

# Contaminación fúngica ambiental en tres centros de enseñanza primaria del cantón Central de la provincia de Heredia, Costa Rica

## (Aerial Fungal Contamination in Three Primary Schools of the Province of Heredia, Costa Rica)

Daniela Jaikel-Viquez<sup>1</sup>, Sofía Hernández-Vargas<sup>1</sup>, Olman Riggioni-Cordero<sup>2</sup>,  
Ingrid Salas-Campos<sup>1</sup> y Norma Gross-Martínez<sup>1</sup>

### Resumen

**Justificación y objetivo:** las esporas fúngicas aéreas son consideradas agentes etiológicos de la rinitis alérgica y el asma. El objetivo del presente estudio fue analizar la contaminación fúngica ambiental en tres centros de enseñanza primaria del cantón Central de la provincia de Heredia, midiendo la concentración de esporas fúngicas aéreas por metro cúbico.

**Métodos:** se utilizó el equipo para muestreo volumétrico aéreo *Burkard Personal Volumetric Air Sampler* durante las épocas seca y lluviosa. Los conteos de esporas se relacionaron con los factores meteorológicos y las características estructurales de los centros educativos analizados.

**Resultados:** se encontró un total de  $1391,89 \pm 119,70$  esporas/m<sup>3</sup> en marzo,  $3194,45 \pm 577,03$  esporas/m<sup>3</sup> en mayo,  $3747,12 \pm 568,05$  esporas/m<sup>3</sup> en octubre y  $1009,99 \pm 81,24$  esporas/m<sup>3</sup> en diciembre. En marzo, octubre y diciembre, aproximadamente el 91,0% de estas esporas pertenecían a cuatro grupos: *Aspergillus/Penicillium*, ascosporas, basidiosporas y *Cladosporium*. Sin embargo, en mayo el 78,46% de las esporas identificadas pertenecían al género *Cladosporium*. Al correlacionar la concentración de esporas fúngicas se encontró correlación negativa con la velocidad del viento ( $-0.418$ ,  $p < 0.05$ ), correlación positiva con la precipitación pluvial ( $0,568$ ,  $p < 0,05$ ), correlación positiva con el porcentaje de humedad relativa ( $0,504$ ,  $p < 0,05$ ), y no se encontró correlación con los cambios de temperatura.

**Conclusión:** la concentración de esporas fúngicas encontrada en las tres escuelas muestreadas es mayor al límite de 1000 esporas por metro cúbico, considerado saludable.

**Descriptores:** contaminación fúngica, esporas, hongos, alergia.

### Abstract

**Background and aim:** Fungal spores are considered etiological agents of allergic rhinitis and asthma; therefore, it is advised to monitor fungal levels within the classrooms. The aim of this paper was to study fungal aerial contamination in three public schools of Heredia by measuring the concentration of aerial fungal spores per cubic meter.

**Methods:** We used the *Burkard Personal Volumetric Air Sampler* to collect and identify fungal spores during the dry and rainy season. The relationship between the fungal spore concentration, the meteorological factors and structural characteristics of the schools was determined.

**Trabajo realizado en:** Sección de Micología Médica, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica y Sección de Investigación y Desarrollo del Laboratorio RIVI, Centro de Diagnóstico y Tratamiento de Alergias, Heredia, Costa Rica

**Afiliación de los autores:** <sup>1</sup>Sección de Micología Médica, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. <sup>2</sup>Sección de Investigación y Desarrollo del Laboratorio RIVI, Centro de Diagnóstico y Tratamiento de Alergias, Heredia, Costa Rica.

