



IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE ASPERGILLUS SPP.

CLINICAL IMPLICATIONS OF ASPERGILLUS SPP. BIOFILM FORMATION

Angela Camila Chango Sisa^{1*}

¹ Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-6493-2610>. Correo: achango3777@uta.edu.ec

Mario Vilcacundo²

² Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8384-3825>. Correo: mf.vilcacundo@uta.edu.ec

* Autor para correspondencia: angelacamila192003@gmail.com

Resumen

La formación de biopelículas en especies de *Aspergillus spp.*, como *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. niger*, representa un factor clave de virulencia y resistencia antifúngica en infecciones oportunistas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Esta revisión sistemática analiza literatura reciente de bases como PubMed, BVS y Web of Science, identificando mecanismos como la matriz extracelular (ECM) rica en galactosaminogalactano (GAG), que promueve adherencia, invasión y cronicidad. Se destacan implicaciones clínicas, incluyendo resistencia a triazoles y anfotericina B, asociada a enzimas extracelulares y mutaciones genéticas (Cyp51A, HapE). Además, se abordan biopelículas mixtas con bacterias, infecciones secundarias como Aspergilosis Pulmonar Asociada a COVID-19 (CAPA) y estrategias terapéuticas innovadoras, como combinaciones sinérgicas (vorinostat-triazoles) e inhibidores de proteínas (Agd3). Los hallazgos subrayan la necesidad de detección temprana y terapias dirigidas para mitigar fracasos terapéuticos y mortalidad elevada.

Palabras clave: Biopelículas; *Aspergillus*; Resistencia antifúngica; Virulencia; Terapéuticas innovadoras

Abstract

Biofilm formation in *Aspergillus spp.*, such as *A. fumigatus*, *A. flavus*, and *A. niger*, represents a key factor in virulence and antifungal resistance in opportunistic infections, especially in immunocompromised patients. This systematic review analyzes recent literature from databases such as PubMed, BVS, and Web of Science, identifying mechanisms such as the galactosaminogalactan (GAG)-rich extracellular matrix (ECM), which promotes adherence, invasion, and chronicity. Clinical implications are highlighted, including resistance to



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: revistabiosana@gmail.com



triazoles and amphotericin B, associated with extracellular enzymes and genetic mutations (Cyp51A, HapE). Furthermore, mixed biofilms with bacteria, secondary infections such as COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis (CAPA), and innovative therapeutic strategies, such as synergistic combinations (vorinostat-triazoles) and protein inhibitors (Agd3), are addressed. The findings underscore the need for early detection and targeted therapies to mitigate treatment failures and high mortality.

Keywords: Biofilms; *Aspergillus*; Antifungal resistance; Virulence; Innovative therapeutics

Fecha de recibido: 13/07/2025

Fecha de aceptado: 15/11/2025

Fecha de publicado: 19/11/2025

Introducción

Aspergillus spp. es un género de hongos filamentosos perteneciente a la familia *Trichocomaceae* del filo *Ascomycota*, que comprende más de 300 especies. Se caracteriza por ser un saprófito ubicuo en el ambiente, capaz de desarrollarse en el suelo, las plantas, la vegetación en descomposición y las construcciones. No obstante, algunas especies presentan relevancia clínica, especialmente las pertenecientes a las secciones *Fumigati* (*A. fumigatus sensu stricto*), *Flavi* (*A. flavus*), *Terrei* (*A. terreus*) y *Nigri* (*A. niger*). Además, especies crípticas de la sección *Fumigati*, como *A. lentulus*, también se consideran hongos oportunistas, responsables de causar infecciones humanas como la aspergilosis pulmonar invasiva (API) en pacientes inmunocomprometidos, debido a la amplia dispersión de sus esporas en el ambiente (1–4).

La formación de biopelículas ha sido mejor y más ampliamente estudiada en hongos como *Cándida albicans*, sin embargo, la formación de biopelículas no es la misma en levaduras que en hongos filamentosos, por lo que, es destacable el estudio de su comportamiento, sobre todo en hongos oportunistas. *Aspergillus fumigatus* es una de las especies clínicamente más relevantes, pero no la única capaz de formar biopelículas; es capaz de formar comunidades microbianas estructuradas que están rodeadas por ECM. Además, actualmente se ha estudiado el papel del exopolisacárido GAG dentro de la formación de esta red de hifas y en la modulación de la respuesta inmunitaria (5–7).

La formación de biopelículas por *Aspergillus* spp. inicia con la adhesión de los conidios (forma infecciosa) a superficies biológicas o inertes. Bajo condiciones favorables de temperatura y disponibilidad de nutrientes, ocurre la germinación, dando origen al tubo germinal que se desarrolla hasta convertirse en la hifa primaria. Conforme la biopelícula madura, las hifas producen y secretan una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (SPE), destacándose el GAG. Una vez establecida, se produce la dispersión, en la que algunos conidios o fragmentos hifales se desprenden para colonizar nuevos sitios. La estructura del biofilm favorece la evasión inmunológica, ya que la matriz impide el acceso de neutrófilos y macrófagos, mientras que la hipoxia interna reduce la actividad del sistema inmune (8–10).

Las biopelículas desencadenan varias problemáticas, como aumento de cronicidad, aumento de la mortalidad, desarrollo de enfermedades secundarias como, por ejemplo, Aspergilosis Pulmonar Asociada a COVID-19



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: revistabiosana@gmail.com



(CAPA), activación de procesos inflamatorios y la más destacable es el incremento de la resistencia a antifúngicos como voriconazol, itraconazol y posaconazol. Además, estos hongos oportunistas tienen la sorprendente capacidad de formar biopelículas mixtas, es decir, pueden coexistir y sobrevivir junto con bacterias en un mismo tejido o formarse en materiales inertes (11–13).

