

Agentes comunes en las aspergilosis humanas: conceptos primarios en la diferenciación de sus complejos de especies

(Common agent in human aspergillosis: primary concepts in their complex species differentiation)

Eduardo Piontelli L.

Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina. Cátedra de Micología
Casilla 92 V Valparaíso <email: eduardopiontelli@hotmail.com>

RESUMEN

Las especies del género *Aspergillus P.Micheli ex Haller*, son consideradas como importantes organismos integrantes de la microbiota en distintos tipos de suelos en todas las latitudes. Presentan grandes capacidades fermentativas industriales, son agentes comunes en microbiología de alimentos, grandes biodescomponedores junto a las bacterias, contaminantes de productos agrícolas y de importancia en salud humana y animal. El género se asocia a 9 o más teleomorfos, formando un clado monofilético estrechamente relacionado con el género *Penicillium*. Debido al elevado número de especies, su dinámica taxonómica y sus frecuentes cambios en la nomenclatura, han complicado a menudo al investigador en algún campo de la biología, en especial cuando éste guarda relación con la industria o la medicina. Estos hongos productores de grandes cantidad de esporas secas de dispersión aérea, constituyen una fuente constante de exposición para los humanos, especialmente en los ambientes internos. Si bien es cierto, que los integrantes del género *Aspergillus* (en especial *A. fumigatus*) pueden causar un amplio espectro de enfermedades invasoras o no invasoras, la incidencia de otras especies del género reportadas en la literatura como agentes de aspergilosis, ha aumentado y complicado el trabajo taxonómico, genético y clínico en los últimos decenios. La presente revisión abarca el tema desde un punto de vista primario que incluye básicamente la morfofisiología de 34 especies involucradas en diversos casos clínicos geográficamente dispersos en todos los continentes. Se destacan algunos aspectos taxonómicos, ecológicos, patológicos, moleculares y el empleo de cultivos comunes en el diagnóstico en 3 de los subgéneros más frecuentes en clínica (*Fumigati*, *Circumdati* y *Nidulantes*) y 7 de sus secciones: *Fumigati*, *Clavati*, *Nigri*, *Flavi*, *Terrei*, *Nidulantes* y *Usti*. Se aportan referencias útiles, descripción de especies y claves tentativas morfofisiológicas para completar su diagnóstico primario en la rutina común de laboratorio en muchos centros asistenciales, junto a la información necesaria para el diagnóstico secundario a nivel molecular.

ABSTRACT

Species of the genus *Aspergillus P.Micheli ex Haller*, are considered important members of the organisms of microbiota in different types of soils in all latitudes. They present large industrial fermentative capacity, are common agents in food microbiology, major biodeterioration agents with bacteria, contaminants in agricultural products, and important in human and animal health. The genus is associated with 9 or more teleomorphs, forming a monophyletic clade closely related to the genus *Penicillium*. Due to the high number of species, their taxonomic dynamic and frequent changes in nomenclature have often complicated the researcher in any field of biology, especially when related to industry or medicine. These fungi producing large amount of dry spores of aerial dispersion, and they are a constant source of exposure for humans, especially in indoor environments. While it is true, that members of the genus *Aspergillus* (especially *A. fumigatus*) can cause a wide spectrum invasive or non-invasive disease, the incidence of other species of the genus reported in the literature as agents of aspergillosis has increased and complicated the taxonomic, genetic and clinical work in recent decades. The present review covers the topic from a primary morphophysiology view and basically includes 34 species involved in various clinical cases geographically dispersed in all continents.

It highlights some taxonomic, ecological, pathological and molecular aspects and the use of common culture media in the diagnosis in 3 of the most common clinical subgenera (*Fumigati*, *Circumdati* and *Nidulantes*) and 7 sections: *Fumigati*, *Clavati*, *Nigri*, *Flavi*, *Terrei*, *Nidulantes* and *Usti*. Useful references, description of key species and morphophysiological attempts to complete their work in the common routine in primary diagnostic in the laboratory in many medical centers are also included, along with the necessary information for the secondary diagnosis at the molecular level.

Introducción

Aspergillus, pertenece a la División **Ascomycota** (**Euascomycetes, Eurotiales, Aspergillaceae** (Houbraken & Samson 2011), que es integrada por especies anamórficas con conocidas o presumidas nueve o más formas telomórficas, además incluye 4 subgéneros (*Aspergillus*, *Fumigati*, *Circumdati*, *Nidulantes*), que a su vez se subdividen en 19 secciones que integran a varios complejos de especies (Geiser, 2009; Samson, & Varga, 2010; Houbraken *et al*, 2014, Samson *et al*, 2014) (Tabla 1). El género está integrado actualmente por 338 especies según los autores (Samson *et al*, 2014), de las cuales, unas 40 se han reportado como causantes de infecciones en humanos y otros animales, principalmente incluidas en las secciones *Fumigati*, *Circumdati*, *Flavi* y *Nigri*, las cuales a su vez tienen gran relevancia en biotecnología. Otras características del género que caracterizan sus aislados, es la producción de perfiles de extrolitos, cuyos compuestos químicos proveen una importante información en la producción de micotoxinas, las cuales se determinan mediante análisis de HPLC (Frisvald & Thrane 1987; Smedsgaard, 1997).

Se reconoce a Link (1809) como al autor que validó al género (CINB), a pesar que Micheli (1729) fue el primero que lo describió, situación que actualmente se ha enmendado (Vea pág.6). En el siglo XX se publicaron varias monografías del género (Thom & Church, 1926; Thom & Raper, 1945), pero la más completa en su época y aún consultada, fue la escrita por Raper & Fennel en el año 1965, que incluyó varias nuevas especies; sin embargo, a pesar de incluir la dignosis latina de los nuevos taxas, no se designó en ellos la especie tipo, describiendo además los teleomorfos bajo el mismo nombre de los anamorfos (ICN) (considerado un error en esos tiempos). La monografía acepta 132 especies subdivididas en 18 grupos, una obra que sigue siendo aún una literatura valorable y útil. Los aportes posteriores fueron agregando nuevas especies y reordenando el género hacia una línea más acorde al Código Internacional de Nomenclatura Botánica (CINB) y dilucidando sus relaciones con los teleomorfos de *Aspergillus*. Las nuevas especies descritas desde 1965 fueron publicadas en la literatura por Samson (1979, 1993, Samson & Pitt, 2000; Al Musallam, 1980; Christensen, 1982, Samson & Varga, 2007, entre muchos otros), aportándose al mismo tiempo, varios métodos de identificación por la extrema importancia de este género en relación a su biología, patogenicidad, producción de micotoxinas (Bennett & Klich, 1992; Smith, 1994; Samson *et al*. 2006) sin olvidar los aspectos taxonómicos y los filogenéticos (Samson & Pitt, 2000; Larsen *et al*, 2005)

Estos organismos (desde enero 2013) pertenecen ahora al nuevo código «*International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants*», donde todos los organismos incluidos tienen un solo nombre, ya sea perteneciente al anamorfo o al teleomorfo, según el que prime normalmente en

los cultivos o el más empleado en la literatura (Taylor, 2011; Hawksworth, 2012).

La taxonomía tradicional del género, se basa principalmente en sus caracteres fenotípicos y fisiológicos, los cuales han aportado satisfactorias delimitaciones de las especies; sin embargo, existen variaciones morfológicas en varias secciones que han llevado a controversias en sus esquemas taxonómicos. En el nuevo siglo 21, *Aspergillus* y sus teleomorfos asociados han sido recientemente investigados con métodos polifásicos (morfológicos, fisiológicos, moleculares y ecológicos) para examinar la variabilidad entre sus especies (Samson & Pitt, 2000; Samson *et al*, 2006-2011; Samson & Varga, 2007; Peterson 2008; Varga & Samson, 2008; Hong *et al.*, 2010a; Varga *et al*, 2010; Abdin *et al.*, 2010, Samson *et al*, 2014, entre otros).

Aspectos ecológicos. Las especies de *Aspergillus*, se consideran entre las más importantes de los taxones fúngicos en el mundo. No son muy selectivas en referencia a las condiciones abióticas de crecimiento y pueden crecer a amplios rangos de temperatura (6-55°C) en relativa baja humedad. De hecho, *A. penicilloides* es uno de los hongos entre los más xerofílicos (Williams & Hallsworth 2009). Además las especies de *Aspergillus* se nutren mediante una larga variedad de sustratos, incluyendo las heces humanas y tejidos humanos. Sin embargo, se encuentran predominantemente en polímeros vegetales complejos (Bennett 2010) y se consideran entre los hongos más comunes que deterioran alimentos. El suceso de su éxito ambiental se atribuye a su efectiva dispersión de sus esporas a cortas y largas distancias en el aire.

Morfología del género (Fig.2). Las colonias son usualmente de crecimiento rápido, de varios colores que van desde el blanco, amarillo, amarillo-café, café a negro o tonos del verde-



Figura 1. *A. quadricingens* (neosartorya morph). Se aprecian las 2 fases de ciclo biológico de la especie, con conidióforos, conidios, cleistotecios, ascos y ascosporas.

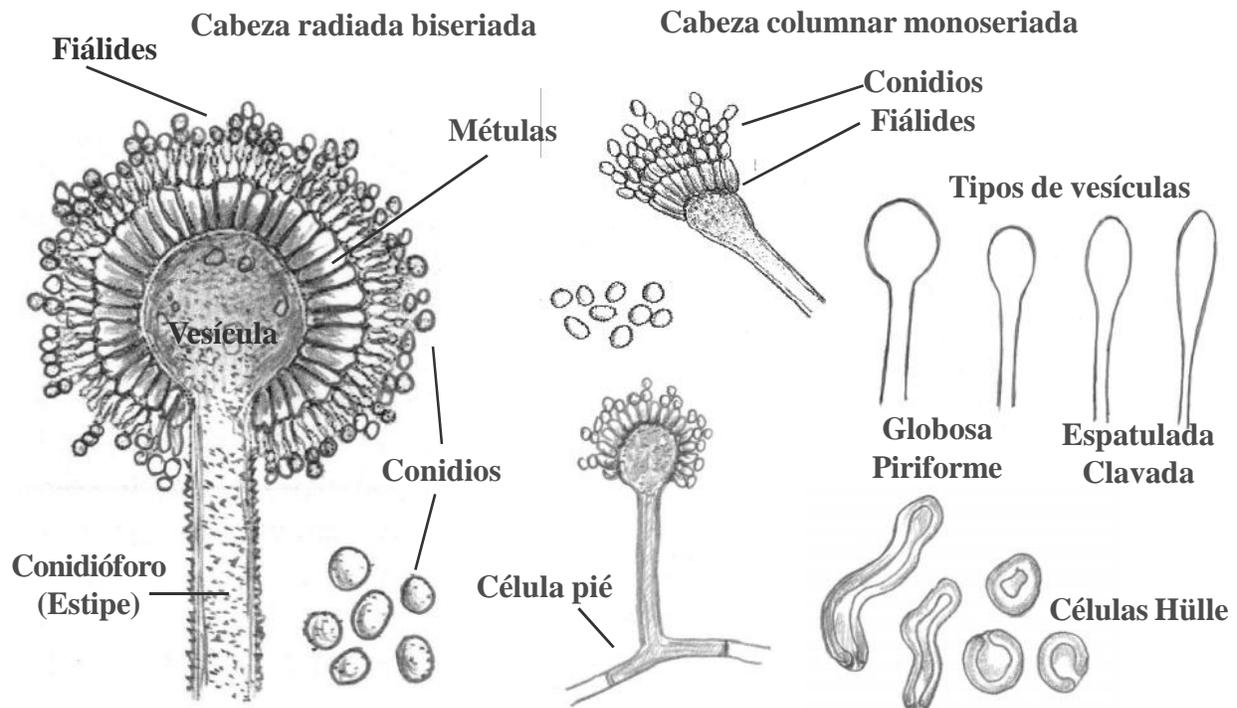


Figura 2. Estructuras morfológicas en el género *Aspergillus* (como anamorfo) a considerar en las observaciones: cabezas radiadas o columnares, célula pié, tipos de vesículas, fiálides méntulas, conidios, y células de Hülle.

grisáceo o verde-azulado. Se presentan como un denso fieltro con **conidióforos** erectos (en algunos pocos casos son dramáticamente diferentes, como en *Dichotomomyces*, *Phialosimplex*, *Polypaecilum* y *Cristaspora* (Vea Samson *et al.*, 2014), que terminan en una **vesícula** cubierta parcialmente o en su totalidad por una empalizada de **fiálides (uniseriada)** o con una capa inferior basal de células de soporte llamadas **métulas**, las cuales soportan un pequeño número compacto de fiálides (**biseriada**). El conjunto forma lo que se llama **cabeza aspergilar**, que puede ser estrictamente uniseriada, estrictamente biseriada o mixtas (algunas mono y otras biseriadas, ej. *Aspergillus flavus*, un dato importante en taxonomía). Los **conidios** son unicelulares, redondos, ovalados, elípticos, lisos o rugosos, hialinos o pigmentados, de paredes gruesas o finas, producidos en largas cadenas secas que pueden ser divergentes (**radiadas**) o agregadas en compactas columnas (**columnares**) o en **columnas laxas** (que tienden a abrirse). Unas pocas especies producen otros tipos de conidios además de las fiálides y méntulas sobre la vesícula, sino directamente sobre las hifas vegetativas, de aspecto redondo a ovoides llamados **aleuroconidios** (Ej. en *Aspergillus terreus* complex). Algunas especies pueden producir células de Hülle solitarias (Ej. *A. versicolor*, *A. ustus*, *A. calidoustus*) o envolviendo los cleistotecios de uno de los teleomorfos asociados (Ej. *Aspergillus nidulans* complex (emericeella morph). En los tipos de ascómata, se presenta una gran variación morfológica, desde los rodeados por hifas

laxas, de apariencia lisa pseudoparenquimatosa a las compactas estructuras esclerotiales, así como al tamaño, ornamentación y superficie de las ascosporas (Fig. 3). Los 4 subgéneros y 19 secciones que se aceptan en *Aspergillus*, se describen en Tabla.1: estas secciones forman un único clado monofilético con soporte estadístico bajo. Según Houbraken & Samson (2011), las especies tipo de *Polypaecilum* y *Phialosimplex*, muestran relaciones con las secciones *Cremeri* y *Aspergillus* y los incluyeron en *Aspergillus*. Varga *et al.* (2007a), demostró que *Dichotomomyces* con un anamorfo semejante a *polypaecilum* es estrechamente relacionado con la sección *Fumigati* y *Clavati* y propuso la sinonimia de este género con *Aspergillus*. Todos estos datos son importantes en taxonomía y deben considerarse (Ver: Raper & Fennel 1965; Samson *et al.* 2004b; Samson *et al.*, 2006; Samson & Varga 2007; Varga & Samson 2008; Varga *et al.*, 2010; Samson & Varga, 2010, Houbraken *et al.*, 2014, entre otros).

Debido a que el esquema de clasificación puede ser complejo para los no taxónomos que buscan una identificación a nivel de especie, es bueno conocer que las especies dentro de las secciones *Fumigati*, *Nigri*, *Flavi*, *Nidulantes*, *Usti*, y *Terrei* sean reportadas como «complejo de especies» (Fig. 4): Por ejemplo complejo *Aspergillus fumigatus* (Balaje *et al.*, 2007). Para estos aislados considerados como un complejo de especies, la morfología sola es problemática,

debido a la sobreposición de las estructuras morfológicas del organismo a determinar. Los estudios moleculares, han revelado la presencia de varias especies crípticas de *Aspergillus* entre los aislados identificados solo como morfoespecie (Balajee *et al*, 2005a; Varga *et al*, 2008). Por ej.,

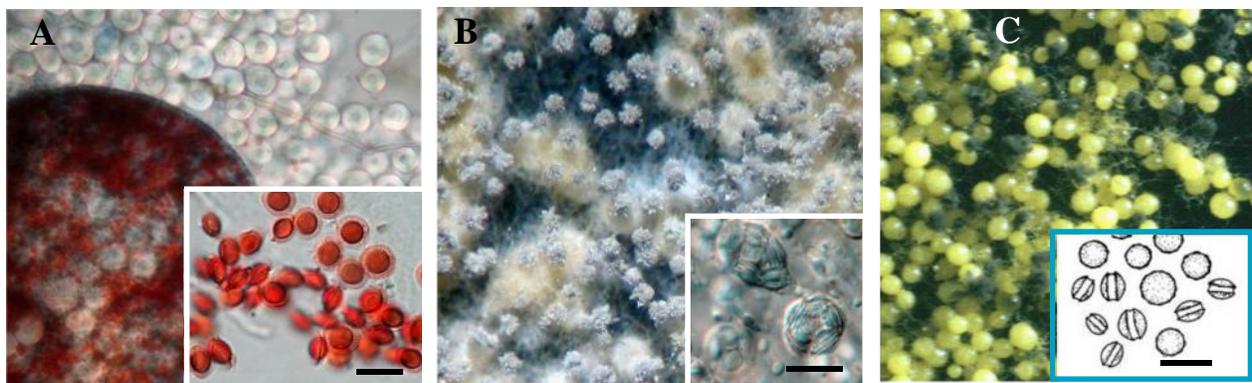
A. lentulus fue descrito en 2005 como nueva especie dentro del complex *A. fumigatus*; inicialmente desde pacientes en USA y posteriormente aislados de pacientes en otras regiones geográficas del mundo y desde el ambiente (Balaje *et al*, 2005b -2009; Hong, *et al*, 2005; Yaguchi *et al*, 2007).

Tabla 1. Subgéneros, secciones y teleomorfos del género *Aspergillus*

(Basada en Peterson *et al*, 2008; Varga *et al*, 2010; Houbraken & Samson 2011; Houbraken *et al*, 2014)

*El subgenero *Ornati* y *Warcupi* no pertenecen a los *Aspergillus* y deben ser transferidos a otros géneros

Subgénero	Secciones	Teleomorfos
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>	(<i>Eurotium</i>)
	<i>Restricti</i>	(<i>Eurotium</i>)
<i>Fumigati</i>	<i>Fumigati</i>	(<i>Neosartorya</i>)
	<i>Clavati</i>	(<i>Neocarpenteles</i> , <i>Dichotomomyces</i>)
	<i>Cervini</i>	-
<i>Circumdati</i>	<i>Circumdati</i>	(<i>Neopetromyces</i>)
	<i>Nigri</i>	(<i>Petromyces</i>)
	<i>Flavi</i>	(<i>Petromyces</i>)
	<i>Candidi</i>	-
	<i>Terrei</i>	(<i>Fennelia</i>)
	<i>Flavipedes</i>	(<i>Fennelia</i>)
<i>Nidulantes*</i>	<i>Nidulantes</i>	(<i>Emericella</i>)
	<i>Usti</i>	(<i>Emericella</i>)
	<i>Bispori</i>	-
	<i>Sparsi</i>	-
	<i>Aeni</i>	(<i>Emericella</i>)
	<i>Ochraceorosei</i>	-
	<i>Cremeri</i>	(<i>Chaetosartorya</i>)
	<i>Silvati</i>	-



Figuras 3. Tres taxas comunes del género *Aspergillus* y sus frecuentes teleomorfos asociados. A. *Aspergillus nidulans* ('emerella-morph'), Cleistotecio, células de Hulle y ascosporas en el recuadro, B. *Aspergillus quadricingens* ('neosartorya morph') Cleistotecios tomentosos y cabezas conidiales bajo la lupa; recuadro, ascos y ascosporas C. *Aspergillus glaucus* ('eurotium morph'), cleistotecios amarillos y cabezas conidiales bajo la lupa; ascosporas en el recuadro. Barra 10 μ m.

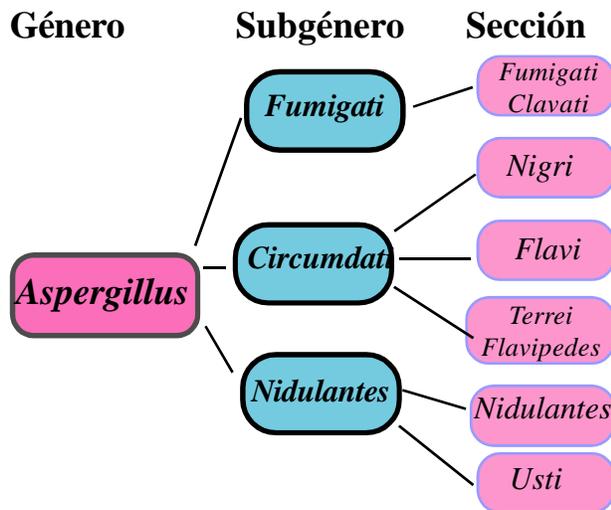


Figura 4. Principales subgéneros y secciones de *Aspergillus* que contienen especies de interés clínico

Diagnóstico molecular. The International Society for Human and Animal Mycology, patrocinador del Grupo de Trabajo en *Aspergillus*, recomienda el uso del método de identificación de secuencias de bases comparativas mediante el empleo de las regiones de los espacios ribosomales de transcripción interna (ITS). Marcadores secundarios similares a las ITS, son fáciles de amplificar y en contraste con las ITS pueden distinguir entre todas las especies mediante locus de codificación de proteínas tales como la región de B-tubulina (*BenA*), Calmodulina (*CaM*) o el gen rodlet A (Balajee *et al*, 2005a-2007; Hong *et al*, 2005; Samson *et al*, 2011; Hubka & Kolarik, 2012, Visagie *et al*, 2014). Samson *et al.* (2014), recomiendan como estándar en la identificación de *Aspergillus* la calmodulina (*CaM*), como un marcador secundario de identificación (Vea también Fig 5).

Patogenicidad y toxicidad. *Aspergillus* incluye muchas especies implicadas en infecciones oportunistas diversas en humanos y otros animales. Muchos casos son causadas por un complejo de especies que incluyen primeramente *A. fumigatus*, seguido de *A. flavus* y *A. niger*, sin embargo, *A. nidulans* puede ser el segundo patógeno más común en el mundo. La aspergilosis, incluye variados cuadros clínicos; alergias, aspergilosis (aspergiloma), osteomielitis, rinitis, la enfermedad pulmonar del granjero, infecciones cutáneas, otomicosis, traqueobronquitis, entre otras (Segal, 2009). Las invasoras se presentan principalmente en individuos con compromiso inmune y son las más comunes causadas por las spp. de *Aspergillus* (Pagano *et al*, 2007). En éstas generalmente se presentan integrantes de los complejos *A. fumigatus* (principalmente *A. fumigatus s.st.*), sin embargo, otras especies pertenecientes a los complejos *A. flavus*, *A. nidulans* y *A. terreus* han sido reportadas entre otras especies (Verweij, & Brandt, 2007; Nam *et al*, 2010; Denning *et al*, 2011).

Las infecciones primarias invasivas, envuelven el tracto seno-pulmonar, siendo el pulmón el común sitio de invasión (Segal 2009). Signos clínicos sugestivos de sinusitis invasiva, incluyen, dolor facial, dolor de cabeza, aumento asimétrico de la cara, epistaxis, proptosis, anormalidad en los nervios craneales, isquemia del paladar, dolor de cabeza y erosión de los huesos. La fiebre y la disnea son los síntomas más comunes, pero no específicos de la aspergilosis pulmonar invasora. La invasión vascular puede presentarse como un dolor pleural en el pecho. Si la enfermedad no es tratada, puede ocurrir que la diseminación hematogena comprometa cualquier órgano. La condición más seria es el compromiso del SNC, con derrame cerebral (Segal, 2009). Como se ha recalcado, la Aspergilosis puede ocurrir en una variedad de órganos ya sea en humanos como en otros animales.

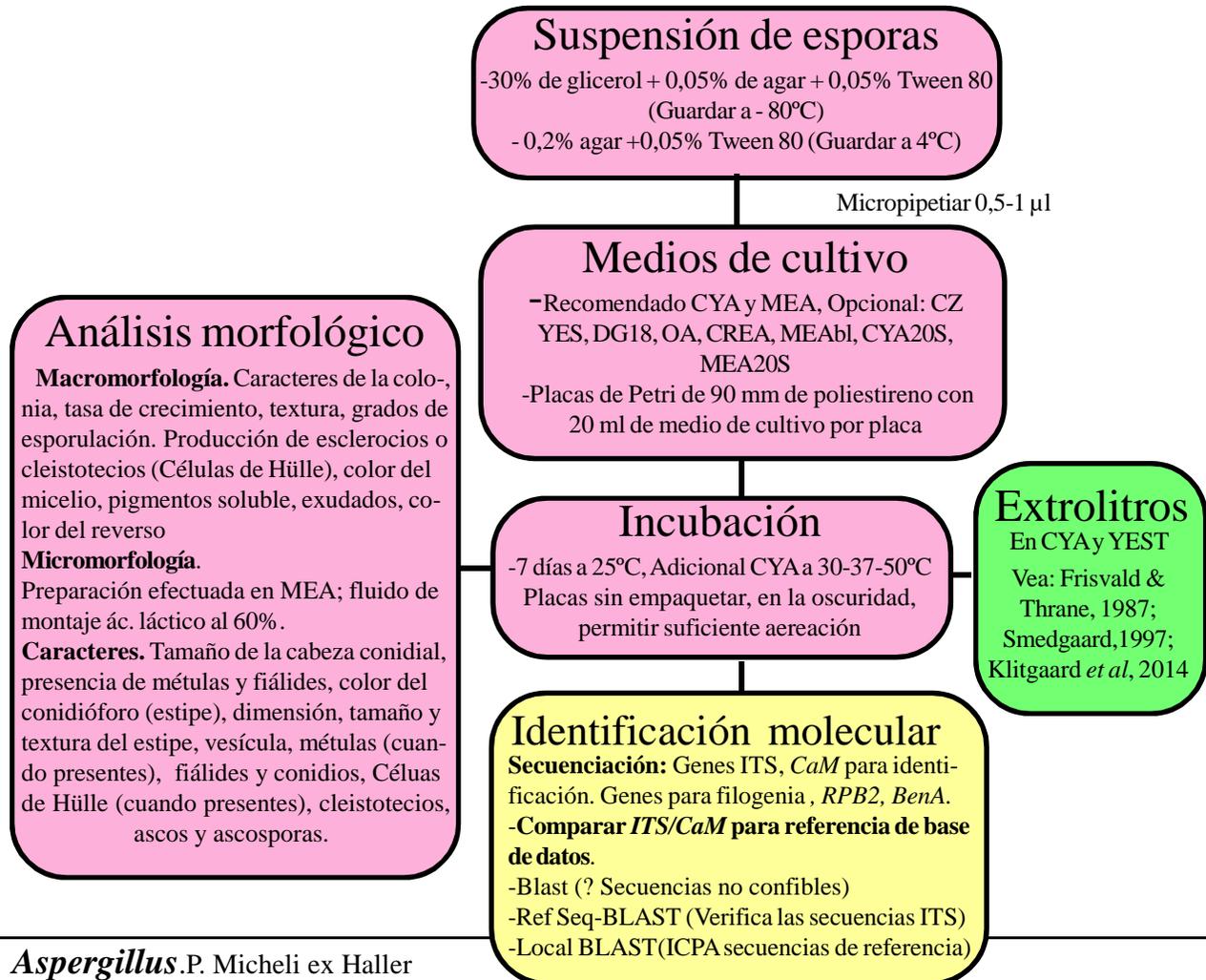
Todos los animales y muchas plantas tienen mecanismos altamente eficientes para prevenir por sí mismos la infección por los *Aspergillus* (sistema inmune específico e inespecífico), solo cuando estos sistemas son defectuosos en alguna medida, permiten que los *Aspergillus* pueden colonizar e invadir diverso tejidos (Erjavec, *et al*, (2009). Alternativamente la aspergilosis puede ocurrir en personas inmunocompetentes, donde se presente un daño previo en los tejidos (tuberculosis, enfermedades crónicas pulmonares obstructivas o bronquiectasis o alguna enfermedad subyacente). Los factores de riesgo para una aspergilosis invasora incluyen pacientes con tratamiento esterooidal o quimioterapia que resultan en una severa neutropenia, las células madres, el trasplante de órganos sólidos, el estado tardío de SIDA y las enfermedades genéticas como las granulomatosis crónicas.

