



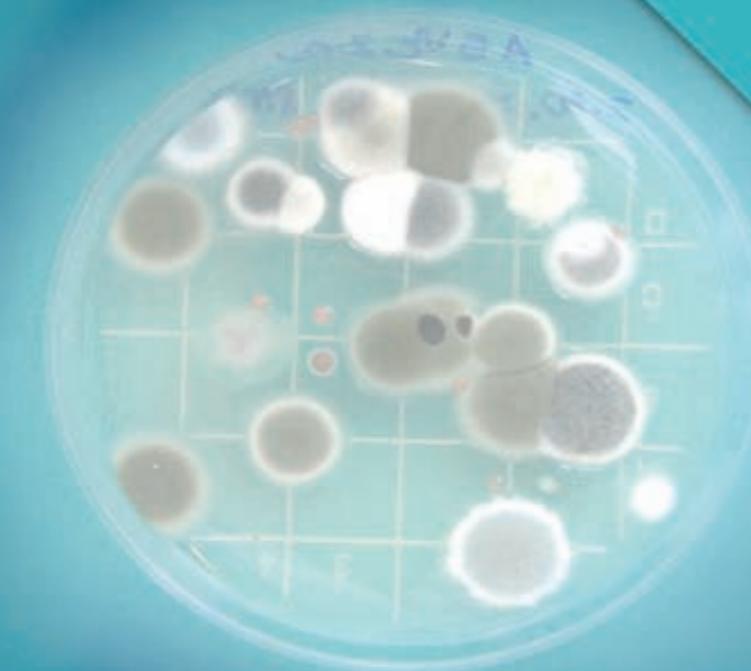
Directors:
Jordina Belmonte Soler
Josep Maria Torres Rodríguez

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
UNITAT DE BOTÀNICA
DEPARTAMENT DE BIOLOGIA ANIMAL, BIOLOGIA VEGETAL I ECOLOGIA

Estudio Epidemiológico de Alergia
a Hongos y Otros Neumoalergenos,
en estudiantes de Medicina de la
Universitat Autònoma de Barcelona,
con Relación a los Niveles
Fúngicos Ambientales

TESIS DOCTORAL
2009

Mariana Buss Cesar Fontana



UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
UNITAT DE BOTÀNICA
DEPARTAMENT DE BIOLOGIA ANIMAL, BIOLOGIA VEGETAL I ECOLOGIA

**Estudio Epidemiológico de Alergia a Hongos y
Otros Neumoalergenos, en estudiantes de Medicina
de la Universitat Autònoma de Barcelona, con
Relación a los Niveles Fúngicos Ambientales**

Mariana Buss Cezar Fontana

**Tesis Doctoral
2009**

Directors:

**Jordina Belmonte Soler
Josep Maria Torres Rodríguez**

**Estudio Epidemiológico de Alergia a Hongos y
Otros Neumoalergenos, en estudiantes de Medicina
de la Universitat Autònoma de Barcelona, con
Relación a los Niveles Fúngicos Ambientales**

A mi familia

A Lorenzo

AGRADECIMIENTOS:

En primer lugar mi más profundo agradecimiento a los dos directores de esta tesis doctoral.

A la Dra. Jordina Belmonte, por sus consejos y ayuda siempre que se le necesitaba, por la oportunidad de realizar este trabajo. Gracias por todo tu apoyo, ánimo y enseñamientos.

Al Dr. Josep Maria Torres, por su compañerismo, enseñanzas, paciencia, amistad y ayuda.

A los dos gracias por la confianza.

Al decano de la Facultad de Medicina de la UAB, Joaquin Coll Daroca, y al coordinador de Udimas, Joan Miaquella. A Ignacio y Francisco en Udimas.

A Josefa Sabriá Pau, y Gaudi Egea, por todo el apoyo en Bellaterra.

A Miquel Canela por las primeras orientaciones estadísticas.

A Oriol Baeza por las confecciones de las Bases de Datos y por la paciencia conmigo.

Josep Maria Manresa Dominguez, del Assessorament Metodològic en Investigació Biomèdica (AIMB), muchas gracias.

A todos el equipo del Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona y del Instituto Municipal de Investigación Médica.

