

Genotyping of *Aspergillus flavus* Isolates from Patients with Otomycosis in Babol Using Multiple-Locus Variable Number Tandem-Repeat Analysis (MLVA)

Masoumeh Mohammadi¹

Saeid Mahdavi Omran²

Jalal Jafarzadeh³

Keyvan Kiakojuri⁴

Mojtaba Taghizadeh Armaki⁵

Ahmad Reza Aminian⁶

¹ Medical Student, Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

² Professor, Department of Medical Mycology, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

³ PhD Student in Medical Mycology, Department of Medical Mycology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁴ Professor, Department of Ear, Nose, and Throat, Faculty of Medicine, Roohani Hospital, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁵ Associate Professor, Department of Medical Mycology, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁶ PhD in Physiology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

(Received December 30, 2024; Accepted July 1, 2026)

Abstract

Background and purpose: After *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* is the second most common cause of invasive and non-invasive aspergillosis. Otomycosis is a superficial fungal infection of the external auditory canal, with a worldwide incidence ranging from 9% to 30%. Most cases of otomycosis are caused by *Aspergillus* species. The aim of the present study was to genotype *A. flavus* strains isolated from patients with otomycosis in Babol using the Multiple-Locus Variable Number Tandem-Repeat Analysis (MLVA) molecular technique.

Materials and methods: In this descriptive cross-sectional study, ear samples were collected by an Ear, Nose and Throat (ENT) specialist using sterile swabs over a five-year period. The samples were then transferred to the mycology laboratory under sterile conditions for direct microscopic examination using 10% KOH and culture on Sabouraud dextrose agar. A total of 40 *A. flavus* isolates were collected from patients with otomycosis. After DNA extraction, MLVA was performed using four variable number tandem repeat (VNTR) markers for *A. flavus* (AFLA1, AFLA3, AFLA7, and AFMP3) to determine the genetic diversity and potential relatedness of the clinical isolates by polymerase chain reaction (PCR).

Results: Microsatellite typing of the 40 *A. flavus* isolates identified 40 distinct genotypes (sequence types). The Simpson's index of diversity for the markers ranged from 0.895 to 0.940. No two isolates exhibited 100% genetic similarity. Among the four markers, AFLA1 demonstrated the highest discriminatory power.

Conclusion: Microsatellite genotyping revealed considerable genetic diversity among *A. flavus* isolates obtained from patients with otomycosis. Furthermore, there was no evidence of an association between a specific genotype and the clinical presentation of *A. flavus* otomycosis.

Keywords: Genotyping, *Aspergillus flavus*, Otomycosis

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (258): 113-118 (Persian).

Corresponding Author: Mojtaba Taghizadeh Armaki - Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran (E-mail: mojtabataghizade@yahoo.com)

ژنوتایپینگ گونه های آسپرژیلوس فلاووس جدا شده از بیماران مبتلا به اتومایکوزیس در شهرستان بابل با استفاده از تکنیک مولکولی MLVA

معصومه محمدی^۱سعید مهدوی عمران^۲جلال جعفرزاده^۳کیوان کیاکجوری^۴مجتبی تقی زاده ارمکی^۵احمدرضا امینیان^۶

