

## ***Penicillium marneffe* Y PENICILIOSIS**

**Concha Serrat<sup>1</sup>, Josefina Magraner<sup>2</sup>, Remedios Guna<sup>2</sup>, Victoria Domínguez<sup>2</sup>, Álvaro Guerrero<sup>2</sup> y Rafael Borrás<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Hospital de la Marina Alta, Denia, Alicante.

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina y Hospital Clínico Universitario, Valencia.

En los últimos años, se ha producido un incremento en la incidencia de las infecciones fúngicas, sobretodo de las micosis sistémicas o profundas, relacionado con el aumento de la población susceptible, especialmente con los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y los movimientos de población. Las micosis sistémicas constituyen un grupo heterogéneo de procesos producidos por diferentes especies fúngicas, unas cosmopolitas (*Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis jiroveci*, etc.), otras de distribución regional (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma*, etc.), algunas de ellas emergentes (*Penicillium marneffe*), que inciden de modo peculiar en individuos con alteraciones primarias o secundarias del sistema inmunitario. El defecto inmunitario subyacente mediatiza el espectro clínico-etiológico de la infección fúngica sistémica, y permite su clasificación en: i) micosis sistémicas asociadas a defectos cuantitativos o cualitativos de los neutrófilos, entre las que destacan la candidosis y la aspergilosis, relacionadas con neutropenias prolongadas, y la zigomicosis, asociada a la cetoacidosis diabética y el subsiguiente déficit funcional de los neutrófilos, y ii) micosis sistémicas asociadas a deficiencias de la inmunidad celular, como la criptococosis y la neumocistosis, y las infecciones producidas por los hongos de distribución regional, como la peniciliosis *marneffe*.

### ***Penicillium marneffe* COMO PATÓGENO EMERGENTE**

Este organismo, endémico en el sudeste asiático, es un patógeno intracelular facultativo, la única especie dimórfica del género *Penicillium*, cuya infección en los humanos -peniciliosis *marneffe*- era considerada una rareza hasta la diseminación de la pandemia de SIDA por el sudeste asiático. *P. marneffe* fue aislado en 1956 en Vietnam a partir de hígados de ratas del bambú, y su descripción fue realizada por Segretain (1959), quién lo denominó *P. marneffe* en honor del Dr. Hubert Marneffe, Director del Instituto Pasteur de Indochina. Curiosamente, este autor se convirtió en el primer caso humano conocido de peniciliosis, como consecuencia de una inoculación accidental con una aguja contaminada. En 1973, DiSalvo *et al.* describieron la primera infección natural en el hombre, en un misionero norteamericano con enfermedad de Hodgkin que previamente había viajado a Vietnam. En 1984, en el sudeste asiático, fueron comunicados 11 casos en pacientes no infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (NVIH), seis en la provincia de Guangxi (China), todos ellos *a priori* inmunocompetentes, y cinco en Bangkok (Tailandia), de los que tres eran inmunodeprimidos. En 1988, fue realizada en EEUU la primera descripción en pacientes infectados por el VIH y, en 1992, fueron comunicados en Tailandia los primeros casos en este grupo de pacientes. A partir de ese momento se produjo un aumento inusitado de casos, procedentes la mayoría de ellos de la región de Chiang-Mai (Tailandia).

### **CARACTERÍSTICAS MICOLÓGICAS**

*Penicillium marneffe* es un hialohifomiceto con las características culturales generales de los penicilios pero, a diferencia de las otras especies, exhibe un dimorfismo dependiente de la temperatura que le permite desarrollarse a 25 °C bajo la forma micelial (forma saprofita), o como una levadura, la forma parasitaria, a 37 °C.