**Fuentes de apoyo:** el trabajo se realizó con el apoyo del Centro de Diagnóstico y Tratamiento de Alergias.  
✉ daniela.jaikelviquez@ucr.ac.cr

**Results:** A total of  $1391.89 \pm 119.70$  spores/ $m^3$  was found in March,  $3194.45 \pm 577.03$  spores/ $m^3$  in May,  $3747.12 \pm 568.05$  spores/ $m^3$  in October and  $1009.99 \pm 81.24$  spores/ $m^3$  in December. Except for May, approximately 91.0 % of the spores identified belonged to four groups: *Aspergillus/ Penicillium*, ascospores, basidiospores and *Cladosporium*. In May, 78.46 % of the spores identified were *Cladosporium*. A negative correlation was found between spore concentration and wind velocity (-0.418;  $p < 0.05$ ), and a positive one with rain (0.568;  $p < 0.05$ ) and with humidity (0.504;  $p < 0.05$ ). No correlation was found with temperature changes.

**Conclusion:** The three schools analysed presented fungal spore concentrations which exceeded the limit of 1000 spores per cubic meter which is considered as healthy.

**Keywords:** Fungal contamination, spores, fungi, allergy.

**Fecha recibido:** 06 de setiembre de 2014

**Fecha aceptado:** 04 de junio de 2015

Las esporas fúngicas pueden ser anamórficas o teleomórficas. Las primeras cumplen el rol de diseminación y las segundas contribuyen con la diversidad y variabilidad genética de las especies. Ambos tipos de esporas son considerados alérgenos aéreos y están asociados con diversas enfermedades respiratorias.<sup>1,2</sup> Los hongos del exterior más comunes son: *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. y los basidiomicetes, mientras que los más importantes en el interior de las viviendas son: *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp., aunque la presencia de *Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp. en este sitio, también ha sido reportada como significativa.<sup>3-5</sup>

Los hongos entran a los edificios a través de ventanas y puertas abiertas, o son transportados por los habitantes y sus mascotas. La concentración de esporas dentro de las habitaciones depende de la localización geográfica, las condiciones climatológicas y las características de los hogares y sus habitantes. Además, la temperatura, la humedad y la presencia de materia orgánica dentro de los sistemas de ventilación, favorecen la esporulación y desarrollo de los hongos.<sup>6</sup>

La exposición a altas concentraciones de esporas fúngicas en ambientes cerrados se ha asociado con problemas a nivel de los sistemas respiratorio, nervioso e inmunológico.<sup>7,8</sup> Las manifestaciones clínicas de mayor peso son: asma, rinitis, enfermedad broncopulmonar y neumonitis hipersensitiva.<sup>9</sup> A su vez, cabe resaltar que tanto la rinitis alérgica como el asma tienen una prevalencia, en pacientes atópicos, de entre un 20 a un 30% y de un 6% en la población general de las zonas cálidas y húmedas alrededor del mundo.<sup>10</sup> Debido al impacto negativo que representa la exposición a hongos en ambientes cerrados, la contaminación fúngica dentro de las escuelas debería ser sujeta a análisis de manera rutinaria.<sup>11</sup>

Los conteos de esporas han probado ser una herramienta muy útil en el campo de la alergología, pues proveen información valiosa sobre los géneros fúngicos presentes en cada localidad y su estacionalidad. Existen dos tipos de muestreo por realizar para determinar y analizar la contaminación fúngica de cualquier ambiente cerrado: el pasivo y el activo. El muestreo pasivo se caracteriza por la recolección de esporas que se depositan o sedimentan en superficies. Estas técnicas presentan la desventaja de que se deben tomar precauciones para no agitar el aire sobre la superficie; además, no se puede

determinar la cantidad de aire que se somete a muestreo, por lo que no es una determinación volumétrica. Por otro lado, el muestreo aéreo activo es aquel en el cual se utilizan fuerzas artificiales, distintas a la gravedad, para recolectar las esporas. Por lo general, se emplean mecanismos similares a abanicos o bombas para inducir y controlar el flujo de aire que ingresa. Cuando los equipos están calibrados, se puede saber cuánto aire ha entrado al sistema y, por consiguiente, el muestreo pasa a ser volumétrico.<sup>12</sup> El estándar para determinar que un ambiente en un lugar cerrado es saludable para el hombre, es la presencia de menos de 1000 esporas por metro cúbico.<sup>11</sup>