چکیده

سابقه و هدف: پس از آسپرژیلوس فومیگاتوس، آ. فلاووس دومین عامل اصلی آسپرژیلوزیس مهاجم و غیر تهاجمی است. اتومایکوزیس یک عفونت قارچی سطحی کانال گوش خارجی است که شیوع جهانی آن از ۹ تا ۳۰ درصد متغیر است. اتومایکوزیس معمولاً توسط گونه های آسپرژیلوس ایجاد می شود. مطالعه حاضر با هدف، ژنوتایپینگ سویه آسپرژیلوس فلاووس جدا شده از بیماران مبتلا به اتومایکوزیس در شهرستان بابل با استفاده از تکنیک مولکولی MLVA، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: مطالعه توصیفی - مقطعی حاضر، در طی دوره ۵ ساله، نمونه های گوش توسط پزشک متخصص گوش، حلق و بینی توسط سواپ استریل برداشته شد. سپس انتقال نمونه در شرایط استریل به آزمایشگاه، برای آزمایش میکروسکوپی مستقیم با پتاس ۱۰ درصد و کشت بر محیط سابورو دکستروز آگار انجام شد. تعداد ۴۰ ایزوله آسپرژیلوس فلاووس از بیماران مبتلا به اتومایکوزیس جمع آوری شد. پس از استخراج DNA، تکنیک تجزیه و تحلیل تعداد توالی های متغیر تکراری پشت سرهم چند لوکوس (MLVA) با ۴ مارکر توالی های تکراری پشت سرهم (VNTR) برای آ. فلاووس (AFLA1، AFLA3، AFLA7 و AFMP3) به منظور تعیین تنوع ژنتیکی و ارتباط بالقوه بین سویه های بالینی با واکنش زنجیره ای پلیمرز انجام شد.

یافته ها: میکروستلایت تایپینگ ۴۰ ایزوله آسپرژیلوس فلاووس نشان دهنده ۴۰ ژنوتایپ (سکانس تایپ) مختلف بوده است. شاخص تنوع سیمپسون هر یک از مارکرها از ۰/۹۴۰-۰/۸۹۵ متغیر بود. هیچ یک از ایزوله ها قرابت ژنتیکی ۱۰۰ را نشان ندادند. برترین مارکر با قدرت تمایز بالاتر در میان ۴۰ ایزوله، مارکر AFLA1 بوده است.

استنتاج: میکروستلایت ژنوتایپینگ نشان داد تنوع ژنتیکی بین ایزوله های آسپرژیلوس فلاووس جدا شده از اتومایکوزیس بسیار متنوع بوده است. هیچ شواهدی مبنی بر ارتباط ژنوتیپ خاص با تظاهرات بالینی آسپرژیلوس فلاووس اتومایکوزیس وجود نداشت.

واژه های کلیدی: ژنوتایپینگ، آسپرژیلوس فلاووس، اتومایکوزیس

E-mail: mojtabataghizade@yahoo.com

مؤلف مسئول: مجتبی تقی زاده- بابل: پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۱. پزشکی عمومی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲. استاد، گروه قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳. دانشجوی دکتری قارچ شناسی پزشکی، گروه قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴. استاد، گروه گوش، حلق و بینی، دانشکده پزشکی، بیمارستان آیت الله روحانی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۵. دانشیار، گروه قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۶. دکتری تخصصی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۱۰/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۴۰۵/۴/۱۰

مقدمه

اتومایکوزیس عفونت حاد، تحت حاد و یا مزمن گوش خارجی و میانی با علائم بالینی شامل درد، التهاب، ترشح، چرک، خارش و کاهش قدرت شنوایی اطلاق می گردد (۱، ۲). طیفی از کپک های ساپروفیت شفاف از گونه های آسپرژیلوس شامل آسپرژیلوس نایجر، آ. فلاووس، آ. فومیگاتوس و به ندرت جنس های پنی سیلیوم، موکور، رازیوپوس، اسکویولاریوپسیس و درماتوفیت هایی مثل اپیدرموفایتون فلوکوزوم، ترایکوفایتون متاگروفایتس و تریکوفایتون روبروم عامل بیماری گزارش می گردد (۳-۱). استفاده از روش های تایپینگ مولکولی گونه ها یا توانایی تشخیص بین ایزوله های قارچی یک ابزار کارآمد در شناسایی اپیدمی های عفونت بیمارستانی می باشد (۳، ۴). لذا از مهم ترین دلایل استفاده تایپینگ گونه در قارچ شناسی، مانیتورینگ بیماران و پیگیری درمان، آنالیز بروز و شیوع مانیتورینگ محیطی و مطالعه اپیدمیولوژی های جهانی و منطقه ای بیماری های قارچی می باشد (۵). در روش تجزیه و تحلیل تعداد توالی های متغیر تکراری پشت سرهم چند لوکوس (MLVA) ایزوله های مختلف می توانند براساس تفاوت در تعداد تکرار از یکدیگر متمایز شوند (۳، ۶). با توجه به اهمیت تشخیص مولکولی و حساسیت دارویی ایزوله های بالینی آ. فلاووس و از طرفی کم بودن مطالعات اپیدمیولوژی در این مورد، هدف از مطالعه حاضر، ژنوتایپینگ آ. فلاووس جدا شده از نمونه های اتومایکوزیس شهرستان بابل با روش MLVA بود.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه

این مطالعه از نوع توصیفی - مقطعی با کد اخلاق IR.MUBABOL.HRI.REC.1401.227 معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل، در طی ۵ سال (۱۴۰۰-۱۳۹۶)، بر روی ۴۰ ایزوله آ. فلاووس جدا شده از عفونت گوش انجام شد. نمونه برداری بعد از

معاینه بالینی به کمک اتوسکوپ و بررسی تاریخچه توسط پزشک متخصص گوش و حلق و بینی به کمک سواب استریل از قسمت عمقی گوش خارجی نمونه برداری و به لوله فالكون ۱۵ میلی لیتر حاوی سرم فیزیولوژی منتقل شد. فالكون ها در دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و از رسوب آن برای آزمایش مستقیم با پتاس ۱۰ درصد و مانده رسوب برای کشت بر روی محیط سابورو دکستروز آگار در دماهای ۳۷ °C و ۲۵ °C انجام شد. کلنی های رشد یافته به رنگ سبز روشن با بررسی مستقیم میکروسکوپی با رنگ آمیزی متیلن بلو از نظر ساختمان زایشی به عنوان گونه آ. فلاووس شناسایی شد.

استخراج DNA

استخراج DNA آ. فلاووس به روش پرل شیشه ای و ترکیب ۳ تایی (فنل - کلروفرم - ایزوآمیل الکل) در شرایط کاملاً استریل و در زیر هود به شرح ذیل انجام شد. در هر میکروتیوب (۱/۵ ml) استریل، ۲۰۰ میکرولیتر بافر لایزس (شامل تریتون X ۱۰۰، سدیم دودسیل سولفات ۱ درصد، کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار، تریس - اسید هیدروکلریک ۱۰ میلی مولار با pH=۸، ۱ میلی مولار اتیلن دی آمین تترا استیک اسید با pH=۸ و ۳۰۰ میلی گرم از پرل شیشه ای با قطر ۰/۴-۰/۶ میلی متر اضافه شد. از سواب مواجهه شده با آب مقطر استریل برای برداشت اسپور آ. فلاووس استفاده شد. محتویات میکروتیوب به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس و سپس برای مدت زمان ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ °C انکوبه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از ترکیب ۳ تایی (فنل - کلروفرم - ایزوآمیل الکل) به محتویات قبلی اضافه شد. سپس میکروتیوب برای ۵ دقیقه در دمای ۲۵ °C شیک شد و پس از آن با دور بالا ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ °C سانتریفیوژ انجام شد. سوپرناتانت دور ریخته شده و ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ rpm در دمای ۴ °C سانتریفیوژ انجام شد. اتانول دور ریخته و میکروتیوب ها در دمای اتاق خشک گردید. سپس

OD نمونه ها (به منظور تعیین مقدار DNA) با روش اسپکتروفتومتری خوانده شدند. بعد از آن نمونه ها در فریزر ۲۰- درجه نگهداری شدند (۷).

تایپینگ MLVA آسپرژیلوس فلاووس با روش PCR (واکنش زنجیره ای پلیمرز)

برای انجام تایپینگ، واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، به میزان ۱ میکرولیتر از DNA، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (جدول شماره ۱) با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر، ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس (آمپلیکون، دانمارک) و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر انجام شد. برنامه تکثیر شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، ۵۴ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، به دنبال آن یک مرحله گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. سپس الکتروفورز و مشاهده باندها بر روی ژل آگارز ۲ درصد انجام شد (۸).

