

AEROSPORAS FUNGICAS DEL AREA ORIENTE DE SANTIAGO (1996-1997)

Fungal aerospores from orient area of Santiago(1996-1997)

Valeria Ibáñez Henríquez,* Gloria Rojas Villegas**

*Departamento de Infectología, Facultad de Ciencia Médicas,
Universidad de Santiago de Chile. E-mail nubanez@clx.cl

**Departamento de Botánica, Museo Nacional de Historia Natural

Palabras clave: Aerosporas fúngicas, alérgenos fúngicos, aerobiología, Chile.

Key words: Fungal aerospores, fungal allergens, acrobiology, Chile.

RESUMEN

Utilizando un captador Burkard se estudia la aeromicrobiota presente en Santiago oriente durante 12 meses (agosto 1996 a julio 1997) identificando las aerosporas fúngicas por microscopía directa. Estas fueron agrupadas en 19 categorías taxonómicas, correspondiendo el 76.2% a Deuteromycetes, el 13.6% a Basidiomycetes, 2% a Ascomycetes y el 8.3% a aerosporas no identificadas.

En nuestro registro predominan los hongos dematiáceos debido a la gran presencia de *Cladosporium*, 73%. Las basidiosporas (no identificadas) constituyeron el 8.4%, carbonos 4.3%, ascosporas (no identificadas) 1.6%, *Alternaria* 1% y el resto de los géneros con frecuencias menores al 1%. *Cladosporium* presenta un contenido aéreo mayor en otoño (abril) como *Epicoccum* y *Stemphylium*; las basidiosporas, conidios de *Aspergillus/ Penicillium* y ascosporas aumentan en los meses de invierno. *Alternaria* se dispersa con igual frecuencia durante primavera y otoño. *Ganoderma* y *Helminthosporium* aumentan durante el verano.

Con el registro de tres años consecutivos se confeccionará un calendario aeromicológico que permita a los pacientes con rinitis o asma reconocer los períodos de mayor dispersión aérea de estos alérgenos.

INTRODUCCION

La aerobiología es una herramienta utilizada al servicio de otras disciplinas que estudia las partículas aéreas de origen biológico: virus, bacterias, polen, esporas de hongos, helechos y musgos, pequeñas semillas, protozoos,

SUMMARY

We studied the existing aeromycobiota in east Santiago for 12 months from august 1996 till july 1997 by using a Burkard volumetric trap. The fungal aerospores identification was based on their microscopic morphology and they were classified into 19 taxonomic categories, 76.2% corresponding to Deuteromycetes, 13.6% to Basidiomycetes, 2% to Ascomycetes and 8.3% to unidentified spores. In our survey the Dematiaceous Hyphomycetes prevail due to the great abundance of *Cladosporium*, 73% of the total catch. The other most frequent spore types were unidentified as basidiospores (8.4%), smuts (4.3%), unidentified ascospores (1.6%), *Alternaria* (1%). The rest of the fungal spores was observed in small numbers throughout the year in relative amount lower than 1%. *Cladosporium* reached its maximum value in autumn (April), so did *Epicoccum* and *Stemphylium*. Basidiospores, conidia of *Aspergillus-Penicillium* and ascospores increase in winter. *Alternaria* conidia disperse during spring and autumn with the same frequency. *Ganoderma* and *Helminthosporium* increase during the summer.

With the help of three consecutive years-record it will be possible to prepare an aeromycological calendar that allows patient suffering from rhinitis or allergic asthma to recognize the most frequent aerial dispersion times of these allergens.

ácaros e insectos. Entre ellas los diversos propágulos de dispersión fúngica constituyen una parte importante de este ambiente (Lacey, 1996).

Poco se sabe en los ambientes externos, de la potencialidad alérgica de las diversas partículas y de los niveles de exposición a que deben estar sometidos los pa-

cientes para que se les manifieste una respuesta clínica (Levetin *et al.*, 1995). En relación a los hongos, un gran número de especies anemófilas han sido descritas como agentes desencadenantes de cuadros de asma y rinitis, entre otras enfermedades alérgicas respiratorias (Cruz *et al.*, 1997). Cerca de 80 especies han sido asociadas con síntomas de alergia respiratoria, aunque la sensibilización a una sola especie es muy rara; lo habitual, según resultados de pruebas cutáneas, es encontrar reactividad simultánea frente a varios hongos debido a la presencia de epítopes comunes en géneros filogenéticamente relacionados (Horner *et al.*, 1995).

