

# Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial

M<sup>a</sup> Lourdes Abarca

Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals (Microbiologia), Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Barcelona), Spain

## Resumen

Aunque *Aspergillus fumigatus* es el agente etiológico más común de la aspergilosis invasiva, otras especies del género como *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* y *A. nidulans* (*Emericella nidulans*) entre otras, pueden también producirla. En este artículo se revisará la taxonomía del género *Aspergillus* y las características de las especies implicadas con mayor frecuencia en la aspergilosis nosocomial.

## Palabras clave

Taxonomía, *Aspergillus* spp.

## Taxonomy and identification of the species involved in nosocomial aspergillosis

### Summary

Although *Aspergillus fumigatus* is the most common etiological agent of invasive aspergillosis, other *Aspergillus* spp. such as *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* and *A. nidulans* (*Emericella nidulans*) among others, have been also implicated. In this article, the taxonomy of the genus *Aspergillus* and the characteristics of the species most frequently isolated from patients with nosocomial aspergillosis are reviewed.

### Key words

Taxonomy, *Aspergillus* spp.

Las especies del género *Aspergillus* se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza pudiéndose aislar de una gran variedad de substratos. Gracias a la facilidad de dispersión de sus conidios y a su pequeño tamaño, éstos pueden permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo periodo de tiempo, por lo que el hombre se encuentra expuesto constantemente a su inhalación.

En los últimos años se ha producido un notable incremento en las infecciones fúngicas nosocomiales. Diferentes especies del género *Aspergillus* son una causa frecuente de micosis invasivas, normalmente fatales, en pacientes inmunocomprometidos en los países desarrollados [1,2]. Aunque *A. fumigatus* es el agente etiológico más común, otras especies del género como *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* y *A. nidulans* (*Emericella nidulans*) se consideran también responsables de infecciones invasivas. De forma mucho más esporádica, se han citado también otras especies como *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. restrictus*, *A. sydowii* y *A. ustus* entre otras [3-5].

La identificación hasta nivel de especie de estos hongos es cada vez más importante, ya que algunas especies de *Aspergillus* pueden presentar una mayor virulencia y una respuesta distinta a la terapia antifúngica. A continuación se revisa de forma resumida la taxonomía del género *Aspergillus* y las características de las especies implicadas con mayor frecuencia en la aspergilosis nosocomial.

## Taxonomía del género *Aspergillus*

La taxonomía es una disciplina dinámica y esto conlleva la realización de cambios en la nomenclatura que no siempre son de fácil comprensión. Recientemente, se han producido importantes cambios en la taxonomía de *Aspergillus* spp y sus teleomorfos. Desde 1965, el texto por excelencia sobre el género ha sido "The genus *Aspergillus*" de Raper y Fennell [6]. En esta monografía se aceptaban 132 especies subdivididas en 18 grupos. Samson [7] realizó una recopilación de las especies y variedades descritas posteriormente, con una revisión crítica sobre la validez de los taxones publicados.

La sistemática actual de *Aspergillus* se ha visto enormemente influida por los trabajos presentados en dos reuniones científicas dedicadas exclusivamente a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* [8,9]. En ellas se realizaron importantes contribuciones multidisciplinarias a la taxonomía del género, y en especial se revisó su nomenclatura siguiendo las normas del código internacional de nomenclatura botánica (ICBN). La monografía de Raper y Fennell [6] presentaba serios problemas de adecuación a dicha normativa, ya que no se había tenido en cuenta la prioridad de los nombres más antiguos y las especies nuevas descritas no estaban tipificadas. Los nombres utilizados fueron tipificados por Samson y Gams [10] y Kozakiewicz [11]. Además, la clasificación infragenérica

### Dirección para correspondencia:

Dra. M<sup>a</sup> Lourdes Abarca  
 Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals (Microbiologia)  
 Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona,  
 08193 Bellaterra (Barcelona), Spain  
 Tel.: +34 93 5811542; Fax: +34 93 5812006  
 E-mail: Lourdes.Abarca@uab.es

en grupos no es aceptada por el ICBN, por lo que Gams *et al.* [12] reclasificaron el género y lo dividieron en 6 subgéneros, cada uno de los cuales dividido a su vez en una o más secciones (Tabla 1) que se corresponden con los grupos descritos por Raper y Fennell [6]. Por último, muchas especies del género *Aspergillus* presentan un teleomorfo dentro de los ascomicetos, pero Raper y Fennell [6] retuvieron el nombre *Aspergillus* tanto para el teleomorfo como para el anamorfo, en contraposición con el artículo 59 del ICBN. Gams y Samson [13] y Kozakiewicz [11] se encargaron de realizar los cambios necesarios para su adecuación.