En el laboratorio, a la temperatura adecuada, la forma saprofita se desarrolla rápidamente, tanto en medios ordinarios (agar glucosado de Sabouraud), como en medios enriquecidos (agar chocolate, agar sangre, etc.), siempre y cuando no lleven incorporada cicloheximida. A los tres días de incubación las colonias miden unos 5 mm de diámetro, son de color blanco-grisáceo, aplanadas, de superficie lisa y aterciopelada. Con el tiempo la superficie de las colonias se torna radiada, su coloración evoluciona hasta un color marrón-rojizo con áreas de tonalidad amarillo-verdosa, y el reverso adquiere una tonalidad asalmonada. Al mismo tiempo que se producen estos cambios en la textura y en la coloración de las colonias, este organismo produce un pigmento difusible de color rojovinoso, ostensible desde el tercer o cuarto día de incubación, que facilita su identificación. No obstante, es importante tener en cuenta la existencia de otros penicilios, contaminantes ambientales, productores de pigmento difusible rojizo (*Penicillium citrinum*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium purpurogenum* y *Penicillium rubrum*), que plantean problemas de diagnóstico diferencial. Microscópicamente, la forma filamentosa tiene las características básicas de las especies del género *Penicillium*: a) hifas de unos 3 µm de diámetro, hialinas, septadas y ramificadas; y b) conidióforos hialinos, de superficie lisa, de localización lateral y terminal, con el típico “penicilio” que define al género. En el caso de *P. marneffe*: i) los conidióforos son biverticilados y los verticilos son de localización preferentemente terminal, ii) los verticilos están conformados por 3 a 5 métulas con 5 a 7 fiálides ampuliformes cada una de ellas, de las que se producen las conidias por sucesión basipétala, y iii) las fialoconidias son subesféricas o esféricas, de 2 a 3 µm de diámetro, de superficie lisa y se agrupan en cadenas curvadas o helicoidales.

*In vitro*, la forma parasitaria de *P. marneffe* se desarrolla a 37 °C, tanto en medios ordinarios como en medios enriquecidos con sangre o sus derivados, sin cicloheximida. A los 3-5 días de incubación se observan unas colonias pequeñas, rugosas, de color marfileño, similares a las de otros hongos levaduriformes, especialmente *B. dermatitidis*. Microscópicamente se observan células ovaladas o rectangulares de 3 a 6 X 1,5 a 2 µm, uninucleadas, sin blastoconidias ni cicatrices de gemación, algunas de ellas con un septo central, ya que se dividen por esciparidad; es decir, que aquello que se observa no son realmente levaduras, puesto que carecen de las características básicas de las blastoconidias (yemas o cicatrices de la gemación), sino artroconidias.

Recientemente, se han realizado diferentes estudios encaminados a analizar la existencia de diferencias fenotípicas y su posible relación clínico-epidemiológica. Mediante electroforesis en campo pulsado han sido descritos dos genotipos y su secuencial evolución temporal. Sin embargo, el estudio de las características metabólicas (tabla 1), si bien ha permitido la descripción de 17 biotipos, no ha sido útil como marcador.

**Tabla 1. Propiedades fenotípicas de *P. marneffe*.**

Prueba	%	Prueba	%
Inhibición por la cicloheximida	100,0	Asimilación de nitratos	71,9
Fermentación <sup>a</sup> de:		Asimilación de:	
glucosa	100,0	glucosa	100,0
galactosa	12,5	celobiosa	100,0
trealosa	12,5	maltosa	100,0
sacarosa	9,4	salicina	96,9
maltosa	3,1	trehalosa	84,4
lactosa	0,0	xilosa	65,6
Actividad ureolítica		otros <sup>b</sup>	0,0
Actividad β-galactosidasa	37,5		

<sup>a</sup>Fermentación sin producción de gas.

<sup>b</sup>Arabinosa, lactosa, inositol, manitol, glicerol, melibiosa, rafinosa, ramnosa, ribosa y sacarosa : 0%

El mecanismo íntimo de la morfogénesis y del termodimorfismo no es bien conocido. No obstante, han sido descritos dos genes, homólogos de los genes *abaA* y *cflA* de *Aspergillus nidulans*, que intervienen en el programa de crecimiento dimórfico y en la polarización y separación de las artroconidias, respectivamente.

## ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

*Penicillium marneffe*, como sucede con otros hongos dimórficos productores de micosis sistémicas, tiene una distribución geográfica restringida. En este caso, la zona endémica abarca una amplia área del sudeste asiático que engloba el noroeste de la India (estado de Manipur)-, la península de Indochina (Myanmar), Tailandia, Malasia, Camboya, Laos, Vietnam, Indonesia, Taiwan, Filipinas, y el sudeste de China (provincia de Guangxi y Hong-Kong). Pero los movimientos de población han determinado la aparición de casos importados, en Alemania, Australia, Bélgica, España, EEUU, Francia, Holanda, Italia, Japón, Suecia y Suiza, en pacientes VIH nativos de estos países y en oriundos de la zona de endemia.