Epidemiología. La presencia de especies de *Aspergillus*, se encuentran ampliamente distribuidas en el ambiente en todo el mundo, especialmente en zonas tropicales y subtropicales (Ryan, 2004). Sin embargo, las especies de este género, en especial *A. fumigatus s.st.*, sigue siendo uno entre los más frecuente causantes de enfermedades invasoras por hongos filamentosos (Segal, 2009). Las infecciones invasoras se asocian con una alta tasa de mortalidad y morbilidad, especialmente en individuos con compromiso inmune, tales como pacientes con trasplantes (Verweij, *et al*, 2007; Segal 2009). En los Estados Unidos, el número de aspergilosis con causa de muerte en pacientes inmunocomprometidos, aumentó desde un 0,04 por 100.000 personas en 1980 a 0,15 muertes por 100.000 personas en 1997 (McNeil, *et al*, 2001). Mientras Pagano *et al*, (2007) reportaron una mortalidad de un 13% en el año 2006. Si se compara con el año 2003, la mortalidad asociada a las aspergilosis invasoras en leucemias agudas, decreció desde un 24%, y su incidencia aumentó desde un 5,8%. (Mc Neil *et al*, 2001; Pagano *et al*, 2007).

Medios de cultivo empleados. Los cultivos se inoculan en 3 puntos en placas de Petri de 9 cm, usando una densa suspensión de conidios y se incuban a 25° y 37°C por

Figura 5 . Diagrama de flujo que resume los métodos recomendados para la identificación de las especies de *Aspergillus*

(Tomado de Samson *et al*, 2014)



***Aspergillus*. P. Micheli ex Haller**
 (Descripción enmendada, Samson *et al*, 2014)

Tipo genérico: *Aspergillus glaucus* (L.) Link

Micelio vegetativo hialino a brillantemente pigmentado. Conidióforos (aspergillum) consistentes en una célula basal de pared gruesa (célula pie), que produce un tallo usualmente aseptado y no ramificado, que termina en una vesícula inflada en el apex, globosa, elipsoidal o clavada. Los conidióforos pueden ser septados, carecer de célula pie y vesícula o consistir de una única célula conidiógena con uno o varios locos. Células conidiógenas fiálidicas que producen conidios secos en cadenas, que nacen directamente en la vesícula (uniseriados) o sobre méticas (biseriados); en unas pocas especies, semejan anelídicas o polifiálidicas. Conidios con gran variación en color, tamaño, forma y ornamentación. Cleistotecios en algunas especies con variadas estructuras, generalmente con una fina pared consistente en una única capa de hifas en forma de red o a veces, cubierta por capas de células de Hülle o semejante a esclerocios. Ascus globosos usualmente con 8 ascosporas. Ascosporas a menudo lenticulares, hialinas o coloreadas, variables en tamaño, forma y ornamentación. Esclerocios o estructuras semejantes, regularmente presentes en algunas especies, variables en color, tamaño y forma, que consisten en células de paredes gruesas que a veces contienen estructuras productoras de ascos. Células de Hülle a veces cubren el cleistotecio o se presentan en masas compactas en el micelio, variables en tamaño y forma, pero generalmente de paredes gruesas y hialinas (Vea: Samson *et al*, 2014, para mayores detalles en la identificación nomenclatura y filogenia del género).

7 días en oscuridad en los siguientes medios: CYA y MEA y se examinan también a los 10 días en MEA y 14 días CYA y para los rangos máximos y mínimos se incuban a 10-15-30-40-45-50°C. Puede emplearse también Agar avena y YES (extracto de levadura sucrosa), u otros medios específicos según la especie. El diámetro de las colonias se mide mediante una regla. Las estructuras finas de todos los aislados se examinan bajo aceite de inmersión a 1000 x y los preparados a examinar se obtienen del medio agar Malta, empleando ácido *et al*, 2010) (Vea Fig.5).

Diagnosis: La diagnosis puede hacerse por detección de las especies de *Aspergillus* por biopsia, cultivo y microscopía de las muestras de tejidos, radiografías pulmonares, resonancia magnética y la detección de antígeno en el cuerpo (*Platelia Aspergillus*).

Vea también los métodos de identificación en Fig.5.

Complejos de especies de *Aspergillus* de interés clínico

A). Subgénero *Fumigati*, Sección *Fumigati*.

El subgénero *Fumigati* incluye la sección *Fumigati* (*Neosartorya morph*), la sección *Clavati*, que se destaca por sus largas vesículas clavadas (*Neocarpenteles* y *Dichotomomyces morph*) y la sección *Cervini* (sin teleomorfo conocido). *Dichotomomyces*, (*D.cejpii*) es un hongo cosmopolita que pertenece a la familia **Trichocomaceae** y sus ascosporas son muy resistentes al calor (Mayer *et al.* 2007). *Dichotomomyces* y *Neosartorya* son hermanas del clado de *Neocarpenteles*, especialmente en la producción de extrolitos. Sin embargo, se necesitan mayores estudios para el estatus taxonómico de *Dichotomomyces* con anamorfos en *Polypaecilum*. Los integrantes de la sección *Cervini*, presentan cabezas conidiales uniseriadas de color ante, contiene integrantes poco estudiados (Peterson, 2000; Varga *et al.* 2007a)

Nuevas especies morfológicamente similares a *A. fumigatus* se han descrito recientemente e incluidas en la sección *Fumigati* (Samson *et al.* 2007a). Los errores en la identificación de tales especies, particularmente oportunistas en humanos, tales como: *A. lentulus*, *A. fumigati affinis*, *A. fumisynnematus*, *A. felis*, *A. fischerianus*, *A. hiratsukae*, *A. thermomutatus* y *A. udagawae*, han sido reportadas con cierta frecuencia en la literatura clínica (Vargas *et al.* 2000; Balajee *et al.* 2005a-b-2006; Samson *et al.* 2007a; Samson & Vargas, 2007; Hong *et al.* 2006-2008; Vinh, *et al.* 2009; Segui *et al.* 2010; Gytoku *et al.* 2012; Bars *et al.* 2013). Sin embargo, *A. fumigatus* aún se reporta en más de un 90% de los casos de aspergilosis invasoras.

La Sección *Fumigati* incluye unas 40 especies uniseriadas, con cabezas conidiales columnares en tonos de verde y vesículas en forma de frasco (Raper & Fennell 1965). Los teleomorfos asociados fueron colocados por Malloch & Cain

(1972) en el género *Neosartorya*. Las características de las colonias en los medios estándar son a menudo similares a *A. fumigatus*, pero los conidios pueden ser diferentes. Las especies que producen cleistotecios (*Neosartorya morph*) tienen ascosporas resistentes al calor.

1. *Aspergillus fumigatus* Fresenius

(=*Neosartorya fumigata*) (Fig.6).

Colonias con diám. en CYA25 en 7 días, 21-67 mm; en MEA25, 25-69 mm; en YES25, 48-74 mm; en agar avena (OA) a 25°C, 34-62 mm, CYA37, 60-75 mm, CREA: pobre desarrollo, sin ácido o muy leve. Colonias aterciopeladas a flocosas, de color gris turquesa o turquesa oscuro a verde oscuro profundo. Conidios abundante (raramente lo contrario), reverso en CYA: crema, amarillo a naranja.

Micromorfología. Cabezas conidiales columnares, con estipe de 50-350 x 3,5-10 µm. Vesículas con un diám, 10-26 µm, piriformes a subclavadas a veces subglobosas, pero raramente globosas. Conidios globosos a elipsoidales, 2-3,5(-6) µm, lisos a finamente rugosos. **Hongo heterotálico** que bajo condiciones especiales y con cepas de polos opuestos forma cleistotecios. **La especie crece a 50°C o más pero no a 10°C.** Distribución mundial.

Muchos aislados hetero y homotálicos de la sección, semejan fuertemente *A. fumigatus*, pero demuestran un crecimiento lento a 37°C o una baja esporulación en los cultivos y no crecen generalmente a 50°C, pero si a 47°, 45°C o solo hasta 42°C, como es el caso específico de *A. udagawae*, que crece a 10°C pero no a más de 42°C y sus conidios necesitan un largo período de incubación para germinar a 37°C. Esto sugiere que son más susceptibles al ataque de los neutrófilos y al peróxido de nitrógeno, lo que disminuye su virulencia y permite apreciar la sutil distinción causada por estas 2 especies (Segui *et al.* 2010). Mediante análisis de secuencias de multilocus, estos integrantes pueden semejarse fenotípicamente a varias especies relacionadas con *A. fumigatus*, pero filogenéticamente distintas.



Figura 6 *A. fumigatus*, típicos conidióforos y vesículas mayoritariamente clavadas y disposición de las fiálides sobre la vesícula. Barra =10 µm

2. *Aspergillus lentulus* Balajee & Marr (neosartorya-morph) (Fig. 7).

Colonias con diám en CYA25, (19-)25-56 mm, en 7 días; MEA25, (30) 40-70 mm; YES25, 42-80 mm; OA25, 44-59 mm; CYA37, 54-70 mm, CREA crecimiento débil, sin producción de ácido. Color de la colonia: blanca con conidios entremezclados gris verdosos, flocosa, conidiación pobre, pero abundante en algunos aislados. Reverso de la colonia en (CYA), pálido amarillento a gris naranja café.

Micromorfología. Cabezas conidiales cortas columnares con estipe, 20-500 x 4-7 μ m, liso a veces sinuoso o contorneado en el cuello, vesícula, (6-)10-25 μ m, globosa a piriforme, usualmente subglobosa, conidios, 2-3,2 μ m, globosos a ampliamente elipsoidales, lisos a finamente rugosos. **Hongo heterotálico.**

Características importantes: estipe (<7 μ m diám.), vesículas globosas, **crece a 10°C pero no a 50°C.** Distribución: aparentemente mundial. Swilaiman *et al.*, (2013), descubrieron su estado sexual mediante recombinación de polos opuestos (neosartorya morph). Este descubrimiento tiene gran importancia en el manejo de la resistencia a drogas y el control de la aspergilosis invasora por este hongo emergente.



Figura 7. *Aspergillus lentulus*, conidióforos, vesícula redonda, fiálides y conidios. Barra 10 μ m (Tomado de; Samson *et al.* 2007).

3. *Aspergillus fumigatiaffinis* Hong, Frisvad & Samson (Fig. 8).

Colonia con diám. en CYA25, 46-49 mm en 7 días; MEA25, 53-60 mm; YES25, 67-74 mm; CYA37, 65-70 mm; CREA: crecimiento débil con buena producción de ácido. Colonias flocosas, de color blanco con el centro verde opaco, de conidiación limitada. Reverso en CYA: amarillento a gris naranja. **Micromorfología.** Cabezas conidiales columnares cortas con estipe de 6-8 μ m en diám, vesículas 18-24 μ m, globosas a subglobosas, a veces dispuestas en ángulo ('nodding'), conidios 2-3 μ m, globosos a subglobosos, lisos.

Características importantes: tiene comparativamente

pequeñas vesículas (sub)globosas (16-24 μ m); crece a 10°C, **no a 50°C.** Distribución: USA, España



Figura 8. *A. fumigatiaffinis*, conidióforos, vesículas, fiálides y conidios.

4. *A. fumisynnematus* Horie, Miyaji, Nishimura, Taguchi et Udagawa. (Fig.9)

Colonias con diám en CYA25, 44-48 mm; MEA25, 56-60 mm; YES25, 35-39 mm; OA25, 42-46; CYA37, 57-61 mm, CREA: crecimiento pobre sin producción de ácido. Colonias flocosas, de color grisáceo, de limitada conidiación. Reverso en naranja blanco o naranja gris.

Micromorfología. Cabezas conidiales columnares cortas, con estipe de hasta 210 x 6-8,5 (-10) μ m, vesículas de un diámetro de 16-20 (-25) μ m, hemisféricas; conidios 2,8 -3,2 x 2,4-2,8 μ m, ampliamente elipsoidales, verrugulosos.

Características importantes: producción de *sinnemata* en MEA en el tiempo (1,4-2,3 mm de alto, 30-40 μ m en diám.). **Crece a 10°C pero negativo a 50°C.** Distribución: Brasil, Venezuela, España.



Especies semejantes: *A. fumigatus*, *A. lentulus*, *A. novofumigatus*, *A. fumigatiaffinis*.

Figura 9. *A. fumisynnematus*, conidióforos, vesículas, fiálides y conidios. Barra 10 μ m (Figura tomada de: Samson *et al.* 2007).

5. *Aspergillus felis* Barrs, van Doorn, Varga & Samson (Fig.10)

Colonias de crecimiento rápido en CYA25, 5-5,5 cm diám. en 7 días, MEA, 5,5 cm. En CYA, la textura de la colonia es generalmente flocosa y blanca en color, con pobre esporulación; en MEA, las colonias son más o menos

aterciopeladas con abundante esporulación verdosa entre los 5 a 7 días, con reverso crema a ligeramente verdoso. En OA25 crece similar al MEA, en CYA 37, > 50 mm diám.

Micromorfología. Conidióforos uniseriados con estipe verdosos y cabezas subclavadas o dobladas hacia un lado 'nodding'. Vesículas subclavadas con un diám. de 15-16,5 µm. Conidios verdes globosos a subglobosos, finamente rugosos, 1,5-2,5 µm. Como es un **hongo heterotálico** al cruzarse con la cepa compatible opuesta forma cleistotecios (neosartorya-morph) blanco-crema, 100-230 µm en diám, con ascos globosos, 8- esporas, 12-16 µm en diám. Ascosporas lenticulares con 2 prominentes crestas ecuatoriales y una corta superficie convexa equinulada 5-7 x 3,5-5 µm

Distribución. Esta especie se ha encontrado en gatos con rinosinusitis fúngica crónica invasiva o con una infección cavitaria sinusal, en un perros con aspergilosis invasora, en humanos con aspergilosis pulmonar invasora y en una muestra de aire en ambiente interno en Alemania (vea: Barrs *et al.*, 2013). Parece tener amplia distribución mundial (Piontelli *et al.*, 2013).

A. felis, es integrante del complejo *A. viridinutans* y se ha confundido en la literatura con esta especie, sin embargo, este último no crece a 45°C (solo a 42°C). Fenotípicamente es relacionado con *Neosartorya aureola* y *A. udagawae*; difiere de *N. aureola* en que es una especie heterotálica (Samson *et al.*, 2007a, Kano *et al.*, 2013). Este complejo está integrado por otras especies como: *A. aureolus*, *A. udagawae*, *A. wyomingensis*, *A. felis* y *A. viridinutans s.st.* La presencia de sus vesículas en ángulo ('nodding appearance'), es una situación no exclusiva del complejo, como comenta Nováková *et al.*, (2014), debido a que se observa en otros representantes de la sección Fumigati como: *A. brevipelex*, *A. duricaulis*, *A. marvanovae*, *A. fumisinnematus*, *A. unilateralis*, *A. thermomutatus* (= *Neosartorya pseudofischeri*) y las 2 nuevas especies recientemente descritas *A. brevistipitatus* y *A. conversis*. (Nováková *et al.*, 2014).

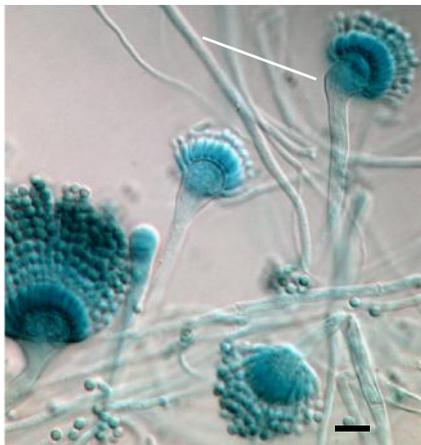
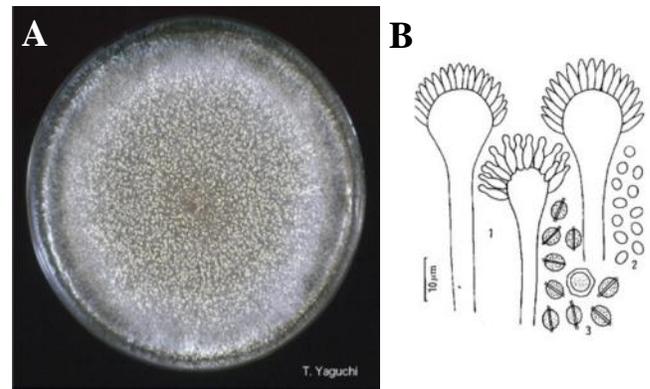


Figura. 10. *A. felis*, conidióforos vesícula (una en ángulo), filídes y conidios, Barra =10µm

6. *A. fischeranus* Kozakiewicz (neosartorya morph) (= *N. fischeri* (Wehmer) Malloch & Cain) (Fig. 11)

Colonia en CYA25, con diám. de 45-68 mm en 7 días; MEA25, 66-80 mm; YES25, 70-80 mm; OA25, 58-80 mm; CYA37, 65-84 mm; CREA: pobre crecimiento sin producción de ácido. Color de la colonia en (CZA): blanca a amarillo pálido, velutinosa, conidiación dispersa pálida, reverso sin color o color carne.

Micromorfología. Cabezas columnares; estipe, 300-500 x 4-7 µm, vesículas, 12-18 µm, en diám. en forma de frasco. Conidios 2-2,5 µm, globosos a subglobosos, microtuberculados. **Hongo homotálico** con cleistotecios de hasta 400 µm, crema pálidos, que nacen únicos o en pequeños racimos, envueltos en hifas laxas. Ascosporas, 7-8 x 3-4 µm, convexas, que originan 2 crestas anastomosadas (reticuladas). Especie similar: *N. tatenoi*. **Distribución:** mundial: suelo, arroz, algodón, papas, nueces, cuero, productos del papel, productos envasados, patogénica en humanos y otros animales (Coriglione *et al.* 1990; Lonial *et al.* 1997; Mellado *et al.* 2006)



Figuras 11 .A-B. *A. fischerianus*, A. Cleistotecios después de 3-6 semanas en MEA, B. (1) Conidióforos, (2) conidios y (3) ascosporas. Tomado de: Species 2000 Catalogue of Life, China: Annual Checklist 2009

7. *A. hiratsukae* Udagawa, Tsubouchi & Horie (neosartorya morph) (= *Neosartorya hiratsukae* Udagawa, Tsubouchi & Horie) (Fig. 12).

Colonias de crecimiento lento en CYA25, 12-14 mm en 7 días; MEA25, 26-39 mm; YES25, 42-45 mm; OA25, 42-45 mm; CYA37, 27-30 mm; CREA: más bien crecimiento pobre sin producción de ácido. Colonias aterciopeladas de color gris verdoso en CZA, con moderada conidiación, reverso en (CZA), café pálido.

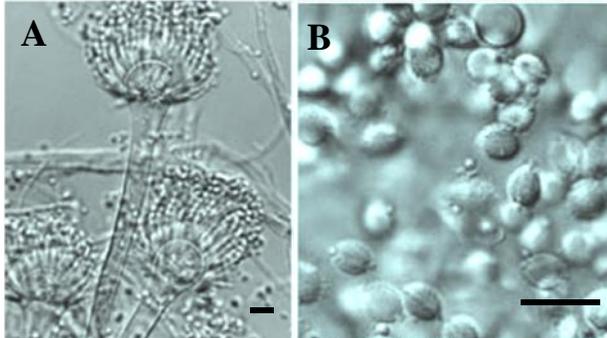
Micromorfología. Cabezas conidiales, columnares cortas con estipe, 120-380 x 5-7 µm. Vesículas de 15-24 µm, en forma de frasco, con conidios de, 2-2,5 µm, globosos a subglobosos, lisos o delicadamente rugosos. **Homotálico** Cleistotecios: 130-220 µm, de color crema pálido, con ascosporas, 4,5-5 µm, lenticulares, con crestas ecuatoriales apretadas, de superficie convexa, finamente reticulada.

Características importantes: crecimiento restringido en CZA, pequeños cleistotecios con ascosporas finamente reticuladas. Especies similares: *A. fischerianum*, *A. tatenoi* (Ambas homotáticas)

Distribución: Japón, Brasil, Korea del Sur. **Hábitat:** suelo, jugos de frutas, aire interno.

Patogenicidad: patogénico en humanos (Guarro *et al.* 2002; Mellado *et al.* 2006)

Nota: no crece sobre los 48 °C.



Figuras 12. A-B. *A. hiratsukae*, A. Conidióforos, vesículas y conidios (Barra 10 µm), B. Ascosporas (Tomado de: Samson *et al.* 2007)

8. *A. thermomutatus* (Paden) Peterson (neosartorya morph) (= *Neosartorya pseudofischeri* Peterson) (Fig. 13)

Colonias en CYA25, 60-70 mm en 7 días; MEA25, 90 mm, color de la colonia, blanca a crema pálido conidiación escasa; reverso en (CZA): claro o amarillo débil, colonia aterciopelada con cabezas conidiales laxamente columnares.

Micromorfología. Estipe 200-300 x 4-7 µm. Vesículas con un diám, 10-17 µm, subglobosas, a veces en ángulo sobre el estipe, conidios 3-4 µm, globosos a subglobosos, lisos. **Homotático** que presenta cleistotecios de, 150-300 µm, blancos. Ascosporas: 4,5-6µm, subglobosas, con 2 crestas ecuatoriales de 1µm de ancho, de superficie convexa con levantados alerones que semejan proyecciones triangulares

Diagnóstico diferencial, ascosporas con diferente ornamentación.

Distribución: U.S.A., Canada, Holanda, Korea del Sur, España, Dinamarca, Estonia.

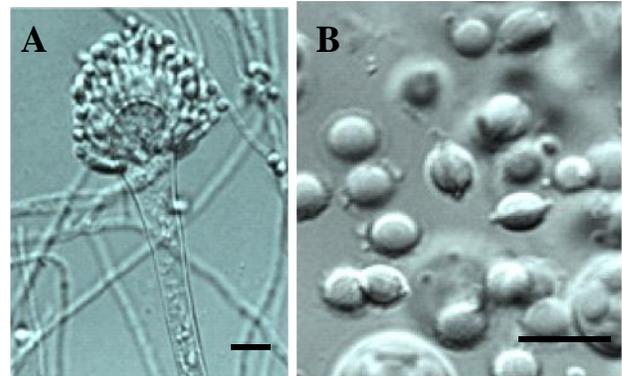
Hábitat: suelo, ambiente interno.

Patogenicidad: patogenico en humanos (Padhye *et al.*, 1994; Jarv *et al.* 2004; Balajee *et al.* 2005a; Lau *et al.* 2007) y en animales (Barrs *et al.* 2007).

9. *A. udagawae* Horie, Miyaji & Nishim. (neosartorya morph) (= *Neosartorya udagawae* Horie, Miyaji & Nishim.) (Fig. 14).

Colonia en CYA25, 33-36 mm en 7 días; MEA25, 63- 68 mm; YES25, 64-68 mm; OA25, 51-55 mm; CYA37, 61-65mm; CREA: crecimiento pobre sin producción de ácido. Color de

la colonia en (CZA), azul oscuro, de aspecto aterciopelado con abundante conidiación; reverso ligeramente anaranjado a gris-naranja.



Figuras 13, A-B. *A. thermomutatus*, A. Conidióforos y conidios, B. Ascosporas (Tomada de: Samson *et al.* 2007). Barras 10µm

Micromorfología. Cabezas conidiales columnares, estipe hasta 530 x 4-6 µm, vesículas, 12-15 µm, hemiesféricas a forma de frasco, conidios, 3,2- 6 x 2,4-2,6 µm, subglobosos a ampliamente elipsoidales, lisos. **Heterotático.**

Cleistotecios con presencia de polos opuestos, 310-620 x 280-530 µm, amarillo blanco a amarillo pálido, rodeados de hifas laxas hialinas a amarillo pálido a café. Ascosporas, 5-5,5 x 4-5 µm, ampliamente lenticulares con dos crestas ecuatoriales a menudo irregulares, con superficie convexa tuberculada.

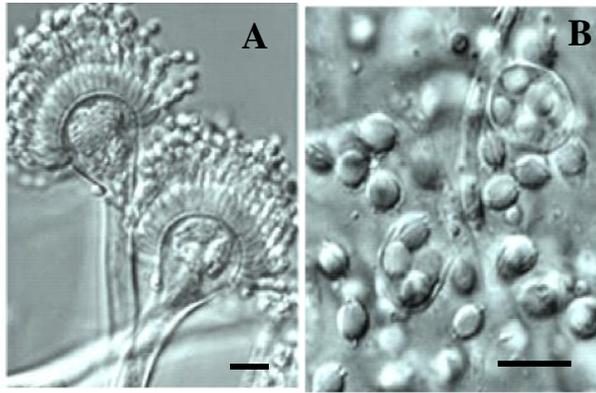
Diagnóstico diferencial: especie heterotática con características ornamentaciones tuberculadas en las ascosporas. **Especie similar:** *N. aureola*, *A. viridinutans*

Distribución: Brasil, U.S.A., España, Japón, Argentina. **Hábitat:** suelo y patogénica en humanos (Balajee *et al.* 2006; Moraguez *et al.* 2006).

Las comparaciones micológicas de *A. udagawae* y *A. fumigatus* por Segui *et al.* (2010) y Gyotoku *et al.* (2012) muestran que *A. udagawae* es menos sensible a la anfotericina B, menos virulento y más sensible al peróxido de nitrógeno que *A. fumigatus*. Además las colonias en cultivo no son similares: *A. udagawae* crece más lento que *A. fumigatus* y no crece a 45 °C. El color de las colonias es verdoso-blanco y la superficie de los conidios es aparentemente lisa, mientras las colonias típicas de *A. fumigatus*, son azul grisáceas y sus conidios espinosos.

10. *A. lacinosus* Hong, Frisvad & Samson (neosartorya morph) (= *Neosartorya laciniosa* Hong, Frisvad & Samson) (Fig. 15).