Las mediciones de esporas fúngicas ambientales constituyen un apoyo para determinar el agente causal de la afección respiratoria o alérgica que padezca la persona, pero es importante tomar en cuenta tanto la cantidad como los tipos de esporas, para relacionarlas más fácilmente con los problemas de salud que presentan las personas expuestas. Se enfatiza la relación entre los elementos fúngicos, dentro de los hogares y oficinas, como factores importantes en materia de salud pública. Por lo tanto, este trabajo pretende aportar conocimiento sobre la cantidad de esporas fúngicas por metro cúbico, en las aulas de tres escuelas de la provincia de Heredia, para así evaluar si los estudiantes están recibiendo clases en un ambiente saludable, y a la vez, estudiar la influencia de factores ambientales (temperatura, humedad, precipitación pluvial y viento) sobre la contaminación fúngica, con el fin de brindar información sobre los hongos más comunes en las distintas épocas del año, para que los alergólogos puedan relacionarlos con las pruebas de hipersensibilidad a alérgenos fúngicos.

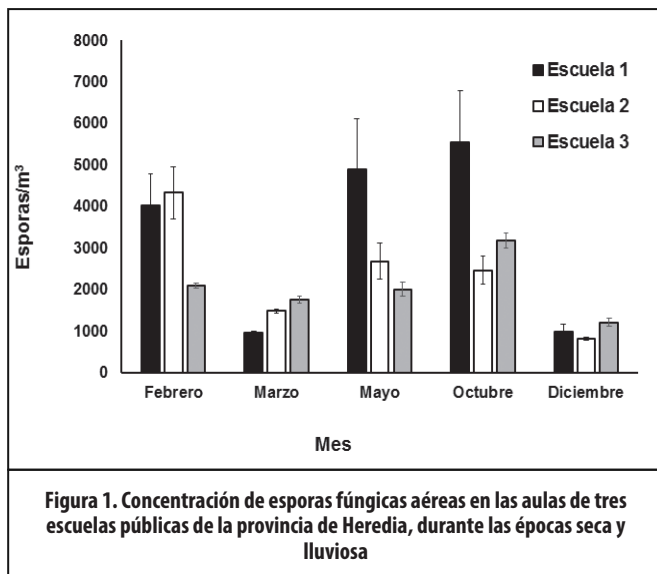
---

## Métodos

---

### Toma de la muestra

Se estudió la contaminación fúngica ambiental en tres escuelas públicas del cantón Central de la provincia de Heredia. Las escuelas se escogieron porque se encuentran localizadas en el centro de la ciudad y poseen gran cantidad de estudiantes. El permiso para realizar el muestreo fue otorgado por los directores de cada centro educativo.



Se utilizó el equipo para muestreo aéreo volumétrico “Burkard Personal Volumetric Air Sampler” para portaobjetos de la compañía Burkard Manufacturing Co. Ltd., el cual recolecta esporas fúngicas que se encuentran en el aire y las deposita directamente sobre un portaobjetos cubierto con una capa delgada y homogénea de vaselina, a una velocidad de 10 litros por minuto. El equipo de muestreo se colocó en el centro de cada aula. De acuerdo con el manual del “Burkard Personal Volumetric Air Sampler”,<sup>13</sup> el tiempo óptimo para la recolección de la muestra es de 15 minutos por sitio de recolección. Las muestras fueron tomadas entre las 8:00 a.m. y el medio día, horario durante el cual la mayoría los niños se encuentran en la escuela, por triplicado. Se realizó un total de cinco muestreos. El primero se efectuó en febrero, el día en que las instituciones abrieron sus puertas, después de dos meses de permanecer cerradas por la temporada de vacaciones. Se muestreó en marzo y en diciembre para evaluar la contaminación fúngica en la estación seca, y en mayo y octubre para evaluar la estación lluviosa.

### Análisis de las muestras

Las muestras se analizaron bajo el microscopio de luz a 400X. Se realizó un conteo exhaustivo de todas las esporas depositadas en la lámina y se identificó cada tipo de hongo.