**Tabla 1.** Clasificación actual del género *Aspergillus*<sup>a</sup>.

Subgénero	Sección	Sinónimo <sup>b</sup>	Especie tipo	Teleomorfo
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>	Grupo <i>A. glaucus</i>	<i>A. glaucus</i>	<i>Eurotium</i>
	<i>Restricti</i>	Grupo <i>A. restrictus</i>	<i>A. restrictus</i>	--
<i>Fumigati</i>	<i>Fumigati</i>	Grupo <i>A. fumigatus</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>Neosartorya</i>
	<i>Cervini</i>	Grupo <i>A. cervinus</i>	<i>A. cervinus</i>	--
<i>Ornati</i>		Grupo <i>A. ornatus</i>	<i>A. ornatus</i>	<i>Warcupiella</i> , <i>Sclerocleista</i> , <i>Hemicarpeneteles</i>
<i>Clavati</i>	<i>Clavati</i>	Grupo <i>A. clavatus</i>	<i>A. clavatus</i>	--
<i>Nidulantes</i>	<i>Nidulantes</i>	Grupo <i>A. nidulans</i>	<i>A. nidulans</i>	<i>Emericella</i>
	<i>Versicolores</i>	Grupo <i>A. versicolor</i>	<i>A. versicolor</i>	--
	<i>Usti</i>	Grupo <i>A. ustus</i>	<i>A. ustus</i>	--
	<i>Terrei</i>	Grupo <i>A. terreus</i>	<i>A. terreus</i>	--
	<i>Flavipedes</i>	Grupo <i>A. flavipes</i>	<i>A. flavipes</i>	<i>Fennellia</i>
	<i>Wentii</i>	Grupo <i>A. wentii</i>	<i>A. wentii</i>	--
<i>Circumdati</i>	<i>Flavi</i>	Grupo <i>A. flavus</i>	<i>A. flavus</i>	--
	<i>Nigri</i>	Grupo <i>A. niger</i>	<i>A. niger</i>	--
	<i>Circumdati</i>	Grupo <i>A. ochraceus</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>Petromyces</i>
	<i>Candidi</i>	Grupo <i>A. candidus</i>	<i>A. candidus</i>	--
	<i>Cremeri</i>	Grupo <i>A. cremerus</i>	<i>A. cremerus</i>	<i>Chaetosartorya</i>
	<i>Sparsi</i>	Grupo <i>A. sparsus</i>	<i>A. sparsus</i>	--

a: adaptada de Gams *et al.* [12]

b: grupos establecidos por Raper y Fennell [6]

Aunque una de las normas de nomenclatura es que tengan prioridad los nombres de los sinónimos más antiguos, su estricta aplicación en el género *Aspergillus* implicaría sustituir algunos nombres que son ampliamente utilizados. Con el fin de proteger los nombres en uso, la Comisión Internacional de *Penicillium* y *Aspergillus*, que depende de la División de Micología de la "International Union of Microbiological Societies" (IUMS), elaboró una lista de 186 especies de *Aspergillus* y 72 teleomorfos con el anamorfo *Aspergillus* [14], que fue presentada en el "XV International Botanical Congress" celebrado en Tokio en 1993. Aunque formalmente no pudo ser aprobada, se recomienda encarecidamente a los taxónomos no adoptar nombres distintos a los de la lista [15].

## Características morfológicas del género *Aspergillus*

*Aspergillus* es un género mitospórico que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios (Figura 1).

El conidióforo característico de *Aspergillus*, aunque es una estructura unicelular posee tres partes bien diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), estipe (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas. Las cabezas conidiales que sólo presentan fiálides se denominan uniseriadas, y las que presentan fiálides y métulas, biseriadas.