Colonia en CYA25, 38-58 mm diám en 7 días; MEA25, 53-67 mm; YES25, 60-78 mm; OA25, 52-59 mm; CYA37, 70-80 mm; CREA: pobre crecimiento sin producción de ácido. Color de las colonias en CYA, blancas a amarillo pálido con

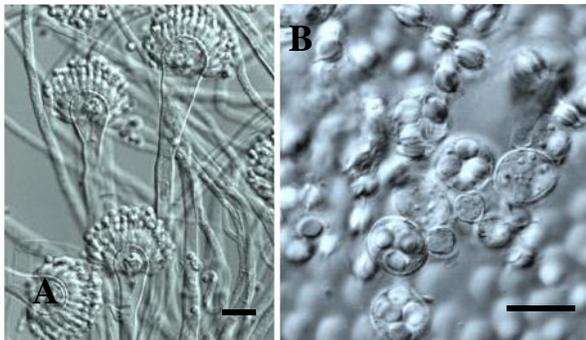


Figuras 14. A-B. *A. udagawae*. A. Conidióforos, vesículas, fialides y conidios, B. Ascosporas (Tomada de Samson *et al.* 2007. Barras 10 µm).

conidiación dispersa, con textura surcada a granular, reverso gris naranja a amarillo naranja.

Micromorfología. Cabezas conidiales columnares, con estipe de 3-4 µm de ancho, vesículas 10-14 µm, subclavadas, conidios, 2,5-3,5 µm, globosos a subglobosos, lisos.

Hongo Homotálico con cleistotecios, 300-400 µm, blancos a amarillo pálido, con ascosporas, 4-5 µm, ampliamente lenticulares con 2 distintivas crestas ecuatoriales derechas, que pueden tener una separación de hasta 2 µm.



Figuras 15. A-B, *A. lacinosus*. A. Conidióforos, B. Ascosporas (Barra 10 µm) Tomado de: Hong *et al.*, 2006.

Diagnostico diferencial: cleistotecios rodeados por hifas laxas hialinas a amarillentas de 2-4 µm de ancho, microtuberculadas, con ascosporas con 2 curvados y 2 nítidos anillos ecuatoriales con pequeñas proyecciones. *A. udagawae* difiere de *A. lacinosus* en ser heterotálica, por no crecer sobre los 42°C y es refractaria a la terapia antifúngica (Barrs *et al.* 2012).

Especies similares: *A. spinosus* (= *N. spinosa*) y *A. coreanus* (= *N. coreana*). **Distribución:** suelo en Korea del Sur U.S.A, Canadá, Pakistan, Holanda, Surinam, República Dominicana, Kenya. **Patogenicidad:** un caso reportado en Canadá de aspergilosis invasora seno-orbital (Malejczyk *et al.*, 2013).

B). Subgénero *Fumigati* Sección *Clavati*

Las especies de *Aspergillus* en la sección *Clavati* son alcalino y ácido tolerantes, de hábitat diversos y su especie más común (*A. clavatus*), es seguramente cosmopolita y aislada frecuentemente en excrementos de herbívoros, el suelo y cereales almacenados con alto contenido de humedad. La producción de variadas micotoxinas es común en sus especies integrantes, en especial la producción de patulina (Varga *et al.* 2003a). Los análisis filogenéticos de las secuencias de ITS, B tubulina y Calmodulina, indican que esta sección incluye 6 especies: *A. clavatus* (sinónimos: = *A. apicalis*, *A. pallidus*), *A. giganteus*, *A. rhizopodus*, *A. longivesica*, *A. acanthosporus* (neocarpenteles-morph) y *A. clavatonanicus*. *A. acanthosporus* es el único que posee teleomorfo en la sección, el cual mediante datos de secuencias corresponde a un género hermano de *Neosartorya* y *Dichotomomyces* (Varga *et al.* 2007b). Las especies de *Aspergillus* con teleomorfos a asociados a *Neosartorya* y *Neocarpenteles*, tienen anamorfos con conidios verdes, mientras los anamorfos de *Dichotomomyces*, pertenecen a un género diverso como *Polypaecilum*, de colonias de color blanco cremas y sus ascómata y ascosporas tienen una morfología similar a las de *Neosartorya* y *Neocarpenteles*.

En esta sección solo es de importancia clínica *A. clavatus*, que se ha descrito solo una vez en una oncomicosis y *A. clavatonanicus* en Brasil (Batista *et al.* 1955).

11. *Aspergillus clavatus* Desmazires (Fig.16)

Diámetro de las colonias en CYA25, 28-45 mm en 7 días; MEA25, 25-44 mm; YES25, 29-45 mm; Agar avena 25, 31-47 mm; CYA37, 9-26 mm; CREA25, muy buen crecimiento con moderado a muy fuerte producción de ácido (algunas aislados pueden crecer poco y no producir (o producir muy poco ácido). Colonias aterciopeladas de color azul verdosas, de abundante esporulación, reverso en CZA, sin color o algo de cafésoso en algunos aislamientos con la edad.

Micromorfología. Cabezas conidiales clavadas, comúnmente largas, entre los 150 a 400 µm de largo, que frecuentemente se abren con la edad en 2-3 o más columnas divergentes. Estipe 1500-3000 x 20-30 µm, con vesículas de 200-250 x 40-60 µm, clavadas. Conidios, 3-4,5 x 2,5-3 µm, elípticos, lisos.

Diagnóstico diferencial: cabeza conidial hasta de 4 mm en largo. Distribución cosmopolita, principalmente en países tropicales, subtropicales y regiones mediterráneas. Común en suelo, cereales, malta y excremento de herbívoros. Patógeno oportunista en humanos y animales, produciendo alveolitis alérgica extrínica, (Lopes-Días & Flannigan 1997) neurotoxicosis (McKenzie *et al.*, 2004) endocarditis (Opal *et al.*, 1986) y puede ser un efectiva herramienta para el manejo y proliferación de larvas de mosquito (*Aedes aegypti*) (Seye *et al.*, 2009).



Figura 16. Conidióforos monoseriados con vesículas clavadas y conidios. Barra 10 μm

Clave tentativa de las especies oportunistas del subgénero *Aspergillus*

Las claves dicotómicas o politómicas no tienen mucha utilidad, especialmente en las especies heterotálicas, debido a sus similitudes morfológicas; son más útiles en algunas especies homotálicas, sin embargo, algunos datos morfofisiológicos son útiles en un diagnóstico primario. Es esencial el empleo de la biología molecular para el diagnóstico definitivo.

- 1.- **Especies heterotálicas**2
Especies homotálicas7
- 2.- **Especies con vesículas monoseriadas, redondas, subglobosas o piriformes**.....3
Especie con vesículas monoseriadas, clavadas y largas *A.clavatus* Desmazières
- 3.- **-Aislados que crecen a 50°C**4
-Aislados que crecen hasta 45°C5
-Aislados que crecen hasta 42°C. *A.udagawae*
Horie, Miyaji & Nishim. (Requiere largos períodos de incubación para esporular a 37°C, conidios lisos).
- 4.- **-Aislados que crecen a temperatura de 50°C, pero no a 10°C** *A.fumigatus* Fresenius
- Aislados que crecen a 10 y 50°C, fiálides que

ocupan los 3/4 de la vesícula (saprofitro?).....
..... (*A.turcosus* S.B. Hong, Frisvad and Samson.
Vea: Hong *et al*, 2008).

- 5.- **Sinnemata presente en el tiempo en MEA**, conidios ampliamente elipsoidales, verrugosos..
.....*A.fumisynnematus* Horie, Miyaji, Nishimura, Taguchi et Udagawa
-Sinnemata ausente en el tiempo en MEA6
- 6.- **-Estipe < de 7 μm de ancho**, vesículas 10-25 μm de diám., conidios ampliamente elipsoidales, lisos a finamente rugosos, 2-3,2 μm . CREA sin ácido *A.lentulus* Balajee & Marr.

-Estipe < de 7 μm de ancho, vesículas pequeñas, 15-16 μm diám., algunas dobladas en ángulo ('nodding'), conidios pequeños, verdes globosos a subglobosos, finamente rugosos, 1,5-2,5 μm , *A.felis* Barrs, van Doorn, Varga & Samson

-Estipe, 6-8 μm de ancho, conidios globosos a subglobosos lisos, CREA buena producción de ácido *A.fumigatiaffinis* Hong, Frisvad & Samson.
- 7.- **-Colonias de crecimiento rápido en CYA > de 50 mm en 7 días**..... 8

-Colonias de crecimiento lento en CYA < de 20 mm en 7 días *A. hiratsukae* Udagawa, Tsubouchi & Horie. Cleistotecios pequeños 130-220 μm , ascosporas, 4,5-5 μm , lenticulares, con crestas ecuatoriales apretadas.
- 8.- **- Ascosporas 7-8 x 3-4 μm** , convexas, con 2 crestas ecuatoriales anastomosadas, reticuladas o irregularmente acordonadas.... *A.fischerianus* Kozakiewicz.
- Ascosporas 4,5-6 μm , subglobosas, con 2 crestas ecuatoriales de 1 μm de ancho, de superficie convexa con levantados alerones, que semejan proyecciones triangulares. *A.thermomutatus* (Paden) Peterson.
-Ascosporas, 4-5 μm , ampliamente lenticulares con 2 distintivas crestas ecuatoriales derechas, que pueden tener una separación de hasta 2 μm *A.laciniosus* Hong, Frisvad & Samson.

B). Subgénero *Circumdati* Sección *Nigri*

La mayoría de las especies incluidas en este subgénero son biseriadas, salvo algunas especies (Clado

aculiatus), mientras las incluidas en la sección *Nigri* (especie grupo *Aspergillus niger*, Raper y Fennel, 1965; *Aspergillus* sección *Nigri* Gams *et al.* 1985), se consideran entre los organismos más comunes en ambientes internos y externos ya sea en el suelo y su cobertura vegetal como en la contaminación de los alimentos. Tienen gran importancia en la industria por sus cualidades fermentativas en la producción de enzimas hidrolíticas tales como, lipasas, amilasas, ácidos orgánicos (cítrico y glucorónico), así como su manipulación genética en biotecnología (Kozakievicz, 1989; Samson & Varga, 2010) y la capacidad de algunas especies de producir ocratoxinas, en especial *A. carbonarius*, pero a veces también *A. niger* y *A. tubingensis* (Samson *et al.*, 2004a-b; Franco, 2006; Kizis, 2014). Debe destacarse además, la capacidad de algunas especies de esta sección como grupo de hongos de importancia médica (Howard *et al.*, 2011).

Los llamados *Aspergillus* negros, son un grupo problemático en su identificación (Samson *et al.*, 2007b) que fue aumentando en su número de especies desde las 12 descritas por Raper & Fennel (1965). Al Musalem (1980) revisa el grupo *A. niger* mediante morfofisiología e incluye 7 especies y considera *A. niger* como un agregado con siete variedades y 2 formas, mientras Kozakievicz (1989), mediante microscopía electrónica, separa las especies con conidios equinuladas de los otros aspergilos negros con conidios verrugosos. En el nuevo siglo 21, la biología molecular ha efectuado diversos aportes en la Sección, la que actualmente acumula unas 25 especies (vea datos bibliográficos y taxonómicos en: Samson *et al.*, 2004 a; Noanim *et al.*, 2008; Samson & Varga 2010; Varga *et al.*, 2011; Jurjevic *et al.*, 2012; Hubka & Kolarik, 2012; Kizis *et al.*, 2014, entre otros).

Patogenia: Las especies que pertenecen a los *Aspergillus* de esta sección en especial *A. niger*, han sido identificados como patógenos oportunistas, particularmente en casos de otomicosis (Kaya, & Kiraz, 2007) y se consideran la tercera causa de aspergilosis pulmonar (Denning, 2006), entre otras localizaciones; sin embargo, en muchos casos la determinación de la especie se ha basado solo en la morfología (Samson *et al.* 2007b). Empleando biología molecular, Lázló *et al.* (2008), aislan *A. tubingensis* y *A. brasiliensis* de infecciones corneales, Howard *et al.* (2011), obtuvieron de 45 aislados clínicos 5 clados, *A. awamori* (55.6%), *A. tubingensis* (17.8%), *A. niger* (13.3%), *A. acidus* (6.7%), y un grupo desconocido (6.7%); Bathoorn *et al.* (2013), aislan de una osteomielitis *A. tubingensis*, Perrone *et al.* (2012) aislan *A. aculiatinus* desde un conducto lagrimal (dacriocistitis), mientras Vermeulen *et al.* (2013) aislan 5 cepas de *A. tubingensis* en 6 casos de aspergilosis invasoras en Bélgica.

Biología molecular. Filogenéticamente las especies de *Aspergillus* de esta sección, son estrechamente relacionadas entre si, lo que hace difícil su separación taxonómica solo por la morfología, en especial el complejo *Aspergillus niger* que constituye un importante grupo de especies comu-

nes en alimentos, biotecnología y micología médica. Representan uno de los subgrupos taxonómicos más complicados, debido a que contienen 8 (a la fecha) taxones indistinguibles morfológicamente: *A. niger*, *A. tubingensis*, *A. brasiliensis*, *A. luchuensis*, *A. costaricensis*, *A. lacticoffeatus*, *A. piperis* y *A. vadensis*, siendo los métodos polifásicos los empleados actualmente para un buen diagnóstico (Samson *et al.*, 2007b; Samson & Varga, 2009; Abdin *et al.*, 2010). Algunas especies tienen propiedades bioquímicas diferentes tales como: crecimiento nutricional y diferencias en sus hidrolasas (Meijer *et al.*, 2011). Sus metabolitos secundarios a pesar de ser a menudo únicos para esta sección, no permiten aún diferenciar las especies solamente con estas propiedades metabólicas.

La Beta-tubulina (*benA*, *tub-2*) y calmodulina (*caM*), son genes cruciales en la taxonomía de esta sección de *Aspergillus* (Varga *et al.*, 2011). Los 'primers' ampliamente usados de la B-tubulina no son específicos para algunos taxones como en el gen *benA*, debido a que preferentemente amplifican el parálogo *tubC*. Las secuencias del parálogo del *tubC* se combinan ampliamente con las secuencias del *benA* como se han apreciado en recientes trabajos taxonómicos, resultando en árboles genéticos incongruentes (Hubka & Kolarik, 2012). Estos autores, determinaron que las identidades del clado *A. aculeatus*, usada en previos estudios moleculares fue revisada empleando datos moleculares combinados (ITS, *benA*, *caM*), junto con 2 métodos de PCR, lo que indicó que *A. japonicus* debe ser tratado como sinónimo de *A. violaceofuscus* y *A. fijiensis* como sinónimo de *A. brunneoviolaceus*.

Varias especies de la sección *Nigri* están asociadas a alimentos fermentados en Asia del Este; por ej., *A. luchuensis* y *A. welwitschiae* (hongos negros del koji) que se asocian con la producción de awamori, un destilado alcohólico producido en Okinawa (Japón), mientras *A. luchuensis* se emplea en la producción de shochu y makgeolli (Yu *et al.*, 2004a). La posición taxonómica de las especies usadas en la producción de fermentaciones del koji blanco y negro fueron investigadas junto a otras especies mediante los métodos moleculares actuales: ITS, secuencias de genes de la b-tubulina, calmodulina y perfiles del RAPD. La posición taxonómica de *A. awamori sensu* Perrone *et al.* (2011), fueron reinvestigadas y se concluyó que *A. luchuensis*, *A. kawachii* y *A. acidus* son la misma especie y *A. luchuensis* es el nombre que tiene prioridad (Hong *et al.*, 2013).

Las cepas de *A. awamori* guardadas en el National Research Institute of Brewing en Japan, no corresponden a esta especie y el neotipo de *A. awamori* (CBS 557.65 = NRRL 4948), no es originario de las fermentaciones de awamori y considerado idéntico a un nuevo taxon denominado *A. welwitschiae* (Hong *et al.*, 2013).

Como puede concluirse, la Sección *Nigri* de *Aspergillus* se ha revisado varias veces y ha sufrido constantes cambios (Raper & Fennel, 1965; Murakami, 1979; Al-

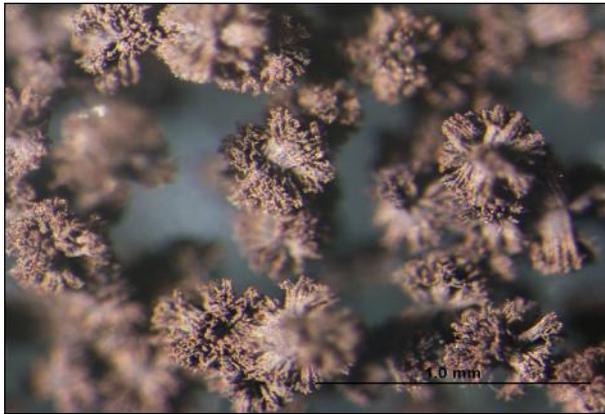


Figura 17. Cabezas aperegilares de *A. niger* mostrando su forma redondeada con tendencia a abrirse formando columnas cortas (Tomada de: Institut National de Santé Publique Québec).

Mussalam, 1980; Samson *et al.*, 2007b; 2011, entre otros) y aún se espera dilucidar la posición taxonómica de algunos de sus integrantes.

Identificación morfofisiológica.

Los cultivos se inoculan en 3 puntos en placas de Petri de 9 cm, usando una densa suspensión de conidios e incubados a 25°C por 7 días en oscuridad en los diferentes medios descritos anteriormente. Pueden emplearse medios especiales como el **Boscalid**, para ver las habilidades de crecer y esporular de las cepas en MEA con este compuesto siguiendo la técnica de Samson *et al.*, 2004a).

Creatina sucrosa Agar (CREA) (Fig. 18). El crecimiento y producción de ácido en este medio semiselectivo y muy empleado en la clasificación de los *Penicillium* (Samson *et al.*, 2004b; Frisvad & Samson, 2004), como de los *Aspergillus*, siguiendo la misma técnica de siembra en 3 puntos y observando su crecimiento y esporulación después de 3 y 7 días de incubación a 25°C (vea Samson *et al.*, 2007a; Varga *et al.*, 2011). El crecimiento y los **perfiles de hidrolasas** pueden ser usadas para distinguir *A. niger* de otros *Aspergillus* negros, pero se necesitan equipos especiales (Meijer *et al.*, 2011).

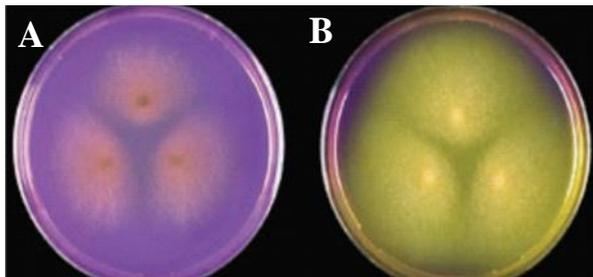


Figura 18. A.- CREA con moderado crecimiento sin producción de ácido, B.-Buen crecimiento con producción de ácido (Tomado de: Samson *et al.*, 2007a)

Especies del grupo *A. niger* aisladas en clínica

1.- *Aspergillus aculiatinus*, Noonim, Frisvald, Varga & Samson (Fig. 19).

Diámetro de las colonias en CYA25 a los 7 días, 85 mm; MEA, 78-85 mm; YES, 85 mm; CZA, 33-43; OAT, 55-64 mm, and CREA, 13-52 mm. CYA a 37 °C, 22-33 mm. En CYA y MEA, los conidióforos se producen abundantemente con áreas conidiales ligeramente café; esclerocios presentes en algunos aislados pero no en cultivos del ex tipo; pequeños (0,4-0,6 mm), globosos a subglobosos, de color crema a ligeramente amarillos. Reverso de la colonia en CYA, ligeramente café, surcado en MEA y amarillo brillante en YES.

Micromorfología. Cabezas conidiales radiadas, que se abren en 2 a 6 columnas poco definidas en el tiempo; estipes cortos (mínimo 380-) o entre 500 - 620 (-800 máximo) x (9-) 11-14 (-16) µm, paredes delgadas, lisas, hialinas; vesículas (43-) 55-65 (-82) µm de diám., globosas, **uniseriadas**; fiálides en forma de frasco que cubren la entera superficie de la vesícula, 1,8-3,5 x 6,1-9 µm; conidios subglobosos a elipsoidales, 2-4 x 2,3-4,4 µm, equinulados. Ehrlich (-)*

La cepa tipo, CBS 121060T (5IBT 29077T), fue aislada de *Coffea arabica* en Tailandia y desde una infección del conducto lagrimal (Perrone *et al.*, 2012).

*El test de Ehrlich usado por Frisvad & Samson (2004), para distinguir los integrantes del subgénero *Penicillium*, se basa en la detección de alcaloides que reaccionan con este reactivo. Se emplea un trozo de papel filtro (1x1cm.) que se coloca sobre una porción de la colonia (5 mm) tomada desde el centro de crecimiento de ésta (cultivada en CYA por 5-9 días a 25°C). Este trozo que puede sacarse con sacabocado o un recorte con bisturí estéril, se lleva a un portaobjeto y se

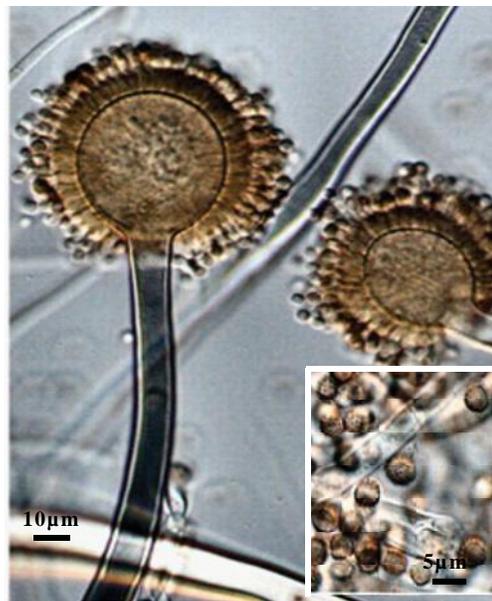


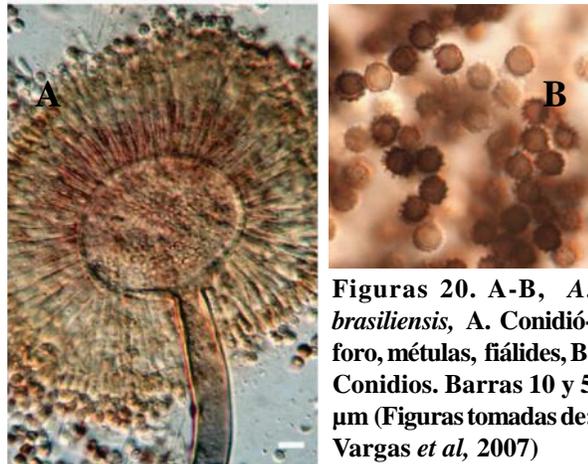
Figura 19. *A. aculiatinus*, estipe y vesícula, fiálides (monoseriada) y conidios en el recuadro (Figuras tomadas de: Noonim *et al.*, 2008)

cubre con el trocito de papel. Se agregan 2 gotas del reactivo sobre el papel filtro y si aparece un anillo violeta después de 2-6 min, el cultivo contiene ác. ciclopiazónico o alcaloides relacionados. Si la reacción aparece después de 7-10 min, se considera débil; después de 10 min. el anillo violeta puede desaparecer. Algunos hongos producen alcaloides que reaccionan dando anillos rosados o amarillo.

2.- *Aspergillus brasiliensis* Varga, Frisvad & Samson (Fig.20).

Diámetro de las colonias en CYA a 25 y 37 °C y CYAS a 25 °C, 71-76 mm; MEA, 52-70 mm; YES, 75-80 mm; OA, 32-36 mm; CREA 32-44 mm, pobre crecimiento y fuerte producción de ácido. Colonias al inicio blancas, luego en el tiempo café oscuro a negro. Exudado ausente, reverso crema a café claro. Cabezas conidiales inicialmente globosas y posteriormente radiadas, ocasionalmente desarrollan varias columnas conidiales.

Micromorfología. Estipes 700 -1700 x 8-13 µm, de paredes gruesas, lisos, café pálidos; vesículas 30-45 µm cercanas a lo globoso; **biseriadas**, con métulas que cubren virtualmente la entera superficie de la vesícula, 22-30 x 3-6 µm; fiálides en forma de frasco, 7-9 x 3-4 µm; conidios subglobosos, 3,5-4,8 µm, equinulados. Esclerocios ausentes en el cultivo del extipo, pero pueden presentarse de color blanco en algunos aislados. Todos los aislados producen varias nafto-c-pironas (incluyendo aurasperona B), tensidol A y B y pirofen. Los aislados muestran en su distribución geográfica un buen grado de variabilidad genética que se diferencia en 2 grupos: en uno los aislados de Portugal y en el segundo los países restantes indicados. a continuación: Brasil, USA, Australia y Holanda (Varga *et al*, 2007).



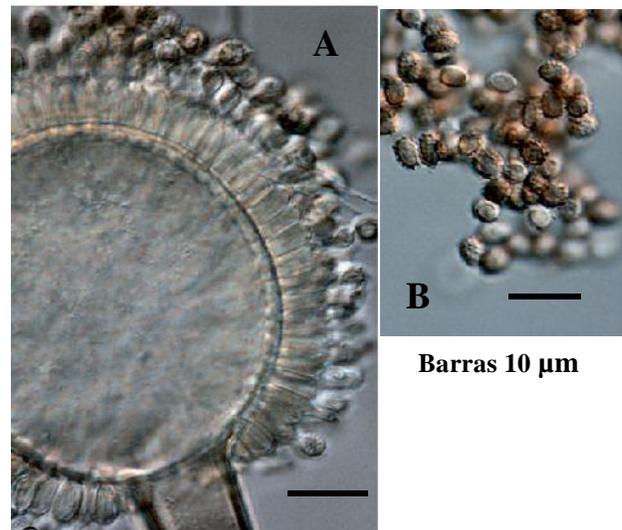
3. *Aspergillus brunneoviolaceus* Batista & Maia, (= *A. fijiensis* Varga *et al.* 2011) (Fig. 21)

Diámetro de las colonias en CYA, en 7 días a 25°C, > 85mm; cabezas conidiales café a cercano al negro; MEA, 7 d, 25 °C, 45-75 mm; YES, 7 d., 25 °C, 74-80 mm; OA, 25 °C, 50-70 mm; CYA37, 12-26 mm; CREA: crecimiento pobre, con

moderada producción de ácido; moderada producción de ácido; CYAS, 52-57 mm (CREA, pobre esporulación buena producción de ácido). Reverso de la colonia en CYA: beig a amarillo, reverso en YES, amarillo.

Micromorfología. Conidióforos largos, **uniseriados**, con vesículas globosas a elipsoidales, 35-70 (-90) µm de ancho, estipe de paredes lisas a finamente rugosas cerca de la vesícula, hialinos o pigmentados, 10-15 µm. Fiálides 7-9 x 3,5-4,5 µm, conidios globoso a elipsoidales, 3,5-4,5µm, café, toscamente rugosos a equinulados. Esclerocios no observados (Jurjevic *et al*, 2012). Esta especie puede crecer a 37°C y produce asperparalinas y okaraminas.

Perrone *et al.* (2013), aislaron esta especie desde un lavado bronquial causando un aspergiloma con bronquiectasia.