Mediante encuestas en Santiago (Chile), se ha detectado en la población infantil, una prevalencia anual de síntomas de asma de un 11% y de síntomas de rinoconjuntivitis entre 12.7 y 15.7% (Strachan *et al.*, 1997; Asher *et al.*, 1998). Al mismo tiempo, la reactividad cutánea es mayor frente a dermatofagoides, polen y polvo de habitación que a las esporas fúngicas (Aguirre *et al.*, 1998; López *et al.*, 1998).

Aunque la concentración atmosférica de esporas fúngicas, es superior al contenido polínico en nuestra capital (Rojas *et al.*, 1999), como en otras partes del mundo, los hongos parecen ocupar un lugar secundario en la etiología de estos cuadros.

El presente artículo, analiza los registros mensuales obtenidos en una estación de monitoreo del aire durante un año, y forma parte de un estudio a largo plazo y de mayor extensión territorial, que se está realizando en Santiago, con el objeto de confeccionar un calendario esporopolínico que permita a los pacientes atópicos afectados de estas dolencias, reconocer los períodos de mayor dispersión aérea de estos alérgenos inhalantes y tomar las medidas adecuadas para disminuir su exposición.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de aire fueron tomadas desde el 1 de Agosto de 1996 al 31 de Julio de 1997 en la comuna de Providencia de nuestra capital, con un captador volumétrico Burkard instalado en el techo de la Clínica Servet, aproximadamente a 15 m sobre el nivel del suelo. Este aparato funcionó en forma continua durante 7 días, haciendo impactar las partículas suspendidas en el aire sobre una superficie adhesiva. El aire es succionado a razón de 10 litros/minuto, simulando el volumen respirado por un adulto durante actividad moderada. La cinta adhesiva, de 33.6 cm de longitud, rota a una velocidad de 2 mm/hora, de tal modo que fracciones de 48 mm equivalen a un día. En este estudio la cinta Melinex fue cubierta con vaselina y cambiada regularmente a las 10 AM los martes de cada semana. Las cintas diarias fueron montadas en una mezcla acuosa de glicerol (50%), gelatina (7%) y fenol (1%) teñida con

safranina y luego selladas con cubreobjetos de 5 x 2,5 cm. La concentración atmosférica diaria fue obtenida de la lectura de una banda de 0,45 mm de diámetro a lo largo de toda la preparación (4,8 cm), utilizando un ocular de 10 x y objetivo de 40 x, que representa el total de aerosporas observadas en 24 horas. El recuento diario fue convertido a conidios/día/m³ de aire y éste a su vez a cifras mensuales promedio.

La identificación de las aerosporas fúngicas se hizo sólo a nivel de género, mediante rasgos morfológicos microscópicos como color, forma, tamaño y septación, consultando bibliografía especializada (Piontelli & Toro, 1989; Smith 1990; Lacaz *et al.*, 1998) y láminas de referencia preparadas a partir de: a) ejemplares de la Micoteca del Museo Nacional de Historia Natural, b) ejemplares de carbonos aportados por el Laboratorio de Micología del Servicio Agrícola y Ganadero de Santiago, c) muestras de basidiosporas aportadas por el Prof. Waldo Lazo y d) de hongos anamorfos anemófilos cultivados en nuestro laboratorio.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las 365 muestras colectadas durante un período anual, se contaron un total de 987.516 conidios y/o esporas fúngicas (colectivamente denominadas aerosporas), las que fueron agrupadas en 13 taxa y 6 categorías. Los **Deuteromycetes** constituyeron el 76.2% del total de ellas, los **Basidiomycetes** el 13.6%, los **Ascomycetes** el 2% y el 8.3% no identificado se clasificó como dematiáceo o hialino según presencia o ausencia de pigmento oscuro. Si bien los **Deuteromycetes**, fundamentalmente los **Hyphomycetes** dematiáceos predominan en la mayoría de los monitoreos atmosféricos en diversas partes del mundo, su concentración relativa es variable, fluctuando entre el 40 al 80%. En la atmósfera de Ciudad de México y en la de Waterloo (Canadá), las aerosporas de **Basidiomycetes** han sido el componente mayor, representando el 30 y 24% respectivamente. En ambas ciudades las ascosporas también constituyen una fracción mayor a la obtenida en nuestro estudio, 12 y 10% (Calderón *et al.*, 1995; De-Wei & Kendrick, 1995).