### Análisis meteorológico

Los datos sobre los factores meteorológicos: humedad relativa, temperatura, precipitación pluvial y velocidad del viento, fueron suministrados por el Instituto Meteorológico Nacional, Estación Meteorológica Santa Lucía, en Heredia. Se utilizó un promedio de los datos diarios de siete días anteriores al día del muestreo, para así contemplar los posibles cambios en los factores ambientales que pudieran afectar la concentración de esporas.

### Descripción de la infraestructura de las escuelas

Se utilizó un cuestionario en el cual se recolectó información sobre los materiales de construcción de las paredes, pisos y puertas, así como frecuencia con la cual se realiza la limpieza y presencia de humedad en las aulas.

### Análisis estadístico

Se utilizó el programa para análisis estadístico SPSS para Windows, versión 19 (SPSS Inc., Chicago, IL). Se realizó un análisis de varianza univariante para comparar la concentración de esporas fúngicas entre las distintas escuelas y entre las estaciones seca y lluviosa. También se hizo un análisis de correlación de Pearson para correlacionar la concentración de esporas con los factores meteorológicos.

## Resultados

En la Figura 1 se muestra el registro aerobiológico de las esporas fúngicas encontradas en las tres escuelas estudiadas. El promedio de esporas por metro cúbico en febrero fue de  $3486,44 \pm 450,72$ ; en marzo, de  $1391,89 \pm 119,70$ ; en mayo, de  $3194,45 \pm 577,03$ ; en octubre, de  $3747,12 \pm 568,05$ , y en diciembre, de  $1009,99 \pm 81,24$ . Febrero presentó conteos altos, los cuales disminuyeron significativamente en marzo, en las escuelas 1 y 2, después de que se limpiaron las aulas; esto obedece a que los elementos fúngicos sufren un proceso de concentración como producto de la estructura cerrada del edificio y de la falta de limpieza. Cabe resaltar que este fenómeno no se observó en la escuela 3, lo cual podría explicarse por el hecho de que las

Cuadro 1. Descripción de la infraestructura de las aulas			
	Escuela 1	Escuela 2	Escuela 3
<b>Paredes</b>	Block y cemento	Block y cemento	Block y cemento
<b>Piso</b>	Cerámica	Mosaico	Madera
<b>Puertas</b>	Madera	Madera	Ausencia
<b>Frecuencia con la que se realiza la limpieza</b>	Una vez al día	Tres veces al día	Una vez al día
<b>Presencia de elementos fúngicos en las paredes</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>Humedad en las paredes</b>	Presencia	Presencia	Presencia
<b>Olor a moho</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia

aulas de esta institución no tienen puertas, lo que garantiza un intercambio constante entre el aire del ambiente externo y el del interno, durante la época de vacaciones (Cuadro 1). La escuela 1 presentó los conteos más altos de esporas fúngicas, lo que puede deberse a su arquitectura y ubicación. Esta edificación es la que tiene menor ventilación y las aulas permanecen cerradas mientras se imparten las lecciones, por lo que la circulación de aire es muy baja. Además, cuando llueve, la escuela por lo general se inunda, ya que no cuenta con un buen sistema de drenaje, lo que propicia que las paredes y los pisos queden muy húmedos durante la época lluviosa, favoreciendo un aumento en la concentración de las esporas. Por otro lado, la escuela 2 cuenta con mayor ventilación y la humedad no es tan evidente, además de que mantiene sus puertas abiertas durante los fines de semana.

Con respecto a los tipos de esporas, se identificó 17 grupos de esporas fúngicas. En todos los meses, con excepción de mayo, el 91,0% de las esporas identificadas pertenecieron a cuatro grupos: basidiosporas (29,6%), ascosporas (23,8%), *Aspergillus/Penicillium* (21,0%) y *Cladosporium* (16,6%). El 9,0% restante lo constituyen las siguientes esporas: *Alternaria*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Curvularia*, *Drecheslera/Helminthosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Periconia*, *Pithomyces*, *Polythrincium*, *Stemphylium* y *Torula*. En mayo, las esporas de *Cladosporium* conformaron el 78,5% de las esporas fúngicas aéreas identificadas (Figura 2).