Figuras 21 A-B. *A. brunneoviolaceus* A- Conidióforo, vesícula y monofiálides, B. Conidios (Figuras tomadas de: Varga *et al*, 2011)

4.- *Aspergillus luchuensis* Inui (Fig. 22)

= *Aspergillus perniciosus* Inui
 = *Aspergillus awamori* Nakazawa pro parte
 = *Aspergillus aureus* var. *acidus* Nakaz., Simo & A. Watan.
 = *Aspergillus foetidus* var. *acidus* (Nakaz., Simo & A. Watan.) Thom & Raper
 = *Aspergillus kawachii* Kitahara & Yoshida
 = *Aspergillus acidus* Kozak.
 = *Aspergillus coreanus* Yu *et al.*

Diámetro de las colonias en 7 días en CYA, 37mm; DG18, 33 mm; CREA, 29 mm; MEA, 53 mm; MEA37°C, 50 mm. En CYA, micelio estéril blanco con áreas conidiales grises a negras, radialmente surcadas y flocosas, reverso crema a café. En MEA, similares al CYA. En CREA, pobre crecimiento y fuerte producción de ácido.

Micromorfología. Cabezas conidiales radiadas; estipes largos hasta 1,5 µm, ancho 10-13 µm, de paredes gruesas, lisas y hialinas; vesículas, 20 - 40 µm diám., casi esféricas, uniseriadas cuando jóvenes con formación irregular de

métulas, posteriormente en el tiempo predominantemente **biseriadas**, las métulas cubren casi la entera superficie de la vesícula, 17-26 x 4,5-8,1 μm , fiálides ampuliformes, 5,6-8,4 x 3,5-4,9 μm ; conidios, globosos, lisos, 3,5-4,5 μm , café oscuros. Las cepas tipo, fueron aisladas desde awamori-koji en Okinawa (Japón).

Las cepas de *A. luchuensis* muestran variables características morfológicas. El color de la colonia es blanco a gris o café a negro; estipes de 8-30 μm de ancho, con un largo de hasta 1,5 mm; las cabezas conidiales son predominantemente biseriadas, pero cabezas aberrantes uniseriadas pueden observarse, vesículas de 15-90 μm ; métulas 5-26 μm ; fiálides de 5,4-12,5 μm y conidios de 3-4,5 μm , lisos o finamente rugosos, raramente rugosos. Estas características son similares a las producidas por *A. niger* y *A. tubingensis* y difíciles para diferenciar en esta especie solo en bases morfológicas. Las secuencias de DNA de B-tubulina y calmodulina son útiles para diferenciar esta especie de otras de la Sección *Nigri*. Ninguno de los extrolitos producidos por *A. luchuensis* son tóxicos y no producen ningún tipo de aflatoxinas ni fumonisinas y es considerado un hongo industrial del koji blanco o negro en Japón y el este de Asia (vea: Hong *et al*, 2013). Se ha aislado en otomicosis (Kamal *et al*, 2010) y en aspergiloma pulmonar (sin información anexa).

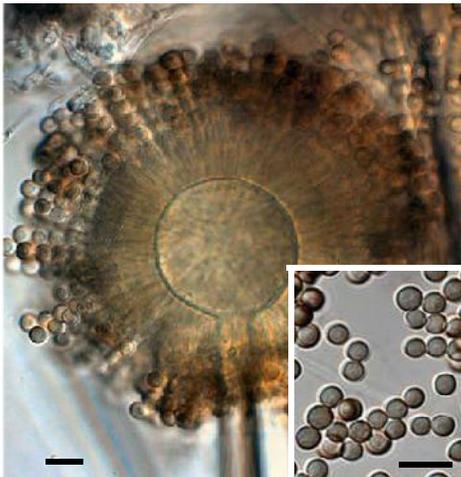


Figura 22. A-B. *A. luchuensis*. Vesícula, métulas y fiálides, En el recuadro, conidios, Barras 10 μm (Figuras tomadas de: Hong *et al*, 2013).

5. *Aspergillus niger* van Tieghem s. *strictus* (Fig.23).

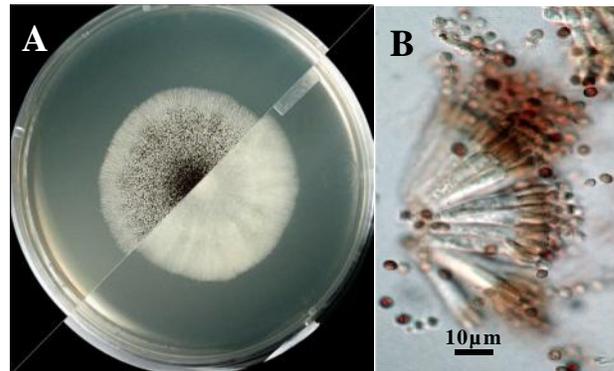
Diámetro de las colonias en CYA25 durante 7 días 67-70 mm, de color negro a café oscuro, reverso amarillo claro; MEA25, 53-69 mm, de color negro, reverso incoloro, MEA 37°C, 65-80 mm. No crece en 3 días en Boscalid y no germina en 7 días en este medio, en CREA, buen crecimiento con buena producción de ácido.

Micromorfología. Cabezas conidiales en MEA grandes, biseriadas, 150 a 300 μm o más en diámetro, globosas a

radiales, que tienden a formar columnas laxas de conidios, estipes de paredes lisas y gruesas, hialinos o cafésosos cerca del ápice o en toda su extensión, generalmente entre 1300-2700 μm , vesículas hialinas que se tornan café en el tiempo, globosas a subglobosas, 40-70 (-100) μm , fértiles en toda su superficie, métulas hialinas a café, 15-20,5 (-40) x 4,5-6 μm , fiálides hialinas en forma de frasco uniformes en tamaño, 7-9,5 x 3-4 μm , conidios globosos a subglobosos, con diferentes tipos de ornamentaciones, 3,5-5 μm , a menudo con irregulares crestas y barras. Esclerocios ausentes o raramente presentes, 0,8 a 1,2 μm , globosos a subglobosos, de color crema cuando jóvenes, luego gris rosados a gris café.

Hábitat y Ecología. *A. niger* es cosmopolita y muy común en presencia, es un hongo mesofílico con óptimo crecimiento a temperaturas entre los 20 y 40°C y un buen crecimiento a 37°C. Crece aerobícamente en sustratos orgánicos diversos, como en la litera y en material vegetal en descomposición, se aísla también de frutas y semillas, materiales textiles no tratados, carnes, huevos y por su xerofilia en especias y frutos desecados, como también en ambientes internos y marinos. Es uno de los más importantes microorganismos usados en biotecnología y por ende de enorme significado económico. Puede crecer a muy bajos pH (2,0) y algunos aislados pueden producir ocratoxinas (Shuster *et al*, 2002).

Patología. *A. niger*, al contrario de *A. fumigatus* y *A. flavus*, es un causante poco común de aspergilosis invasora. La presencia de cristales de oxalato de calcio en los especímenes histopatológicos es clásico en las infecciones por *A. niger* y puede ser útil en un diagnóstico aún en ausencia de conidios (Person *et al*, 2010).



Figuras 23. A-B *A. niger*. A. Anverso y reverso colonia en MEA, B. Métulas, fiálides y conidios (Figura A tomada de: Institut National de Santé Publique Québec).

6. *Aspergillus tubingensis* Mosseray (Fig.24) (= *A. pulverulentus* McAlpine) Wehmer

La especie *A. tubingensis* es morfológicamente muy similar a *A. niger*, situación que dificulta su distinción basándose solo en datos morfológicos. En CREA *Aspergillus foetidus*, *A. niger* y *A. tubingensis* presentan moderado crecimiento y buena producción de ácido, sin embargo, Silva *et al*. (2011), consideran que *A. tubingensis* puede distinguirse

macroscópicamente por su producción de esclerocios, de colores blancos a rosados. Samson *et al.* (2007), reportaron que la producción de estas estructuras por las especies de *A. tubingensis* no siempre se observa. Se conoce que otras especies de la sección *Nigri* tienen la capacidad de producir estas estructuras incluyendo *A. carbonarius*, *A. ellipticus*, *A. aculeatus*, *A. costaricensis*, *A. piperis*, *A. sclerotium*, *A. aculeatinus* y *A. sclerotiumcarbonarius*. Es por esto, que la identificación de los integrantes de *A. niger* "aggregate", es aún controversial y es la biología molecular la que ha reducido y sigue reduciendo el número de sinónimos entre los *Aspergillus* negros (Susca *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2011; Hong *et al.*, 2013).

A. tubingensis ha demostrado ser heterotálico, con cepas individuales que contienen ya sea los genes de cruzamiento MAT1-1 o MAT1-2. Cepas de tipo opuesto de cruzamiento incubadas por 5-6 meses en agar con cereales, formaron ascocarpos con ascos y ascosporas en una manera similar al estado sexual (petromyces- morph) de la sección *Flavi*, la cual es muy relacionada con la sección *Nigri*. Sin embargo, sus ascosporas difieren de las de la sección *Flavi* en sus reticuladas ornamentaciones y la presencia de 2 crestas ecuatoriales (Horn *et al.*, 2013).

A. tubingensis tiene amplia distribución en el suelo y se asocia a material vegetal muerto y alimentos. Es común en almendras, donde las cepas podrían ser productoras de Ocratoxina o Fumonisina B2. Palumbo & O' Keeffe (2013), determinaron que el total de sus aislados identificados como *A. tubingensis*, no produjeron ambas micotoxinas (otros autores aseveran haber encontrado cepas con capacidad de producirlas).

Patología. Los aislados de *Aspergillus* desde pacientes transplantados con aspergilosis invasoras mostraron que en un 9% de los casos pertenecen a la sección *Aspergillus Nigri*, y un 32% de estos corresponden *A. tubingensis* (Alcazar-

Fuoli *et al.*, 2009), demostrando la capacidad invasora de esta especie al causar también otros tipos de infecciones como osteomielitis y queratitis (Bathoorn *et al.*, 2013; Kredics *et al.*, 2009).

7. *Aspergillus welwitschiae* (Bresadola) Hennings apud Wehmer. (Fig. 25)

= *Ustilago welwitschiae* Bres.

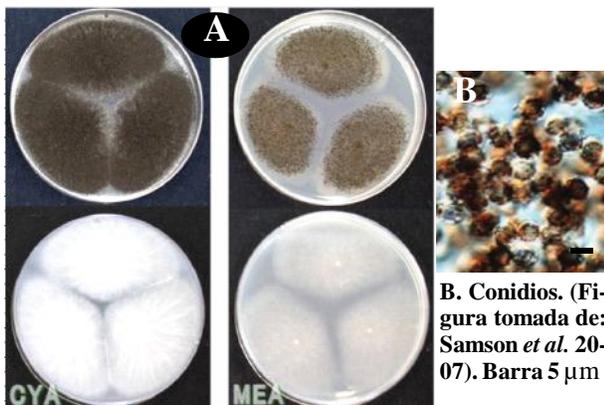
= *Sterigmatomyces welwitschiae* (Bres.) Henn.

= *Aspergillus welwitschiae* (Bres.) Henn. apud Wehmer

= *Aspergillus awamori* sensu Perrone *et al.* (2011)

Colonias en CYA, MEA, YES crecen lentamente en forma similar a *A. niger*.

Micromorfología. Vesículas 45-85 nm en diámetro. Conidios globosos finamente a distintamente rugosos, café a café negro, 3,5-5,5 µm. Los aislados de *A. niger* y *A. welwitschiae* se superponen en sus estructuras ya sea en las formas, tamaño y color de sus conidios y ornamentaciones del estipe y su largo. Ambas especies contienen mutantes que tienen conidios más café. Estos caracteres morfológicos son idénticos con las estructuras morfológicas de las cepas típicas de *A. niger*. *A. welwitschiae* tiene además los mismos rangos de crecimiento que *A. niger* en los medios de CYA a 5, 25 y 37°C, en G25N, CZA, MEA a 25°C, en oscuridad como también en sus actividades de agua. A pesar de que morfológicamente es indistinguible de *A. niger*, algunos nucleótidos fijos muestran diferencias y son útiles en la clasificación (Hong *et al.*, 2013). La producción de Ocratoxina A y Fumonisina B2 se han detectado en algunas cepas (Perrone *et al.*, 2011). Esta especie se ha encontrado en varios ambientes internos en 6 países de Europa (Vargas *et al.*, 2014), como en maíz contribuyendo a la producción de fumonisina B2 (Logriego *et al.*, 2014).



Figuras 24. A-B. *A. tubingensis*. A. Anverso y reverso de las colonias en CYA y MEA. (Figuras tomadas de: http://www.ffpri-kys.affrc.go.jp/situ/mic/miyazaki/gaikinHP/gaikindetails/gaikindetailskr701/gaikindetails_c_krcf701.html).



Figura 25. Cepa NBRC 4281, extipo de *A. luchuensis* creciendo por 3 días en arroz cocido. morfológicamente es similar a *A. welwitschiae* (Tomada de: Hong *et al.*, 2013)

Clave tentativa de las especies oportunistas de la sección Nigri

- 1.- Especies estrictamente monoseriadas..... 2
Especies biseriadas 3
- 2.- - Conidióforos lisos, esclerocios presentes a veces, crecimiento en CYA a 37°C, 22-33mm en 7 días, conidios subglobosos a elipsoidales, 2-4 x 2,3-4,4 µm, equinulados..... *A. aculiatinus*
- Conidióforos lisos a levemente equinulados, esclerocios ausentes, crecimiento en CYA a 37°C, 12-26 mm, conidios elipsoidales a levemente fusiformes, 3,5-4,5(-6) µm um, café, toscamente rugosos a equinulados... *A. brunneoviola-ceus*
- 3.- - Conidios globosos lisos a finamente rugosos, cabeza uniseriadas cuando jóvenes, con formación irregular de mótulas, luego biseriadas (se observan algunas uni y biseriadas).....
..... *A. luchuensis*
- Conidios globosos a subglobosos, rugosos o con diferentes tipos de ornamentaciones (crestas, barras) vea descripción de: *A. niger*, *A. brasiliensis*, *A. tubingensis*, *A. welwitschiae*.
(Es indispensable el uso de la biología molecular para separar estas especies).

C). Subgénero *Circumdati* sección *Flavi*

Aspergillus flavus complex. fue primeramente descrito por Link (1809), y es el nombre empleado para describir la especie, como también el grupo de especies estrechamente relacionadas. *A. flavus* es la segunda especie común después de *A. fumigatus* como causa de aspergilosis humana invasora. Además es la especie común capaz de infectar insectos (Campbell, 1994), como también considerada fitopatógena en importantes cultivos (maíz y maní) y productora de potentes micotoxinas

Ecología y distribución geográfica. Al igual que otras especies de *Aspergillus*, el complejo *A. flavus* presenta una distribución mundial, probablemente por la producción de numerosos conidios que se dispersan fácilmente por el aire o mediante una gran diversidad de insectos, en especial cuando la humedad aumenta. Esta especie crece mejor con una actividad de agua (a_w) entre 0,86 y 0,96 (Vujanovic *et al.*, 2001) y una temperatura óptima de 37°C, pero puede crecer entre los 12 a 48°C, lo que contribuye a la patogenicidad en humanos.

A. flavus es mayoritariamente un saprotrofo del suelo que cumple roles importantes en el reciclado de nutrientes

aportados por restos de vegetales y animales (Scheidegger & Payne, 2003). Su habilidad de sobrevivir en duras condiciones lo convierte en un fácil competidor frente a otros microorganismos del suelo en especial por presentar estructuras resistentes en tiempos fríos, como los esclerocios, los cuales al germinar pueden producir ya sea hifas o conidios que se dispersan por el aire (Bhatnagar *et al.*, 2000). *Aspergillus flavus* y otras especies del género se han encontrado con alta frecuencia en ambientes hospitalarios y sus hallazgos deben considerarse con alto interés en salud pública (Fernández *et al.*, 2013a).

La caracterización de nutrientes tiene influencia en la selección de genotipos específicos de *A. flavus* y puede ser de utilidad en los criterios de selección de cepas no toxicogénicas empleadas en el biocontrol, sin embargo, se necesita un trabajo adicional para verificar el rol de los nutrientes en la dinámica de *A. flavus* en los suelos. Hay evidencias que algunos genotipos pueden adaptarse en ambientes con bajos nutrientes, situación que favorece las ventajas competitivas en los suelos, así como su larga persistencia en el ambiente (Celar, 2003; Hillary *et al.* 2013).

Sexualidad. Las especies de *Aspergillus* han demostrado ser de mucho valor en los estudios de la sexualidad fúngica, por incluir especies con modalidades reproductivas diferentes, tales como: a) **mitospóricas** o asexuales, tradicionalmente conocidos en la antigua División 'deuteromycota' (Taylor *et al.*, 1999a), b) **meiospóricas** o especies que también pueden reproducirse por modalidades sexuales, ubicándolas tradicionalmente en la División **Ascomycota**, por su producción de ascocarpos, ascos y ascosporas, las cuales pueden exhibir ya sea una modalidad heterotálica (obligados autoestériles) u homotálicas (autofértiles). La primera división taxonómica ya no es necesaria debido a que por análisis filogenético demuestran ser el mismo grupo que la segunda (Peterson, 2008), reemplazando el término 'deuteromycotina' por la terminología mitospórico o meiospórico (Kück & Pöggeler, 2009). La mayoría de las especies aceptadas de *Aspergillus* se conocen solo por su medios reproductivo asexuales, mientras aquellas que presentan ciclos sexuales son irrisitiblemente homotálicas en la naturaleza, con pocas especies heterotálicas descritas (Kwon-Chung & Sugui, 2009; Dyer & O'Gorman, 2012).

Basta nombrar los recientes descubrimientos de los ciclos sexuales en los *Aspergillus* (petromyces-morph) de este grupo como en *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius* por su significado de sexualidad críptica e importancia económica y médica (Horn *et al.* 2009 a-b-c-2011). La reproducción sexual incluye fecundación cruzada (la cual es posible aun en las especies homotálicas) y puede generar grandes cantidades de variación genética y producir nuevos genotipos más fácilmente que mediante métodos asexuales, como se ha ob-

servado en los nuevos genotipos que nacieron por el cruzamiento de cepas de *A. fumigatus* (O’Gorman *et al.*, 2009). Debemos ser cautos con respecto al ciclo sexual de ciertas especies que aun no se han descubierto, debido a la fastidiosa naturaleza de sus demandas sexuales o la genuina evolución a la sexualidad (Kwon-Chung & Sugui, 2009).

A. flavus es capaz de producir esclerocios; estas estructuras reproductivas semejan a cuerpos sexuales (Cleistotecios). Esta especie se presenta bajo 2 morfotipos de tamaños de esclerocios (las cepas **L** con un diámetro >400 µm y las **S** con un diámetro <400 µm). Las cepas **S**, consistentemente producen más aflatoxinas que las cepas **L** cuando crecen bajo las mismas condiciones. El porcentaje de las cepas **S** en las poblaciones naturales varía desde la indetectable, hasta sobre un 90% (Cotty, 1997). Las cepas **S** y **L** en el tiempo, parecen haber sido separadas reproductivamente unas de otras hace más de un millón de años (Ehrlich *et al.*, 2005; 2007).

Las Micotoxinas, son metabolitos fúngicos secundarios potencialmente dañinos para el hombre y otros animales; *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* son las especies predominantes responsables para la contaminación de las cosechas en el campo y durante el almacenamiento (Yu *et al.*, 2004). La aflatoxina B1, B2, G1 y G2 son 4 mayores toxinas entre las más comunes relacionadas. La aflatoxina B1 es la más importante por ser la más tóxica y un potente compuesto hepatocarcinógeno natural (Bennett & Klich, 1992-2003). Diferentes cepas de *A. flavus*, pueden o no producir ya sea aflatoxina B1 y/o B2. Esta especie puede producir además otros compuestos tóxicos como esterigmatocistina, los ácidos ciclopiazónicos, kojico, aspergílico y β-nitropropiónico, aspertoxina, aflatreos y gliotoxina entre otros metabolitos secundarios (vea <http://www.aspergillus.org.uk> – mycotoxin section).

A. parasiticus produce aflatoxina G1 y G2, además de B1 y B2, pero no ácido ciclopiazónico (Yu, 2004). Las Aflatoxinas se producen también por otras especies del complejo *Aspergillus flavus*, incluyendo: *A. toxicarius*, *A. nomius*, *A. bombycis* y *A. pseudotamarii*. *A. pseudo-tamarii*, que también producen ácido ciclopiazónico. *A. oryzae*, raramente aparece como oportunista. Se ha empleado largamente en Oriente para preparar varios tipos de alimentos; puede producir ácido ciclopiazónico y β-nitropropiónico, pero no produce aflatoxinas. *A. oryzae*, *A. parasiticus*, *A. sojae*, *A. nomius*, *A. bombycis*, *A. tamarii*, *A. caelatus* y *A. pseudotamarii* pueden producir ácido kojico (Varga *et al.*, 2003b).

Patología. *A. flavus* principalmente (y otros integrantes de la Sección *Flavi*) puede causar un amplio espectro de enfermedades en los humanos que van desde las reacciones de hipersensibilidad a las infecciones invasivas asociadas

con la angioinvasión, siendo después de *A. fumigatus*, la segunda causa de aspergilosis invasiva o no invasiva (Morgan *et al.*, 2005; Hedayati *et al.*, 2007). La ruta primaria de la infección es la inhalación de las esporas fúngicas. El mayor tamaño de los conidios de *A. flavus* favorece su disposición en la parte superior del tracto respiratorio, situación que podría ser una razón de que esta especie es el agente etiológico de las sinusitis fúngicas e infecciones cutáneas, pero no de las neumonías invasivas.

Los factores climáticos y geográficos son importantes determinantes de la prevalencia local en las infecciones de *A. flavus*. En países tales como Arabia Saudita y Sudan, que presentan condiciones áridas y semi áridas, *A. flavus* es el agente etiológico común de aspergilosis invasiva, así como en Africa, produciendo aspergilosis pulmonar (Kameswaran *et al.*, 1992; Mahgoub & el-Hassan, 1972; Hadrich *et al.*, 2010). Por razones desconocidas la frecuencia de las infecciones causadas por *A. flavus* son bastante frecuentes en algunos hospitales y las semejanzas clínicas entre las especies de *Aspergillus* son muy similares, sin embargo la población genética de *A. flavus* es de gran interés, particularmente por asociarse a la sinusitis crónica granulomatosa, la queratitis, la aspergilosis cutánea, las infecciones profundas y la osteomielitis seguida al trauma y a la inoculación. Por otro lado, raramente se presenta como un agente etiológico de aspergilosis cavitaria crónica. En contraste con las infecciones de *A. fumigatus*, se ha investigado que muchas de las enfermedades causadas por *A. flavus* se deben a una única cepa o varias cepas capaces de individualizarse mediante biología molecular. Además *A. flavus* parece ser más virulento y más resistente a las drogas antifúngicas que las otras especies de *Aspergillus* (Hedayati *et al.*, 2007). Las aspergilosis humanas causadas por especies de la sección *Flavi* pueden involucrar varios taxones, incluyendo *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. tamarii*, *A. parasiticus*, *A. alliaceus* (petromyces-morph), *A. nomius*, *A. qizutongi*, *A. beijingensis* y *A. novoparasiticus* (Hedayati *et al.*, 2007; Manikandal *et al.*, 2009; Concalvez *et al.*, 2012).

Morfología. En la sección *Aspergillus Flavi*, se han descrito en el pasado varias especies mediante métodos tradicionales (con parámetros morfológicos que incluyen diámetros de las colonias, color y textura, tamaño y textura de los conidios, estructura de los conidióforos y temperaturas máximas de crecimiento (Klich 2002). Sin embargo, la clasificación a nivel de especie puede ser dificultosa debido a la divergencia de los caracteres morfológicos producidos por el alto nivel de variabilidad genética (Kumeda & Asao 1996). Datos actuales indican que varias de las especies asignadas a la sección *Flavi* no pueden reconocerse basándonos solo en datos morfológicos (Frisvad *et al.* 2005, Pildain *et al.* 2008; Vargas *et al.*, 2011). Para las observaciones macromorfológicas se emplean los mismos medios descritos para los otros grupos

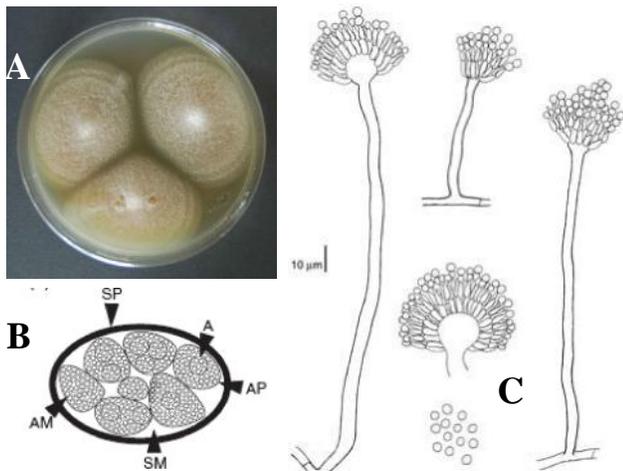
de especies de *Aspergillus*, incubados a 25 °C y 37°C en oscuridad, por 7 días y los datos micromorfológicos se observan en MEA en preparaciones con ác.láctico y azul de algodón, sin olvidar una gota de alcohol para remover las burbujas.

1. *Aspergillus alliaceus* Thom & Church (Fig26)

(petromyces morph) (= *Petromyces alliaceus* Malloch & Cain) (= *Petromyces albertensis* Tewari)

Diámetro de las colonias en CYA a 25°C por 7 días, 68-70; MEA25, 65-70 mm CYA 37°C, 36-55 mm. Cabezas conidiales en tonos verdes y colonias en CYA de color blanquecino, con conidios crema a amarillos o amarillo ocre, micelio blanco. Esclerocios/*stromata*, inicialmente blancos que se tornan gris oscuro a negros, reverso de la colonia canela a amarillo pálido o amarillo café. En MEA esporulación escasa, con colores amarillo dorado: esclerocios blancos que se tornan gris oscuro, reverso amarillo pálido a amarillo brillante. En CREA no produce base.

Micromorfología. Largas cabezas conidiales radiadas, algunas pequeñas columnares. Conidióforos de paredes gruesas, incoloros, toscamente rugosos, usualmente menores de 1 mm en su largo. Vesículas esféricas a piriformes, entre 10 a 65 µm en diám., fiálides uniseriadas o biseriadas, métulas o fiálides que cubren como mínimo la mitad superior de la vesícula. Métulas 6-12 x 2,5-5 µm; fiálides, 5-9 (13) x 2-2,5(4) µm; conidios típicamente globosos a subglobosos, conspicuamente equinulados, 2,5-3.5 (4) µm en diámetro.



Figuras 26. A-B-C, *A.alliaceus*, A. Anverso en MEA, B. Clestotecio (petromyces-morph) SP. Células seuparenquimatosas del peridio de paredes gruesas, A. Ascos, con 8 ascosporas, AP, peridio del ascocarpo compuesto por células aplastadas, SM. Matriz del estroma, AM, matriz del ascocarpo, C. Conidióforos y conidios (A, tomado de: Fungi of Great Britain and Ireland, B, Tomado de: Dyer & O'Gorman 2012. C, Tomado de: de Hoog et al, 2000.