A Eidi, Paqui, Montse, Silvia, Patricia y a todos del PRBB.

A todo el equipo del la Universitat Autònoma de Barcelona: Silvia, David, Elena, Rebeca, Encarnación y Sandra, gracias por la amistad.

A Josep Piñol y Pilar Lurbe.

A Luis Orts, del Laboratorio Probelte, por la ayuda, confianza, sin vosotros nada de esto sería posible.

A Jorge Martínez, del laboratorio Phadia Diagnostics por el apoyo, ánimo y por los Kits de diagnósticos, que nos ha hecho posible realizar las pruebas de alergia en los alumnos.

A todos los estudiantes de la Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, por la participación y colaboración, amistad y ánimos, sin ellos esto no podría haberse tornado real. Quisiera nombrarlos uno a uno, pero son doscientas personas, ellos serán el futuro de la medicina, humanos y competentes. Sé que todos conocen mis agradecimientos.

A todos los profesores de la Facultat de Medicina de la UAB que me apoyaron en esto, Gracias.

Al Profesor Joseph Maria Ticò de la Universidad de Barcelona, que me ayudó en la decisión de empezar una nueva etapa profesional, empezar el Master que seguro abrirá muchas puertas para mi.

A mis nuevos amigos de Novartis, por las palabras de ánimos en este último año de convivencia.

Y las personas más importante de mi vida, a mi familia, sin las cuales, estoy segura de que no habría hecho esta tesis ni hubiera construido toda mi vida plena de alegrías y conquistas, mis padres, Paulo y Silvia, mis hermanos Marcos y Gustavo, mi cuñada Sandra. Muchas gracias por absolutamente TODO. Os quiero.

A todos mis tíos y primos, que estando tan lejos siempre me están enviando palabras de ánimos. Gracias. En especial a mi tío Paulo, que es un ejemplo para mi.

A mi abuela, Cecilia, por quererme desde el primer día en que llegué al mundo, por participar intensamente en todas las etapas de mi vida y por estar conmigo en el primer día de clase de doctorado en diciembre de 2002, dándome ánimos y entusiasmándome...siempre con palabras ciertas en los momentos que más necesitaba, tu serás mi joya. Mi ejemplo de vivir.

A mis suegros, Carmen y Hugo, mis cuñados Hugo, Andressa, Ticiana y Fabiano, y al más nuevo sobrino Luca. Gracias por todo.

A Mi querido marido, amigo, compañero, Lorenzo, sin ti esto no sería posible. Gracias por quererme, apoyarme en todo, por estar siempre ahí cuando más necesitaba, gracias por la paciencia, cariño y amor. Te quiero. Siempre te querré.

Gracias!

SUMARIO:

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Historia de los Hongos	3
1.2. Características de los hongos	5
1.3. Historia de la Aerobiología	11
1.4. Definiciones sobre aerobiología	14
1.5 Métodos de muestreo aerobiológico	16
1.6. Aerobiología y Salud	17
1.7 Alergia e Inmunología	20
1.8 Reacción alérgica	24
1.9 Alergia y Aerobiología	27
1.10 Estandarización de los extractos alergénicos	32
1.11 Estudios Epidemiológicos	36
1.12 Técnicas para diagnóstico de sensibilización	38
2. OBJETIVOS	41
2.1 Estudio aerobiológico	43
2.2 Estudio epidemiológico	44
3. MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1. Diseño general del estudio	47
3.2 Metodología del estudio aerobiológico	48
3.2.1 Características geo-topográficas de las áreas del estudio	48
3.2.2 Ambientes interiores y exteriores	48
3.2.3 Período de muestreo	52
3.2.4 Código de las muestras	52
3.2.5 Variable independiente	52
3.2.6 Método de Muestreo aerobiológico	53
3.2.6.1 Descripción del funcionamiento del aparato utilizado	53
3.2.6.2 Medio de cultivo utilizado	54
3.2.6.3 Calibración del aparato portátil	54