En la Figura 3 se muestra el promedio de los valores de los factores meteorológicos medidos durante siete días previos a cada muestreo. En la Figura 4 y en el Cuadro 2 se puede observar que tanto la humedad relativa como la precipitación ejercen un efecto positivo sobre la concentración total de esporas, mientras que la velocidad del viento ejerce un efecto negativo. Por otro lado, no se encontró influencia de la temperatura sobre esta. También se analizó el efecto de los factores meteorológicos sobre cada uno de los tipos de esporas identificados a lo largo del año. En el Cuadro 2 se presentan

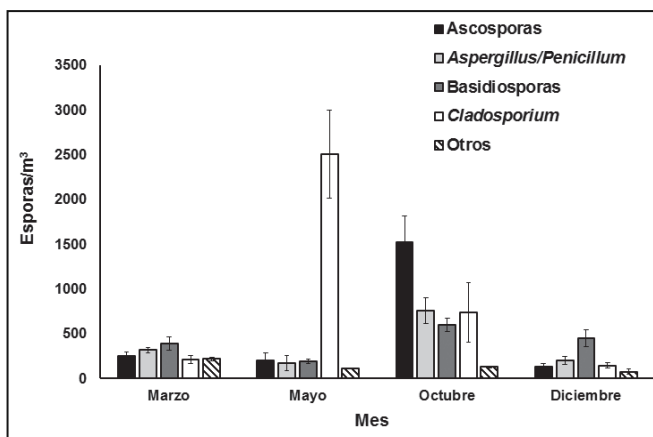


Figura 2. Distribución de los tipos de esporas fúngicas aéreas dentro de las aulas de tres escuelas públicas de la provincia de Heredia, Costa Rica

las especies de hongos afectados positiva o negativamente por alguno de los parámetros atmosféricos. Cabe resaltar que las concentraciones de *Alternaria*, basidiosporas, *Drecheslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Pithomyces*, *Stemphylium* y *Torula*, no mostraron correlaciones significativas con ninguno de los factores meteorológicos medidos.

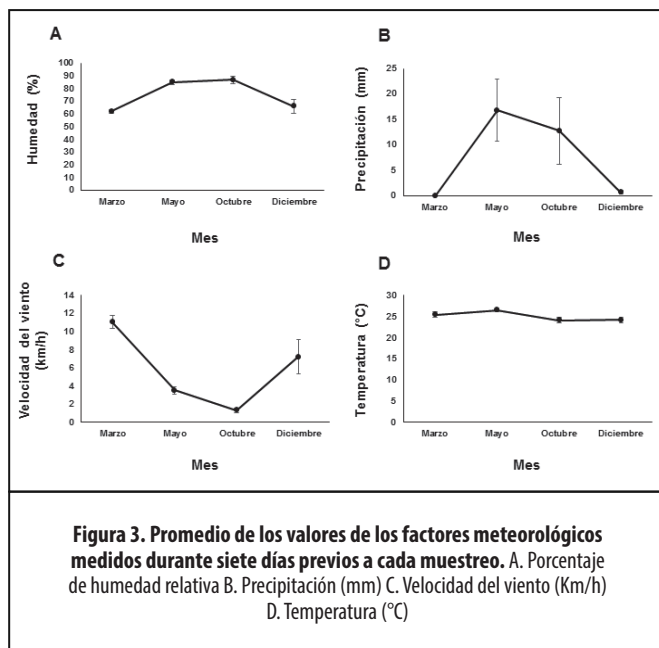
## Discusión

El interés por las esporas fúngicas provenientes del interior de los edificios ha aumentado, ya que se consideran potenciales alérgenos. El presente estudio evaluó la contaminación fúngica ambiental en tres escuelas públicas de la provincia de Heredia. En todas las escuelas se encontró conteos superiores a las 1000 esporas por metro cúbico, lo que excede el estándar internacional para considerar saludable el aire de una habitación cerrada.<sup>11</sup> Las manifestaciones alérgicas son muy comunes en Latinoamérica, una de las tres regiones en el mundo con