Esta especie se distingue por sus colonias que ocupan toda la placa de Petri en MEA, sus conidios amarillos y sus esclerocios grises o negros. La especie se aísla comunmente de suelos desérticos, suelos cultivados y praderas, cactus, cebollas y bulbos de ajo entre las latitudes de 36-45° (Klich, 2002).

2. *Aspergillus beijingsensis* D.M. Li, Y. Horie, Yu X. Wang & R.Y. Li. (Fig. 27)

Diámetro de las colonias en CYA a 25°C por 7 días crecen ampliamente 56 - 60 mm diám. flocosas, formando círculos radiados; cabezas conidiales abundantes de color amarillo a verde grisáceo entremezcladas con micelio aéreo. laxo, reverso amarillo.

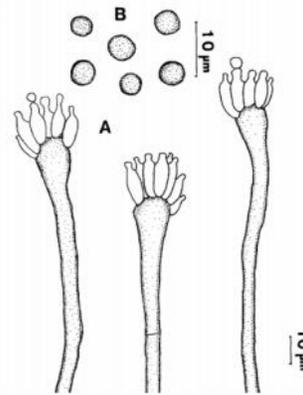


Figura 27. A-B, *Aspergillus beijingsensis*, A. cabezas conidiales monoseriadas, B. Conidios (Figura tomada de: Li et al., 1998).

En MEA25, de 75-80 mm a 25°C, con cabezas conidiales muy abundantes verde grisáceas; reverso blanco amarillento. **Micromorfología.** Cabezas conidiales, radiadas a laxamente columnares cortas, 50-150 x 20-100 µm. Conidióforos 100-550 x 4-5,5 µm en la parte central, de color verde grisáceo pálido, septado, de paredes gruesas, liso, con vesícula clavada, a veces en forma de frasco, 7-11 (-14) µm en diám., fértil sobre la mitad superior, **uniseriado**, con fiálides verde grisáceas pálidas, 10-19 x 4-5 µm. Conidios hialinos, verde grisáceos en masa, globosos a subglobosos, 3,5-6,5 x 3,5-5,5 µm, micro-verrugosos (bajo SEM). Micelio compuesto por hifas hialinas a verde grisáceas pálidas, septado, liso, 5-7 µm de ancho, de paredes gruesas (hasta 1,5µm). A 37°C se dispersa ampliamente pero el rango de crecimiento y las cabezas conidiales son menores que a 25°C.

Esta cepa fue aislada de un paciente de 38 años con un aspergiloma maxilar (Li et al, 1998). Dentro de la sección *Flavi A. beijingsensis* se semeja estrechamente a *A. flavus* Link var. *columnaris* Raper & Fennell. Ambas especies tienen aspergilos **uniseriados** y globosos a subglobosos, conidios a menudo delicadamente rugosos, sin embargo, las vesículas y el largo de los conidios de *A. beijingsensis* son más pequeñas. En sus caracteres la especie a veces semeja *A. avenaceus* G. Smith, *A. lucknowensis* Rai, Tewari et Agarwal y *A. zonatus* Kwon & Fennell, sin embargo, se separa de estas especies por ausencia de métulas y el tamaño y forma de los conidios.

3. *Aspergillus flavus* Link (Figuras. 28)

(=*Monilia flava* (Link) Pers.), (= *Petromyces flavus* Horn, Carbone & Moore) (= *Aspergillus flavus* var. *proliferans* Anguli, Rajam, Thirum., Rangiah & Ramamu-rthi) (= *Sterigmatocystis lutea* Tiegh.) (*A. flavus* var. *columnaris* Raper & Fennel)

En CYA 25 durante 7 días, colonias, 65 -70 mm, de color verde amarillo. Colonia en MEA25-37, de crecimiento rápido similar al CYA. Pobre crecimiento en CREA. Cabezas conidiales típicamente radiadas, de color oliva a verde amarillento, posteriormente se abren formando columnas laxas, **biseriadas** pero con alguna cabezas **monoseriadas**. La var. *columnaris* Raper y Fennel, produce consistentemente columnas de conidios.

Microorfología. Conidióforos hialinos y toscamente rugosos, a menudo más visible cerca de la vesícula, incoloros, usualmente menores de 1 mm de largo. Vesículas subglobosas o globosas entre 10-65 µm diám. Conidios globosos a subglobosos, verde pálidos y conspicuamente equinulados a casi lisos, 3,5-5,5 µm. Algunas cepas son productoras de esclerocios cafésosos.

Aspergillus flavus, tiene un amplio rango de hospedadores y es un patógeno oportunista en humanos con compromiso inmune o un saprotrofo en los suelos. Su común presencia en éstos y en varios tipos de cosechas agrícolas, lo convierte en un gran productor de micotoxinas carcinogénicas (aflatoxinas), con peligro para la salud humana y animal. En el campo es un problema en las semillas oleáceas, maíz, algodón, maní, nueces, etc. Bajo condiciones inadecuadas de almacenamiento es capaz de crecer formando aflatoxinas en cualquier semilla. Es también un gran patógeno en insectos (Domsh *et al*, 2007).

Soares *et al.* (2012) y Varga *et al.* (2008-2009) entre otros, consideran que los extipos de aislados de *A. oryzae*, *A. fasciculatus*, *A. kambarensis*, *A. effusus* y *A. flavus* var. *columnaris* son nombres sinónimos de *A. flavus*.

4. *Aspergillus nomius* Kurtzman, B.W. Horn & Hessel. (Fig. 29) (petromyces morph).

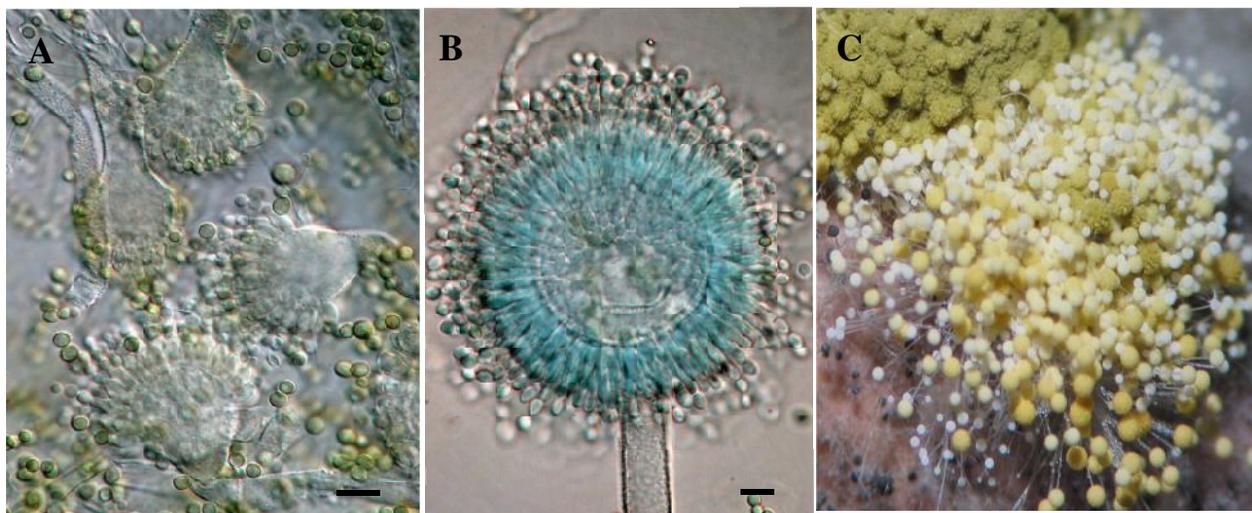
(= *Petromyces nomius*) B.W. Horn, I. Carbone et G.G. Moore,

Cultivos en CYA25 durante 7 días, 45-55 mm; MEA 25, 52-56 mm; CYA37, 73-85 mm; CYA20S, 57-62 mm y CZ, 40-50 mm. En CYA 25, colonias pálidas, color pastel-amarillo, planas, usualmente aterciopeladas, con micelio vegetativo blanco y moderadas estructuras conidiales; reverso variable desde naranja pálido a gris naranja, esclerocios presentes o ausentes. Cuando presentes son subglobosos a elipsoidales entre 400-1650 µm o elongados indeterminados a vermiformes, de color rojo-café a negros, raramente café-claros.

Micromorfología. Cabezas conidiales usualmente **biseriadas** y **monoseriadas** columnares o radiadas, que a menudo se abren en varias columnas, hasta unos 950 µm diám., estipe incoloro, rugoso (inmediatamente bajo la vesícula), 450/600/1200 x 7-22 µm; vesículas esféricas, 20/30/50 µm, métulas 8,1-17,3 x 4-8,6 µm, fálides, 7-11,3 x 3-6,5 µm. Conidios globosos a subglobosos, (3,3-) 4-6 (-8.1) µm, tuberculados.

La posible producción de ascocarpos y ascosporas es morfológicamente similar en *Petromyces nomius* como en *P. flavus* y *P. parasiticus*. Las diferencias entre teleomorfo son insuficientes para separar las especies. La formación de ascocarpos maduros es infrecuente con solo un 24% de los cruzamientos que producen ascosporas viables.

La mayoría de las cepas de *P. nomius* contiene un



Figuras 28. A-B-C- *Aspergillus flavus*. A. Cabezas monoseriadas en MEA, B. Cabezas biseriadas en MEA, C. Típicas cabezas radiadas en desarrollo juvenil y más tardío sobre un semilla de poroto, puede apreciarse al mismo tiempo el desarrollo de un mucoral (*Rhizopus oryzae*). Barras 10 µm

único gen de tipo de cruzamiento (MAT1-1 o MAT1-2), sin embargo, varias cepas contienen ambos genes MAT1-1/MAT1-2 y por ende son autofértiles y capaces de cruzarse con ambas cepas MAT1-1 y MAT1-2; por lo tanto, *P. nomius* es funcionalmente un **heterotálico** (Horn *et al.* 2011).

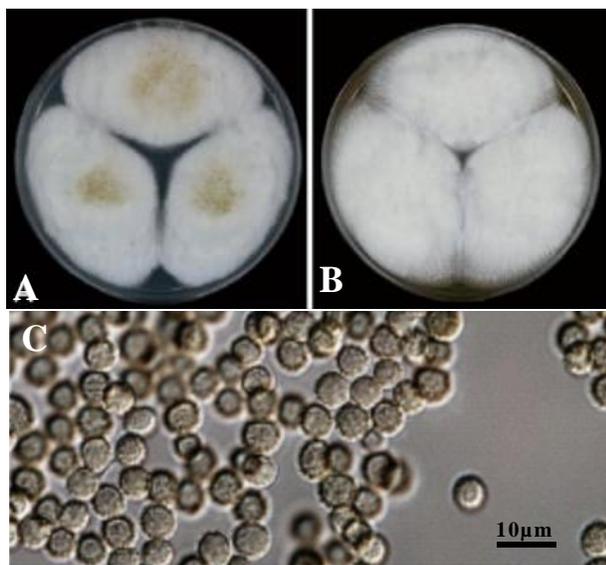
A. nomius, es una especie altamente variable morfológicamente, difícil de clasificar mediante los criterios convencionales (Kumeda & Asao (2001). *A. nomius*, que fue descrito primariamente por Kurtzman *et al.* (1987), puede ser más común de lo que se espera, debido a su dificultad para distinguirlo de *A. flavus* del cual es muy fácil confundirlo. Presenta una distribución cosmopolita, incluyendo aislamientos previos desde suelos rojos en la India, como oportunistas en colonias de termitas y causante de una queratitis (Moody & Tiler 1990; Chouvenec *et al.*, 2012; Manikandan *et al.*, 2009).

5. *Aspergillus novoparasiticus* Gonçalves, Stchigel, Cano, Colombo & Guarro. (Fig.30)

Etimología: en referencia las estrechas relaciones filogenéticas con *A. parasiticus*

Colonias en CYA durante 7 días a 25 y 37 ° C, 58 -63 mm; Colonias en MEA 25, 56 - 60 mm diám. en 7 días a 25 ° C, en MEA a 37 ° C, 52 -59 mm; pulverulentas verdosa-amarillas a oliva, consistentes en un denso fieltro de conidióforos, exudado hialino; reverso amarillo pálido a gris verdoso.

Micromorfología: Cabezas columnares, **predominantemente uniseriadas**, raramente **biseriadas**, oliva amarillo. Estipe hialino, verrugoso, usualmente con muchos septos cercanos a la vesícula, variables en largo, 150-500 x 8-10 µm, diám., justo bajo la vesícula, 9 -13 µm; vesícula espatulada a piriforme 20-28 x 18 - 23 µm, fértil en los 2/3 superiores,



Figuras 29- A-B-C. *A. nomius*, A. Colonias en CYA, B. en MEA, C. Conidios (Tomado de: Varga *et al.*, 2011)

métulas 9 -13 x 4 -5 µm; fiálides 3 -5 x 3 -11 µm, con collaretes visibles. Conidios globosos a subglobosos, lobados-reticulados (SEM), verdes, 3 -7 µm en diám. Esclerocios no observados. Teleomorfo no observado.

CREA a 25 ° C, 25 -35 mm, sin producción de ácido. Pobre crecimiento a 15 y 42 ° C. Los autores en un análisis de multilocus revelaron que *A. novoparasiticus* está estrechamente relacionado con *A. parasiticus*, pero difiere de este último en los datos de secuencias combinadas cercanas al 3,4%. Similares diferencias genotípicas se encontraron cuando se comparó *A. parasiticus* con *A. flavus*. *A. novoparasiticum* (identificado anteriormente como *A. flavus*), se ha aislado desde suelos en Bogotá y en el aire y esputo de un paciente leucémico de un hospital en San Paulo Brasil colectado por P. Godoy-Martinez & A. L. Colombo (Gonçalves *et al.*, 2012).

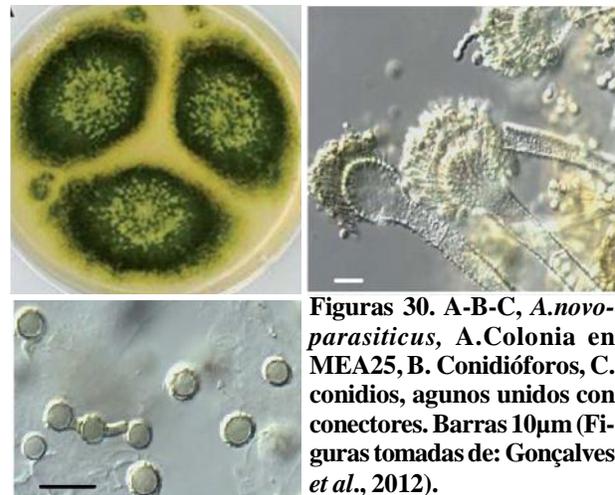
6. *Aspergillus oryzae* (Ahlb.) Cohn, (Fig.31)

(=*Aspergillus flavus* var. *oryzae* (Ahlb.) Kurtzman, M.J. Smiley, Robnett & Wicklow)

(=*Eurotium oryzae* Ahlb.,)

Colonias en CYA25 de crecimiento rápido en 7 días a 25°C, 50-70 mm, de color verde amarillento pálido, oliva amarillento o con diferentes tonalidades del verde, típicamente con tonos café oscuros en el tiempo, colonias, consistentes en un conjunto de largos conidióforos a menudo intermezclados con micelio aéreo. En CYA37, colonias de 50-65 mm. En MEA25, 60-70 mm, de color gris amarillento, de crecimiento rápido y a veces de aspecto delgado en grosor. Cabezas conidiales radiadas, de color verde amarillento pálido que se vuelven cafésosas en el tiempo. Pobre crecimiento en CREA y con un color crema en el reverso de AFPA. (Agar *Aspergillus flavus-parasiticus*).

Micromorfología. Conidióforos hialinos 150-300 x 10-25 µm, mayormente de paredes rugosas, con cabezas radiadas a laxamente columnares. Vesículas piriformes, clavadas a



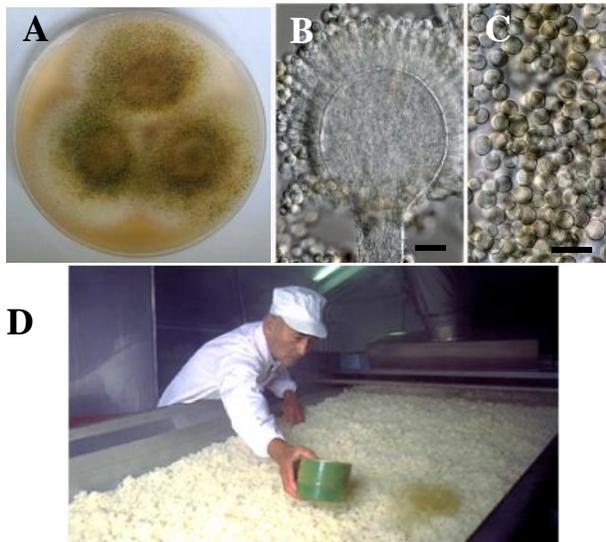
Figuras 30. A-B-C. *A. novoparasiticus*, A. Colonia en MEA25, B. Conidióforos, C. conidios, algunos unidos con conectores. Barras 10µm (Figuras tomadas de: Gonçalves *et al.*, 2012).

subglobosas, 22- 50 (-80) μm en diám., fiálides a menudo nacen directamente sobre la vesícula o sobre métulas (**uni o biseriadas**), usualmente, 10-12 x 3-5 μm . Métulas, 8-12 x 4-6 μm ; las métulas o fiálides cubren la entera superficie de la vesícula. Conidios elipsoidales cuando jóvenes, globosos a subglobosos al madurar, 4,5-8(-10) x 4,5-7 μm en diám., verdes a cafésosos, lisos a finamente rugosos. Esclerocios a veces presentes en MEA.

Patogenicidad. Esta especie ha sido reportada como responsable de invasiones de senos paranasales (Byard *et al.*, 1986), implicada en casos de meningitis (Gordon *et al.*, 1976), infecciones pulmonares (Retamal *et al.*, 1988), otomicosis (Rinaldi, 1983) y escleritis (Stenson *et al.*, 1982), entre otras patologías.

Esta especie se aísla predominantemente del suelo, detritus vegetales, semillas y en las fábricas de algodón. Se emplea frecuentemente en la fermentación de alimentos (Fig. 28 D), en la producción de saki, shoyu, miso, jugo de soya y como fuente de enzimas industriales. A pesar que la ocurrencia de *A. oryzae* es restringida generalmente a alimentos fermentados o ambientes industriales, normalmente no la encontramos en muestras de alimentos o en ambientes internos (www.aspergillus.org.uk/secure/.../oryzae.php).

La distinción con *A. flavus* es a veces dificultosa debido a las muchas cepas que presentan intergrados de similitud. Raper y Fennell (1965), consideraron el color y la rugosidad del conidio, como caracter importante, pero estos son a menudo difíciles de reconocer. Los típicos aislados de *A.*



Figuras 31 A-B-C.D. *A. oryzae* A. Colonia en CZA (Tomada de: *Fungi of Great Britain and Ireland*). B. Conidióforo monoseriado (Tomado de Varga *et al.*, 2011), C. conidios (tomada de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/copyright>), D. Fermentación tradicional del koji, (Tomada de: <http://muso-intl.com/seasoning/koji/index.html>)

oryzae difieren de *A. flavus* por sus colonias grandes flocosas, con cabezas conidiales gris amarillentas a oliva y menos densas que *A. flavus*, con conidios menos ornamentados y normalmente más grandes en tamaño (Varga *et al.*, 2011).

7. *Aspergillus parasiticus* Speare (Fig.32)

(=*Aspergillus toxicarius* Murak.

(= *Petromyces parasiticus* Horn *et al.*, 2009b)

Colonias en agar Czapek 25°C, 3-4,5 cm diám en 7 días ; a 37°C en 7 días 4- 6,5 cm diám. En MEA 25, 5-6 cm, con tintes más verdosos que otras especies en el grupo. Superficie de la la colonia aterciopelada a debilmente funiculosa, con consistente y abundantes cabezas conidiales que en masa tienen un color verde oscuro en 14 días. Reverso amarillo café claro *A. parasiticus* también puede producir esclerocios similares a los de *A. flavus*, globosos a elipsoidales, (250-)300-1200(-1300) μm , que se tornan rosados a café y finalmente café oscuro a negros.

Micromorfología. Conidióforos: 250-600(-900) x 5-11 μm largo (especialmente bajo la vesícula), incoloros o café pálidos, con paredes rugosas (lisas en *A. soyae*); vesícula esférica, 20-35 μm in diám., fértil en sus 3/4 de la superficie, generalmente **monoseriado** pero a veces hasta con un 20% de cabezas biseriadas ; métulas, 7-10 x 3,5-7 μm ; fiálides, 7-11 x 2,5-5 μm ; conidios esféricos, mayormente entre 4-6 μm en diám., con una pared distintivamente rugosa. Usualmente presencia de cabezas radiadas. Crece bien a 42°C.

Estructuras diferenciales. *A. flavus* y *A. parasiticus* se distinguen por su rápido crecimiento a 25 y 37°C y por su brillante color conidial amarillo verdoso (ocasionalmente amarillo). Las diferencias definitivas entre las 2 especies son: *A. flavus* produce conidios que son más bien variables en tamaño y forma, tienen relativamente una pared delgada que se presenta lisa a moderadamente rugosa. Los conidios de *A. parasiticus* son esféricos y relativamente de pared gruesa y rugosa. Las vesículas de *A. flavus* son usualmente grandes (hasta 50 μm en diám.) con metulas, mientras las de *A. parasiticus* raramente sobrepasan los 30 μm y las métulas son bastante poco comunes.

A. parasiticus produce aflatoxinas B1, B2, G1, G2 y virtualmente todos los aislados conocidos son toxicogénicos, mientras las cepas aflatoxigénicas de *A. flavus*, solo producen típicamente B1 y B2 y otra micotoxina no relacionada como el ácido ciclopiazónico (que no lo produce *A. parasiticus*) (Horn *et al.*, 1996).

A. parasiticus es bastante común en maní y almendras (Rodríguez *et al.* 2009), sin embargo, es bastante raro en otros alimentos. Es más restringido geográficamente si se compara con *A. flavus*. Análisis de variación entre 21 regiones intragenéricas han revelado distintos bloques de recombinaciones en *A. parasiticus*, así como eventos de recombinación se han observado también entre diferentes

grupos de compatibilidad vegetativa (Carbone *et al.* 2007). La equitativa distribución de los tipos de genes de cruzamiento en las poblaciones de *A. parasiticus* son también indicativas de la presencia de un estado críptico sexual (Ramírez-Prado *et al.* 2008).

En clínica no es una especie muy común, pero se ha aislado de cuadros de sinusitis no invasora (Salim & Runco, 2008) y en ambiente hospitalario (Fernández *et al.*, 2013 a).

8. *Aspergillus qizutongii* D.-M.Li, Y.-X Wang & R.-Y, Li (1998) (Fig.33)

Colonias en CYA a 25°C por 7 días, de crecimiento amplio, 58 -59 mm, consistentes en un capa de micelio fino, flocoso, radialmente surcado, más o menos zonado, cabezas conidiales abundantes, oliva-café; reverso amarillo claro. Colonias en MEA25 de dispersión amplia, 75-76 mm en 14 días, que consisten en un micelio fino, flocoso.

Micromorfología. Cabezas conidiales muy abundantes, de color oliva amarillo a oliva café, radiadas, 60-120 x 30-70 µm o laxamente columnares largas, 120-300 (-500) x 25-50 µm. Conidióforos que nacen del micelio basal y las hifas aéreas; estipe 100-300 (-500) x 6-8 µm (en la zona media), amarillo

pálido a café, derechos a sinuosos, conspicuamente rugosos, septados, que se dilatan en la parte superior; vesícula en forma de frasco, oliva pálido, 9-17 µm en diám., fértiles solo en la mitad superior o los 3/4, a menudo proliferantes (hasta unos 20 µm de largo), para formar una pequeña segunda cabeza conidial con una vesícula de 4-7µm de diám., vesículas **uniseriadas** con fiálides oliva pálido a amarillo verdoso, 7-12 x 2-4 µm. Conidios hialinos globosos a ovoides, 5-6,5 (-7)µm, lisos. Micelio compuesto por hifas anchas, gris verdosas, septadas, de paredes lisas, 2,5-5 µm. A 37°C crecimiento rápido, sin embargo, el crecimiento y las cabezas conidiales son reducidas como a 25°C.

Esta especie fue aislada de material clínico en un aspergiloma maxilar en China. *A. qizutongii* semeja *A. beijingsensis* en las dimensiones del conidióforo y los conidios

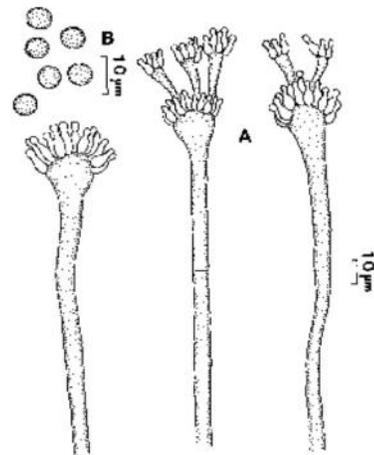
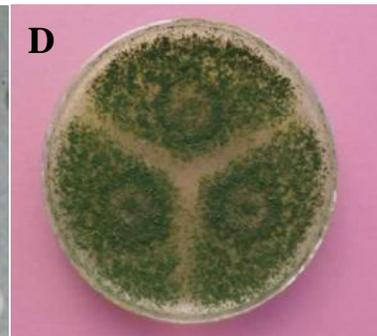
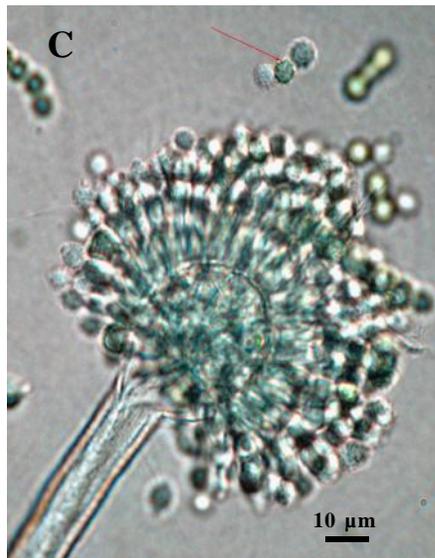
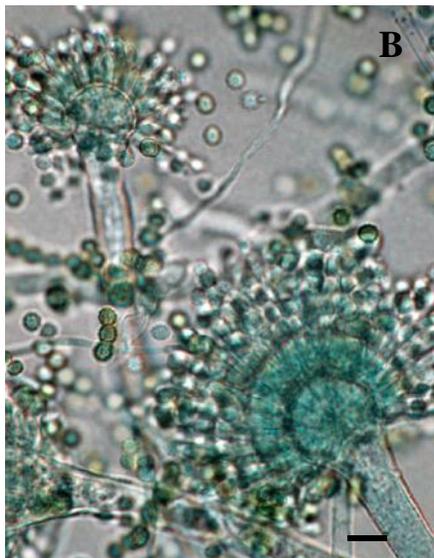
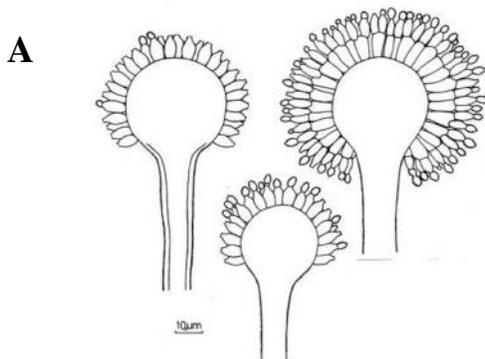


Figura 33. *A. qizutongii*. A. Conidióforos, fiálides y vesículas con prolongaciones apicales, B. Conidios (Tomado de: Li, D-M, *et al.*, 1998).