Algunos autores [16] propusieron un cambio en la nomenclatura de las estructuras morfológicas de *Aspergillus*. Así, se recomienda sustituir los términos "vesícula", "estipe" y "célula pie" por "ápice hinchado", "parte media" y "parte basal" del conidióforo respectivamente, ya que se trata de tres partes de una misma estructura. Los términos "fiálide" y "métula" se recomienda que sean sustituidos por "célula conidiógena" y "célula que soporta la célula conidiógena" o simplemente "célula soporte", respectivamente. Aunque dichas propuestas se recogen en la última edición del Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi [17], no parecen haber tenido

mucha aceptación, ya que la mayoría de investigadores continúan utilizando la terminología tradicional [18].

Algunas de las especies pueden reproducirse sexualmente. Las formas perfectas de *Aspergillus* se incluyen en los géneros *Chaetosartorya*, *Dichlaena*, *Emericella*, *Eurotium*, *Fennellia*, *Hemicarpeneteles*, *Neosartorya*, *Petromyces*, *Sclerocleista* y *Warcupiella* (Tabla 1). Estos estados teleomórficos se encuentran en la familia *Trichocomaceae*, del orden de los *Eurotiales*, perteneciente al phylum *Ascomycota* [17].

La clasificación del género *Aspergillus* en subgéneros y secciones está basada fundamentalmente en cuatro

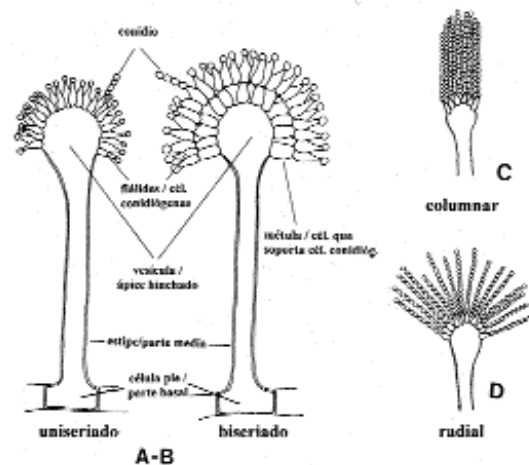


Figura 1. Estructuras morfológicas del género *Aspergillus* (adaptado de Minter *et al.* [16] y Klich y Samson [19]). A-B: conidióforos; C-D: Cabezas conidiales.

**Tabla 2.** Diámetro de las colonias y dimensiones de las estructuras comúnmente utilizadas en la identificación de las especies consideradas.

Característica	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. terreus</i>	<i>E. nidulans</i>
Diámetro colonias (mm)					
CYA 25°C	45-70	65-70	55-70	30-50	40-50
MEA 25°C	45-65	60-70	50-70	30-65	35-60
CY20S 25°C	40-60	65-70	68-70	45-70	40-50
CYA 37°C	60-70	55-65	50-70	50-65	50-70
Estipe (longitud, µm)	200-400	400-800	400-3000	100-250	70-150
Vesícula (anchura, µm)	18-30	20-45	30-75	12-20	8-12
Métulas (µm)	-	8-10 x 5-7	12-20 x 3-6	5-7 x 2-3	5-7 x 2-3
Fiálides (µm)	5-9 x 2-3	8-12 x 3-4	7-10 x 3-4	7 x 1,5-2,5	5-8 x 2-3
Conidios (µm)	2-3	3-6	3,5-4,5	2-2,5	3-4
Cleistotecios (µm)	-	-	-	-	100-250
Ascosporas (µm)	-	-	-	-	4,6 x 3,5-4
Células de Hülle (µm)	-	-	-	-	10-25

características: presencia de teleomorfo, presencia o ausencia de métulas; disposición de las métulas o fiálides sobre la vesícula y coloración de las colonias.

### Características utilizadas en la identificación de las especies

Los criterios seguidos hasta el momento para clasificar las especies del género *Aspergillus* y sus teleomorfos son principalmente morfológicos. No obstante, en algunas secciones se han realizado además estudios bioquímicos o moleculares encaminados a resolver algunos de los problemas planteados en su clasificación.

El sistema de identificación propuesto por Klich y Pitt [19], utiliza tres medios de cultivo y dos temperaturas de incubación. Cada cepa debe sembrarse en tres puntos en dos placas de medio CYA (Czapek Yeast extract agar), una placa de CYA con 20% de sacarosa (CY20S), y una placa de MEA (agar extracto de malta). Una de las placas de CYA se incuba a 37°C y las restantes a 25°C. Tras siete días de incubación se procede a la observación de las características morfológicas macroscópicas y microscópicas de los cultivos.