La historia natural de la peniciliosis no es bien conocida. Se sabe que los hospedadores naturales de *P. marneffe* son las ratas del bambú (*Rhizomys* spp. y *Connomys* spp.) y el hombre. En las ratas se aísla a partir del pulmón, hígado, bazo y de los ganglios linfáticos mesentéricos; así como de sus madrigueras. Sin embargo, el reservorio natural, la fuente de infección y el mecanismo de transmisión son desconocidos. Se estima que el hombre y las ratas adquieren la infección como consecuencia de la exposición a una fuente común, y algunos autores han sugerido que se transmite por las vías respiratoria, digestiva y cutánea. Estudios recientes demuestran la existencia de asociaciones significativas entre la aparición de casos, la pluviosidad de la estación y la exposición al suelo. Por el contrario no existe asociación con la exposición directa a las ratas del bambú, incluido el consumo de su carne. Todo esto sugiere que a) *P. marneffe* reconoce un reservorio telúrico, en el que desarrolla el ciclo saprofítico y, por lo tanto, la peniciliosis *marneffe*, desde el punto de vista epidemiológico, como las restantes micosis sistémicas regionales, es una geoantropomicosis y b) los hospedadores adquirirían la infección como consecuencia de la inhalación de las conidias telúricas.

La peniciliosis ha sido descrita tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunodeprimidos. En la mayoría de los casos existe una inmunodepresión subyacente, siendo la causa más común la infección por el VIH, aunque también se han descrito casos en pacientes alcohólicos, diabéticos, malnutridos, sometidos a tratamiento con inmunodepresores (corticoides y cistostáticos), con enfermedades autoinmunes y hematológicas, y con neoplasias sólidas.

## PATOGENIA

Los mecanismos por los cuales este organismo produce enfermedad no están perfectamente dilucidados. Pero, como sucede en cualquier proceso infeccioso, es lógico suponer que, tras la penetración de las conidias, se establece una relación dinámica entre el organismo causal y el hombre mediada por la expresión de los mecanismos de patogenicidad microbiana y su interacción con los sistemas de defensa inespecíficos y específicos del hospedador, que determinará la curación espontánea o la aparición de la enfermedad. Los estudios clínico-epidemiológicos demuestran que el estado inmunitario de los pacientes condiciona la evolución de la infección y que la peniciliosis afecta, sobre todo, a los pacientes con inmunodeficiencia de células T, especialmente a los infectados por el VIH con menos de 100 linfocitos CD4/mm<sup>3</sup>.

*Penicillium marneffe*, como otros hongos dimórficos, es un organismo de baja virulencia, patógeno oportunista, que experimentalmente es capaz de: a) interactuar con

la células del hospedador, b) captar hierro, y c) infectar a las células del sistema monocítico-macrofágico. El primer evento que se produciría tras la inhalación de las conidias sería su fijación sobre la laminina y la fibronectina de la matriz extracelular, mediante un proceso dependiente del ácido siálico. Tras lo cuál, en ausencia de anticuerpos, las conidias serían fagocitadas por los macrófagos residentes e inducirían un estímulo menor que si hubiesen sido opsonizadas, sin producción de TNF- $\alpha$ , hecho que facilitaría la germinación de las conidias y su posterior multiplicación intracelular, dependiente de los sideróforos. No obstante, la actividad fungicida del anión superóxido macrofágico podría controlar la infección. Por otro lado, los leucocitos neutrófilos, bajo el influjo de las citocinas proinflamatorias (GM-CSF, G-CSF, IL-8, TNF- $\alpha$ ) inhibirían la germinación de las conidias fagocitadas, pero no las destruirían. En circunstancias homeostáticas óptimas, la fagocitosis de las conidias induciría una respuesta inmunitaria T-dependiente que se traduciría por la síntesis de anticuerpos específicos, que opsonizarían las artroconidias y facilitarían los mecanismo de fagocitosis y la síntesis de TNF- $\alpha$  macrofágico, y el desarrollo de una reacción de tipo granulomatoso que conducirían a la curación clínica, pero no microbiológica, y a la aparición de fenómenos de latencia. De modo que la peniciliosis se produciría como consecuencia de una reactivación, cuando el hospedador desarrollase una inmunodeficiencia de células T, o de una primoinfección, sobre un terreno adecuado. En la peniciliosis se han descrito tres tipos de reacciones inflamatorias: granulomatosa, supurativa y necrosante. Las dos primeras se observan en pacientes inmunocompetentes; la tercera es una respuesta anérgica, propia de pacientes inmunodeprimidos, localizada preferentemente en el hígado, pulmón y piel, y caracterizada por una infiltración tisular difusa de macrófagos repletos de artroconidias.