La concentración media total anual registrada en Santiago oriente fue de 2.706 aerosporas/día/m³ con valores que fluctuaron entre 192 y 10.315, esta última ocurrida en Abril. Al parecer, las condiciones climáticas y disponibilidad de sustratos adecuados presentes entre Marzo y Junio, resultaron favorables para la liberación, dispersión y conidiogénesis de los hongos dematiáceos predominantes, por cuanto la mayor concentración aérea se observó en otoño, estación que concentró el 37% del total de las aerosporas. El contenido fúngico en el resto de las estaciones, no presentó variaciones muy importantes, fluctuan-

Tabla 1.- Aerosporas fúngicas de Santiago oriente (Conidios/día/m³)

Taxa-categoría	1996-97			
	Frecuencia relativa %	Media anual	Recuento máximo	Alergenicidad
<i>Cladosporium</i>	73	1975	924	*
Basidiosporas no id.+	8,4	228	1120	*
Carbones	4,3	117	1978	
Ascosporas no id.	1,6	43	238	*
<i>Alternaria</i>	1,0	27	168	*
<i>Aspergillus/Penic.</i>	0,8	22	459	*
<i>Ganoderma</i>	0,7	18	87	*
<i>Stemphylium</i>	0,4	11	132	*
<i>Helminthosporium*</i>	0,4	11	67	*
<i>Epicoccum</i>	0,3	7	48	*
<i>Torula</i>	0,3	8	42	
<i>Chaetomium</i>	0,3	7	36	*
Royas	0,2	6	62	
<i>Pleospora</i>	0,1	2	44	
<i>Oidium</i>	0,1	1	24	
<i>Polythrincium</i>	0,02	1	11	
<i>Curvularia</i>	0,02	1	14	
Dematiáceos	3,9	103	495	
Hialinos	4,4	118	1002	

* Complex de especies semejante. Incluye conidios compatible con *Exerohilum*, *Bipolaris* y *Drechslera*.

+ no id. = no identificadas

do entre el 18 y 24%. Un patrón estacional similar, de mayor presencia en otoño, pero que comienza a finales del verano, se ha informado en latitudes semejantes a la nuestra como en Brisbane y Melbourne (Australia) (Rutherford *et al.*, 1997; Mitakakis *et al.*, 1997), donde el 66% del contenido se registró durante los meses de verano-otoño. Un franco predominio en verano ocurrió en Waterloo (op cit.) ciudad que registra una media anual de 3.477 aerosporas/día/m³, superior a la nuestra. En un monitoreo atmosférico realizado en 1991-92 en Santiago norte, la mayor concentración se obtuvo en verano (Ibáñez *et al.*, 1998).

La Tabla 1, muestra las aerosporas identificadas en

este estudio, sus concentraciones medias, cifras máximas y su contribución relativa al recuento total; además se indican aquellos géneros fúngicos en los que se ha demostrado alergenidad por su reactividad cutánea, por detección sérica de IgE específicas o por pruebas de provocación (Kozak & Hoffman, 1984; Cruz *et al.*, 1997). En la Figura 1 se ilustra la dinámica aérea de los principales hongos detectados en la atmósfera de Santiago oriente expresada con sus media mensuales.