Los estudios que involucran a *Aspergillus spp.* han ido aumentando, los mismo que todavía registran complicaciones graves y fracasos terapéuticos (3). Por ello, surge la necesidad de analizar las implicaciones clínicas de la formación de biopelículas de las especies clínicamente más relevantes de *Aspergillus spp.*, abordando los mecanismos biológicos que las originan, su relación con la patogenicidad, el papel que desempeñan en la resistencia a los antifúngicos, su impacto en la evolución de la infección, la respuesta inmune del huésped y finalmente describir las nuevas terapéuticas.

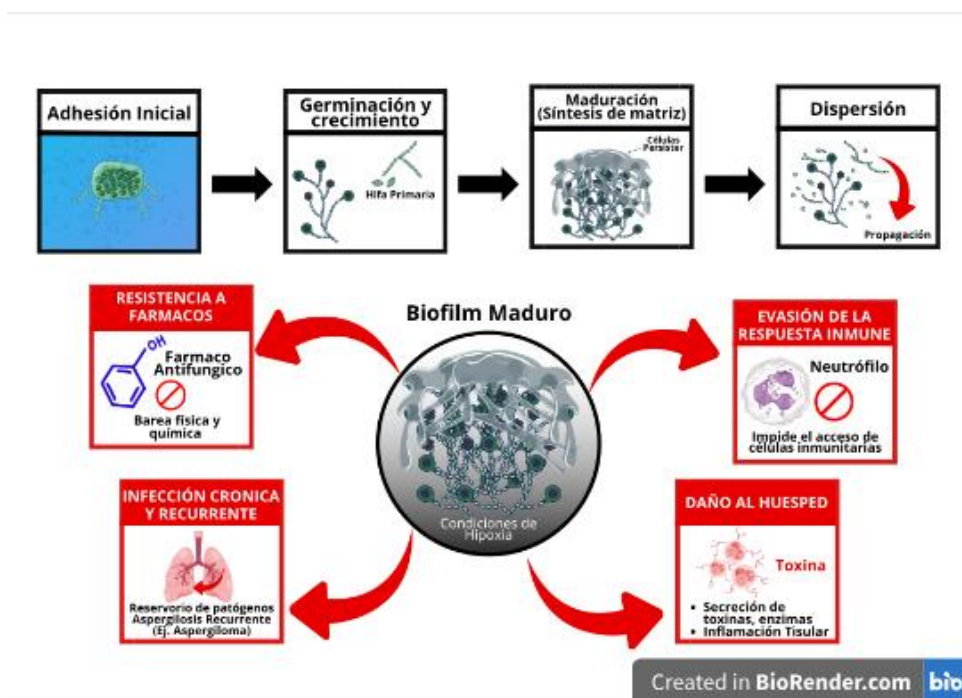


Figura 1. Formación de Biofilm e Implicaciones clínicas.

Fuente: Elaboración propia a partir de: Donato V. (8) Wang D, Zeng N, Li C, Li Z, Zhang N, Li B (9) Negroni M. (10)

Materiales y métodos

La presente investigación es de tipo documental y se fundamenta en una revisión bibliográfica sistemática con enfoque descriptivo. Su objetivo es identificar y analizar literatura científica disponible en bases de datos como PubMed, BVS y Web of Science, que aporte información relevante y confiable sobre la formación de biopelículas en *Aspergillus spp.*, la resistencia antifúngica y sus implicaciones clínicas.

En esta estrategia de búsqueda se utilizaron términos DeCS-MeSH como: "Biofilms", "Biopelículas", "Aspergillus", "Immunocompromised Host", "Antifungal Drug Resistance", "Drug Resistance, Fungal", "Therapeutics" y operadores booleanos como: AND y OR.



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: revistabiosana@gmail.com



Se incluyeron artículos originales y de revisión con alto nivel de evidencia y publicados en revistas de alto impacto a partir del 2020, con libre acceso, texto completo, en idiomas inglés y español. De igual manera se excluyeron artículos que tengan información irrelevante, población equivocada y que hable de microorganismos erróneos.

Como siguiente paso, tras aplicar estos filtros, clasificamos la información siguiendo las etapas del diagrama de flujo PRISMA; identificación, cribado, elegibilidad, inclusión. En la Figura 2 se presenta el resultado del proceso de búsqueda, se obtuvo en PubMed (n = 59), BVS (n=152), Web of science (n=129); con un número total de registros (n = 340) para la investigación.