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La peniciliosis ha sido descrita en pacientes con sida, en otros inmunodeprimidos y en personas inmunocompetentes. Las manifestaciones clínicas no son específicas y en los pacientes infectados por el VIH pueden confundirse con otras infecciones oportunistas. Comúnmente, se presenta como una enfermedad diseminada con fiebre, pérdida de peso y anemia. Los pacientes presentan lesiones cutáneas, semejantes al *molluscum contagiosum*, localizadas en la cara, en los brazos y en la parte superior del tronco, y en muchos casos se observa una linfadenopatía generalizada y una marcada hepato-esplenomegalia (tabla 2)

**Tabla 2. Peniciliosis *marneffe*: manifestaciones clínicas<sup>a</sup>.**

Manifestación	%	Manifestación	%
Fiebre	98	Hepatomegalia	44
Anemia	75	Esplenomegalia	23
Perdida ponderal	71	Pericarditis	4
Lesiones cutáneas	70	Lesiones osteolíticas	4
Linfadenopatía	52	Artritis	4
Tos	50		

<sup>a</sup>Tomado de Doung, 1996 (ver bibliografía).

En los pacientes no VIH, además de la infección diseminada con afectación multiorgánica, se han descrito infecciones de localización linfoganglionar, osteo-articular, pulmonar, bucal, nasal y cutánea, y procesos febriles de origen desconocido. En un estudio comparativo sobre las manifestaciones clínicas observadas en ambas categorías de pacientes –infectados y no infectados por el VIH– la afectación pulmonar fue la manifestación inicial más común, seguida por la fiebre de origen desconocido y las manifestaciones cutáneas.

## DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

La infección diseminada por *P. marneffe*, la forma más común de presentación de la peniciliosis, es un proceso grave de evolución fatal en ausencia de tratamiento, o cuando éste es instaurado tardíamente. Por esta razón, en los pacientes infectados por el VIH con signos y síntomas de infección diseminada y con lesiones cutáneas similares al *molluscum*, naturales de la zona de endemia o que refieran estancias en ésta, deben de establecerse procedimientos diagnósticos adecuados, microbiológicos e histopatológicos.

El cultivo en medios convencionales es el método diagnóstico de elección y las muestras más adecuadas son el aspirado de médula ósea (100% de rendimiento), las biopsias cutáneas (90%) y la sangre (76%). Es importante señalar que en un 63% de los casos es posible efectuar un diagnóstico presuntivo, varios días antes de disponer de los resultados de los cultivos, mediante la observación microscópica de las características artroconidias intramacrofágicas en frotis de médula ósea o en biopsias cutáneas teñidos por el método de Giemsa o similares. La identificación de los cultivos se realizará atendiendo a las características macro y microscópicas, y a su dimorfismo termodependiente, ya que es la única especie dimórfica del género *Penicillium*.

En los últimos años se han desarrollado métodos inmunológicos y moleculares como procedimientos alternativos de diagnóstico directo, unos para la identificación de casos, como la detección y cuantificación de antígeno en orina mediante técnicas de aglutinación con partículas de látex sensibilizadas o inmunoenzimáticas (ELISA), o las de amplificación de ácidos nucleicos por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para la identificación de aislados se han descrito métodos de detección de exoantígenos por ELISA y técnicas de PCR. También existen ensayos para la detección de anticuerpos, de los cuales el más prometedor es un método ELISA que utiliza antígeno recombinante Mp1 de *P. marneffe*, una manoproteína común a la forma micelial y a la levaduriforme. La proteína Mp1p puede ser utilizada para la detección antígenos y anticuerpos, y la combinación de ambos ensayos tiene una sensibilidad y unos valores predictivos negativos y positivos del 88%, 96% y 100%, respectivamente. El título de antígeno aumenta con la infección activa y, tanto los anticuerpos como los antígenos, pueden ser detectados antes de que los cultivos sean positivos. Con un tratamiento correcto, el título de ambos se hace indetectable. En los pacientes infectados por el VIH los niveles de anticuerpos en el suero se mantienen bajos y el título de antígenos muestra niveles muy elevados. Estos niveles de antígeno pueden detectarse antes que aparezca la funguemia, por lo que su detección puede ser útil en el diagnóstico precoz; así como, para la detección de las recidivas.

## TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

Como ya se ha dicho, la infección diseminada por *P. marneffe* es un proceso grave que se asocia a una mortalidad elevada en ausencia de tratamiento específico. Este organismo es sensible *in vitro* a la acción de la anfotericina B, itraconazol, ketoconazol, miconazol y voriconazol; mientras que su sensibilidad a fluconazol y 5-fluorocitosina, es variable. El tratamiento recomendado en la infección grave, con curación clínico-microbiológica del 97,3% de los casos, consiste en la administración inicial de anfotericina B endovenosa (0,6 mg/kg/día) durante dos semanas, seguida de itraconazol oral (200 mg/12 h) durante 10 semanas. En los procesos menos graves se suprime el ciclo inicial con anfotericina B. Debido a la elevada frecuencia de recidivas, 60% durante el primer año, resulta aconsejable la utilización de quimioprofilaxis secundaria mantenida con itraconazol por vía oral (200 mg/24 h).

## BIBLIOGRAFÍA

CAO L, CHEN DL, LEE C *et al.* Detection of specific antibodies to an antigenic mannoprotein for diagnosis of *Penicillium marneffe* penicilliosis. J Clin Microbiol 1998; 36:3028-3031.

- CAO L, CHAN KM, CHEN DL *et al.* Detection of cell wall mannoprotein Mp1p in culture supernatants of *Penicillium marneffe* and in sera of penicilliosis patients. *J Clin Microbiol* 1999; 37:981-986.
- DISALVO AF, FICKLING AM, AJELLO L. Infection caused by *Penicillium marneffe*: description of first natural infection in man. *Am J Clin Pathol* 1973; 60: 259-63.
- DUONG TA. Infection due to *Penicillium marneffe*, an emerging pathogen: review of 155 reported cases. *Clin Infect Dis* 1996; 23:125-130.
- QUINDÓS G. Las micosis en el amanecer del siglo XXI. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19:1-4.
- PIEHL MR, KAPLAN RL, HABER MH. Disseminated penicilliosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112:1262-1264.
- PHILLIPS P. *Penicillium marneffe* part of Southeast Asian AIDS [news]. *JAMA* 1996; 276:86.
- SEGRETAIN G. Description d'une nouvelle espèce de penicillium: *Penicillium marneffe* n. sp. *Bull Société Mycologique France* 1959;75: 412-416.
- SERRAT C, IGUAL R, MAGRANER A *et al.* Penicilliosis *marneffe*, primera descripción en España, e histoplasmosis *capsulati* en pacientes inmunodeprimidos: a propósito de dos observaciones. X Reunión Científica de la Sociedad Valenciana de Microbiología Clínica (Resumen 19), Noviembre de 2002.
- SIRISANTHANA T, SUPPARATPINYO K, PERRIENS J, NELSON J, NELSON KE. Amphotericin B and itraconazole for treatment of disseminated *Penicillium marneffe* infection in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1107-1110.
- SUPPARATPINYO K, CHIEWDHANVIT S, HIRUNSRI P, UTHAMMACHAI C, NELSON KE, SIRISANTHANA T. *Penicillium marneffe* infection in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1992; 14:871-874.
- SUPPARATPINYO K, KHAMWAN C, BAOSOUNG V, NELSON KE, SIRISANTHANA T. Disseminated *Penicillium marneffe* infection in Southeast Asia. *Lancet* 1994; 344:110-113.
- SUPPARATPINYO K, PERRIENS J, NELSON KE, SIRISANTHANA T. A controlled trial of itraconazole to prevent relapse of *Penicillium marneffe* infection in patients infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1998; 339:1739-1743.
- VANITTANAKOM N, VANITTANAKOM P, HAY RJ. Rapid identification of *Penicillium marneffe* by PCR-based detection of specific sequences on the rRNA gene. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1739-1742.
- WONG SS, HO TY, NGAN AH, WOO PC, QUE TL, YUEN KY. Biotyping of *Penicillium marneffe* reveals concentration-dependent growth inhibition by galactose. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1416-1421.