Destaca la marcada dominancia de *Cladosporium* en nuestra atmósfera que constituye el 73% del contenido fúngico en este período, con una media anual de 1.975

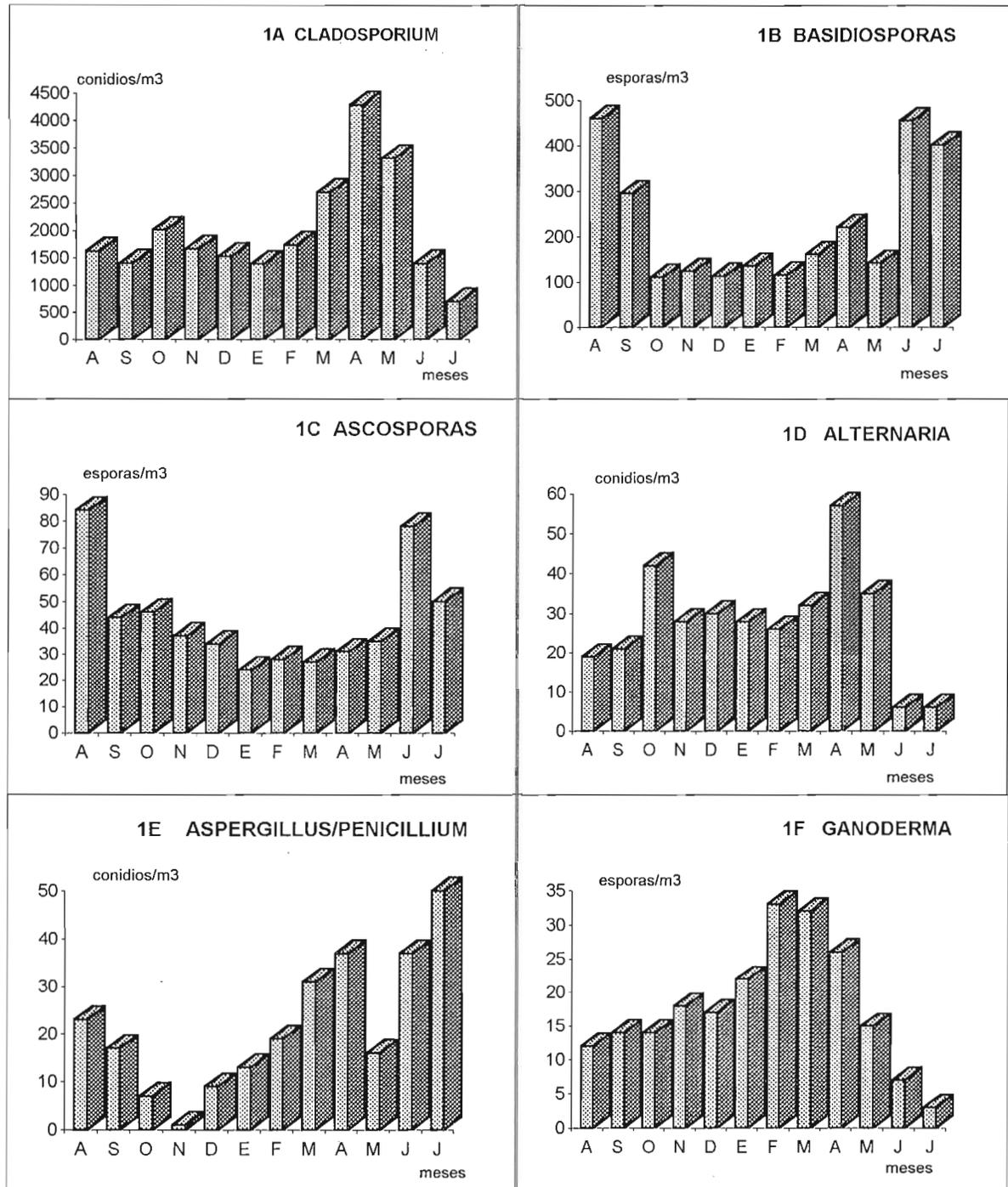


Figura 1. Dinámica de aerosporas fúngicas alergénicas Santiago oriente 1996-97

conidios/día/m³, con cifras diarias que fluctuaron entre 64 y 9.240 (Abril). Su período de mayor dispersión ocurrió en Abril y Mayo, lo que determinó que en otoño se captó la mayor cantidad de conidios/m³ de estos propágulos y el menor contenido en invierno (Fig. 1A). Las frecuencias de recolección informadas en la literatura fluctúan entre 35 y 75% y en general el contenido atmosférico es mayor durante el verano y el otoño, lo que nos ubica dentro de este contexto (Herrero & Zaldívar, 1997; Waissel *et al.*, 1997).