#### Principales características macroscópicas:

- diámetro de las colonias
- coloración del anverso y del reverso de las colonias
- presencia de esclerocios
- presencia de gotas de exudado
- presencia de pigmento difusible
- textura de las colonias

#### Principales características microscópicas:

- disposición de las métulas o fiálides sobre la vesícula
- longitud y anchura de los estipes
- forma y diámetro de las vesículas
- longitud y anchura de las métulas y fiálides
- forma, diámetro, ornamentación y color de los conidios
- forma, tamaño y color de las células de Hülle
- forma, tamaño y color de las ascosporas

### Descripción de las especies más frecuentemente implicadas en la aspergilosis nosocomial

Se describen a continuación las especies que con mayor frecuencia se asocian con procesos de aspergilosis nosocomial. Los diámetros de las colonias desarrolladas en los distintos medios de cultivo y temperaturas de incubación, así como las dimensiones de las estructuras microscópicas más comúnmente utilizadas en su identificación se detallan en la tabla 2.

### *Aspergillus fumigatus* Fresenius

**Características macroscópicas:** Colonias en CYA y CY20S de color verde-azulado a verde-grisáceo; micelio blanco; reverso incoloro, amarillento, marrón rojizo o verde; textura aterciopelada a flocosa, plana o con surcos radiales. Colonias en MEA con la misma coloración que en CYA; micelio blanco apenas visible; reverso incoloro, amarillo pálido o gris; pigmento difusible del mismo color que el reverso cuando está presente.

**Características microscópicas** (Figura 2): Cabezas conidiales uniseriadas y predominantemente columnares; estipes hialinos y lisos; vesícula piriforme o en forma de cuchara; fiálides ocupando la mitad o dos tercios de la vesícula. Conidios globosos a ovoides, lisos o ligeramente rugosos.


 Figura 2. *Aspergillus fumigatus*. Conidióforo.

**Nota:** Los aislamientos clínicos pueden dar lugar a colonias más floccosas y blanquecinas debido a una menor esporulación. Se han descrito siete variedades en esta especie, aunque no todas han sido posteriormente aceptadas [7,11].

### *Aspergillus flavus* Link

**Características macroscópicas:** Colonias en CYA y CY20S de color verde oliváceo a verde amarillento; micelio blanco; esclerocios, cuando están presentes, de color marrón oscuro a negro, variables en forma y tamaño; reverso incoloro, marrón claro o anaranjado; textura de la colonia variable, generalmente lanosa o flocosa. Colonias en MEA de color oliváceo y ocasionalmente verde oscuras; micelio blanco, apenas visible; esclerocios a veces presentes de color marrón a negro, variables en tamaño y forma; reverso generalmente incoloro y a veces amarillo pálido. Colonia flocosa, especialmente en la zona central.

**Características microscópicas** (Figura 3): Cabezas conidiales uniseriadas y biseriadas, principalmente radiales; estipes normalmente rugosos, hialinos o de color marrón pálido. Vesícula esférica; métulas ocupando prácticamente toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos o elipsoidales, lisos o ligeramente rugosos.

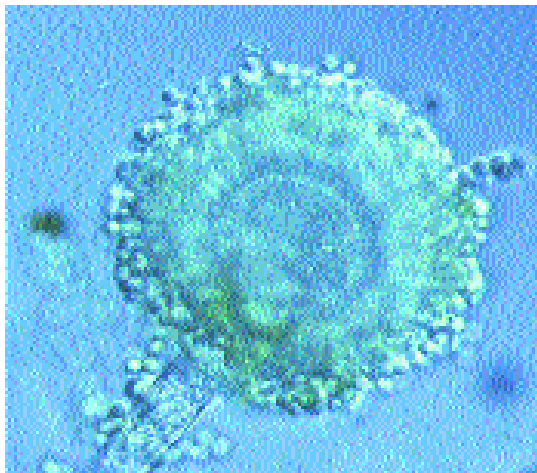


Figura 3. *Aspergillus flavus*. Conidióforo.