3.2.6.4 Característica del muestreo	54
3.2.7 Consideraciones sobre el medio de cultivo y modo de preparación	54
3.2.8 Transporte, incubación e identificación de las muestras	55
3.2.8.1 Transporte e incubación	55
3.2.8.2 Identificación de las colonias	55
3.2.9 Control de calidad de la identificación	56
3.3 Epidemiología:	57
3.1.1 Diseño del estudio epidemiológico	57
3.3.1.1 Cuestionarios	58
3.3.1.1.1 Población candidata	58
3.3.1.1.2 Instrumento del estudio	58
3.3.1.1.3 Consideraciones sobre el Cuestionario	60
3.3.1.2 Método <i>In vivo</i> : Skin Prick Test (SPT)	60
3.3.1.2.1 Población estudiada	60
3.3.1.2.2 Batería de extractos	60
3.3.1.2.3 Prueba <i>In vivo</i> : Skin Prick test	61
3.3.1.2.4 Procedimiento para la técnica	61
3.3.1.2.5 Interpretación de los resultados	62
3.3.1.3 Método <i>In vitro</i> : <i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	63
3.3.1.3.1 Población estudiada	63
3.3.1.3.2 Batería de extractos	64
3.3.1.3.3 Pruebas <i>In vitro</i> : <i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	64
3.3.1.3.4 Procedimiento de la Prueba	65
3.3.1.3.5 Interpretación de los resultados	66
3.3.1.4 Base de datos y análisis estadístico	68
4. RESULTADOS	71
4.1 Parte Primera: Aerobiología	73
4.1.1 Resultados generales	73
4.1.2 Biodiversidad: Consideraciones generales	85
4.1.3. Espectro fúngico en las estaciones del año	95

4.2 Parte Segunda: Epidemiología	110
4.2.1 Cuestionario	110
4.2.2 Pruebas <i>In vivo</i> : Prick Test (SPT)	118
4.2.3 Pruebas <i>In vitro</i> : <i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	125
4.2.4 Prevalencias de mono y polisensibilizados en las técnicas <i>In vitro</i> e <i>In vivo</i>	128
4.2.4.1 Skin Prick Test: (Criterio grados: 1, 2, 3 y 4)	128
4.2.4.2 Skin Prick Test: (Criterio pápula: 9mm ²)	131
4.2.4.3 <i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	135
4.2.5 Pruebas comparativas entre <i>In vivo</i> e <i>In vitro</i>	138
4.2.5.1 Consideraciones	138
4.2.5.2 Definición de la "n" (n=60)	140
4.2.6 Biología Molecular	144
4.2.6.1 Fotografías de Microscopias eletrónicas	144
5. DISCUSIÓN	149
5.1 Medición de la variable predictora	152
5.2 Estudio del efecto de la exposición fúngica sobre la población	157
5.2.1 Selección de la población expuesta	157
5.2.2 Cuestionario	158
5.3 Medición de la variable resultante	160
5.3.1 Resultados de las Pruebas de sensibilidad	161
5.3.2 Pruebas de especificidad y sensibilidad entre métodos	165
6. CONCLUSIONES:	171
6.1 Aerobiología	173
6.2 Biodiversidad	174
6.3 Epidemiología	175
6.3.1 Cuestionarios	175
6.3.2 Pruebas <i>In vivo</i> : Skin Prick Test (SPT)	175
6.3.3 Pruebas <i>In vitro</i> : <i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	176

6.3.4 Pruebas de sensibilidad, especificidad y discordancia	176
7. ANEXOS	177
7.1 Anexo 1	179
7.2 Anexo 2	180
7.3 Anexo 3	181
7.4 Anexo 4	182
7.5 Anexo 5	183
7.6 Anexo 6	184
7.7 Anexo 7	186
7.8 Anexo 8	206
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	209

INTRODUCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Historia de los Hongos

La primera referencia a la Micología que se conoce, fue en 185 A.c., cuando Nicander, escribe su libro "Alexis farmaca" donde dice que los hongos se originan del suelo por acción de la lluvia.

Hace tres milenios y medio, según la leyenda, el héroe griego Perseo, mató accidentalmente a su abuelo Acrisio, a quién había de suceder en el trono de Argos. Cuando Perseo volvió a Argos, avergonzado por el escándalo causado por 1 homicidio, persuadió a Megapenthes, hijo de Proteo, para que intercambiaron los reinos respectivos. De esta forma, cuando recibió el reino de Proteo fundó Micenas, estando sediento cogió una seta (mykes) y que al fluir agua de ella, satisfizo su sed y, contento con ello, dio al lugar al nombre de Mucenas. (Alexopoulos, CJ y Mins, CW, 1985). Por consiguiente, una de las civilizaciones más importantes que han aparecido – la Micenica- puede haber recibido su nombre de una seta legendaria.