Kurkela (1997), señala que el crecimiento, producción de conidios y dispersión de *Cladosporium*, se correlaciona positivamente con el aumento de la temperatura, disminución de la humedad relativa y sólo con el período inicial de la lluvia, la que permite el desprendimiento de los conidios de su estructura de fructificación. Estos datos son congruentes con lo encontrado previamente por Ibáñez *et al.*, (1998).

Cladosporium es el principal componente de la micobiota en la mayoría de las investigaciones aerobiológicas, con sumas anuales que fluctúan ampliamente, como ha sido registrado en Holanda en observaciones diarias, cuyas cifras máximas oscilaron entre 450.000 y 1.895.000 por m³ (Nikkels *et al.*, 1996). En nuestro estudio la suma anual fue de 720.838 conidios/m³.

Las basidiosporas ocupan el segundo lugar en orden de frecuencia, con un 8.4% y una media anual de 228 esporas/día/m³, con fluctuaciones diarias entre 24 y 1.120 por m³. Este grupo heterogéneo incluye esporas de *Coprinus*, *Agaricus*, *Boletus*, *Calvatia* y *Agrocybe*, junto a un gran número de esporas no identificables a nivel de género, tanto hialinas como dematiáceas. En la Fig. 1B se ilustra el patrón bimodal de esta categoría, caracterizado por una concentración baja de octubre a mayo, flanqueado por dos períodos de mayor dispersión de similar magnitud. Las basidiosporas se detectaron principalmente en los meses fríos y de mayor humedad; en invierno se concentró el 43% del total recopilado en el año y en otoño el 28%, mientras en primavera y verano se distribuyeron en forma similar (15%). En otras partes del mundo la estacionalidad de este grupo es similar o aumentan durante el otoño (Horner *et al.*, 1998). Las esporas de *Coprinus* son las basidiosporas aerotransportadas más comunes vistas en este estudio, al igual que lo observado en Ciudad de México por Calderón *et al.*, (1995). Estos autores encontraron correlación directa entre la concentración aérea de basidiosporas y humedad relativa (> 70%) y también con la lluvia, cuando ésta cae 2 a 4 días antes de la medición, sugiriendo que es el tiempo requerido por algunos basidiocarpos para su maduración. En relación a la concentración diaria señalan que en zonas urbanas, raramente sobrepasan las 2.000 por m³, pero en áreas rurales o boscosas, pueden llegar a 100.000/m³ por cortos períodos de tiempo y constituir en ellas hasta el 70% del total de las

aerosporas registradas. Han sido caracterizados como alérgicos *Boletus*, *Calvatia*, *Coprinus*, *Ganoderma*, *Pleurotus* y *Psilocybe* (Horner *et al.*, 1998).

Los carbonos pertenecen al orden *Ustilaginales* y son las estructuras de dispersión anamórficas de estos *Basidiomycetes*. La gran mayoría de ellos son parásitos de plantas, pastos y cereales. Los conidios de *Ustilago* y *Tilletia*, son los que observamos con mayor frecuencia. En nuestro registro ocupan el tercer lugar en orden de frecuencia. Si los carbonos juegan algún rol en la alergia respiratoria éste aún no está determinado (Horner *et al.*, 1995).