Figuras 32, A-B-C-D. *A. parasiticus*, A. Conidióforos mono y bi-seriados, B-C Conidióforos y conidios (observe la rugosidad del conidio indicado por la flecha), D Colonia en MEA (Tomada de: www.junglekey.fr)

y en sus células conidiógenas **uniseriadas**, pero difiere de esta especie en sus conspicua rugosa pared del conidióforo y el tamaño de las fiálides (7-12 x 2-4 μm en *A. qizutongii*, versus 10-19 x 4-5 μm en *A. beijingsensis*). La proliferación secundaria en la cabeza aspergilar se ha observado en varias especies de *Aspergillus*, así como en *A.flavus* (Raper & Fennell, 1965).

9. *Aspergillus tamaritii* Kita (Fig. 34)

(=*Aspergillus terricola* var. *bronzeus* Saincl.)

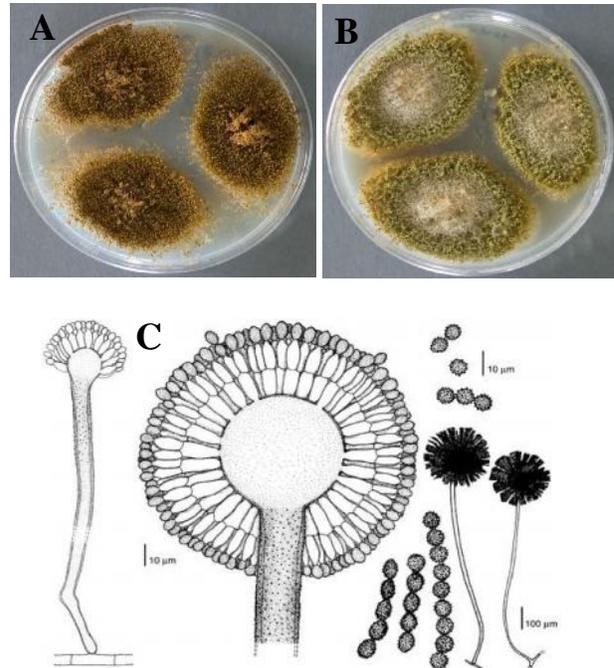
Colonias en CZA, de crecimiento rápido, 4-5 mm en 7 días, de color verde-café oscuro. Colonias en CYA25, 55-60 mm, con conidios de color oliva verdoso oscuro, aterciopeladas; micelio blanco usualmente inconspicuo, reverso incoloro, a tintes rojos a chocolate café; esporulación densa con abundantes conidióforos, que rápidamente se tornan verde cafosos oscuros; esclerocios, exudado y pigmento soluble ausente en todos los medios. En MEA 25, 60-65mm, colonias verdosas a café, con micelio usualmente inconspicuo, reverso café. Cabezas conidiales compactas, esféricas o laxamente radiadas, 500-600 μm , escaso crecimiento en CREA.

Micromorfología. Conidióforos hialinos, mayoritariamente de pared conspicuamente rugosa, 1-2 mm de largo, vesículas globosas a subglobosas 20-50 μm en diám. Células conidiógenas **uni y biseriadas**; fiálides que nacen directamente de las vesículas o sobre las métulas (generalmente en las cabezas grandes), 10-15 x 4-8 μm , métulas 7-10 x 4-6 μm . Métulas y fiálides cubren la entera superficie de la vesícula, conidios globosos a subglobosos, equinulados a tuberculados, 5- 7 μm , cafosos amarillos; se aprecia la pared interna y externa del conidio.

Esta especie de distribución mundial, se encuentran en especial en los trópicos ya sea en el suelo y alimentos, especias y maíz.

Existen 2 tipos de colonias de *A.tamaritii*, las de tipo A con colores sugestivos llamados la serie de bronce (Thom y Raper, 1945); una serie que incluye las cepas cercanas a *A. tamaritii* con colonias verde amarillas cuando jóvenes y amarillas a café al madurar. Estas cepas fueron usadas por Raper & Fennell (1965), para describir la especie. Horn *et al.*(1966), propusieron que las cepas de *A. tamaritii* tipo B fueron distintivas, separandolas de *A. tamaritii* y subsecuentemente descritas como una nueva especie, *Aspergillus caelatus* (Horn,1997). Las colonias de estos aislados son oliva, mientras el color de los aislados de *A. tamaritii* son oliva cafe. Mas aun los aislados de *A.caelatus* producen un pigmento difusible amarillo cafe pálido en el medio, muy evidente en agar Czapek, mientras los aislados de *A. tamaritii* no lo producen. El diámetro de las vesículas, ancho del estipe y el largo de éste en *A. caelatus* son significativamente mas pequeños que los de las estructuras del conidióforo de los aislados de *A. tamaritii*. El 69% de los

aislados de *A.caelatus* forman irregularmente esclerocios, mientras éstos no se presentan en ninguno de los aislados de *A. tamaritii*. Egel *et al.* (1994), reportaron no haber encontrado esclerocios en varios cultivos de *A. tamaritii*. Sin embargo, en semejanza a los aislados de *A. caelatus*, algunas cepas de *A.tamaritii* producen un pigmento café pálido en agar Czapek y producen esclerocios; sin embargo, los esclerocios son uniformemente pequeños en tamaño y distintamente piriformes en forma.



Figuras 34. A-B-C. *A.tamaritii*, A y B, colonias en CzA y MEA (Tomado de: Fungi of Great Britain and Ireland) C. Morfología de la cabeza aspergilar y sus elementos, conidióforos, métulas, fiálides, conidios (Tomado de: De Hoog *et al.*, 2000)

Clave morfológica tentativa de las especies del grupo *Flavus* de interes clinico

- 1.- - Cabezas conidiales predominantemente uni y biseriadas2
- Cabezas conidiales uniseriadas estrictas.....7
- 2.- - Conidios en tonos verdes, oliva a oliva amarillentos.....3
- Conidios de color cafe-ocre o dorados 6
- 3.- -Pared del conidio lisa a finamente rugosa 4
-Pared del conidio ampliamente rugosa 5
- 4.- - Conidios usualmente gris-amarillo a oliva cafe en el tiempo, lisos a finamente rugosos, 4-8,5 μm , conidioforo rugoso..... *A.oryzae* (Ahlburg) Cohn

- Conidios que permanecen verde oliva a verde pagayo con la edad en CYAS25, diametro de los conidios 3-5,5 μm , conidióforo rugoso.....*A.flavus* Link

- 5.- - Usualmente presencia de cabezas radiadas, predominantemente uniseriadas, conidios usualmente 3-6 μm en diam., rugosos, colonias en CYA25 permanecen con la edad de un color oliva oscuro o tonos del verde, conidióforos incoloros a café pálido, buen crecimiento a 42°C, esclerocios a veces presentes.....*A.parasiticus* Speare
- Cabezas columnares, predominantemente uniseriadas, conidios usualmente 3-7 μm en diám., rugosos, con conectores visibles, colonias verdosas a amarillas, verde oscuras en el tiempo en MEA, conidióforos hialinos, rugosos, usualmente con muchos septos bajo la vesícula, pobre crecimiento a 42°C....*A. novoparasiticus* Gonçalves, Stchigel, Cano, Colombo & Guarro.
- Conidios 5,5-8 (-13) μm , rugosos de gruesa pared visible, colonias en CYA25 usualmente de color oliva, café oscuro a verde café con la edad en CYA25*A.tamarii* Kita
- 6.- - Conidios pequeños, 3-3,5 (4) μm , lisos, cabeza conidial radiada cuando joven, conidios en amarillo a ocráceos, diámetro de las colonias en CYA37, usualmente menores de 55 mm, conidióforos lisos*A.alliaceus* Thom & Chtrch
- Conidios, 4-6(-8), rugosos, cabezas conidiales columnares a radiadas, colonias pálidas, color pastel-amarillo, diámetro de las colonias en CYA37, 73-85 mm, conidióforo rugoso*A. nomius* Kurtzman, B.W. Horn & Hessel.
- 7.- - Cabezas conidiales radiadas a laxamente columnares, de color amarillo a verde grisáceo, conidióforos largos, septados, de paredes gruesas, lisos; vesículas clavadas, fértiles en su mitad superior, 7-11 μm diám., conidios hialinos verde grisáceos en masa, verrugosos, globosos, 3,5-6,5 μm *A. beijingensis* D.M. Li, Y. Horie, Yu X. Wang & R.Y. Li.
- Cabezas conidiales oliva amarillo a oliva café, radiadas a laxamente columnares, largas, conidióforos amarillo pálido a café, derechos a sinuosos, rugosos, septados, vesícula en forma de frasco, oliva pálido, 9-17 μm en diám, fértiles en la mitad superior o los 3/4, a menudo proliferante. Conidios

hialinos globosos a ovoides, 5-6,5 (-7) μm , lisos.
.....*Aspergillus qizutongii* D,-.M.Li, Y,-X Wang & R,-Y, Li

D). *Aspergillus* subgénero *Circumdati* sección *Terrei* y *Flavipedes*

Esta sección incluye 2 grupos estrechamente relacionados *Terrei* y *Flavipedes*. Las especies de ambas secciones incluyen conidióforos biseriados y algunas especies son capaces de reproducirse sexualmente (fennelia-morph).

Los *Aspergillus* de la sección *Flavipedes*, incluyen especies con conidióforos lisos con tonos amarillos a café o incoloros y cabezas conidiales radiadas (laxamente columnares). Además, *A. neoniveus* y *A. flavipedes* producen cleistotecios por ser especies homotáticas (Samson *et al*, 2011). La especie *A. flavipedes*, ha sido causante de patología en humanos, en especial aspergilosis pulmonar, osteomielitis y onicomicosis (De Hoog *et al*, 2000).

Los *Aspergillus* de la sección *Terrei*, que incluye en la actualidad 14 especies, presentan conidióforos lisos incoloros y cabezas columnares compactas generalmente de color avellana o canela. Actualmente se ha descrito el ciclo sexual (heterotático) de *A. terreus* (Arabatzis & Vele-graki, 2013). *A. terreus* principalmente y *A. alabamensis*, son las especies mas oportunistas en el hombre (Lass-Florl *et al*, 2000; Baddley *et al*, 2003; Balajee, 2009; Fernández *et al.*, 2013b; entre una extensa bibliografía).

Ecología y distribución geográfica.

A. terreus, es un hongo cosmopolita, frecuentemente aislado de suelos desérticos, praderas, compost apilado y un contaminante de productos almacenados, tales como maíz, avena, maní y nueces en climas tropicales y subtropicales (Pitt & Hoking, 2009). Es prevalente en zonas templadas, tropicales y subtropicales y sus mitosporas pueden germinar bajo un amplio rango de temperaturas que oscilan entre los 11-13 y 45-48°C. Es tolerante a las altas concentraciones de NaCl y puede encontrarse en suelos pantanosos como en playas marinas (Domsh *et al*, 2007). Económicamente, tiene gran importancia en la industria por la producción de compuestos orgánicos de utilidad en medicina, tales como lovastatina y agentes para la reducción del colesterol, como la mevinolina que se ha encontrado solo en *A. terreus* y *A. neoafricanus* (Samson *et al*, 2011).

Análisis moleculr y extrolitos

La Sección *Terrei* ha sido recientemente analizada mediante estudios polifásicos (Samson *et al*, 2011), incluyendo análisis de seuencias de partes de genes de la beta-tubulina y calmodulina y de la región de los ITS, análisis macro y micromorfológicos y la examinación de los perfiles de extrolitos, para describir 3 nuevas especies en esta sección.

La micotoxina hepatotóxica citrinina, se a encontrado en 8 especies: *A. alabamensis*, *A. allahabadii*, *A. carneus*, *A. floccosus*, *A. hortai*, *A. neoindicus*, *A. niveus* y *A. pseudoterreus*. Mientras el extrolitro neurotóxico citreoviridina solo en 6 especies: *A. neoaffricanus*, *A. aureoterreus*, *A. pseudoterreus*, *A. terreus* y *A. neoniveus*.

Evidencia de la estructura de la población de *A. terreus* ligada a su origen geográfico. Varios estudios han demostrado que *A. terreus* es el agente etiologico predominante en la aspergilosis invasora en agunos centros medicos alrededor del mundo, incluyendo los de Houston, Texas e Innsbruck en Austria (Lass.Flor *et al* ,2007; Hachem *et al*, 2004; Neal *et al*, 2011). El exámen molecular de los aislados en estos centros, no muestran endemismo, concluyendose que otros factores como los niveles de inmunosupresión y previos empleos de antifungicos en el hospedador, pueden ser responsables en parte por la prevalencia de *A. terreus* en estos centros médicos. Neil *et al* (2011), demostraron mediante métodos moleculares discriminatorios, que *A. terreus* puede exhibir endemismo. Queda por resolver si los aislados obtenidos de otras partes del mundo se agrupan acorde al lugar geográfico. Esta caracterización molecular de hongos importantes en medicina puede ser de sumo interés para entender la ecología y la adquisición y transmision de estos organismos.

Patología clínica y resistencia a los antimicóticos

A. terreus complex es un patógeno poco común productor de pneumonías e infecciones diseminadas en individuos inmunodebilitados al igual que *A. fumigatus*. Sin embargo, ha sido también causa de onicomicosis (Fernández *et al*, 2013), lesiones en la córnea, queratitis sinusitis alérgica, otitis, infecciones cutáneas y aspergilosis pulmonar alérgica, entre otras. La diferencia entre *A. terreus* y *A. fumigatus*, lleva a importantes implicaciones terapéuticas. La rápida identificación del complejo *A. terreus* permite iniciar una apropiada terapia antifúngica con triazoles debido a la resistencia a los polienos por este patógeno. Walsh *et al*, (2003), encontraron in vivo la formación de aleurioconidios a lo largo de la pared lateral del las hifas de *A. terreus* (Fig 35). Estos aleurioconidios en los tejidos son semejante a los encontrados en cultivos y su reconocimiento en los especímenes clínicos, como el lavado broncoalveolar, aspirado con jeringas finas o la biopsia, puede permitir una identificación preliminar d *A. terreus* y un inicio de terapia con triazoles. Al parecer esta especie no es la la única en los *Aspergillus* sección *Terreus* y *Flavipedes* que puede producir estos aleurioconidios in vivo. No se han encontrado diferencias en la respuesta fagocítica del hospedador en *A. terreus* versus *A. fumigatus*; sin embargo, el rango de germinación conidial de *A. terreus* es lento. La cepas de *A. terreus* con el más alto mínimo inhibitorio y mínima

concentración letal de Anfotericina B, también tienen el contenido má bajo de ergosterol en la membrana. Si bien sabemos que *A. terreus* es resistente a la anfotericina B, hay estudios retrospectivos de casos de aspergilosis invasora por este agente (Steinbach *et al*, 2004), donde la mortalidad fue más baja con el empleo del Voriconazol.

1. *Aspergillus terreus* Thom. (Fig. 36)

Diámetro de las colonias en CYA25 (30) 40-60 cm. en 7 días (en CYA37, (55) 65 -70 mm), flocosas, radialmente surcadas, con margen irregular: micelio blanco, a veces amarillo centralmente, exudado amarillo a dorado cuando presente; reverso amarillo, dorado a café, con pigmento soluble a veces presente. Cabezas conidiales amarillentas blancas a vináceo-canela. Diámetro de las colonias en MEA25, (30) 40 -70 mm a 25°C, con cabezas conidiales columnares, color avellana a café; con esporulación más densa; reverso gris amarillento con pigmento soluble amarillo claro. Pobre crecimiento en CREA.

Micromorfología. En MEA37, vesículas 8-20 µm en diám., piriformes o hemiesféricas; estipes 48-220 x 4 -8,6 µm, lisos, incoloros, generalmente flexuosos. Cabezas **biseriadas estrictas** con métulas que cubren 1/2 a 2/3 de la vesícula, 4,8- 7,2 x 2-2,5 µm; fiálides 5,6-8 x 1,6 -2 µm. Conidios globosos a subglobosos, 1,5-2,5 µm en diám., lisos. Un segundo tipo de conidios (aleuroconidios) globosos a ovoides, hialinos, se producen a menudo lateralmente sobre un corto pedúnculo en las hifas sumergidas, 3,6 - 6,4 µm en diám. Metabolitos tóxicos importantes: Patulina, Citrinina, Citreoviridina.

Estructuras diferenciales: compactas columnas, naranja pálido a color habano canela, métulas empaquetadas y angostas (2-2,5 µm), conidios lisos y aleuroconidios en el micelio sumergido.

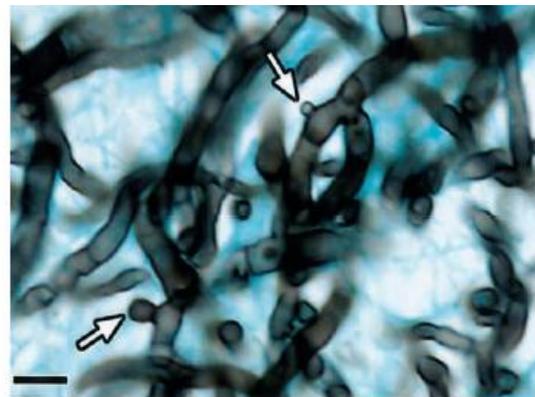
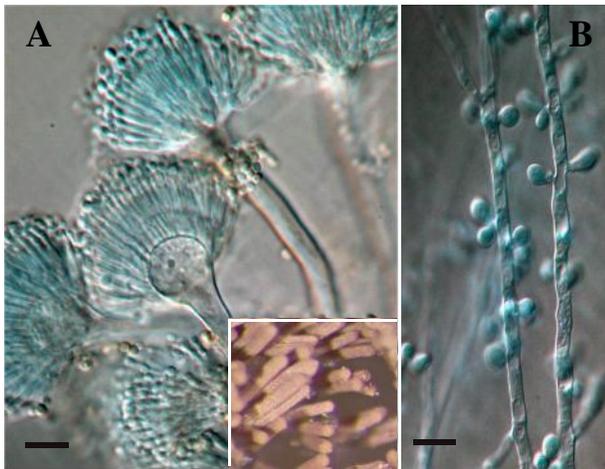


Figura 35. *A. terreus*. (Gomory metamina con tinción de plata). Las flechas indican la formación de aleurioconidios in vivo en los costados de elementos hifales (Tomado de: Walsh *et al*, 2003, Barra 10 µm)

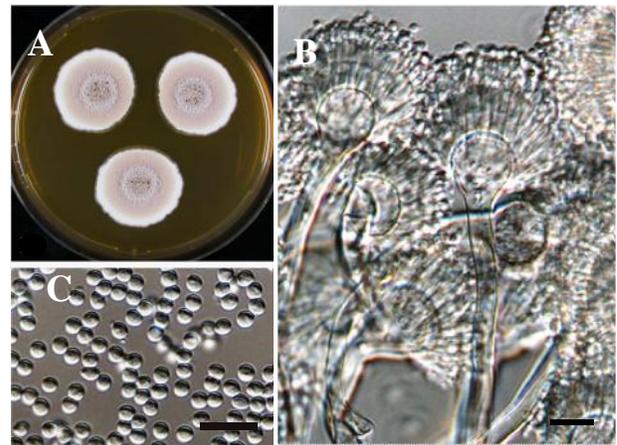


Figuras 36. A-B *A. terreus*. A. Típicas cabezas biserialadas estrictas y conidios (en el recuadro cabezas conidiales en cultivo, tomadas de: commons.wikimedia.org), B. Aleuroconidios desde el micelio vegetativo. Barras 10 µm.

2. *Aspergillus alabamensis* Balajee, Baddley, Frisvad & Samson (2009b) (Fig. 37)

Colonias en CYA25 y MEA25 de color amarillo-café a canela café, a menudo consisten en un denso fieltro de conidióforos, pero a veces muestran un crecimiento floco; en CYA25, presentan un crecimiento menor que en MEA y un pigmento difusible cafésoso alrededor de la colonia. En CYA la cepa crece a 37 y a 42°C. En MEA, cabezas conidiales densamente columnares, 30 a 50 µm en diám., 150-500 µm o más en largas columnas al madurar; conidióforos **biseriados**, lisos, incoloros, 100 - 250 x 4,5 - 6 µm. Vesículas subglobosas, 10 - 16 µm diám., fiálides, 5-7 x 2-2,5 µm, métulas estrechamente apretadas, 5,5 - 7,5 x 1,5 - 2 µm. Conidios globosos a ligeramente elípticos, lisos, 1,8-2,4 µm en diámetro. No hay referencia en la descripción en la producción de aleuroconidios en el micelio sumergido. Sin embargo, en un trabajo aspergilosis diseminada por *A. alabamensis* en un canino, hay registros en cortes histológicos (Gomory Grocott) de la presencia de hifas septadas con conidios laterales (aleuroconidios) (Burroughs *et al*, 2012; Samson *et al*, 2014).

Evidencias preliminares sugieren que los miembros de esta especie son a menudo aislados como colonizadores (Balajee *et al*, 2009). Sin embargo, ningún aislado de *A. alabamensis* encontrados en los estudios de Neil *et al*, (2011) fueron colonizadores. Balajee *et al*, (2009a), agregan que a pesar que *A. alabamensis* y *A. terreus* presentan muchos metabolitos secundarios similares. La citrinina es el metabolito característico en *A. alabamensis*, mientras en *A. terreus* es la mevinolina (ninguno de los aislados de *A. alabamensis* estudiados produce derivados de la lovastatina y citreoviridina). Estos patrones de metabolitos parecen ser las características principales para distinguir ambas especies y necesitan mayores estudios.



Figuras 37. A-B-C- *A. alabamensis*, A. Colonias en MEA, (A,B,C. tomadas de: Balajee *et al*, 2009b)

3. *A. flavipes* (Bain. & Sart.) Thom & Church. = *Fennelia flavipes* Wiley & Simmons. (Fig.38)

Colonias en 7 días en CYA25, (19) 24-33(40) mm diám., micelio blanco a crema a amarillento, con cabezas conidiales gris naranja, exudado amarillento café cuando presente; reverso sin color, amarillo pálido o café pálido; en MEA25, 28-31 (37) mm diám., cabezas conidiales naranja blanco a rojizo, micelio blanco, reverso gris amarillento a café dorado; CYA37, 8-20 mm diám.

Micromorfología. En MEA25, cabezas radiadas a laxamente columnares, estipes 200-800 x 4-8 µm, de paredes lisas a finamente rugosas, incoloros a café pálido, vesículas espatuladas a subglobosas 10-20 µm de diám., **biseriadas**, con métulas de 5-6 (8) x 2,5-4 µm, que cubren por lo menos la mitad superior de la vesícula, fiálides, 5-8 x 2-3 µm. Conidios globosos a subsféricos, lisos, 2-3 µm diám., de color naranja claro en masa. Aleuroconidios globosos se producen ocasionalmente en las hifas vegetativas. **Homotálico**, con cleistotecios amarillos cuando presentes, rodeados por células de Hulle redondas, ascos globosos, 10-12,5 µm diám., dehiscentes, usualmente con 4 esporas que maduran en unas 3 semanas, hialinas, a amarillo pálido, subglobosas, 6,4-8 x 5,6-6,4 µm, lisas, con un inconspicuo surco longitudinal.

Esta especie ha causado cuadros clínicos cutáneos y osteomielitis (Tack *et al*, 1982).

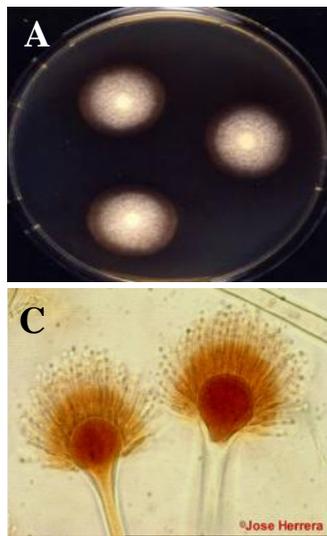
4. *Aspergillus niveus* Blochwitz (Fig.39).

(= *Fennelia neonivea* Samson.S.W.Peterson, Frisvald & Varga 2011)

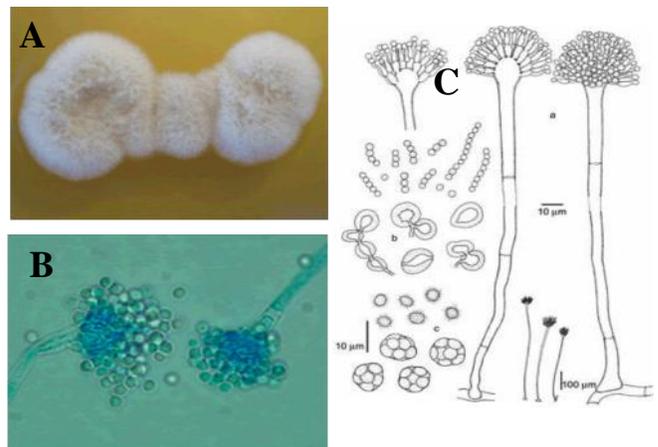
(= *Aspergillus eburneus* Biourge)

(= *Aspergillus niveus* var. *bifidus* Maia & Alecrim)

Diámetro de las colonias en CYA25, 20-38 mm; en MEA25, 23-38 mm, CYA37, 0 o 30-45mm. En CYA25, colonias blancas, aterciopeladas, planas o radialmente surcadas, ocasionalmente con sectores amarillos con cabezas



Figuras 38. A-B-C. A. flavipes. A. colonias en MEA, B. Estructura del conidióforo y conidios, C. Cabeza conidial biseriada (Figura A. tomada de: Aspergillus flavipes www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/ B, de: de Hoog et al, 2000)



Figuras 39. A-B-C- A.niveus. A . Colonia en MEA, B . Cabezas conidiales (Ambas tomadas de: www.aspergillus.org.uk) C. Conidióforos conidios, células Hülle, ascos y ascosporas (Tomado de: de Hoog et al, 2000).

conidiales blancas, blanco amarillentas o amarillo pálido; a veces presencia de células de Hülle, exudado incoloro, amarillo, rojo profundo a verde oscuro, café o verde, reverso café amarillento; pigmento soluble amarillo cuando presente. En MEA25, micelio blanco o con una base amarillenta a veces en sectores; cabezas conidiales blancas a naranja blanco, exudado ausente o incoloro, reverso incoloro o en tonos amarillo oscuro a café.