جدول شماره ۱: ویژگی های نشانگرهای VNTR برای آسپرژیلوس فلاووس

Fragment Size	Range of repeat number	Repeat unit	Primer sequences (5' to 3')	VNTR markers
۱۸۰-۲۹۰	۱۴	AC	F: CGTTGGCATGTTATCGTCAC R: CTACTGAATGGGGGACCTA	AFLA1
۱۶۴-۲۷۲	۱۱	TAGG	F: CTGAAAGGGTAAGGGGAAGG R: CACGCGAAGCTTATGGGACTT	AFLA3
۱۲۱-۲۵۴	۱۳	TAG	F: GCGGACACTGGATGAATAGC R: AACAAATCGGTGGTGTCTC	AFLA7
۱۸۸-۲۷۴	۱۰	(AT)6AAGGGCG(GA)	F: CCTTTCGCACTCCGAGAC R: CACCACCACTGATGAGGG	AFPM3

پروفایل الی هر یک از استرین های آ. فلاووس بر اساس فرمول

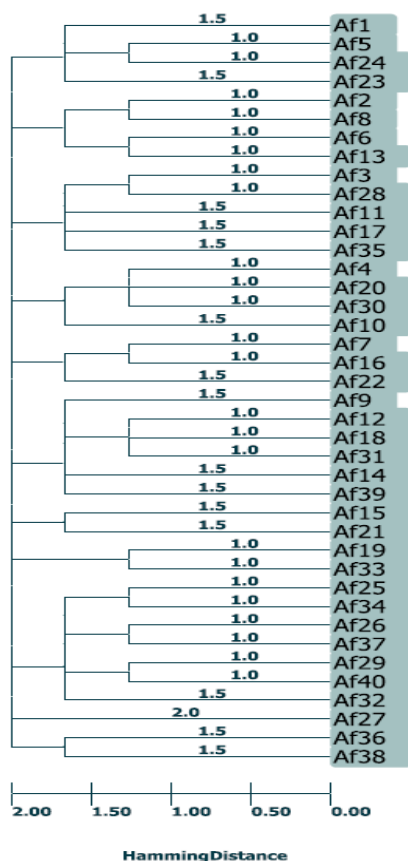
(تعداد باز تکرار ÷ اندازه افسه ها - اندازه ناحیه تکثیر یافته = تعداد کپی نامبر) محاسبه گردید. ارتباط بین ژنوتیپ های مختلف توسط مقایسه پروفایل های آلی با نرم افزار فیلوویز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. هم چنین سمپسیون تنوع ژنتیکی (معیاری برای سنجش تنوع است که تعداد تکرارهای موجود و همچنین فراوانی نسبی هر ال را در کل ایزوله ها در نظر می گیرد)

هریک از مارکرهای VNTR برای کل ایزوله ها با استفاده از نرم افزار آنالیز Comparing Partitions محاسبه شد.