Cuadro 2. Correlación entre los factores meteorológicos y la concentración de esporas fúngicas aéreas

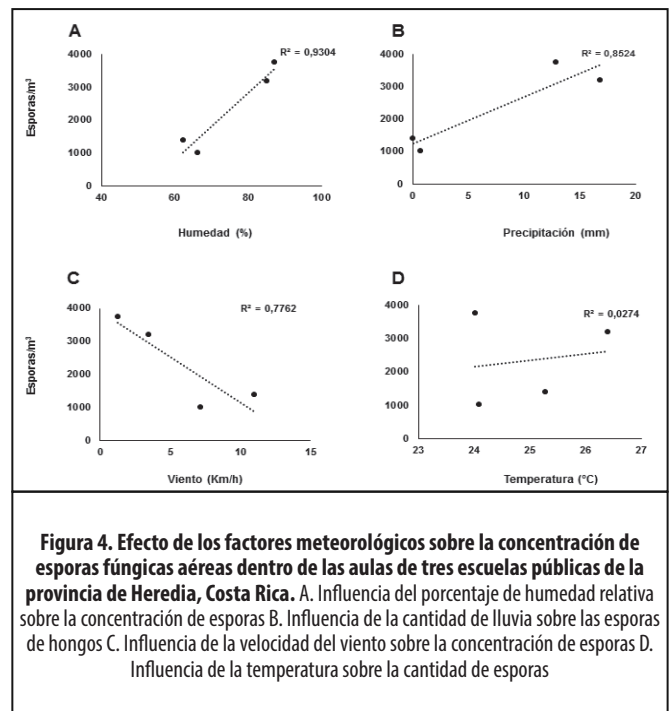
Tipo de espora	Factores meteorológicos			
	Temperatura	Humedad relativa	Precipitación	Velocidad del viento
Ascosporas	(-) 0,424 *	0,485 *	0,322 ns	(-) 0,544 *
<i>Aspergillus</i>	(-) 0,428 *	0,273 ns	0,120 ns	(-) 0,322 ns
<i>Botrytis</i>	0,209 ns	(-) 0,434 *	(-) 0,375 ns	0,563 *
<i>Cercospora</i>	0,285 ns	0,396 ns	0,444 *	(-) 0,330 ns
<i>Cladosporium</i>	0,488 *	0,318 ns	0,432 *	(-) 0,221 ns
<i>Curvularia</i>	(-) 0,454 *	(-) 0,182 ns	(-) 0,275 ns	0,031 ns
<i>Periconia</i>	0,564 *	0,226 ns	0,348 ns	(-) 0,57 ns
<i>Polythrincium</i>	0,108 ns	(-) 0,341 *	0,429 *	(-) 0,310
<b>Total</b>	0,372 ns	0,504 *	0,568 *	(-) 0,418 *

\*La correlación es significativa al nivel 0,05; ns = la correlación no es significativa.



mayor prevalencia de asma, rinitis y eczema.<sup>14</sup> En Costa Rica, por ejemplo, la prevalencia de asma en población pediátrica es del 23,4%,<sup>15</sup> y de asma severa, del 16%.<sup>16</sup> Se ha reportado un aumento en la admisión a los centros de salud, por casos de niños con asma, en marzo y agosto,<sup>17</sup> lo que corresponde a los meses de entrada a clases, después de las vacaciones de fin y mediados de año. Las esporas de *Aspergillus* y de *Penicillium* miden menos de 2  $\mu\text{m}$  de diámetro, por lo que pueden llegar hasta los alvéolos pulmonares y causar asma.<sup>18</sup>