Micromorfología. En MEA25, cabezas radiadas a laxamente columnares; estipes 100-500 (1000) x 3-7 µm, incoloros, lisos, de paredes más gruesas en MEA que en CYA, con vesículas espatuladas o piriformes; predominantemente **biseriadas, ocasionalmente uniseriadas y biseriadas** en la misma vesícula, méticas muy entrecruzadas que cubren la parte superior o la mitad de las vesículas, 5-9 x 2-3,5 µm, fiálides 5-8 x 2-3 µm. Conidios globosos a subglobosos, lisos a finamente rugosos, (2)2,5-3,5 µm. Ocasionalmente aleuroconidios presentes. Células de Hülle cuando presentes, amarillas globosas a elongadas. Cleistotecios amarillos cuando presentes, con ascosporas lenticulares hialinas a levemente amarillentas 4,5-6 x 3,2-4,8 µm, con pared espinosa, un inconspicuo surco longitudinal y 2 crestas longitudinales muy bajas. (*Fennelia nivea* no corresponde a *A. niveus* sino que a una especie nueva *A. neoniveus* (Samson et al, 2011).

A.niveus es uno de las 2 persistentes especies de *Aspergillus* blancos: las cabezas conidiales de *A. niveus* son fértiles solo en la parte superior de la vesícula o en sus 2/3, mientras *A. candidus* es fértil en su entera superficie de la vesícula. El diámetro de las vesículas es mayor en *A.candidus*, mientras que en *A.niveus* es menor de 15 µm (Klich, 2002).

A. niveus ha sido reportado causando aspergilosis pulmonar (Auberger et al, 2008).

Clave politómica tentativa para las especies oportunistas de la sección *Terrei* y *Flavipedes*

1. - Colonias en CYA, generalmente mayores de 40 mm en 7 días a 25°C. Cabezas conidiales pequeñas compactamente columnares, conidios de color canela, predominantemente menores de 3 µm, aleuroconidios frecuentes en el micelio *A. terreus* Thom
 - Colonias en CYA generalmente menores de 40 mm en 7 días a 25°C 2
2. - Cabezas conidiales pequeñas compactamente columnares, conidios de color amarillo café a café canela, predominantemente menores de 3 µm, lisos, aleuroconidios ocasionalmente en el micelio vegetativo..... *A. alabamensis* Balajee, Braddley, Fisvad & Samson

(Nota. la sola morfología no permite la separación de esta especie de *A.terreus* deben emplearse métodos moleculares)

 - Cabezas radiadas a laxamente columnares, conidios lisos de color cafésoso-naranja oscuro, 2-3 µm, estipes de paredes lisas, a finamente rugosas, incoloros a café pálido, aleuroconidios a veces presentes en el micelio vegetativo. A veces presencia de ascomas *A.flavipes* (Bainier & Sartory)Thom &Church

- Cabezas radiadas a laxamente columnares, conidios lisos a finamente rugosos 2-3,5µm, estipes lisos, incoloros, aleuroconidios en el micelio vegetativo y células de Hülle a veces presentes, a veces ascomas presentes..... *A.niveus* Blochwitz

E). Subgenero *Nidulantes* seccion *Usti*

Raper & Fennell (1965) clasificaron *A. ustus* en el grupo *Aspergillus ustus* como **biseriado** junto a otras 4 especies: *A. panamensis*, *A. puniceus*, *A. conjunctus* y *A. deflectus*. Posteriormente Kozakiewicz (1989), en una revisión morfológica del grupo incluyó dos especies más: *A. pseudodeflectus* y *A. granulatus*, estableciendo el grupo *A. deflectus*, incluyendo *A. deflectus*, *A. pulvinus* y *A. silvaticus*. Peterson (2000), mediante biología molecular transfirió la mayoría de las especies de la sección *Usti* a la sección *Nidulantes*. De los miembros integrantes de la sección *Usti*, *A. ustus* es a menudo reportado como agente causal de infecciones invasivas, mientras *A. puniceus* y *A. pseudodeflectus* no se han reportado clínicamente. Solo hay un reporte de *A. granulatus*, como agente de una infección diseminada en un trasplante cardíaco (Fakih *et al.* 1995). Otros autores empleando la región parcial de la β-tubulina, calmodulina y el gen de la actina demostraron que las cepas de *A. ustus* recibidas desde múltiples centros (Panackal *et al.* 2006; Yildiran *et al.* 2006) revelaron la presencia de una nueva especie, que posteriormente se determinó como *A. calidoustus* (Varga *et al.* 2008). Las diferencias fenotípicas entre *A. ustus* y *A. calidoustus* son fáciles de reconocer ya que el primero no crece a 37 °C, mientras el último sí lo hace. Los *Aspergillus* de la sección *Usti sensu stricto* incluyen 8 especies: *A. ustus*, *A. puniceus*, *A. granulatus*, *A. pseudodeflectus*, *A. calidoustus*, *A. insuetus* y *A. keveii* juntos con *A.compatibilis* (= *Emericella heterothallica*).

1). *A. calidoustus* Vargas *et al.* (2008) (Fig.40)

Macromorfología. Diámetro de las colonias en 7 días en CYA25, 27-32 mm; CYA37, 20-35 mm; MEA 25, 35-48 mm; YES, 36-41mm. Color en CYA: gris amarillento, cafésoso-gris o gris café. Conidiación abundante en CYA: Reverso amarillo con beige u oliva café en el centro. Colonia flocosa con cabezas conidiales **biseriadas** laxamente columnares.

Micromorfología. Estipe: 150-300 x 4-7µm, liso, café; diámetro

de las vesículas, 9-15 µm, piriformes a ampliamente espatuladas, mótulas que cubren la mitad superior de la vesícula, 5-7 x 2,5-3,5 µm; fialides, 5-7x 2,3-3 µm. Conidios globosos, muy rugosos (0,5-08 µm de alto), 2,7-3,5 µm, con ambas paredes visibles; células de Hülle escasamente producidas, irregularmente elongadas, en grupos dispersos. Crecimiento en creatina débil a moderado, con micelio hialino, sin producción de ácido. **Diagnóstico diferencial:** buen crecimiento a 37 °C, reacción de Ehrlich violeta, conidios rugosos a equinulados. Especie similar: *A. pseudodeflectus*. **Distribución:** U.S.A., Turquía, Finlandia, Alemania, Holanda (al parecer más disperso). **Ecología:** aire interno, goma, material de construcción, humanos.

2). *Aspergillus insuetus* (Bainier) Thom & Church. (Fig.41)

(= *Sterigmatocystis insueta* Bainier)

Macromorfología. Diámetro de las colonias en 7 días en CYA25, 28-32 mm; CYA37 sin crecimiento; MEA25, 36-41mm; YES 23-30 mm. Color de la colonia: a veces negra en el centro con tonalidades grises a blancas con áreas con mrgenes flocosos estériles. Conidiación en CYA: moderada a buena, con reverso amarillo oliva a café negro en el tiempo. Cabezas conidiales: radiadas a hemisféricas, **biseriadas**.

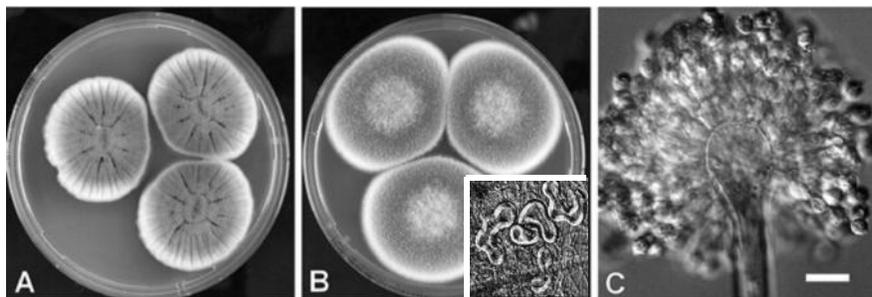
Micromorfología. Estipe: 300 x 48 mm, liso, café con vesículas de 11-16 µm, de diámetro, hemisféricas, esféricas a subglobosas mótulas que cubren la mitad de la vesícula, 4,5-6 x 2,5-3,5 µm; fialides, 6-7 x 2,5-3µm. Conidios, 3,2-4µm, globosos, distintamente rugosos y con sus 2 paredes visibles, fuligineos, con el color mayormente agregado en las equinulaciones de la pared celular y a n formando barras y tubérculos al mismo tiempo. Células de Hülle: variadamente recurvadas o curvas en grupos dispersos, reacción de Ehrlich: violeta, crecimiento en creatina: bueno con micelio hialino, sin producción de ácido. Especie similar: *A. keveii*

Distribución: Sudafrica, España, Argentina.

Diagnóstico diferencial: no crece a 37 °C, Ehrlich, violeta, restringido crecimiento en YES, conidios ampliamente equinulados.

Ecología: suelo (?), humanos

Patogenicidad: causante de infección subcutánea (Gené *et al.* 2001)



Figuras 40, A-B-C. *A. calidoustus*. A. Colonias creciendo en CYA y B en MEA a 25°C por 7 días (Celulas deHülle en el recuadro), C. Conidióforo y conidios, D. Barra, 10 µm (Figuras tomadas de: Vargas *et al.* 2008)

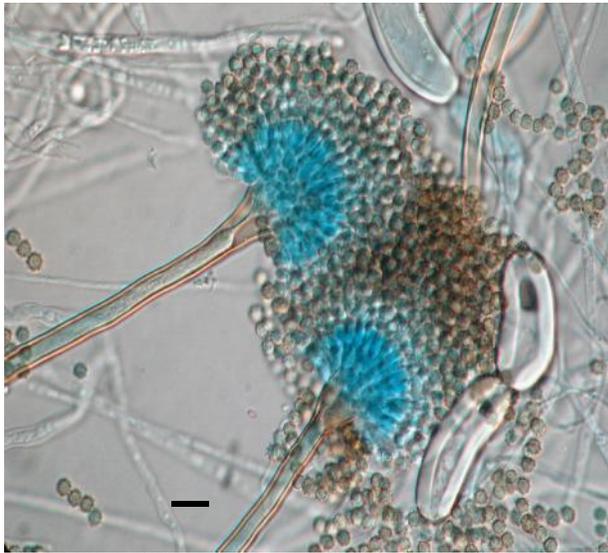


Figura 41. *Aspergillus insuetus*, Conidióforos vesículas, métulas, fiálides y conidios, al mismo tiempo se observa la presencia de células de Hülle alargadas, ligeramente curvas. Barra 10 μ m.

3). *Aspergillus ustus* (Bainier) Thom & Church (Fig.42)
(= *Sterigmatocystis usta* Bainier)
(= *Aspergillus humus* Abbott)

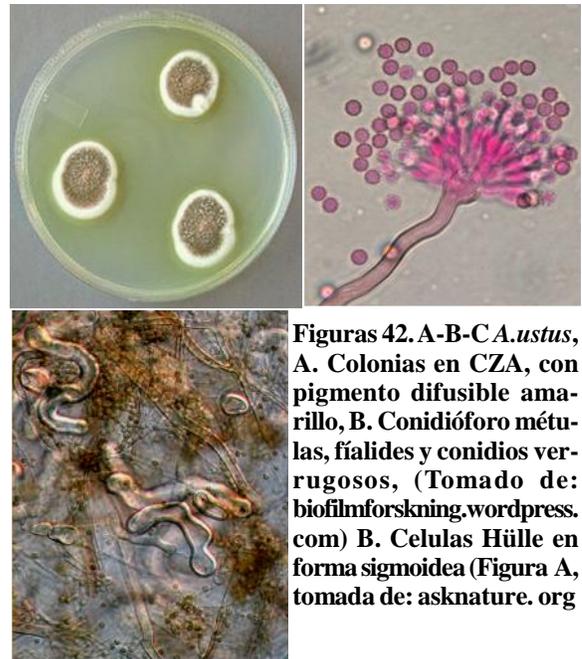
Macromorfología. Diámetro de las colonias a los 7 días en CYA25, 36-43mm; CYA37 no crece; MEA25, 39-46 mm; YES, 42-50 mm, colonias flocosas, planas, surcadas a umbonadas. Color de las colonias en CYA25: gris café a café oscuro con conidiación moderada. Reverso en (CZA): amarillo oliva con oliva café en el centro. Cabezas conidiales radiadas a hemiesféricas. Estipe: 400 x 3-6 μ m, generalmente sinuoso liso, cafésoso con la edad. Vesícula, 7-15 μ m, hemiesféricas a subglobosas. Métulas, 5-7 x 2,5-3 μ m, fialides, 4-7 x 3-4 μ m. Conidios, 3,2-4,5 μ m, globosos, rugosos, grises a amarillo oscuro, células de Hülle irregularmente ovoides a forma de salchicha. Ehrlich sin reacción. Crecimiento en creatina: buen crecimiento con micelio ligeramente amarillo, sin producción de ácido

Diagnóstico diferencial: No crece a 37 °C; buen crecimiento en CREA; células Hülle típicamente en forma de salchicha y

a veces forman masas irregulares no asociadas con el micelio pigmentado. Especie similar: *A.puniceus*. Distribución U.S.A., Polonia, Holanda, Canada, América del Sur. **Ecología:** suelo, aire interno, cereales, excrementos de murciélagos.

No se efectuó una clave dicotómica para estas 3 especies debido a que las diferencias fisiológicas son de mucha ayuda: para mayor información ver: J. Houbraken *et al*, 2007; Asgari *et al*, 2012.

La presente reseña sobre las especies oportunistas de *Aspergillus*, no involucra a todas las detectadas en la literatura, sino a las más comunes y de dispersa información. Es necesario para la obtención de mayores datos, recurrir a la literatura incluida y la presente en internet para una mejor comprensión acerca de ciertas descripciones de algunas especies. No se ha incluido *A.nidulans* (Fig. 3 A) y especies relacionadas debido a que su morfofisiología permite un buen diagnóstico primario y existe abundante información en la literatura.



Figuras 42. A-B-C. *A.ustus*, A. Colonias en CZA, con pigmento difusible amarillo, B. Conidióforo métulas, fialides y conidios verrugosos, (Tomado de: biofilmforskning.wordpress.com) B. Células Hülle en forma sigmoidea (Figura A, tomada de: asknature.org

REFERENCIAS

- Abdin, M.Z.; M alik, M. A. & Saleem, J.** (2010). Advances in molecular detection of *Aspergillus*: an Update. Arch. Microbol. Online 01 April. Springer DOI 10.1007/s00203-010-0563-y
- Alcazar-Fuoli, L.; Mellado, E.; Alastruey-Izquierdo, A. et al.** (2009). Species identification and antifungal susceptibility patterns of species belonging to *Aspergillus* section *Nigri*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 53:4514-4517
- Al-Musallam, A.** (1980). Revision of black *Aspergillus* species. Thesis, Utecht University, CBS Baarn
- Arabatzi, M. & Velegraki, A.** (2013). Sexual reproduction in the opportunistic human pathogen *Aspergillus terreus*. Mycologia 105:71-79
- Asgari, S.; Zare, R.; Reza, Zamanizadeh, H. & Rezaee, S.** (2012). Systematics of *Aspergillus* species of subgenus *Nidulantes* in Iran. Rostaniha 13:126-151
- Auberger, J.; Lass-Flörl, C.; Clausen, J. et al.** (2008). First case of breakthrough pulmonary *Aspergillus niveus* infection in a patient after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 62:336-339
- Baddley, J.W.; Pappas, P.G.; Smith, A.C. & Moser, S.A.** (2003). Epidemiology of *Aspergillus terreus* at a university hospital. Journal of Clinical Microbiology 41:5525-5529
- Balajee, S.A., J. Gribskov, M. Brandt, et al.** (2005a). Mistaken identity: *Neosartorya pseudofischeri* and its anamorph masquerading as *Aspergillus fumigatus*. J. Clin. Microbiol. 43:5996-5999
- Balajee, S.A.; Gribskov, J.L.; Hanley, E. et al.** (2005b) *Aspergillus lentulus* sp. nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. Eukaryot Cell 4:625-632
- Balajee, S.A.; Nickle, D.; Varga, J.; Marr, K.A.** (2006). Molecular studies reveal frequent misidentification of *Aspergillus fumigatus* by morphotyping. Eukaryot Cell 5:1705-1712.
- Balajee, S. A., J. Houbraeken, P. E. Verweij, S. B. et al.** (2007). *Aspergillus* species identification in clinical setting. Studies Mycol. 59:39-46
- Balajee, A.S.; Barbara, D.; Alexander, R.K. et al.** (2009). Molecular Identification of *Aspergillus* Species Collected for the Transplant-Associated Infection Surveillance Network. J. Clin. Microbiol. 47:3138-3141
- Balajee, S.A, et al.**; ISHAM Working Group on *A. terreus* (2009 b). *Aspergillus alabamensis*, a new clinically relevant species in the section *Terrei*. Eukaryotic Cell 8:713-722
- Barrs, V.R.; Beatty, J.A.; Lingard, A.E. et al.** (2007). Feline sino-orbital aspergillosis: an emerging clinical syndrome? Australian Veterinary Journal 85:N23
- Barrs, V.R. et al.** (2012). Sinonasal and sino-orbital aspergillosis in 23 cats: aetiology, clinicopathological features and treatment outcomes. Vet. J. 191:58-64
- Barrs, V.R. et al.** (2013). *Aspergillus felis* sp. nov., an Emerging Agent of Invasive Aspergillosis in Humans, Cats, and Dogs. PLoS ONE 8(6): e64871. doi:10.1371/journal.pone.0064871
- Batista, A.C.; Maia, H.S. & Alecrim, I.C.** (1955). Onicomycose produzida por «*Aspergillus clavato-nanica*» n. sp. Anais da Faculdade de Medecina da Universidade do Recife 15:197-203
- Bathoorn, Erik.; Escobar, S.E.; Sepehrkhoy, S, et al.** (2013). Involvement of the opportunistic pathogen *Aspergillus tubingensis* in osteomyelitis of the maxillary bone: a case report. BMC Infectious Diseases 13:59
- Bennett, J.W. & Klich, M.A.** (eds). (1992). *Aspergillus*. Biology and Industrial Applications, Boston, Butterworth-Heinemann.
- Bennett, J. W. & Klich, M.** (2003). Mycotoxins. Clin Microbiol Rev 16:497-516
- Bennett, J.W.** (2010). An overview of the genus *Aspergillus*. In: *Aspergillus: Molecular Biology and Genomics*. (Machida M, Gomi K, eds) Caier Academic Press, Portland: 1-17
- Bhatnagar, D.; Cleveland, T. E. & Payne, G. A.** (2000). Encyclopedia of Food Microbiology, pp. 72-79. London: Academic Press
- Burrough, E.; Deitz, K.; Kinyon, J. et al.** (2012). Disseminated aspergillosis in a dog due to *Aspergillus alabamensis*. Medical Mycology Case Reports 1:1-4
- Byard, R. W.; R.A. Bonin, & A. Haq.** (1986). Invasion of paranasal sinuses by *Aspergillus oryzae*. Mycopathologia 96:41-43.
- Campbell, C. K.** (1994). Forms of aspergillosis. In *The Genus Aspergillus*, pp. 313-320, Edited by K. A. Powell, A. Renwick & J. F. Peberdy. New York: Plenum.
- Carbone, I.; Jakobek, J.L.; Ramirez-Prado, J.H. & Horn, B.W.** (2007). Recombination, balancing selection and adaptive evolution in the aflatoxin gene cluster of *Aspergillus parasiticus*. Molecular Ecology 16:4401-4417
- Celar, F.** (2003). Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. Biol. Control 28:19-24
- Chouvenec, T.; Efstathion, C.A.; Elliott, M.L. & Su, Nan-Yao.** (2012). Resource competition between two fungal parasites in subterranean termites. Naturwissenschaften 99:949-958
- Christensen M.** (1982). The *Aspergillus ochraceus* group: two new species from western soils and a synoptic key. Mycologia 74: 210-225
- Coriglione, G.; Stella, G.; Gafa, et al.** (1990). *Neosartorya fischeri* var. *fischeri* (Wehmer) Malloch and Cain 1972 (anamorph: *Aspergillus fischerianus* Samson and Gams 1985) as a cause of mycotic keratitis. European Journal of Epidemiology 6:382-385
- Cotty, P.J.** (1997) Aflatoxin-producing potential of communities of *Aspergillus* section *Flavi* from cotton producing areas in the United States. Mycol. Res. 101:698-704
- De Hoog, G.S. et al.** (2000). En: Baarn and Delft, Editors. Atlas of clinical fungi. 2.ed. The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures 2000.
- Denning, D.W., A. Pleuvry & D.C. Cole.** (2011). Global burden of

- chronic pulmonary aspergillosis as a sequel to pulmonary tuberculosis. *World Health* 89:1-21
- Denning, D. W.** (2006). *Aspergillus* spp. and aspergillosis progress on many fronts. *Med. Mycol.* 44(Suppl. 1):S1-S2.
- Domsh, H.K.; Gams, W & Anderson T-H** (2007). *Compendium of soil fungi*. Aec. Ed.. IHW. Verlag, Eching
- Dyer, P.S. & O'Gorman, C-M.** (2012). Sexual development and cryptic sexuality in fungi: insights from *Aspergillus* species. *FEMS Microbiol. Rev* 36:165-192.
- Egel, D. S.; Cotty, P. J. & Elias, K. S.** (1994). Relationships among isolates of *Aspergillus* sect. *flavi* that vary in aflatoxin production. *Phytopathology* 84:906-912
- Ehrlich, K.C.; Yu, J. & Cotty, P.J.** (2005). Aflatoxin biosynthesis gene clusters and flanking regions. *J. Appl. Microbiol.* 99:518-527
- Ehrlich, K.C.; Beverly G. Montalbano, B.G. & Cotty, P.J.** (2007). Analysis of single nucleotide polymorphisms in three genes shows evidence for genetic isolation of certain *Aspergillus flavus* vegetative compatibility groups. *FEMS Microbiol. Lett.* 268:231-236
- Erjavec, Z.; Kluin-Nelemans, H. & Verweij, P. E.** (2009). Trends in invasive fungal infections, with emphasis on invasive aspergillosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 15: 625-633
- Fakih, M.G.; Barden, G.E.; Oakes, C.A. & Berenson, C.S.** (1995). First reported case of *Aspergillus granulosis* infection in a cardiac transplant patient. *Journal of Clinical Microbiology* 33: 471-473
- Fernández, M.; Cattana, M.; Rojas, F. et al.** (2013a). Original especies de *Aspergillus* en ambientes hospitalarios con pacientes pediátricos en estado crítico. *Rev. Iberoam. Micol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2013.09.007>
- Fernández, M. et al.** (2013b). *Aspergillus terreus* complex: an emergent opportunistic agent of Onychomycosis. *Mycoses* 56:477-481
- Franco, A.E.** (2006). *Aspergillus* sección Nigri : estudio fisiológico y molecular de especies ocratoxigenas. Tesis de Doctorado- Universitat Aut noma de Barcelona. Facultat de Veterinària, Departament de Sanitat i Anatomia Animals.
- Frisvad, J.C. & Thrane, U.** (1987). Standardized High-Performance Liquid Chromatography of 182 mycotoxins and other fungal metabolite based on alkylphenone indices and UV-VIS spectra (diode array detection). *J. Chromatogr.* 404:195-214
- Frisvad, J.C., Samson, R.A.** (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne triterpencillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology* 49: 1-173
- Frisvad, J.C.; Skouboe, P.; Samson, R.A.** (2005). Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp.nov. *Systematic and Applied Microbiology* 28:442-453
- Galagan, J.E.; Calvo, S.E.; Cuomo, C. et al.** (2005). Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. *Nature* 438:1105-1115
- Gams W, Christensen M, Onions AH, Pitt JI, Samson RA** (1985). Infrageneric taxa of *Aspergillus*. In: *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics*. (Samson, RA, Pitt JI, eds). New York, Plenum Press:pp. 55-62
- Geiser, D.M.; Klich, M.A.; Frisvad, J.C. et al.** (2007). The current status of species recognition and identification in *Aspergillus*. *Studies in Mycology* 59:1-10
- Geiser, D.M.** (2009). Sexual structures in *Aspergillus*: morphology, importance and genomics. *Medical Mycology* 47:S21-S26
- Gonçalves, S.S.; Stchigel, A.M.; Cano, J.F. et al.** (2012). *Aspergillus novoparasiticus*: a new clinical species of the section. *Med. Mycol.* 50:152-160
- Gene, J, Azon-Masoliver, A, Guarro, J. et al.** (2001). Cutaneous infection caused by *Aspergillus ustus*, an emerging opportunistic fungus in immunosuppressed patients. *Journal of Clinical Microbiology* 39:1134-1136
- Guarro, J.; Kallas, E.G.; Godoy, P. et al.** (2002). Cerebral aspergillosis caused by *Neosartorya hiratsukae*, in Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 8:989-991
- Goddard, P.A. & McCue, K.A.** (1996). Phenolic Compounds. In S. S. Block (Ed.), *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (5th ed., pp. 255-281). Philadelphia P.A.: Lipincott, Williams and Wilkins.
- Gordon, M.A.; R.S. Holzman; H. Senter; E.W. Lapa; M.J. Kupersmith.** (1976). *Aspergillus oryzae* meningitis. *JAMA* 235:2122-2123.
- Gyotoku, H, et al.** (2012). A case of bronchial aspergillosis caused by *Aspergillus udagawae* and its mycological features. *Medical Mycology* 50:631-636
- Hachem, R.Y.; Kontoyiannis, D.P.; Boktour, M.R. et al.** (2004). *Aspergillus terreus*: an emerging amphotericin B-resistant opportunistic mold in patients with hematologic malignancies. *Cancer* 101:1594-1600
- Hadrich, I.; Makni, M.; Ayadi, A. & Ranque, S.** (2010). Microsatellite Typing To Trace *Aspergillus flavus* Infections in a Hematology Unit ?. *J. Clin. Microbiol.* 48:2396-2401
- Hawksworth, L.D.** (2012). Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition. *IMA Fungus* 3:15-2
- Hedayati, M.T.; Pasqualotto, A.C.; Warn, P.A.; P. Bowyer, P. & Denning, D.W.** (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology* 153:1677-1692
- Hillary, L.; Mehl, & Peter, J. Cotty.** (2013). Genotypes Competition among *Aspergillus flavus* Nutrient Environments Influence. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:1473-1480
- Hong, S. B., S. J. Go, H. D. Shin, J. C. Frisvad, and R. A. Samson.** (2005). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species. *Mycologia* 97:1316-1329
- Hong, S-B.; Cho, H-S.; Shin, H-D.; Jens C. Frisvad, C.J.; Samson, R.A.** (2006). Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *Int. J. Syst. and Evol. Microbiol.* 56: 477-486
- Hong SB, Shin HD, Hong J, et al.** (2008). New taxa of *Neosartorya* and *Aspergillus* in *Aspergillus* section Fumigati. *Antonie van Leeuwenhoek* 93:87-98.

