Trewatcharegon S., Chaiyaroj S.C., Chongtrakool P. et al. Production and characterization of monoclonal antibodies reactive with the mycelial and yeast phases of *Penicillium marneffei*. *Med Mycol*. 2000; 38(1):91-6. doi: 10.1080/mmy.38.1.91.96.
49. Supparatpinyo K., Khamwan C., Baosoung V. et al. Disseminated *Penicillium marneffei* infection in southeast Asia. *Lancet*. 1994; 344(8915):110-3. doi: 10.1016/s0140-6736(94)91287-4.
50. Vanittanakom N., Mekaprateep M., Sittisombut N. et al. Western immunoblot analysis of protein antigens of *Penicillium marneffei*. *J Med Vet Mycol*. 1997; 35(2):123-31. doi: 10.1080/02681219780001011.
51. Jeavons L., Hamilton A.J., Vanittanakom N. et al. Identification and purification of specific *Penicillium marneffei* antigens and their recognition by human immune sera. *J Clin Microbiol*. 1998; 36(4):949-54.
52. Cao L., Chen D.L., Lee C. et al. Detection of specific antibodies to an antigenic mannoprotein for diagnosis of *Penicillium marneffei* penicilliosis. *J Clin Microbiol*. 1998; 36(10):3028-31.
53. Desakorn V., Smith M.D., Walsh A.L. et al. Diagnosis of *Penicillium marneffei* infection by quantitation of urinary antigen by using an enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol*. 1999; 37(1):117-21.
54. Prakrit K., Nosanchuk J.D., Pruksaphon K. et al. A novel inhibition ELISA for the detection and monitoring of *Penicillium marneffei* antigen in human serum. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016; 35(4):647-56. doi: 10.1007/s10096-016-2583-2.
55. Fraser M., Brown Z., Houldsworth M. et al. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-ToF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol*. 2016; 54(1):80-8. doi: 10.1093/mmy/myw085.
56. Rychert J., Slechta E.S., Barker A.P. et al. Multicenter Evaluation of the Vitek MS v3.0 System for the Identification of Filamentous Fungi. *J Clin Microbiol*. 2018; 56(2). pii: e01353-17. doi: 10.1128/JCM.01353-17
57. Lau S.K., Lam C.S., Ngan A.H. et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid identification of mold and yeast cultures of *Penicillium marneffei*. *BMC Microbiol*. 2016; 16:36. doi: 10.1186/s12866-016-0656-0.
58. Borman A.M., Fraser M., Szekeley A. et al. Rapid and robust identification of clinical isolates of *Talaromyces marneffei* based on MALDI-TOF mass spectrometry or dimorphism in *Galleria mellonella*. *Med Mycol*. 2019; 57(8):969-975. doi: 10.1093/mmy/myy162.
59. Arvanitis M., Glavis-Bloom J., Mylonakis E. Invertebrate models of fungal infection. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1832(9):1378-83. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.03.008.
60. Huang X., Li D., Xi L. et al. *Galleria mellonella* Larvae as an Infection Model for *Penicillium marneffei*. *Mycopathologia*. 2015; 180(3-4):159-64. doi: 10.1007/s11046-015-9897-y.
61. Borman A.M. Of mice and men and larvae: *Galleria mellonella* to model the early host-pathogen interactions after fungal infection. *Virulence*. 2018; 9(1):9-12. doi: 10.1080/21505594.2017.1382799.
62. Suwunnakorn S., Cooper C.R. Jr, Kummasook A. et al. Role of the rttA gene in morphogenesis, stress response, and virulence in the human pathogenic fungus *Penicillium marneffei*. *Med Mycol*. 2015; 53(2):119-31. doi: 10.1093/mmy/myu063.
63. Latgé J.P., Kobayashi H., Debeauvais J.P. et al. Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*. 1994; 62(12):5424-33.
64. Mennink-Kersten M.A., Donnelly J.P., Verweij P.E. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4(6):349-57. doi: 10.1016/S1473-3099(04)01045-X.