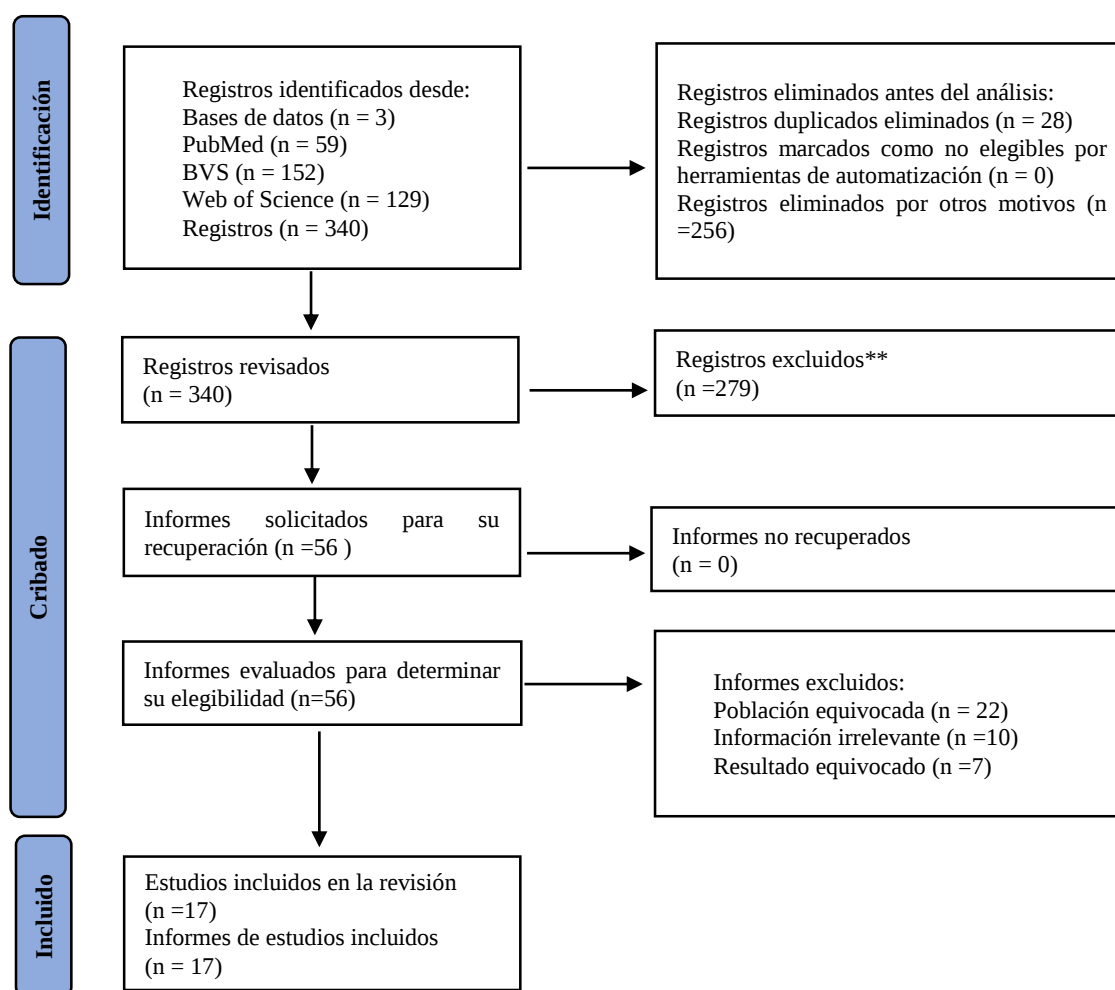


Figura 1. Diagrama de flujo método PRISMA.
Fuente: Elaboración propia a partir de: Page MJ., et al. (14).





Resultados y discusión

Luego de la revisión bibliográfica realizada, se obtuvieron los siguientes resultados respecto a las implicaciones clínicas y la metodología empleada en los estudios sobre *Aspergillus spp.* y sus biopelículas.

Tabla 1. Sistematización de los estudios incluidos en la revisión.

Autor/Año /Ref.	Tipo de estudio	Especie de aspergillus	Población y muestra	Mecanismo de patogenicidad implicado	Implicaciones clínicas	Metodología experimental	País
Shin S; Ye M; Lee D; Chae M. 2022 (15)	Experimental in vitro	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Se aislaron células epiteliales nasales primarias del cornete inferior durante una cirugía septal.	Formación de biopelículas visibles y crecientes con una red de hifas activas y abundante ECM.	Presento aumento de la virulencia debido a la activación de un proceso inflamatorio. Presenta cronicidad y riesgo de infecciones recurrentes.	Ensayo de tetrazolio (MTS) mide la actividad metabólica de células. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para cuantificar la respuesta inflamatoria. Tinción con violeta cristal Tinción con safranina y concanavalina A. Microscopía confocal de barrido láser.	Corea del sur
Seegers C; Lee D; Zarnovican P; Kirsch S; Müller R; Haselhorst T; Routier F. 2023 (11)	Experimental in vitro e in vivo	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Cepas de <i>Aspergillus fumigatus</i> S35 (AfS35)	Formación de la matriz extracelular de Biopelículas por Galactosamino galactano (GAG) dependiente de desacetilasa Agd3.	Inyección de esporas de <i>A. fumigatus</i> cepa salvaje causa alta mortalidad. Actinomicina D toxico para modelo <i>Galleria mellonella</i> Rifaximina no afectó el biofilm.	Purificación de la proteína Agd3 recombinante Extracción y purificación del polisacárido GAG Ensayo enzimático para medir la actividad de Agd3 Enzyme-Linked Lectin Assay (ELLA) Tinción con cristal violeta Modelo in vivo en <i>Galleria mellonella</i>	Alemania
Fortes B; Wirth F; dos Santos A; Chorilli M; Freitas V; Farias J; Chambergo F; Dantas V; Ishida K.	Investigativo/experimental in vitro	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Cepa aislada del líquido de lavado broncoalveolar de un paciente diagnosticado con aspergilosis	Formación de una biopelícula compleja y tridimensional gracias a hifas fúngicas que crecieron a través de los poros y se extendieron por toda la red del	Resistencia al Voriconazol (VRZ). Presenta alta capacidad de adhesión, invasión y colonización.	Formación de biopelículas 2D y 3D en medio RPMI 1640 tamponado con MOPS. Ensayos de susceptibilidad antifúngica. Microscopía electrónica de barrido (MEB). Ensayo de reducción de XTT.	Brazil




Implicaciones clínicas de la formación de biopelículas de *Aspergillus* spp.