- Hong, S.B.; Kim, D-H.; Park, I-C.; Samson, R.A.; Shin, H.D. (2010a) Isolation and identification of *Aspergillus* section Fumigati strains from arable soil in Korea. *Microbiology* 38:1-6
- Hong, S-B.; Lee, M.; Kim, D-H. *et al.* (2013). *Aspergillus luchuensis*, an Industrially Important Black *Aspergillus* in East Asia. *PLoS ONE* 8(5):e63769. doi:10.1371/journal.pone.0063769
- Horn, B.W. *et al.* (1996). Association of morphology and mycotoxin production with vegetative compatibility groups in *A.flavus*, *A.parasiticus* and *A.tamarii*. *Mycologia* 88:574-587
- Horn, B.W. (1997). *Aspergillus caelatus* a new species in section *Flavi*. *Mycotaxon* 61:185-191
- Horn, B.W.; Ramirez-Prado, J.H. & Carbone, I. (2009a) Sexual reproduction and recombination in the aflatoxin-producing fungus *Aspergillus parasiticus*. *Fungal Genet Biol* 46:169-175
- Horn, B.W.; Ramirez-Prado, J.H. & Carbone, I. (2009b). The sexual state of *Aspergillus parasiticus*. *Mycologia* 101:275-280
- Horn, B.W.; Moore, G.G. & Carbone, I. (2009c). Sexual reproduction in *Aspergillus flavus*. *Mycologia* 101:423-429
- Horn, B.W.; Moore, G.G. & Carbone, I. (2011). Sexual reproduction in aflatoxin-producing *Aspergillus nomius*. *Mycologia* 103:174-183
- Horn, B.W.; Olarte, R.A.; Peterson, S.W. & Carbone, I. (2013). Sexual reproduction in *Aspergillus tubingensis* from section Nigri. *Mycologia*. 105:1153-1163
- Houbraken, J.; M. Due.; J. Varga. *et al.* (2007). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section Usti. *Studies in Mycology* 59: 107-128.
- Houbraken, P.J. & Samson, R.A. (2011). Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. *Studies in Mycol.* 70:1-51
- Houbraken, P.J. de Vries, R.P. & Samson, R.A. (2014). Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Advances in Applied Microbiology* 86:199-249
- Howard, S.J.; Harrison, E.; Bowyer, P.; Varga, J.; Denning, D.W. (2011). Cryptic species and azole resistance in the *Aspergillus niger* complex. *Antimicrob Agents Chemother.* 55:4802-4809
- Hubka, V. & Kolarik M. (2012). -tubulin paralogue tubC is frequently misidentified as the benA gene in *Aspergillus* section Nigri taxonomy: primer specificity testing and taxonomic consequences. *Persoonia.* 29:1-10
- Jarv, H.; Lehtmaa, J.; Summerbell, R.C. *et al.* (2004). Isolation of *Neosartorya pseudofischeri* from blood: first hint of pulmonary aspergillosis. *Journal of Clinical Microbiology* 42:925-928
- Jurjević, E.; Peterson, S.W.; Stea, G. *et al.* (2012). Two novel species of *Aspergillus* section Nigri from indoor air. *IMA Fungus.* 3:159-173
- Kamal, Rai K.R.A.; Chetan, R.C.R.S. & Radhika, K.R.K.J. (2010). Fungal infection of the ear: A common problem in the north eastern part of Haryana. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 74:604-607
- Kameswaran, M.; al-Wadei, A.; Khurana, P. & Okafor, B. C. (1992). Rhinocerebral aspergillosis. *J. Laryngol. Otol.* 106: 981-985
- Kano R, Shibahashi A, Fujino Y, Sakai H, Mori T, *et al.* (2013). Two cases of feline orbital aspergillosis due to *A. udagawae* and *A. viridinutans*. *J. Vet. Med. Sci.* 75:7-10
- Kaya, A. D. & Kiraz, N. (2007). In vitro susceptibilities of *Aspergillus* spp. causing otomycosis to amphotericin B, voriconazole and itraconazole. *Mycoses* 50:447-450.
- Kizis, D.; Natskoulis, P.; Nychas, G-J.E. & Panagou, E.Z. (2014). Biodiversity and ITS-RFLP Characterisation of *Aspergillus* Section Nigri Isolates in Grapes from Four Traditional Grape-Producing Areas in Greece. *PLoS ONE* 9: e93923. doi:10.1371/journal.pone.0093923
- Klich, M.A. (2002). Identification of common Aspergilli. CBS, Utrecht, The Netherlands.
- Klitgaard, A.; Iversen, A.; Andersen, M.R. *et al.* (2014). Ag-gressive dereplication using UHPLC-DAD-QTOF – screening extracts for up to 3000 fungal secondary metabolites. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406:1933-1943
- Kozakiewicz, Z. (1989). *Aspergillus* species on stored products. *Mycological Papers* 161:1-188
- Kredics, L.; Varga, J.; Kocsubé, S, *et al.* (2009). Infectious keratitis caused by *Aspergillus tubingensis*. *Cornea* 28:951-954
- Krijgheld, P. R.; Bleichrodt, G.J.; van Veluw, F. *et al.* (2013). Development in *Aspergillus*. *Studies in Mycology* 74:1-30
- Krimitzas, A.; Pyrri, I.; Vassili N. Kouvelis, N.V. *et al.* (2013). A Phylogenetic Analysis of Greek Isolates of *Aspergillus* Species Based on Morphology and Nuclear and Mitochondrial Gene Sequences. *BioMed Research International* Volume 2013, doi.org/10.1155/2013/260395
- Kück, U & Pöggeler, S. (2009). Cryptic sex in fungi. *Fungal Biol. Rev.* 23:86-90
- Kumeda, Y., & Asao, T (1996). Heteroduplex panel analysis, a novel method for genetic identification of *Aspergillus* section *Flavi* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:4084-4090
- Kurtzman, C.P.; Horn, B.W. & Hesseltine, C.W., (1987). *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie van Leeuwenhoek* 53:147-158
- Kwon-Chung, K.J. & Sugui, J.A. (2009). Sexual reproduction in *Aspergillus* species of medical or economic importance: why so fastidious? *Trends Microbiol* 17:481-487
- Larsen, T.O.; Smedsgaard, J.; Nielsen, K.F.; Hansen, M.E.; Frisvad, J.C. (2005). Phenotypic taxonomy and metabolite profiling in microbial drug discovery. *Nat Prod. Rep.* 22:672-695
- Lass-Flörl, *et al.* (2000). *Aspergillus terreus* infections in haematological malignancies: molecular epidemiology suggests association with in-hospital plants. *Journal of Hospital Infection* 46:31-35

- Lass-Flori, C.; Grif, K. & Kontoyiannis, D.P.** (2007). Molecular typing of *Aspergillus terreus* isolates collected in Houston, Texas, and Innsbruck, Austria: evidence of great genetic diversity. *J Clin Microbiol* 45:2686-2690
- Laszló, K., et al.** (2008). Black aspergilli in tropical infections. *Reviews in Medical Microbiology*: 19:65-78
- Lau, A.; Chen, S.; Sorrell, T. et al.** (2007). Development and clinical application of a panfungal PCR assay to detect and identify fungal DNA in tissue specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 45:380-385
- Li, D. M. et al.** (1998). Three new *Aspergillus* species isolated from clinical sources as a causal agent of human aspergillosis. *Mycoscience* 39:299-305
- Lonial, S.; Williams, L.; Carrum, G.; Ostrowski, M.; McCarthy, P.Jr.** (1997). *Neosartorya fischeri*: an invasive fungal pathogen in an allogeneic bone marrow transplant patient. *Bone Marrow Transplantation* 19:753-755
- Logrieco, A.F.; Haidukowski, M.; Susca, A. et al.** (2014). *Aspergillus* section Nigri as contributor of fumonisin B(2) contamination in maize. *Food Addit. Contam. Part. A Chem. Anal. Control. Expo. Risk. Assess.* 31:149-55
- Lopez-Diaz, T.M. & Flannigan, B.** (1997). Production of patulin and cytochalasin E by *Aspergillus clavatus* during malting of barley and wheat. *International Journal of Food Microbiology* 35:129-136
- Mahgoub, E. S. & el-Hassan, A. M.** (1972). Pulmonary aspergillosis caused by *Aspergillus flavus*. *Thorax* 27:33-37
- Malejczyk, K.; Sigler, L.; Fe, C.; Smith, W.** (2013). Invasive Sino-Orbital Mycosis in an Aplastic Anemia Patient Caused by *Neosartorya laciniosa*. *Journal of Clinical Microbiology* 51:1316-1319
- Malloch, D. & Cain, R. F.** (1972). The Trichocomataceae: Ascomycetes with *Aspergillus*, *Paecilomyces*, and *Penicillium* imperfect states. *Canadian Journal of Botany* 50:613-2628
- Manikandan P, Varga J, Kocsubé S, Samson RA, et al.** (2009). Mycotic keratitis due to *Aspergillus nomius*. *J. Clin. Microbiol.* 47:3382-33
- Manikandan, P. et al.** (2009) Mycotic Keratitis Due to *Aspergillus nomius*. *J. Clin. Microbiol.* 47:3382-3385
- McKenzie, R.A.; Kelly, M.A.; Shivas, R.G, et al.** (2004). *Aspergillus clavatus* tremorgenic neurotoxicosis in cattle fed sprouted grains. *Australian Veterinary Journal* 82: 635-638.
- Mayer, K.M.; Ford, J.; Macpherson, G.R. et al.** (2007). (2007). Exploring the diversity of marine-derived fungal polyketide synthases. *Can. J. Microbiol.* 53:291-302
- McNeil, M. M.; Nash, S. L.; Hajjeh, R. A. et al.** (2001). Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clinical Infectious Diseases*, 33:641-647
- Meijer, M.; Houbraken, J.A.; Dalhuijsen, S.; Samson, R.A; de Vries, R.P.** (2011). Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilli. *Stud Mycol.* 2011;69:1930
- Mellado, E.; Alcazar-Fuoli, L.; Garcia-Effro, et al.** (2006). New resistance mechanisms to azole drugs in *Aspergillus fumigatus* and emergence of antifungal drugs-resistant *A. fumigatus* atypical strains. *Medical Mycology* 44:S367-S371
- Moody, O, S. F. & Tyler, B. M.** (1990). Restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA of the *Aspergillus flavus* group: *A. flavus*, *A. parasiticus*, and *A. nomius*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:2441-2452
- Moragues, M.D.; Brena, S.; Miranda, I. et al.** (2006). Colonización pulmonar por *Neosartorya udagawae* en un paciente trasplantado de pulmón. VIII Congreso Nacional Micología, Barcelona, Spain, D15.
- Morgan, J.; Wannemuehler, K. A.; Marr, K. A.; et al.** (2005). Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell and solid organ transplantation: interim results of a prospective multicenter surveillance program. *Med. Mycol.* 43:(Suppl.1), S49-S58
- Murakami, H.** (1976). Origin of strain of the black Aspergilli. Taxonomic studies on Japanese industrial strains of the *Aspergillus* (Part 25). *J Brew Soc Japan* 71: 956-959
- Nam, H.-S.; K. Jeon, S.-W.; Um, et al.** (2010). Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: a review of 43 cases. *Int. J. Infect. Dis.* 14:e479-e482
- Neal, C.O.S. et al.** (2011). Global population structure of *Aspergillus terreus* inferred by ISSR typing reveals geographical subclustering. *BMC Microbiology* 11:203-230
- Noonim, P.; Mahakarnchanakul, W.; Varga, J.; Frisvad, J.C.; Samson, R.A.** (2008). Two novel species of *Aspergillus* section Nigri from Thai coffee beans. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58:1727-1734
- Nováková, A.; Hubka, V.; Dudová, et al.** (2014). New species in *Aspergillus* section *Fumigati* from reclamation sites in Wyoming (U.S.A.) and revision of *A. viridinutans* complex. *Fungal Diversity.* 64:253-274.
- O'Gorman, M.C.; Fuller, T.H. & Dyer, S.P.** (2009) Discovery of a sexual cycle in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* *Nature*, doi:10.1038/nature 07528
- Opal, S.M.; Reller, L.B.; Harrington, G. & Cannady, P. Jr.** (1986). *Aspergillus clavatus* endocarditis involving a normal aortic valve following coronary artery surgery *Reviews of Infectious Diseases* 8:781-785
- Pagano, L.; Caira, M.; Picardi, M., et al.** (2007). Invasive aspergillosis in patients with acute leukemia: Update on morbidity and mortality - SEIFEM-C report [6]. *Clinical Infectious Diseases*, 44:1524-1525
- Panackal, A.A.; Imhof, A.; Hanley, E.W. & Marr, K.A.** (2006). *Aspergillus ustus* infections among transplant recipients. *Emerging Infectious Diseases* 12:403-408.
- Padhye, A.A.; Godfrey, J.H.; Chandler, F.W & Peterson SW** (1994). Osteomyelitis caused by *Neosartorya pseudofischeri*. *Journal of Clinical Microbiology* 32:2832-2836.
- Palumbo, Jeffrey D. & O'Keefe, Teresa L.** (2013). Distribution and Mycotoxigenic Potential of *Aspergillus* Section Nigri Species in Naturally Contaminated Almonds. *Journal of Food Protection*®, 4:560-735

- Perrone, G.; Stea, G.; Epifani, F. et al.** (2011). *Aspergillus niger* contains the cryptic phylogenetic species *A. awamori*. *Fungal Biology* 115:1138-1150
- Perrone, G.; Epifani, F.; Rambukwelle, K.; Wijedasa, H.; Arseculeratne, S.** (2012). *Aspergillus aculeatinus* (new species) in chronic human dacryocystitis: The first report on its pathogenic role. *J. Infect. Dis. Antimicrob. Agents*. 29:89-97
- Perrone, G. et al.** (2013). *Aspergillus fijiensis* n. sp. isolated from bronchial washings in a human case of bronchiectasis with invasive aspergillosis: the first report. *Microbiology Discovery*. <http://www.hoajonline.com/journals/pdf/2052-6180-1-9.pdf>
- Person, A. K.; Chudgar, S. M.; Norton, B. L.; Tong, B. C. & Stout, J. E.** (2010). *Aspergillus niger*: an unusual cause of invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of Medical Microbiology* 59:834-838
- Peterson, S.W.** (2000). Phylogenetic relationships in *Aspergillus* based on rDNA sequence analysis. In: Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. (Samson R.A., Pitt J.I, eds). Amsterdam. Harwood, Academic Publishers: 323-355
- Peterson, S.W.** (2008). Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. *Mycologia* 100:205-226
- Pildain, M.B.; Frisvad, J.C.; Vaamonde, G. et al.** (2008). Two novel aflatoxin-producing *Aspergillus* species from Argentinean peanuts. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58:725-735
- Piontelli, E.; Rodrigo, C. & Amaro, J.** (2013). Notas micológicas XI: *Tritirachium oryzae*, *Paecilomyces formosus* y alcances en la Sección Fumigati de *Aspergillus* con énfasis en el complejo *Aspergillus viridinutans*. *Bol. Micol.* 28:58-70
- Pitt, J.I & Hocking, A.D.** (2009). *Fungi and food spoilage*. N.Y. Springer
- Ramirez-Prado, J.H.; Moore, G.G.; Horn, B.W.; Carbone, I.** (2008). Characterization and population analysis of the mating-type genes in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Fungal Genetics and Biology* 45:1292-1299
- Raper, K.B & Fennell, D.I.** (1965). The genus *Aspergillus*. Baltimore, Maryland. Williams & Wilkins.
- Retamal, C.; Diaz, C.; Salamanca, L.; Ferrada, L. & Alvarez, de Oro, R.** (1984). Aspergilosis pulmonar en Chile. Enfoque inmunológico. *Bol. Micol.* 2:11-16.
- Rinaldi, M.G.** (1983). Invasive aspergillosis. *Reviews of Infectious Diseases* 5:1061-1077
- Rodrigues, P.; Venancio, A.; Kozakiewicz, Z. & Lima, N.** (2009). A polyphasic approach to the identification of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Portuguese almonds. *International Journal of Food Microbiology* 129:187-193
- Ryan, K. J.** (2004). *Candida, Aspergillus*, and Other Opportunistic Fungi. In Ryan, K.J. and Ray, C.G. (Ed.), *Sherris Medical Microbiology* (4th ed., pp. 659-668). USA: McGraw-Hill.
- Salim, R. & Runco, R.** (2008). Aspergilosis sinusal no invasiva por *Aspergillus parasiticus* en niño inmunocomprometido. *Bol. micológico* 23:1-7
- Samson, R.A.** (1979). A compilation of the Aspergilli described since. *Stud Mycol* 1979; 18: 1-38
- Samson, R.A.** (1993). Taxonomy - current concepts of *Aspergillus* systematic In: Smith JE (ed.). *Aspergillus Biotechnology Handbooks*, vol. 7. New York: Plenum Press, pp. 1-22. Williams and Wilkins.
- Samson, R.A.** (1994). Taxonomy-Current concept of *Aspergillus* systematics In: *Aspergillus Biotechnology Handbooks*. Vol 7 (Ed, J.E. Smith) pp. 1-22 N.Y. Plenum Press.
- Samson, R.A.; Pitt, J.I. (eds).** (2000). Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
- Samson, R.A.; Houbraken, JAMP. et al.** (2004a). "New ochra-toxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*". *Studies in Mycology* 50:45-60
- Samson, R.A.; Hoekstra, E.S. & Frisvad, J.C.** (2004b). Introduction to Food- and Airborne Fungi. 7th edition. Centraal-bureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- Samson, A.R.; Hong, S-B. & Frisvald, C.J.** (2006). Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*. 44: S133-S148
- Samson, R.A.; Hong, S-B.; Peterson, S.W.; Frisvad, J.C.; Varga, J.** (2007a). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section Fumigati and its teleomorph *Neosartorya*. *Studies in Mycology* 59:147-207
- Samson, R.A.; Noonim, P.; Medijer, M. et al.** (2007b). Diagnostic tools to identify black aspergilli. *Studies in Mycology* 59:129-145
- Samson R.A. & Varga, J.** (2007). *Aspergillus* systematics in the genomic era. *Studies in Mycology* 59:1-206
- Samson, R.A., Varga, J., Witiask, M.S., & Geiser, D.M.** (2008). The species concept in *Aspergillus*: recommendations of an international panel. In: *Aspergillus Systematics in the Genomic Era*, Samson, R.A. & Varga, J., eds. (Utrecht: CBS Fungal Biodiversity Center) pp.71-79
- Samson, R.A. & Varga, J.** (2009). What is a species in *Aspergillus*? *Medical Mycology* 47: S13-S20
- Samson, R. & J. Varga.** (2010). Molecular Systematics of *Aspergillus* and its Teleomorphs. In: *Aspergillus: Molecular Biology and Genomics*. M. Machida & K. Gomi, Eds. pp.19-40
- Samson, R.; Houbraken, J.; Thrane, U. et al.** (2010b). Food and indoor fungi. Utrecht CBS KNAW biodiversity Center
- Samson, R.A.; Peterson, S.W.; Frisvad, J.C. & Varga, J.** (2011). New species in *Aspergillus* section *Terrei*. *Stud. Mycol.* 69: 39-55
- Samson, R.A.; Visagie, M.C.; Houbraken, J. et al.** (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. (www.fungaltaxonomy.org/files/8114/0673/5235/20140721_SIM78_Aspgillus_nomenclature.pdf -)
- Scheidegger, K. A. & Payne, G. A.** (2003). Unlocking the secrets behind secondary metabolism: a review of *Aspergillus flavus* from pathogenicity to functional genomics. *J. Toxicol* 22:4234-59

- Segal, B. H.** (2009). Aspergillosis. *New England Journal of Medicine*, 360:1870-1884
- Seye, F.; Faye, O.; Ndiaye, M.; Njie, E.; Afoutou, J.-M.** (2009). Pathogenicity of the fungus, *Aspergillus clavatus*, isolated from the locust, *Oedaleus senegalensis*, against larvae of the mosquitoes *Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae* and *Culex quinque-fasciatus*. *Journal of Insect Science* 9:art.53 7pp.
- Scott, E. M. & Gorman, S. P.** (1996). Glutaraldehyde. In S. S. Block (Ed.), *Disinfection, Sterilization, and Preservation* ed., pp. 361-381. Philadelphia P.A.: Lipincott Williams and Wilkins.
- Shuster, E.; Dunn-Coleman; Frisvad, J.C. & van Dijck, P. W. M.** (2002). On the safety of *Aspergillus niger* – a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 59:426-435
- Silva, Daiani M et al.** (2011). Identification of fungi of the genus *Aspergillus* section *nigri* using polyphasic taxonomy. *Braz. J. Microbiol.* 42:761-773
- Smedsgaard, J.** (1997). Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures. *J. Chromatogr. A*. 760: 264-270
- Smith, J.E.** (ed). (1994). *Aspergillus*. *Biotechnology Handbooks* 7, Plenum Press, New York.
- Soares, C.; Rodriguez, P.; Peterson S.W.; Lima, N.; Venan-cio, A.** (2012). Three new species of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from almonds and maize in Portugal. *Mycologia*, 104:682-697
- Sogui, J.A.; Vinh, D.C.; Nardone, G. et al.** (2010). *Neosartorya udagawae* (*Aspergillus udagawae*), an emerging agent of aspergillosis: how different is it from *Aspergillus fumigatus*? *J. Clin. Microbiol.* 48:220-228
- Susca, A.; Stea, G.; Mule, G. & Perrone, G.** (2007). Polymerase chain reaction (PCR) identification of *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis* based on the calmodulin gene. *Food Addit. Contam.* 24:1154-116
- Steinbach, W. J., D. K. Benjamin, Jr., D. P. Kontoyiannis, J. R. et al.** (2004). Infections due to *Aspergillus terreus*: a multicenter retrospective analysis of 83 cases. *Clin. Infect. Dis.* 39:192-198
- Stenson, J.; Brookner, A. & Rosenthal, S.** (1982). Bilateral endogenous necrotizing scleritis due to *Aspergillus oryzae*. *Ann. Ophthalmol.* 14:67-72
- Swilaiman, S.S.; O'Gorman, M.C.; Balajee, S.A. & Paul S. Dyer, S.P.** (2013). Discovery of a Sexual Cycle in *Aspergillus lentulus*, a Close Relative of *A. fumigatus*. *Eukaryotic Cell* 12:962-969
- Tack, K.J.; Rhame, F.S.; Brown, B. & Thompson, R.C.** (1982). *Aspergillus* osteomyelitis: report of four cases and review of the literature. *Am. J. Med.* 73:295-300
- Taylor, J.W.; Jacobson, D.J. & Fisher, M.C.** (1999). The evolution of asexual fungi: reproduction, speciation and classification. *Annu. Rev. Phytopathol.* 37:197-246
- Taylor, J.W.** (2011). One fungus = One name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR. *IMA Fungus* 2:113-120
- Thom, C. & Church, M.B.** (1926). *The Aspergilli*, Baltimore, U.S.A., William and Wilkins
- Thom, C., & K. B. Raper.** (1945). *A manual of the aspergilli*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Varga, J.; Vida, Z.; Tóth, B.; Debets, F.; Horie Y.** (2000). Phylogenetic analysis of newly described *Neosartorya* species. *Antonie Van Leeuwenhoek* 77:235-239
- Varga, J.; Rigo, K.; Toth, B.; Téren, J. & Kozakiewicz, Z.** (2003a). Evolutionary relationships among *Aspergillus* species producing economically important mycotoxins. *Food Technol Biotechnol* 41:29-36
- Varga, J.; Rigó, K.; Molnár, J. et al.** (2003b). Mycotoxin production and evolutionary relationships among species of *Aspergillus* section *Clavati*. *Antonie van Leeuwenhoek* 83:19-200
- Varga, J.; Due, M.; J.C. Frisvad, J.C. & Samson, R.A.** (2007a). Taxonomic revision of *Aspergillus* section *Clavati* based on molecular, morphological and physiological data. *Study in Mycology*. 59:89-106
- Varga, J.; Kocsubé, S.; Tóth, B.; Frisvad, J.C.; Perrone G, et al.** (2007b). *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriolate black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57:1925-1932
- Varga, J. & Samson, R.A.** (Eds.) (2008) *Aspergillus* in the genomic era. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands.
- Varga, J.; Houbraken, J.; Van Der Lee, H.A.; Verweij, P.E.; Samson, R.A.** (2008). *Aspergillus calidoustus* sp. nov., causative agent of human infections previously assigned to *Aspergillus ustus*. *Eukaryot. Cell* 7:630-638
- Varga, J.; Frisvad, J.C. & Samson, R.A.** (2009). A reappraisal of fungi producing aflatoxin. *World Mycotoxin Journal* 2:263-277
- Varga, J.; Frisvad, J.C.; Samson, R.A.** (2010). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Sparsi*. *IMA Fungus* 1:187-195
- Varga, J.; Frisvad, J.C.; Kocsubé, S. et al.** (2011). New and revisited species in *Aspergillus* section *Nigri*. *Studies in Mycology* 69:1-17
- Vargas, J. et al.** (2014). Occurrence of black *Aspergilli* in indoor environments of six countries. *Europe PubMed Central*. DOI: 10.2478/10004-1254-65-2014-2450
- Vermeulen, E.; Maertens, J.; Meersseman, P. et al.** (2013). Invasive *Aspergillus niger* complex infections in a Belgian tertiary care hospital. *Clinical Microbiology and Infection*. DOI: 10.1111/1469-0691.12394
- Verweij, P.E. & Brandt, M.E.** (2007). *Aspergillus, Fusarium* and other opportunistic moniliaceous fungi. In P. R. Murray (Ed.), (9th ed., pp.1802-1838). Washington D.C.: ASM Press
- Vinh, D.C.; Shea, Y.R.; Sugui, J.A. et al.** (2009) Invasive aspergillosis due to *Neosartorya udagawae*. *Clin. Infect. Dis.* 49:102-111
- Visage, C.M.; Varga, J.; Houbraken, J et al.** (2014). Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergilli (*Aspergillus* section *Circundati*). *Studies in Mycology* 78:1-61
- Vujanovic, V.; Smoragiewicz, W. & Krzysztyniak, K.** (2001).

Airborne fungal ecological niche determination as one of the possibilities for indirect mycotoxin risk assessment in indoor air. *Environ Toxicol* 16:1-8

Walsh, T.J.; Petraitis, V.; Petraitiene, R. et al. (2003). Experimental pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus terreus*: pathogenesis and treatment of an emerging fungal pathogen resistant to amphotericin B. *Journal of Infectious Diseases* 188: 305-319

Williams, J.P. & Hallsworth, J.E. (2009). Limits of life in hostile environments: no barriers to biosphere function? *Environmental Microbiology* 11:3292-330

Yaguchi, T.; Horie, Y.; Tanaka, R. et al. (2007). Molecular phylogenetics of multiple genes on *Aspergillus* section *Fumigati*

isolated from clinical specimens in Japan. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 48:37-46

Yildiran, S.T.; Mutlu, F.M.; Saracli, M.A. et al. (2006). Fungal endophthalmitis caused by *Aspergillus ustus* in a patient following cataract surgery. *Medical Mycology* 44:665-669

Yu, T.S.; Yeo, S.H.; Kim, H.S. (2004a). A new species of hyphomycetes, *Aspergillus coreanus* sp. nov., isolated from traditional Korean nuruk. *J Microbiol Biotech* 14:182-187

Yu, J. (2004b). Genetics and biochemistry of mycotoxin synthesis. In: *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications*, vol. 21, pp. 343-361, edited by D. K. Arora. New York: Marcel Dekker.