Las ascosporas son otro gran grupo de propágulos que tienen importancia en los registros aerobiológicos, tanto por su concentración como por la capacidad alérgica que presentan algunos géneros. En Santiago oriente constituyeron el 1.6% del contenido atmosférico y la suma anual registrada por el grupo fue de 15.769 esporas/m³. Predominaron en invierno (37%), mientras en otoño y primavera sumaron el 50% de ellas, disminuyendo en los meses calurosos (Fig. 1C). En la literatura europea se informan frecuencias de recolección con rangos del 5 al 20% y sumas anuales de la concentración diaria de hasta 15.000 esporas por m³ de aire (D'Amato, 1995). Las ascosporas agrupadas en esta categoría en nuestro estudio, son compatibles con *Leptosphaeria*, *Paraphaeosphaeria*, *Sporormiella*, *Xilaria* y *Massarina*, entre otras. Algunos géneros que han sido asociados a enfermedades alérgicas son *Leptosphaeria*, *Xilaria*, *Chaetomium* (Cruz *et al.*, 1997).

Los conidios de *Alternaria*, fueron la quinta frecuencia registrada, aportando solo el 1.0% del total del contenido atmosférico en el período 1996-97, con una media anual de 27 por m³ y una máxima diaria de 168. Presentó dos períodos de mayor dispersión aérea cuyas máximas ocurrieron en los meses de octubre y abril (Fig. 1D), con mayor frecuencia en primavera (32%) y otoño (33%); y solo un 11% en invierno. Una estacionalidad algo diferente se ha registrado en Sydney, con predominio en primavera y verano y cifras diarias máximas de 1.125 por m³ (diez veces más altas que las nuestras), sin embargo, las sumas anuales fueron moderadamente más altas que nuestros registros (16.600 por m³ versus 10.025 de Santiago) (Bass & Morgan, 1997). En Melbourne, el verano concentra entre el 37 al 47% del total de estos conidios y sus sumas totales anuales no superaron los 7.000 (Mitakaki *et al.*, 1997). Ambos estudios australianos se prolongaron por tres años consecutivos, entre 1992 y 1995. En Holanda (op. cit.) las sumas anuales de este taxón siempre resultaron más altas que las observadas en este estudio, entre 10.735 y 31.580, concentrándose también en la estación estival. En Palencia (España), *Alternaria*, representa el 9% del total de aerosporas impactadas, logrando su mayor concentración en verano y sus medias semanales no sobrepasan las 80 por m³ (Herrero & Zaldívar, 1997).

Los conidios de *Aspergillus/Penicillium*, reconociendo como tales a todas aquellos propágulos unicelulares hialinos que se presentaron en cadenas, conformaron el 0,8% de la microbiota anemófila, con una media anual de 22 por m³ y una suma anual de 7.915; registraron mayor presencia durante el otoño-invierno (79%), disminuyendo notablemente en primavera (Fig. 1E). Estos son los propágulos de más difícil reconocimiento, tanto por su pequeño tamaño como por su carácter incoloro, y junto con las basidiosporas de los **Lycoperdales** («puff-ball»), son a nuestro juicio, los más subestimados con nuestra metodología. En la revisión efectuada por D'Amato & Spiekman (1995), se señala que en Europa, su presencia constituye entre el 2 y 20% del contenido total y que en el año pueden llegar a sumar hasta 15.000 conidios por m³, cifras superiores a las nuestras.

Las basidiosporas de *Ganoderma*, muy distintivas y fáciles de reconocer en las preparaciones directas, presentaron una dinámica aérea caracterizada por solo un período de mayor dispersión, el que comienza paulatinamente en noviembre hasta lograr un peak en febrero-marzo y disminuir fuertemente en los meses fríos (Fig. 1F). Constituyó el 0,7% del contenido fúngico total, logrando una media anual de 18 por m³, una cifra individual máxima de 87 y una suma anual de 6.454 esporas por m³. En verano se concentra el 38% de su contenido, distribución estacional similar a la observada en Ciudad de México y Waterloo, aunque en el monitoreo realizado en esta última ciudad alcanzaron una frecuencia relativa de 7,2% y una media anual de 248 por m³, muy superior a la nuestra.