65. Huang Y.T., Hung C.C., Liao C.H. et al. Detection of circulating galactomannan in serum samples for diagnosis of *Penicillium marneffei* infection and cryptococcosis among patients infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol*. 2007; 45(9):2858-62. doi: 10.1128/JCM.00050-07.

66. Li X., Zheng Y., Wu F. et al. Evaluation of quantitative real-time PCR and Platelia galactomannan assays for the diagnosis of disseminated *Talaromyces marneffeii* infection. *Med Mycol.* 2019; 0:1-6. doi: 10.1093/mmy/myz052.
67. Vanittanakom N., Merz W.G., Sittisombut N. et al. Specific identification of *Penicillium marneffeii* by a polymerase chain reaction/hybridization technique. *Med Mycol.* 1998; 36(3):169-75.
68. Vanittanakom N., Vanittanakom P., Hay R.J. Rapid identification of *Penicillium marneffeii* by PCR-based detection of specific sequences on the rRNA gene. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(5):1739-42. doi: 10.1128/jcm.40.5.1739-1742.2002.
69. Prariyachatigul C., Chairprasert A., Geenkajorn K. et al. Development and evaluation of a one-tube seminested PCR assay for the detection and identification of *Penicillium marneffeii*. *Mycoses.* 2003; 46(11-12):447-54. DOI: 10.1046/j.0933-7407.2003.00939.x. doi: 10.1046/j.0933-7407.2003.00939.x.
70. Lu S., Li X., Calderone R. et al. Whole blood Nested PCR and Real-time PCR amplification of *Talaromyces marneffeii* specific DNA for diagnosis. *Med Mycol.* 2016; 54(2):162-8. doi: 10.1093/mmy/myv068.
71. Zhang J.M., Sun J.F., Feng P.Y. et al. Rapid identification and characterization of *Penicillium marneffeii* using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) in paraffin-embedded tissue samples. *J Microbiol Methods.* 2011; 85(1):33-9. doi: 10.1016/j.mimet.2011.01.022.
72. Wen Y., Xing Y., Yuan L.C. et al. Whole-blood nested-PCR amplification of *M. leprae*-specific DNA for early diagnosis of leprosy. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 88(5):918-22. doi: 10.4269/ajtmh.11-0253.
73. Lau A., Halliday C., Chen S.C. et al. Comparison of whole blood, serum, and plasma for early detection of candidemia by multiplex-tandem PCR. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(3):811-6. doi: 10.1128/JCM.01650-09.
74. Bernal-Martínez L., Gago S., Buitrago M.J. et al. Analysis of performance of a PCR-based assay to detect DNA of *Aspergillus fumigatus* in whole blood and serum: a comparative study with clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2011; 49(10):3596-9. doi: 10.1128/JCM.00647-11.
75. Metwally L., Fairley D.J., Coyle P.V. et al. Improving molecular detection of *Candida* DNA in whole blood: comparison of seven fungal DNA extraction protocols using real-time PCR. *J Med Microbiol.* 2008; 57(Pt 3):296-303. doi: 10.1099/jmm.0.47617-0.
76. Li Y., Gao L., Ding Y. et al. Establishment and application of real-time quantitative PCR for diagnosing invasive aspergillosis via the blood in hematological patients: targeting a specific sequence of *Aspergillus* 28S-ITS2. *BMC Infect Dis.* 2013; 13:255. doi: 10.1186/1471-2334-13-255.
77. Pornprasert S., Praparattanapan J., Khamwan C. et al. Development of TaqMan real-time polymerase chain reaction for the detection and identification of *Penicillium marneffeii*. *Mycoses.* 2009; 52(6):487-92. doi: 10.1111/j.1439-0507.2008.01653.x.
78. Hien H.T.A., Thanh T.T., Thu N.T.M. et al. Development and evaluation of a real-time polymerase chain reaction assay for the rapid detection of *Talaromyces marneffeii* MP1 gene in human plasma. *Mycoses.* 2016; 59(12):773-780. doi: 10.1111/myc.12530.

Статья участвует в конкурсе публикаций 2019 г. в категории "Инфектология". Страница голосования: <https://vk.com/immunopathology>