2024 (16)				andamio (HAG) que simula el tejido pulmonar humano.			
Kirchhoff L; Dittmer S; Furnica D; Buer J; Steinmann E; Rath P; Steinmann J. 2022 (17)	Experimental in vitro Retrospectivo	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Cepas aisladas de <i>Aspergillus fumigatus</i>	Formación de biopelículas densas, dependientes del tiempo, que aumentan su biomasa y actividad metabólica conforme su maduración.	Presento resistencia a Voriconazol (VRZ) y Olorofim en biopelículas maduras.	Cultivo en agar Sabouraud Ensayo de cristal violeta (CV) Ensayo XTT Microdilución en caldo (EUCAST). Microscopía confocal de barrido láser (CLSM)	Alemania
da Fonseca L; Braga V; Tonani L; Grizante B; Bário P; Nascimento E; Martinez R; von Zeska Kress M. 2023 (3)	Retrospectivo	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i> <i>Aspergillus tamarii</i>	Muestras respiratorias (esputo, secreción traqueal, senos paranasales, oído y mucosa nasal) de pacientes con aspergilosis (invasiva, crónica o sospechada).	Formación de biopelículas con una correlación directa entre biomasa y matriz	Las cepas de la sección <i>Flavi</i> fueron más virulentas y resistentes a Anfotericina B. Aislados clínicos de <i>A. fumigatus</i> presentaron mutaciones en este gen <i>cyp51A</i> . Resistencia a triazoles Voriconazol (VRZ), Posaconazol (POS) e Itraconazol (ITZ)	Microscopía óptica y medición morfométrica. PCR y secuenciación de genes. Ensayo colorimétrico con cristal violeta. Modelo in vivo con <i>Galleria mellonella</i> . Microdilución en caldo (CLSI M38-A2). PCR y secuenciación del gen <i>cyp51A</i> .	Brazil
Bavadhara ni S; Premamali ni T; Karthika K; Kindo A. 2022 (18)	Estudio Descriptivo – Retrospectivo	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>	Aislamientos de <i>Aspergillus</i> spp. obtenidos de varias muestras clínicas como hisopo de oído, pus, aspirado traqueal y	Formación de biopelículas, lipasa, fosfolipasa, amilasa y hemolisina.	Aislamientos resistentes a anfotericina B produjeron biopelícula. Aislamientos resistentes a itraconazol exhibieron	Cultivo en placa de Agar Sabouraud Dextrosa (SDA) con gentamicina. Morfología macroscópica e identificación microscópica. Métodos fenotípicos estándar.	India




Implicaciones clínicas de la formación de biopelículas de *Aspergillus spp.*

			lavado bronquial.		actividad de fosfolipasa. Aislamientos resistentes a voriconazol produjeron biopelícula y demostraron actividades de fosfolipasa y hemolítica. <i>A. niger</i> , especie más virulenta.	Método del tubo utilizando tinción de cristal violeta. Método de microdilución en caldo.	
Ogawa M; Niki M; Imoto W; Dobashi A; Imai M; Takayama N; Mitani K; Kakuno S; Shibata W; Yamada K; Kakeya H. 2023 (12)	Restrospectivo	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus aureolus</i> , <i>Aspergillus nidulans</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus terreus</i> .	Cepas de <i>Aspergillus</i> spp. aisladas de cultivos de material respiratorio (lavado bronquial, esputo aspirado y esputo expectorado) recolectados de pacientes con COVID-19.	Desarrollo de infección secundaria denominada Aspergilosis Pulmonar Asociada a COVID-19 (CAPA) en 5 pacientes.	11 cepas positivas para <i>Aspergillus</i> spp. <i>Aspergillus aureolus</i> especie criptica de <i>Aspergillus fumigatus</i> , presentó resistencia a Voriconazol (VRZ) Alta mortalidad (4 de 5 pacientes con CAPA)	Cultivo de muestras respiratorias. Secuenciación y amplificación por sistema TaKaRa PCR. Microdilución en caldo de acuerdo con CLSI M38-A2 Ensayo de tipificación TRESPERG	Japón
Ramírez-Granillo A; Bautista-Hernández L; Bautista-De L; Domínguez-López A; Córdova-Alcántara I; Pérez N; de los	Investigativo/experimental invitro	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aislamientos clínicos de <i>Aspergillus fumigatus</i> Cultivos primarios de fibroblastos limbocorneales humanos	Formación del Biofilm Fúngico-Bacteriano Mixto (MFBB)	La ECM reduce la eficacia de antifúngicos y antibacterianos, contribuyendo a infecciones crónicas. Afección de la integridad del tejido ocular. Cronicidad de la infección.	Método de cristal violeta (CVM) Actividad metabólica con MTT. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)	Brazil




Implicaciones clínicas de la formación de biopelículas de *Aspergillus spp.*

Angeles Martínez-Rivera M; Rodríguez-Tovar A. 2021 (19)							
Tu B; Yin G; Li H. 2020 (20)	Experiment al- Investigativ o invitro	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus terreus</i>	Cepas aisladas de <i>Aspergillus spp.</i> de pacientes con Aspergilosis Invasiva y pacientes con rinosinusitis crónica.	Formación de Biopelículas.	Presenta alta mortalidad si no hay tratamiento. La biopelícula presenta resistencia a azoles como Itraconazol, Voriconazol y Posaconazol, cuando estos están sin combinaciones. (Sin SAHA).	Cepas cultivadas en agar Sabouraud dextrosa, conidios suspendidos en agua destilada con 0.03% de tritón. Microdilución de caldo con RPMI1640 tamponado con biofilm preparado en placa de 96 pocillos. Ensayo XTT para medir SMIC80	China
Chen Y; Stewart J; Liu S; Sheppard D; Lu L; Zhang S. 2021 (6)	Experiment al in vivo e in vitro	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Cepas aisladas de <i>Aspergillus fumigatus</i> .	Formación de biopelículas por la proteína Spt20.	Presencia de Spt20 causa virulencia total. El modelo murino presentó lesiones pulmonares más grandes y numerosas que contenían hifas más largas.	Método PCR de Fusión Construcción de Cepas de Expresión Condicional. Ensayo de Trampa GFP (GFP trap assay). Secuenciación de ARN (RNA-seq). PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR). Tinción con cristal violeta. Ensayos de Placa. Caracterización de Polisacáridos GAG (Inmunofluorescencia). Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).	China

Se realizó además un estudio de casos puntuales de implicaciones clínicas de *Aspergillus spp.* que se resumen en la siguiente tabla.