Conocer la concentración de esporas fúngicas y su relación con los factores ambientales es de gran importancia en el manejo y prevención de enfermedades respiratorias alérgicas, dado que la exposición a ambientes con condiciones que favorecen el crecimiento fúngico, incrementa la incidencia y severidad de estos problemas respiratorios. Los niños que estudian en escuelas con problemas de humedad, se encuentran en mayor riesgo de sufrir problemas respiratorios, y se ha sugerido que la exposición a los hongos es el factor responsable de esto.<sup>6</sup> La relación positiva encontrada entre la humedad y precipitación pluvial con la concentración de esporas fúngicas, puede obedecer al papel tan significativo que desempeña el agua en su producción y dispersión, siendo el rango de humedad ideal para su crecimiento y desarrollo, entre el 60-90%.<sup>19</sup> La lluvia favorece la dispersión de las esporas sexuales y asexuales, porque las gotas de agua al entrar en contacto con las distintas superficies, provocan vibraciones que liberan las esporas de sus ascas y esporóforos, respectivamente. Este mecanismo brinda una explicación al marcado aumento en la concentración de esporas de *Cladosporium* sp. durante mayo. La alta concentración de esporas de este moho también ha sido reportada en países como: Australia, Chile, Croacia, Qatar, España, Turquía, Portugal, Grecia y los Estados Unidos.<sup>3,4,10</sup> Con respecto al viento, se encontró que afecta negativamente la concentración de esporas, lo que podría deberse a que la alta velocidad del viento acelera las partículas, afectando la eficiencia del equipo volumétrico.<sup>20</sup>



En el trabajo no se observó influencia de la temperatura sobre la concentración de esporas fúngicas, ya que se determinó que la ciudad de Heredia se caracteriza por presentar un rango de temperatura constante durante todo el año. Sin embargo, varios autores han demostrado una relación negativa entre las concentraciones de esporas fúngicas y la temperatura, porque los hongos solo se desarrollan en un ámbito establecido de temperatura, y al presentarse temperaturas extremas, ya sean altas o bajas, la capacidad de esporulación de los hongos se verá afectada.<sup>21,22</sup>

En conclusión, el estudio encontró que los estudiantes de las escuelas analizadas respiran un aire no saludable, en relación con la concentración de esporas fúngicas. Por lo tanto, se recomienda un mejor control de la humedad y la ventilación, así como una limpieza constante para disminuir la concentración de esporas en el medio ambiente. También se considera que es fundamental relacionar las especies de hongos encontradas en el país, con las pruebas realizadas por los alergólogos para determinar el posible agente causal que afecta al paciente. Los juegos de reactivos para las pruebas alergológicas de hipersensibilidad inmediata por hongos en Costa Rica, incluyen *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, los cuales, como se observa en los resultados, son tres de los géneros más abundantes en el aire. Sin embargo, también se realizan testeos por hongos como *Alternaria*, cuyas esporas son muy abundantes en otros países.<sup>10,23,24</sup> Finalmente, es preciso resaltar el papel de los basidiomicetes como agentes causales de alergia. En el hemisferio norte se ha reportado que entre el 25-30% de los pacientes asmáticos son sensible a extractos de estos hongos,<sup>12</sup> mientras que en este país las cifras son mayores. En 2012 se reportó un 40,77% de pacientes atópicos alérgicos a los hongos de este *Phyllum*,<sup>8</sup> dato que no debe sorprender, ya que casi el 30% de las esporas circulantes son basidiosporas, y por ende, los pacientes entran fácilmente en contacto con ellas y se sensibilizan.

**Agradecimientos:** los autores agradecen a los directores de las tres escuelas estudiadas, por permitir utilizar sus instalaciones para llevar a cabo la recolección de las muestras, y al Instituto Meteorológico Nacional, por los datos suministrados.