یافته ها و بحث

نتایج نشان داد که برای مارکر ژن های AFLA7 و AFPM3 دامنه باند مشاهده شده بر روی الکتروفورز به ترتیب ۱۲۱bp-۳۵۴ و ۱۸۸bp-۲۷۴ بوده است. ۲۴ ایزوله برای تکثیر ناحیه ژنی AFLA7 در M-PCR منفی بوده است در حالی که برای AFPM3 تنها ۲ ایزوله در M-PCR منفی بوده است. برای ژن های AFLA1 و AFLA3 دامنه باند مشاهده شده بر روی الکتروفورز به ترتیب ۱۸۰bp-۲۹۰ و ۱۶۴bp-۲۷۲ بوده است. تمامی ایزوله ها برای ژن های AFLA1 و AFLA3 مثبت بوده است. آنالیز درخت فیلوژنتیک نشان داد که هیچ یک از ایزوله ها قرابت ژنتیکی یکسانی از خود نشان ندادند و در یک شاخه فیلوژنتیک قرار نگرفتند (تصویر شماره ۱). در آنالیز درخت فیلوژنتیک در مجموع ۱۰ خوشه فیلوژنتیک و ۱ تک کلون شناسایی شد. بر اساس شاخص سیمپوزون اندکس تنوع ژنتیکی هر یک از ۴ مارکر نشان دهنده این می باشد که برترین مارکرها در بین ۴۰ ایزوله، AFLA1 بوده است. در روش MLVA با شمارش تعداد تکرار مارکرهای VNTR، ارتباط بین سویه های مختلف بررسی می گردد. در مطالعه Hadrich و همکاران (۲۰۱۰) از نشانگر میکروستلایت برای تایپینگ ۶۳ ایزوله آ. فلاووس استفاده شد. ترکیبی از ۱۲ مارکر موجود که دارای قدرت افتراقی ۰/۹۷ و ترکیب ۵ مارکر (AFM و AFM3، ۷ AFLA7، AFLA3، AFLA1) که دارای قدرت افتراقی ۰/۹۵۲ گزارش شد (۹). Guarro و همکاران ۲۸ ژنوتیپ از گونه های آ. فومیگاتوس و ۲۳ ژنوتیپ از گونه های آ. فلاووس را در یک عفونت بیمارستانی شناسایی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که ۴ بیمار به وسیله دو ایزوله از یک ژنوتیپ مشابه از ایزوله های محیطی آلوده شده بودند و یک ژنوتیپ بالینی در بین ۳ بیمار و یک ژنوتیپ دیگر

قدرت افتراقی بسیار بالایی جهت مطالعه مولکولار اپیدمیولوژی ایزوله‌های بالینی *آ. فلاووس* می باشد.



تصویر شماره ۱: آنالیز MLVA با نرم افزار فیلوویژ نشان دهنده تنوع ژنتیکی ۴۰ ایزوله *آسپیرژیلوس فلاووس* برای ۴ مارکر VNTR

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی و نتیجه‌ی طرح تحقیقاتی با کد رهگیری ۷۲۴۱۳۴۳۷۷ می باشد. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل تقدیر و تشکر نمایند.

References

1- Kiakojuri K, Armaki MT, Rajabnia R, Pournajaf A, Karami M, Khademian A, et al. Outer ear infections in Iran: a review. Open Access Maced J Med Sci 2019; 7(7): 1233-1240. PMID: 31049113

بین دو بیمار مشترک بود (۱۰). در مطالعه حاضر با ژنوتایپینگ بر روی ایزوله‌های *آ. فلاووس* با منشا اتومایکوزیس، ۴۰ سکانس تایپ شناسایی شد. در مطالعه Gheith و همکاران در یک بخش انکولوژی از کشور تونس با تایپینگ ۱۸ ایزوله *آ. فلاووس* جدا شده از بیماران مبتلا به لوسمی حاد و ۸۱ ایزوله *آ. فلاووس* محیطی با استفاده از روش میکروستلایت در این بخش به طور واضح احتمال وقوع عفونت اکتسابی بیمارستانی ناشی از *آ. فلاووس* را در بخش انکولوژی گزارش نمودند (۱۱). Rudramurthy و همکاران (۲۰۱۱) به مطالعه ژنوتایپینگ ۱۶۲ ایزوله بالینی *آ. فلاووس* با استفاده از ۹ مارکر میکروستلایت پرداختند. پلی مورفیک سایت مشاهده شده ۹ مارکر ۳۳ ال بود. ۱۳ ایزوله واجد مخلوطی از ژنوتایپ مختلف بودند. برای مابقی ۱۴۹ ایزوله‌های *آ. فلاووس* ۱۲۴ ژنوتایپ مختلف شناسایی شد. قدرت تمایز هر یک از مارکرها در دامنه ۰/۹۵۴ - ۰/۶۵۷ بود. در مجموع قدرت تمایز ۹ مارکر میکروستلایت برای تمامی ایزوله‌های *آ. فلاووس* ۰/۹۹۷ به دست آمد. ارتباط معنی داری بین ژنوتایپ‌ها و اشکال مختلف بالینی عفونت مشاهده نشد (۱۲). نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده ۴۰ ژنوتایپ مختلف در میان ۴۰ ایزوله بالینی *آ. فلاووس* با قدرت افتراقی (D) تکنیک STR assay بر اساس Simpson's diversity index برای هر یک از مارکرهای مطالعه حاضر دارای طیفی از ۰/۸۹۵ تا ۰/۹۴۰ بود. دلایل تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعه دیگران می‌تواند به دلیل نوع استرین، منطقه جغرافیایی، منبع نمونه‌ها و نوع مارکر میکروستلایت به کار رفته باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ژنوتایپینگ گونه‌های *آ. فلاووس* جمع‌آوری شده از عفونت گوش، دارای تنوع ژنتیکی گسترده‌ای بود. روش تایپینگ MLVA دارای