Los otros hongos identificados a nivel de género en este estudio contribuyeron con un porcentaje menor al 0,5% del contenido total. La suma anual alcanzada por *Stemphylium* fue de 4.136 conidios por m³, seguido por el complejo *Helminthosporium* con 4.085, *Torula* con 2.748, *Chaetomium* con 2.715 y *Epicoccum* con 2.554. Sumas anuales menores de 600 por m³ presentaron las aerosporas de *Pithomyces*, *Curvularia*, *Polythrincium*, *Oidium* y *Pleospora*. Salvo *Epicoccum* que en Waterloo alcanzó una media anual de 46 conidios por m³ y una frecuencia de 1,3%, el resto de los hongos enumerados también tienen escasa representación en esa atmósfera canadiense. *Epicoccum* fue más abundante en Leiden (Canadá) cuyas sumas anuales en promedio alcanzan las 6.629; *Stemphylium* en cambio, registra sumas promedio menores, de 1.100. (Nikkels *et al.*, 1996). *Epicoccum*, *Stemphylium* y *Curvularia* tienen concentraciones más altas durante el

verano, en primavera en cambio lo hacen las aerosporas de royas, *Torula*, *Polythrincium*, *Fusicladium*, *Oidium* y *Pleospora*.

CONCLUSIONES

La metodología utilizada en este estudio fue desarrollada inicialmente para estudiar el componente polínico, haciéndose extensivo también para los hongos. La principal ventaja de este método sobre el del cultivo, es que aumenta el rango de propágulos que pueden ser cuantificados y su aspiración continua permite además determinar la fluctuación horaria. Su principal desventaja radica en la dificultad de identificar las aerosporas de morfología similar, que requieren de la observación de sus estructuras de fructificación especialmente **Deuteromycetes** hialinos o dematiáceos como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, entre otros y muchas basidiosporas.

Sin embargo, con diferentes metodologías los conidios de *Cladosporium* son lejos, el principal componente de la microbiota atmosférica en Santiago y otras latitudes. *Cladosporium* forma parte del gran número de géneros fúngicos anamórficos que han sido descritos como agentes sensibilizadores en desórdenes alérgicos. De los hongos aislados en nuestro estudio, se han caracterizado algunos alérgenos en *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Penicillium* y *Botrytis*.

La concentración de las basidiosporas es alta en Santiago, sin embargo, puede estar subestimada, especialmente las más pequeñas y hialinas, por la gran cantidad de material particulado suspendido en la atmósfera, principalmente en los meses de invierno, donde predominan (esta dificultad se hace extensiva a todos los conidios pequeños). Esto explicaría que entre el 25 y 30% de las personas con alergia respiratoria (asma), están sensibilizadas a alguna especie de Basidiomycetes (Horner, 1998). De ellas, *Coprinus* y *Ganoderma* son componentes importantes en nuestra micota anemófila.

Debido a las fluctuaciones estacionales que presenta año a año la concentración aérea de los hongos, es necesario un calendario micológico a tres años mínimo, para predecir su comportamiento y tomar las medidas de prevención.

FINANCIAMIENTO

Este trabajo fue financiado por FONDECYT p1960005.

REFERENCIAS

Aguirre, V.; Mallol, J.; Sempertegui, F.; Kovacevic, V. (1998). Análisis descriptivo del Test Cutáneo en el estudio del síndrome bronquial obstructivo en niños. *Rev Chil Enf Respir*; 14 :232

Asher, M.; Anderson, H.; Stewart, A.; Crane, J. (1998). Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC).

Eur Respir J:12:315-335

Bass, D. & Morgan, G. (1997). A three year (1993-1995) calendar of pollen and *Alternaria* mould in the atmosphere of south western Sydney. *Grana* 36: 293-300

Calderón, C.; Lacey, J.; McCartney, H.; Rosas, I. (1995) Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City. *Grana* 34:260-268

Cruz, A.; Saenz de Santamaria, M.; Martínez, J.; Martínez A.; Guisantes, J.; Palacios, R. (1997) Fungal allergens from important allergenic fungi imperfecti. *Allergol et Immunopathol* 25:153-58

Da Silva, C.; Porto, E.; Heins-Vaccari, E.; Takahashi, N. (1998). Guía para identificación de hongos, actinomicetos, algas de interés médico. Ed. Sarvier Sao Paulo, Brasil.