---

## Referencias

---

1. Sautour M, Sixt N, Dalle F, L'Ollivier C, Fourquenot V, Calinon C, *et al.* Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Sci Total Environ* 2009; 407: 3766-3771.
2. Gioulekas D, Damialis A, Mpalafoutis C, Papakosta D, Giouleka P, Patakas D. Allergenic fungal spore records (15 years) and relationship with meteorological parameters in Thessaloniki, Greece. *Allergy Clin Immunol Int- J World Allergy Org* 2004; 16: 52-59.
3. Ataygul E, Celen S, Canitez Y, Bicakci A, Malyer H, Sapan N. Allergenic Fungal Spore Concentration in the Atmosphere of Bursa, Turkey. *J Biol Environ Sci* 2007; 1: 73-79.
4. Gioulekas D, Damialis A, Papakosta D, Spieksma F, Giouleka P, Patakas D. Allergenic fungi spore records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki-Greece. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2004; 14: 225-231.
5. Edmondson D, Fink J, Kurup V, Nordness M, Zacharisen M. Allergy and toxic mold syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95: 234-239.
6. Khan A, Karuppaiyl, M. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi J Bio Sci* 2012; 19: 405-426.
7. Curtis L, Lieberman A, Stark M, Rea W, Vetter M. Adverse Health Effects of Indoor Molds. *J Nutr Environ Med* 2004; 14: 261-274.
8. Moularat S, Hulin M, Robine E, Annesi-Maesano I, Caillaud D. Airborne fungal volatile organic compounds in rural and urban dwellings: detection of mould contamination in 94 homes determined by visual inspection and airborne fungal volatile organic compound method. *Sci Total Environ* 2011; 409: 2005-2009.
9. Bholah R, Subratty A. Indoor biological contaminants and symptoms of sick building syndrome in office buildings in Mauritius. *Int J Env Health Res* 2002; 12: 93-98.
10. Oliveira M, Abreu I, Ribeiro H. Annual variation of fungal spores in atmosphere of Porto: 2003. *Ann Agric Environ Med* 2005; 12: 309-315.
11. Rockwell W, Santilli J. Fungal contamination of elementary schools: a new environmental hazard. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90: 203-208.
12. Breitenbach M, Cameri R, Lehrer S. Fungal allergy and pathogenicity. Switzerland . Karger AG, 2002.
13. Burkard Manufacturing Co. Ltd. Operating instructions of the Personal Volumetric Air Sampler. England, 2005.
14. Baena-Cagnani C. Current status of allergen immunotherapy around the globe. *Allergy Clin Immunol Int* 2007; 19: 117-120.
15. Soto M, Bustamante M, Gutiérrez I, Hanson LA, Strannegard I. The prevalence of childhood asthma in Costa Rica. *Clin Exp Allergy* 1994; 24(12): 1130-1136.
16. Lai CK, Beasley R, Crane J, Foliaki S, Shan J, Weiland S. Global variation in the prevalence and severity of asthma symptoms: phase three of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 2009; 64(6): 476-483.
17. Ivey M, Monteil M, Simeon D. Climatic variables are associated with seasonal acute asthma admissions to accident and emergency room facilities in Trinidad, West Indies. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1526-1530.
18. Jaikel D, Riggioni O. Análisis de las reacciones de hipersensibilidad tipo I a los basidiomicetes en una población alérgica costarricense, durante 2009. *Acta Méd Costarric* 2012; 5(4): 217-223.
19. Johansson P, Bok, G, Ekstrand-Trobin A. The effect of cyclic moisture and temperature on mould growth on Wood compared to steady state conditions. *Build Environ* 2013; 65: 178-184.
20. Mandrioli P, Comtois P, Isard S, Soldevilla C, Sydek L, Vilches E. Sampling: Principles and Techniques, Methods in Aerobiology. Italia: Pitagoras, 1998.
21. Aira M, Dopazo A, La-Serna I. Identification of fungal spores in the atmosphere of Santiago de Compostela (NW Spain) in the winter period. *Polen* 2003; 12: 65-76.
22. Calderón C, Lacey J, McCartney A, Rosas I. Influence of urban climate upon distribution of airborne Deuteromycete spore concentrations in Mexico City. *Int J Biometeorol* 1997; 40: 71-80.
23. Basilico M, Aringoli E, Althaus R, Basilico J, Chiericatti C. Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. *Sci Total Environ* 2007; 376: 143-150.
24. Munuera M, Carrión J, Navarro C. Airborne *Alternaria* spores in SE Spain (1993-1998): Occurrence patterns, relationship with weather variables and prediction models. *Grana* 2001; 40: 111-118.