**Nota:** La taxonomía de la sección *Flavi* basada únicamente en criterios morfológicos pone de manifiesto la dificultad de identificación de muchos de los aislamientos. Los estudios morfológicos, bioquímicos y genéticos realizados hasta el momento evidencian que la diferencia entre las especies más frecuentes es pequeña. Una de las propuestas más discutida es la realizada por Kurtzman *et al.* [20] que reduce muchas especies de la sección a la categoría de subespecie o variedad de *A. flavus*.

### *Aspergillus niger* van Tieghem

**Características macroscópicas:** Colonias en CYA de color negro o marrón muy oscuro; reverso incoloro a amarillo; colonia densa, granular a flocosa. En CY20S las colonias son más compactas. Colonias en MEA de color negro; micelio blanco apenas visible; reverso incoloro; textura granular a flocosa.

**Características microscópicas** (Figura 4): Cabezas conidiales biseriadas y radiales; estipes de paredes gruesas, lisos, hialinos, amarillentos o de color marrón pálido,

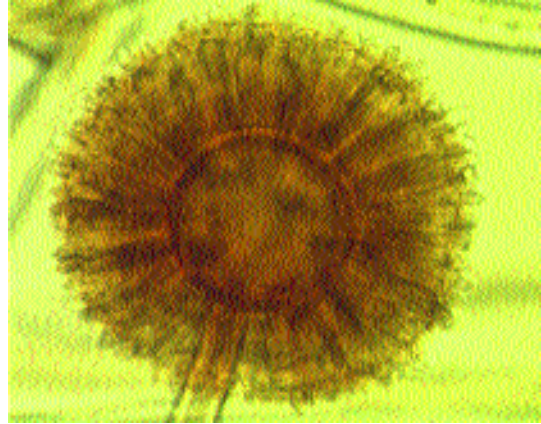


Figura 4. *Aspergillus niger*. Conidióforo.

en especial cerca de la vesícula. Vesícula casi esférica; métulas ocupando toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos de color marrón, normalmente muy rugosos con crestas irregulares y protuberancias.

**Nota:** Al-Musallam [21] en su revisión constató que dos nombres más antiguos, *A. phoenicis* (Corda) Thom 1840 y *A. ficuum* (Reichardt) Hennings 1867, eran sinónimos de *A. niger*. La conservación del nombre *A. niger* fue formalmente propuesta por Kozakiewicz *et al* [22] y aceptada posteriormente [15]. La taxonomía de los componentes de *Aspergillus* sección *Nigri* es una de las más complejas del género. Basándose en características morfológicas, las doce especies propuestas por Raper y Fennell [6], quedaron reducidas a cinco especies claramente distinguibles, y un complejo de especies denominado agregado *A. niger*, formado por dos especies *A. phoenicis* y *A. niger*, esta última dividida a su vez en seis variedades y dos formas. Según este sistema de clasificación, *A. niger* van Tieghem se denominaría *A. niger* var. *niger*. La dificultad que presenta la identificación de las especies del agregado ha propiciado la aplicación de otros criterios. Kusters van Someren *et al* [23], basándose en los patrones de RFLP del rDNA obtenidos, propusieron la división del agregado *A. niger* en dos especies morfológicamente idénticas: *A. niger* (rDNA tipo I) y *A. tubingensis* (rDNA tipo II), denominadas así ya que entre las cepas del grupo I se encontraba la cepa neotipo de *A. niger* (CBS 554.65) y entre las del grupo II, la cepa tipo de *A. tubingensis* (CBS 134.48). Esta división ha sido posteriormente corroborada mediante otras técnicas moleculares [24-27].

### *Aspergillus terreus* Thom

**Características macroscópicas:** Colonias en CYA y CY20S de color marrón canela o marrón amarillento; micelio blanco; reverso amarillo, dorado o marrón; a veces pigmento difusible amarillento. Colonia aterciopelada, lanosa o a veces flocosa en la zona central, plana o con surcos radiales. Colonias en MEA poco densas, de color anaranjado pálido a gris anaranjado o color carne; micelio blanco apenas visible; reverso en tonos amarillentos; textura granular o algo flocosa.



*Características microscópicas* (Figura 5): Cabezas conidiales biseriadas, en columnas compactas; estipes de pared lisa, hialinos. Vesículas de forma variable, esférica o subglobosa; métulas ocupando la mitad o dos tercios de la vesícula. Conidios lisos, globosos o subglobosos.