D'Amato, G. & Spiekma, F. (1995) Aerobiología and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy* 50:870-77

De-Wei, I. & Kendrick, B. (1995). A year-round outdoor aeromycological study in Waterloo, Ontario, Canada. *Grana* 34: 199-227

Herrero, B. & Zaldivar, P. (1997). Effects of meteorological factors on the levels of *Alternaria* and *Cladosporium* spores in the atmosphere of Palencia, 1990-92. *Grana* 36:180-184

Horner, W.; Helbling, A.; Salvaggio, J.; Lehrer, S. (1995) Fungal allergens. *Clin. Microbiol. Rev.* 8:161-79

Horner, W.; Helbling, A. & Lehrer, S. (1998). Basidiomycete allergens. *Allergy* 53:1114-1121

Ibáñez, V.; Thompson, L. & Mañalich, J. (1998). Fluctuación estacional de hongos anemófilos en Santiago Norte - Chile. *Bol. Micol.* 13:47-56

Kozak, J. & Hoffman, D. (1984) Critical review of diagnostic procedure for mould allergy. En *Mould Allergy*. Ed. Al-Doory Y. and Domson J. Lea & Febiger, Philadelphia USA.

Kurkela, T. (1997). The number of *Cladosporium* conidia in the air in different weather conditions. *Grana* 36:54-61

Lacey, J. (1996). Spore dispersal-it role in ecology and disease: the British contribution to fungal aerobiology. *Mycol. Res.* 100:641-660

Levetin, E.; Shaughnessy, R.; Fischer, E.; Ligman, B.; Harrison, J.; Brennan, T. (1995). Indoor air quality in a Schools: exposure to fungal allergens. *Aerobiol.* 11:27-34

López, M.; Parada, O. & Feijoo, R.M. (1998). Test cutáneo : revisión de 2024 exámenes. Instituto Nacional del Tórax. Resumen. *Rev. Chil. Enf. Respir.* 14:234

Mitakakis, T.; Kog Ong, E.; Stevens, A.; Guest, D.; Bruce, R. (1997) Incidence of *Cladosporium*, *Alternaria* and total fungal spores in the atmosphere of Melbourne (Australia) over three years. *Aerobiologia* 13:83-90

Nikkels, A.; Terstege, P. & Spiekma, F. (1996). Ten types of microscopically identifiable airborne fungal spores at Leiden, The Netherlands. *Aerobiologia* 12:107-112

Piontelli, E. & Toro, M. (1989) Introducción al estudio de los microhongos. Guía de identificación genérica. Parte I: Mucorales, Ascomycetes, Deuteromycetes. Fac. Medicina. Universidad de Valparaíso.

Rojas, G.; Roure, J.M.; Galleguillos, F.; Mardones, P. (1999). Aeropalinología de Santiago. *Rev. Chil. Enf. Respir.* 15:141-155

Rutherford, S.; Owen, J. & Simpson, R. (1997). Survey of airspore in Brisbane, Queensland, Australia. *Grana* 36:114-121

Strachan, D.; Sibbald, B.; Weiland, S.; Ait-Khaled, N.; Anahwani, G.; Anderson, H.; Asher, M.; Beasley, R.; Björkstén, B.; Burr, M.; Clayton, T.; Crane, J.; Ellwood, P.; Keil, U.; Lai, C.; Mallol, J.; Martínez, F.; Mitchell, E.; Montefort, S.; Pearce, N.; Robertson, C.; Shah, J.; Stewart, A.; von Mutius, E.; Williams, H. (1997) Worldwide variations in prevalence of symptoms of allergic rhinoconjunctivitis in children: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Pediatr. Allergy. Immunol.* 8:161-176

Smith, E.G. (1990) Sampling and identifying allergenic pollens and moulds. Atlas. 2º ed. Blewstone Press, San Antonio, USA.

Waisel, Y.; Ganor, E.; Glikman, M.; Epstein, V.; Brenner, S. (1997). Airborne fungal spores in the coastal plain of Israel: a preliminary survey. *Aerobiologia* 13:281-287