Esta obra está bajo una licencia *Creative Commons* de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: revistabiosana@gmail.com


Implicaciones clínicas de la formación de biopelículas de *Aspergillus* spp.

Tabla 2. Estudios de Casos.

Autor/ año	Tipo de estudio	Especie de aspergillus	Población y muestra	Mecanismo de patogenicidad implicado	Implicaciones clínicas	Metodología experimental	País
Hernández-Benítez J; Santos-Ocampo B; Rosas-Ramírez D; Bautista-Hernández L; Bautista-de Lucio V; Pérez N; Rodríguez-Tovar A. 2025 (7)	Experimental in vitro	<i>Aspergillus flavus</i>	La cepa de <i>Aspergillus</i> spp. aislada post mortem del pulmón de un paciente pediátrico con leucemia que no presentó síntomas de neumonía.	Formación de biopelículas dependiente de la temperatura.	Presenta adaptación al huésped. Presenta cronicidad. Resistencia a Itraconazol y actividad reducida para Anfotericina B.	Tinción con cristal violeta (CV). Microscopía electrónica de barrido (SEM). Microscopía epifluorescencia y confocal láser (CLSM). Ensayos MTT.	México
Born T; Aruanno M; Kampouri E; Mombelli M; Monney P; Tozzi P; Lamoth F. 2022 (13)	Estudio de caso y revisión de la literatura	<i>Aspergillus tubingensis</i> una especie del complejo <i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus</i> spp. recuperado por cultivo de la válvula cardíaca infectada, de una mujer de 39 años conocida por el uso activo de drogas intravenosas y un reemplazo valvular aórtico biológico por endocarditis.	Formación de biopelículas in vivo e in vitro.	Presenta resistencia a Voriconazol (VRZ) y Caspofungina. Presenta adherencia y colonización de materiales biológicos e inertes. Coexistencia y supervivencia junto a una bacteria en el mismo tejido. Presenta cronicidad y complejidad.	Tinción de plata (Grocott) Cultivo de válvula cardíaca. PCR panfúngica (ADNr 18S) Secuenciación del gen β -tubulina (BenA) Método de dilución en tablero de ajedrez (checkerboard) Ensayo de reducción de XTT Galactomanano sérico 1,3-beta-D-glucano sérico	Suiza
Ito Y; Takazono T; Koga S; Nakano Y;	Estudio de caso clínico y experimental	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Muestra de esputo de un paciente masculino de 37	Paciente diagnosticado con Aspergilosis	<i>Aspergillus fumigatus</i> MF-2108 resistente a	Morfología macroscópica y microscópica.	Japón




Implicaciones clínicas de la formación de biopelículas de *Aspergillus spp.*

Ashizawa N; Hirayama T; Tashiro M; Saijo T; Yamamoto K; Imamura Y; Miyazaki T; Yanagihara K; Izumikawa K; Mukae H. 2021 (21)	ntal in vivo e in vitro		años con antecedentes de cirugía torácica por neumotórax recurrente con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	Pulmonar Crónica (CPA) <i>Aspergillus fumigatus</i> MF-2046 sensible a azoles presentó formación de biopelículas. <i>Aspergillus fumigatus</i> MF-2108 presentó una mutación en el sitio de empalme del gen HapE y sobreexpresión del gen cyp51A	Itraconazol y Voriconazol. <i>Aspergillus fumigatus</i> MF-2046 presentó alta virulencia.	PCR y secuenciación de β -tubulina. Microdilución en caldo (CLSI M38-A2). PCR y Secuenciación cyp51A Preparación de conidios Ensayo de biopelícula Ensayo de virulencia Galleria mellonella Secuenciación del genoma completo. Expresión de cyp51A.	
--	-------------------------	--	--	---	---	---	--

Si bien las biopelículas son reconocidas como comunidades microbianas organizadas, su compleja estructura las convierte en un destacado factor de virulencia. Según el estudio de Shin et al. (15), la formación de biopelícula de *Aspergillus fumigatus* fue claramente visible, presentando una red de hifas activas y una abundante matriz extracelular (ECM), lo que favoreció una mayor cronicidad y un incremento en la virulencia del patógeno. De forma similar, Seegers et al. (11) demostraron que la formación de la ECM depende en gran medida del polisacárido GAG, cuya presencia se asoció con una elevada mortalidad, evidenciando el papel crucial de esta matriz en la patogénesis.

Estos hallazgos confirman que una biopelícula difiere de una simple comunidad microbiana debido a su estructura tridimensional, compuesta por células fúngicas y sustancias poliméricas extracelulares (SPE), que le confieren propiedades únicas. En concordancia, Fortes et al. (16) utilizaron un modelo tridimensional que simulaba el tejido pulmonar y observaron que las hifas de *A. fumigatus* crecieron y se extendieron a través de los poros del andamio, formando una biopelícula compleja con alta capacidad de adherencia, invasión y colonización. Por otra parte, Hernández et al. (7) estableció que además de las capacidades antes mencionadas algunas especies de *Aspergillus spp.*, como es el caso de *A. flavus*, son termotolerantes, y las altas temperaturas favorecen la conidación, un mecanismo potencial de dispersión. Finalmente, la formación de la biopelícula confiere una resistencia antifúngica significativa.