Figura 5. *Aspergillus terreus*. Conidióforo.

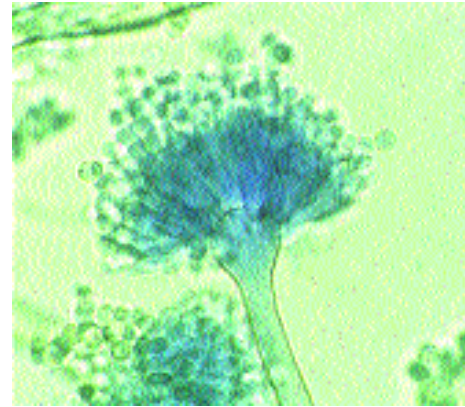


Figura 6. *Emericella nidulans* Conidióforo.

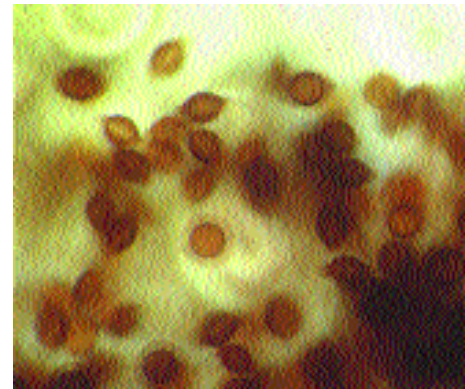


Figura 7. *Emericella nidulans*. Ascosporas.

***Emericella nidulans* (Eidam) Vuill. [Anamorfo: *Aspergillus nidulans* (Eidam) G. Winter]**

*Características macroscópicas*: Colonias en CYA y CY20S a 25°C de color verde a verde oscuro; micelio blanco o gris; cleistotecios de color amarillo pálido a color ante por la presencia de abundantes células de Hülle; exudado, cuando existe, de color rojizo a marrón; reverso incoloro a naranja marronáceo o rojo púrpura; pigmento difusible de la misma coloración; colonia aterciopelada o algo flocosa, densa, plana o con surcos. Colonias en MEA normalmente muy esporuladas; color verde oscuro; micelio blanco apenas visible; cleistotecios de color amarillo pálido a color ante rodeados de células de Hülle; reverso incoloro o marrón pálido; colonias aterciopeladas, planas.

*Características microscópicas* (Figuras 6, 7 y 8): Cabezas conidiales biseriadas; radiales o en columnas poco compactas en CYA y columnares en MEA; estipes marronáceos y de pared lisa. Vesículas hemisféricas; métulas ocupando sólo la mitad superior de la vesícula. Conidios esféricos, normalmente rugosos. Cleistotecios globosos de color rojo oscuro cuando son maduros, rodeados de células de Hülle globosas o subglobosas de color amarillo pálido a color ante en masa. Ascosporas con ocho ascosporas, dehiscentes. Ascosporas maduras a los 14 días, lenticulares, de color rojo o púrpura, de paredes lisas y con dos crestas ecuatoriales.

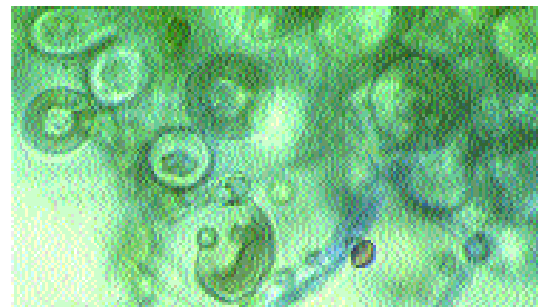


Figura 8. *Emericella nidulans*. Células de Hülle.

*Nota*: De acuerdo con el artículo 59 del ICBN, se introdujo el nombre *A. nidulellus* para designar el anamorfo de *E. nidulans* [10], pero finalmente se acordó proponer la conservación del nombre *A. nidulans* por su amplia utilización en la comunidad científica [14].