2- Dehqan L, Nasrollahi Omran A, Taghizadeh Armaki M, Hashemi Karoui M, Mahdavi Omran S. Genotyping and antifungal susceptibility testing of *Aspergillus flavus* isolated from clinical

- specimens. *Jundishapur J Microbiol* 2024; 17(10): e150338
- 3- Wang DY, Hadj-Henni L, Thierry S, Arné P, Chermette R, Botterel F, et al. Simple and highly discriminatory VNTR-based multiplex PCR for tracing sources of *Aspergillus flavus* isolates. *PLoS One* 2012; 7(9): e44204. PMID: 23028503
- 4- Kim WB, Nho D, Cho SY, Lee DG, Park C, Lee R. Geographically structured genotypes and resistance clustering in *Aspergillus fumigatus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2025; . PMID: 41436940
- 5- Rudramurthy SM, Paul RA, Chakrabarti A, Mouton JW, Meis JF. Invasive aspergillosis by *Aspergillus flavus*: epidemiology, diagnosis, antifungal resistance, and management. *J Fungi (Basel)* 2019; 5(3): 55. PMID: 31266196
- 6- Dehqan L, Nasrollahi Omran A, Taghizadeh Armaki M, Hashemi Karoui M, Mahdavi Omran S. Genotyping and antifungal susceptibility testing of *Aspergillus flavus* isolated from clinical specimens. *Jundishapur J Microbiol* 2024; 17(17): e150338
- 7- Hedayati MT, Taghizadeh-Armaki M, Zarrinfar H, Hoseinnejad A, Ansari S, Abastabar M, et al. Discrimination of *Aspergillus flavus* from *Aspergillus oryzae* by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *Mycoses* 2019; 62(12): 1182-1188. PMID: 31556203
- 8- Hadrich I, Neji S, Drira I, Trabelsi H, Mahfoud N, Ranque S, et al. Microsatellite typing of *Aspergillus flavus* in patients with various clinical presentations of aspergillosis. *Med Mycol* 2013; 51(6): 586-591. PMID: 23336695
- 9- Hadrich I, Makni F, Ayadi A, Ranque S. Microsatellite typing to trace *Aspergillus flavus* infections in a hematology unit. *J Clin Microbiol.* 2010;48(7):2396-401. PMID:20410353
- 10- Guarro J, Solé M, Castany R, Cano J, Teixidó A, Pujol I, et al. Use of random amplified microsatellites to type isolates from an outbreak of nosocomial aspergillosis in a general medical ward. *Med Mycol* 2005; 43(4): 365-371. PMID: 16110783
- 11- Gheith S, Saghrouni F, Normand AC, Bannour W, Khelif A, Piarroux R, et al. Microsatellite typing of *Aspergillus flavus* strains in a Tunisian onco-hematology unit. *Mycopathologia* 2016; 181(3-4): 175-184. PMID: 26582086
- 12- Rudramurthy SM, de Valk HA, Chakrabarti A, Meis JF, Klaassen CH. High resolution genotyping of clinical *Aspergillus flavus* isolates from India using microsatellites. *PLoS One* 2011; 6(1): e16086. PMID: 21264229