La formación de biopelículas de *Aspergillus spp.* indica una correlación directa entre el tiempo, la biomasa y la ECM, como coinciden Kirchhoff et al. (17) y da Fonseca et al.(3). Además, ambos estudios evidencian que las biopelículas maduras de *Aspergillus* sección *Fumigati* presentan resistencia a triazoles como voriconazol (VRC), itraconazol (ITC) y posaconazol (POS); sin embargo, cuando estos antifúngicos y el Olorofim (nueva clase de antifúngico) se administran en etapas tempranas (adhesión y germinación), sí son efectivos. Por otro





lado, otros estudios evidenciaron que la actividad de la anfotericina B varía según la especie, como el estudio de Kirchhoff et al. (17) en donde se reporta la inhibición completa de biopelículas de *A. fumigatus* resistentes a azoles; mientras que da Fonseca et al. (3) observaron resistencia en especies de *Aspergillus* sección *Flavi*, lo que indica un riesgo significativo de fracaso terapéutico.

De acuerdo con Bavadharani et al. (18), además del factor de virulencia previamente descrito, las enzimas extracelulares como lipasa, fosfolipasa, amilasa y hemolisina desempeñan un papel relevante en la resistencia a los antifúngicos. En dicho estudio se observó que los aislamientos resistentes a anfotericina B presentaron formación de biopelículas, mientras que aquellos resistentes a itraconazol exhibieron actividad de fosfolipasa. Asimismo, los aislamientos resistentes a voriconazol mostraron simultáneamente la capacidad de formar biopelículas y actividad tanto de fosfolipasa como de hemolisina. Estos hallazgos permitieron identificar a *Aspergillus niger* como la especie más virulenta, debido a su alta producción de enzimas extracelulares, actividad hemolítica y resistencia a los antifúngicos mencionados.

En contraste, el estudio de da Fonseca et al. (3) reportó que las cepas de *Aspergillus* pertenecientes a la sección *Flavi* fueron las más virulentas según el modelo de *Galleria mellonella* (insecto lepidóptero) y presentaron resistencia a Anfotericina B; sin embargo, no se estableció una relación directa entre la formación de biopelículas y el perfil de virulencia, dado que no se encontraron diferencias significativas en la biomasa ni en la matriz extracelular al comparar las secciones *Flavi* y *Fumigati*. lo que sugiere que, la virulencia en *Aspergillus* es un fenómeno multifactorial. En este contexto, los hallazgos de Bavadharani et al. (18) refuerzan la hipótesis de que las cepas pertenecientes a la sección *Flavi* presentan mayor virulencia en comparación con *A. fumigatus*, ya que podría estar asociado a su elevada capacidad de producir enzimas extracelulares implicadas en procesos de invasión y resistencia antifúngica.

Las especies del género *Aspergillus* son responsables de infecciones que ocurren principalmente en huéspedes inmunocomprometidos. En el estudio de Ogawa et al. (12) se describe a la aspergilosis pulmonar asociada a COVID-19 (CAPA) como una infección secundaria de relevancia clínica, y destacan la importancia de diferenciar entre una simple colonización y una infección invasiva con desenlace fatal. Su población de estudio fue 11 pacientes con cultivos respiratorios positivos para *Aspergillus* spp., de los cuales 5 fueron diagnosticados con CAPA posible (sospecha), los cuales no recibieron tratamiento antifúngico y presentaron evolución favorable, lo que sugiere un cuadro de colonización no invasiva. En contraste, los 5 pacientes diagnosticados con CAPA probable (presencia de factores de riesgo) recibieron tratamiento antifúngico, falleciendo cuatro de ellos, evidenciando que la infección se había diseminado con invasión tisular, lo que limita la eficacia terapéutica de los agentes antifúngicos, resaltando la necesidad de una detección temprana.

Las biopelículas, a pesar de ya ser un factor de virulencia principal, pueden volverse más complejas aún, al coexistir con otros microorganismos y formar biopelículas fúngicas mixtas, como se reporta en el estudio de Born et al. (13) y Ramírez et al. (19) Sin embargo, ambos autores difieren acerca de la convivencia de los diferentes microorganismos dentro de la biopelícula. Born et al. (13) mediante el análisis de un tejido valvular resecado confirman que la bacteria junto con el hongo estaba agregada conjuntamente, es decir, tenían una proximidad física dentro del mismo nicho infeccioso y por lo tanto podían sobrevivir juntos. Mientras que Ramírez et al. (19) evidenciaron en su modelo de coinfección una dinámica de interacción competitiva, observando comportamientos de antibiosis y coagregación activa. Aquí, *S. aureus* tuvo un efecto de micofagia





sobre *A. fumigatus* y morfológicamente se distinguió un aparente daño causado por las bacterias a la pared fúngica, al recubrir las hifas.