## Bibliografía

1. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 499-511
2. Trick WE, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infection in the 1990s. *Rev Iberoam Micol* 1998; 15:2-6.
3. Latgé JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 310-350.
4. Kwon Chung KJ, Bennet JE. Medical mycology. Philadelphia, Lea and Febiger, 1992.
5. de Hoog GS, Guarro J. Atlas of clinical fungi. Baarn-Reus, CBS-URV, 1995.
6. Raper KB, Fennell DI. The Genus *Aspergillus*. New York, Williams and Wilkins, 1965.
7. Samson RA. A compilation of the Aspergilli described since 1965. *Studies in Mycology*, 18. Baarn, CBS publishers, 1979.
8. Samson RA, Pitt JI. *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*. New York, Plenum Press, 1985.
9. Samson RA y JI Pitt. *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*. New York, Plenum Press, 1990.
10. Samson RA, Gams W. Typification of the species of *Aspergillus* and associated teleomorphs. En: Samson RA y JI Pitt (Eds.) *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*, New York, Plenum Press, 1985: 31-54.
11. Kozakiewicz Z. *Aspergillus* species on stored products. 1989. *Mycol. Pap.* 161, Wallingford, CAB International, 1989.
12. Gams W, Christensen M, Onions AHS, JI Pitt JI, Samson RA. Infrageneric taxa of *Aspergillus*. En: Samson RA y JI Pitt (Eds.) *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*, New York, Plenum Press, 1985: 55-64.
13. Gams W, Samson RA. Typification of *Aspergillus* and related teleomorph genera. En: Samson RA y JI Pitt (Eds.) *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*, New York, Plenum Press, 1985: 23-31.
14. Pitt JI, Samson RA. Species names in current use in the *Trichocomaceae* (Fungi, *Eurotiales*). *Regnum Vegetabile* 1993; 128: 13-57.
15. Greuter W, Barrie FR, Burdet HM, Chaloner WG, Demoulin V, Hawksworth DL, Jorgensen PM, Nicolson DH, Silva PC, Trehane P, McNeill J. *International Code of Botanical Nomenclature (Tokyo Code) Adopted by the Fifteenth International Botanical Congress, Yokohama, August-September 1993*. *Regnum Vegetabile* 131. Germany, Koeltz Scientific Books, 1994.
16. Minter DW, Hawksworth DL, Onions AHS, Kozakiewicz Z. Descriptive terminology of the conidiogenous structures in *Aspergillus* and *Penicillium*. En: Samson RA y JI Pitt (Eds.) *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*, New York, Plenum Press, 1985: 71-82.
17. Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DN, Ainsworth & Bisby's *Dictionary of the fungi*. CAB International, Cambridge, University Press, 1995.
18. Klich MA, Samson RA. *Aspergillus* reference cultures. *International Union of Microbiological Societies*, 1996.
19. Klich MA, Pitt JI. A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs. North Ryde, CSIRO Division of Food Processing, 1988.
20. Kurtzman CP, Smiley MJ, Robnett CJ, Wicklow DT. DNA relatedness among wild and domesticated species in the *Aspergillus flavus* group. *Mycologia* 1986; 78:955-959.
21. Al Musallam A. 1980. Revision of the black *Aspergillus* species. Tesis doctoral. Universidad de Utrecht, Utrecht.
22. Kozakiewicz Z, JC Frisvad, DL Hawksworth, Pitt JI, Samson RA, Stolk AC. Proposals for nomina specifica conservanda and rejicienda in *Aspergillus* and *Penicillium* (Fungi). *Taxon* 1992; 41: 109-113.
23. Kusters van Someren MA, Samson RA, Visser J. The use of RFLP analysis in classification of the black Aspergilli: reinterpretation of the *Aspergillus niger* aggregate. *Curr Genet* 1991; 19: 21-26.
24. Mègnègnenau B, Debets F, Hoekstra RF. Genetic variability and relatedness in the complex group of black Aspergilli based on random amplification of polymorphic DNA. *Curr Genet* 1993; 23: 323-329.
25. Parenicová L, Benen JAE, Samson RA, Visser J. Evaluation of RFLP analysis of the classification of the selected black *Aspergilli*. *Mycol Res* 1997; 101: 810-814.
26. Varga J, Kevei F, Fekete C, Coenen A, Kozakiewicz Z, Croft JH. Restriction fragment length polymorphisms in the mitochondrial DNAs of the *Aspergillus niger* aggregate. *Mycol Res* 1993; 97: 1207-1212.
27. Accensi F, Cano J, Figuera L, Abarca ML, Cabañes FJ. New PCR method to differentiate species in the *Aspergillus niger* aggregate. *FEMS Microbiol Lett* 1999; 180: 191-196.