La implicación más destacable dentro de la formación de las biopelículas es la ya conocida resistencia antifúngica, la cual nombramos anteriormente en varios estudios. Esta resistencia antifúngica no solo se debe a la formación de la barrera física y química que dificulta la penetración de los antifúngicos, sino que también, puede atribuirse a otros factores como por ejemplo la mutación en el gen *Cyp51A* tal cual lo describe da Fonseca et al. (3) en donde nos demuestra que el 94.7% de los aislamientos de *A. fumigatus* que presentaron sustituciones de aminoácidos en *Cyp51A* fueron resistentes a triazoles. O mutaciones en el sitio de empalme del gen *HapE*, que por consecuencia causan una sobreexpresión de *Cyp51A* y le confieren resistencia antifúngica a *A. fumigatus*, según lo demostró Ito et al. (21) en su reporte de caso.

Además de lo manifestado por Ito et al. (21), se reporta que estas mutaciones no siempre son beneficiosas para el hongo, ya que si bien la mutación del gen *HapE* le brinda resistencia a *A. fumigatus* MF-2108, también hubo un “costo de fitness” que es la pérdida de la aptitud biológica, o en otras palabras, es la pérdida de la capacidad de crecer y formar biopelículas, por ello, la cepa *A. fumigatus* MF-2046 al ser aislada antes de que se reanude el tratamiento con voriconazol, fue sensible a triazoles y formó biopelículas, considerándose una cepa normal con alta virulencia. Por todo esto, el fracaso terapéutico se ha vuelto alarmante, ya que de una u otra forma el patógeno busca la manera de persistir, y es necesario buscar un tratamiento innovador, con algunas terapias combinadas, que no incluyan solamente antifúngicos como Anfotericina B o Voriconazol más Equinocardinas, ya que como registro Born et al. (13) en su reporte de caso, señala que esta conjugación puede resultar indiferente.

Tu et al. (20) realizaron una combinación de vorinostat (SAHA) y triazoles buscando interacciones sinérgicas significativas entre ellos, obteniendo como resultado que cuando se aplican los triazoles sin la combinación no es efectivo contra biopelículas de *Aspergillus spp.*, pero si existe la combinación, se logra una buena sinergia tanto en células planctónicas como en biofilm. Los efectos de esta sinergia son la supresión de HSP90 sobre todo cuando se combina SAHA con Itraconazol (ITR), otro efecto fue la atenuación en la expresión de los genes de la bomba de eflujo, la cual fue relativamente leve a excepción del gen *MDR1*, que fue reprimido 5,7 veces más cuando SAHA se combinó con POC.

Otra estrategia terapéutica es la inhibición de proteínas, como Chen Y et al. (6) y Seegers et al. (11) realizaron en sus estudios. La subunidad estructural del complejo SAGA, spt20, fue la proteína que Chen Y et al. (6) inhibió mediante delección, ya que esta es la encargada de regular procesos indispensables para la supervivencia, virulencia, condición y biosíntesis de GAG, *ugd3* y *agd3*, implicadas en la formación de biopelícula. La enzima Agd3, por su parte, fue estudiada por Seegers et al. (11) en su estudio, al inyectar esporas de una cepa salvaje de *A. fumigatus* que poseía este Agd3, causó virulencia completa en el modelo de *Galleria mellonella*, demostrándonos el nivel de mortalidad que puede causar la formación de biopelículas, si no es controlada. Por ello, en este estudio se decide buscar debilitar la virulencia del hongo mediante el uso de fármacos como Actinomicina D, Rifaximina e Imatinib. El Imatinib, aunque es un medicamento utilizado para tratamiento de cáncer, actúa sobre la enzima *agd3* implicada en la formación de biopelícula, evitando de esta manera su formación y por lo tanto reduciendo la patogenicidad del hongo, y su virulencia disminuye a un 86%.





Conclusiones

Esta revisión sistemática revela que la formación de biopelículas en *Aspergillus* spp. no solo incrementa la virulencia mediante estructuras tridimensionales compuestas por hifas, ECM y GAG, sino que también confiere una resistencia multifactorial a antifúngicos convencionales, como triazoles y anfotericina B, exacerbada por mutaciones genéticas (*Cyp51A* y *HapE*) y enzimas extracelulares.

Esta resistencia se asocia con mayor cronicidad, invasión tisular y mortalidad en infecciones oportunistas, incluyendo CAPA y biopelículas mixtas con bacterias, donde interacciones competitivas o sinérgicas complican el manejo clínico. Aunque especies como *A. flavus* y *A. niger* exhiben mayor virulencia en modelos experimentales, la patogenicidad es multifactorial y no siempre correlaciona directamente con la biomasa de la biopelícula.

Las estrategias terapéuticas emergentes, como combinaciones sinérgicas (vorinostat con triazoles) e inhibidores específicos (Imatinib contra Agd3), ofrecen promesas para superar barreras de penetración y suprimir genes de eflujo, destacando la importancia de intervenciones tempranas y personalizadas para mejorar los desenlaces en pacientes inmunocomprometidos y reducir el impacto global de la aspergilosis.

Referencias

1. Chen SCA, Meyer W, Sorrell TC, Halliday CL. *Aspergillus*, *Talaromyces*, and *Penicillium*. ClinMicroNow [Internet]. 2023 Aug 11 [cited 2025 Oct 7];1–32. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/9781683670438.mcm0123>
2. Stemler J, Nacov JA, Sprute R, Cornely OA, Joest M, Becker S, et al. *Aspergillus*-associated diseases from an infectious diseases and allergological perspective. Allergo J Int [Internet]. 2024 Jun 1 [cited 2025 Oct 7];33(4):140–52. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40629-024-00286-9>
3. da Fonseca LMM, Braga VF, Tonani L, Grizante Barião PH, Nascimento E, Martinez R, et al. Surveillance of Amphotericin B and Azole Resistance in *Aspergillus* Isolated from Patients in a Tertiary Teaching Hospital. J Fungi (Basel) [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2025 Sep 27];9(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37998875/>
4. Murray PR., Rosenthal KS., Pfaller MA. Microbiologia medica. Elsevier Mosby; 2006. 963 p.
5. Liu S, Mauff F Le, Sheppard DC, Zhang S. Filamentous fungal biofilms: Conserved and unique aspects of extracellular matrix composition, mechanisms of drug resistance and regulatory networks in *Aspergillus fumigatus*. NPJ Biofilms Microbiomes [Internet]. 2022 Sep;8(1):1–8. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41522-022-00347-3>
6. Chen Y, Stewart JIP, Liu S, Sheppard DC, Lu L, Zhang S. Spt20, a Structural Subunit of the SAGA Complex, Regulates *Aspergillus fumigatus* Biofilm Formation, Asexual Development, and Virulence. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2025 Sep 28];88(1). Available from: /doi/pdf/10.1128/aem.01535-21?download=true
7. Hernández-Benítez JA, Santos-Ocampo BN, Rosas-Ramírez DG, Bautista-Hernández LA, Bautista-de Lucio VM, Pérez NO, et al. The Effect of Temperature over the Growth and Biofilm Formation of the





- Thermotolerant *Aspergillus flavus*. J Fungi (Basel) [Internet]. 2025 Jan 1 [cited 2025 Sep 27];11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39852472/>
8. El mundo de los biofilms - Verónica Donato - Google Libros [Internet]. [cited 2025 Nov 9]. Available from: https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=WxITEQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT28&dq=generacion+de+biofilms+en+hongos+&ots=rnxJU-UdRu&sig=TirIHH-t5WDPK8QnkZ8w50tA1a4&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
9. Wang D, Zeng N, Li C, Li Z, Zhang N, Li B. Fungal biofilm formation and its regulatory mechanism. Heliyon [Internet]. 2024 Jun 30 [cited 2025 Nov 9];10(12):e32766. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844024087978>
10. Microbiología Estomatológica - Google Books [Internet]. [cited 2025 Nov 9]. Available from: https://www.google.com.ec/books/edition/Microbiolog%C3%ADa_Estomatol%C3%B3gica/Gxmui-vjZBgC?hl=es&gbpv=1&dq=biofilm+bacterias&pg=PA280&printsec=frontcover
11. Seegers CII, Lee DJ, Zarnovican P, Kirsch SH, Müller R, Haselhorst T, et al. Identification of Compounds Preventing *A. fumigatus* Biofilm Formation by Inhibition of the Galactosaminogalactan Deacetylase Agd3. Int J Mol Sci [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2025 Sep 28];24(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36768176/>
12. Ogawa M, Niki M, Imoto W, Dobashi A, Imai M, Takayama N, et al. Characterization of *Aspergillus* spp. isolated from patients with coronavirus disease 2019. Journal of Infection and Chemotherapy [Internet]. 2023 Jun 1 [cited 2025 Sep 28];29(6):580–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36758677/>
13. Born T, Aruanno M, Kampouri E, Mombelli M, Monney P, Tozzi P, et al. *Aspergillus tubingensis* Endocarditis: A Case Report and Review of the Literature. Mycopathologia [Internet]. 2022 Jun 1 [cited 2025 Sep 28];187(2–3):249–58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35267153/>
14. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. BMJ [Internet]. 2021 Mar 29 [cited 2025 Nov 9];372. Available from: <https://www.bmj.com/content/372/bmj.n71>
15. Shin SH, Ye MK, Lee DW, Chae MH. Asian Sand Dust Particles Enhance the Development of *Aspergillus fumigatus* Biofilm on Nasal Epithelial Cells. Int J Mol Sci [Internet]. 2022 Sep;23(6):3030. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8955751/>
16. Fortes BN, Wirth F, dos Santos AM, Chorilli M, Freitas VM, Farias J, et al. Three-dimensional lung parenchyma model for studies of *Aspergillus fumigatus* infection and antifungal treatment. Future Microbiol [Internet]. 2024 Sep;19(14):1203–16. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17460913.2024.2371926>
17. Kirchhoff L, Dittmer S, Furnica DT, Buer J, Steinmann E, Rath PM, et al. Inhibition of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* biofilm at various formation stages by antifungal drugs, including olorofim.





- Journal of Antimicrobial Chemotherapy [Internet]. 2022 Sep;77(6):1645–54. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/jac/dkac062>
18. Bavadharani S, Premamalini T, Karthika K, Kindo AJ. In Vitro Production of Virulence Factors and Antifungal Susceptibility Pattern of *Aspergillus* Isolates from Clinical Samples in a Tertiary Care Center. J Lab Physicians [Internet]. 2022 Dec [cited 2025 Sep 28];14(4):479–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36531538/>
 19. Ramírez-Granillo A, Bautista-Hernández LA, Lucío VMDB, Magaña-Guerrero FS, Domínguez-López A, Córdova-Alcántara IM, et al. Microbial Warfare on Three Fronts: Mixed Biofilm of *Aspergillus fumigatus* and *Staphylococcus aureus* on Primary Cultures of Human Limbo-Corneal Fibroblasts. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 2021 Sep;11:646054. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8415486/>
 20. Tu B, Yin G, Li H. Synergistic effects of vorinostat (SAHA) and azoles against *Aspergillus* species and their biofilms. BMC Microbiol [Internet]. 2020 Feb 7 [cited 2025 Sep 29];20(1):1–7. Available from: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-020-1718-x>
 21. Ito Y, Takazono T, Koga S, Nakano Y, Ashizawa N, Hirayama T, et al. Clinical and experimental phenotype of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* with a HapE splice site mutation: a case report. BMC Infect Dis [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Sep 28];21(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34126952/>