Respecto a los hongos macroscópicos existen datos que permiten asegurar que la Micolatria ó “culto al hongo divino” existía en numerosas civilizaciones primitivas del Nuevo y el Viejo Mundo. En Grecia, es posible que se venerara el *Claviceps purpurea*, un ascomiceto que infecta las flores del centeno y produce una estructura llamada “cornezuelo” con potentes toxinas que desencadenan, si se consumen, el fenómeno llamado ergotismo o “fuego de San Antonio” se evidenció produciendo epidemias con miles de muertos. Tal hecho sucedió poco antes de la batalla para la conquista de la Turquía, en 1722, cuando la caballería de Pedro el Grande fue derrotada por el ergotismo. Esta reflexión nos hace pensar que un hongo ha podido cambiar el curso de la historia de la humanidad. (Sangirardi, J, 1983)

Los pueblos antiguos eran conocedores de las fermentaciones biológicas. Los egipcios pensaban que era un legado del gran dios Osiris. Los griegos adoraban a Dionisos y los romanos a Baco, y celebraban grandes fiestas en las cuales abundaba el vino. Incluso los indios de México y de Guatemala creen que la aparición de setas como la *Amanita muscaria* esta relacionada con el rayo y el trueno.

En 1968, Lowy, documenta el importante papel que las setas desempeñan en la religión y la mitología de las tribus de México y Guatemala.

En Siberia y en Lituania se rendía culto a la *Amanita muscaria*, que era llamada “soma”, en China se veneraba al Ling chih y en Mesoamérica a un hongo llamado

“Teonanácatl”, lo cual era considerado sagrado, alucinógeno recolectado por los Aztecas de la América precolombina y constituye el gran grupo de hongos alucinógenos de América Central. (Sangirardi, J, 1983)

El etnomicólogo Robert Gordon Varson y su esposa Valentina Pavlovna, en el siglo XX, probaron la existencia de hongo “Teonanácatl” y sus propiedades, asistiendo a una ceremonia sagrada con hongos *Psilocybes*, y llegan a la conclusión que también es un hongo ontogénico y que fue el que Platón encontrara sus “ideas” cuando bebió de la poción en el templo de Eleusis, y quizás sea a partir de ahí cuando dice la frase “más allá de esta existencia efímera e imperfecta de aquí abajo, hay un mundo ideal de arquetipos, donde el modelo de cada cosa tiene una vida perdurable: hermoso, verdadero, original”. Este concepto ha sido debatido por filósofos y poetas a lo largo de milenios. (Sangirardi, J, 1983)

Los hongos han sido siempre importantes a través de los tiempos. En la antigüedad se consideraban verdaderas plantas medicinales, siendo reconocidos como el origen de drogas. Pero sólo cuando se inventa el microscopio en el siglo XVII es cuando se empieza a conocer bien a los hongos. El conocimiento de los hongos microscópicos es relativamente reciente. Robert Hooke en 1673 los describe como una forma particular de vegetal.

En el siglo XVII, el comerciante y científico holandés, Anton Van Leeuwenhoek demostró la existencia de seres microscópicos, entre los cuales también describió algunos hongos.

El estudio sistemático de estos seres, inició en 1729, cuando el italiano Pier Antonio Michelli, considerado el “padre de la Micología”, funda la micología con su libro "Nova Plantarum Genera" donde dice que los hongos no son plantas ni animales, sino un grupo aparte y describe unos orgánulos que llamará esporas y que representan la forma de propagación equivalente a las semillas de las plantas. Inoculó esporas en un medio preparado por él y obtuvo hongos. En esa obra Michelli describió el *Aspergillus*, otorgándole ese nombre debido a su similitud con el *aspergillum*, el instrumento utilizado para dispensar agua bendita en las ceremonias religiosas.

La “Micología Moderna” se desarrolló en el último siglo con los trabajos de Fries, Corda, Tulasne y Saccardo quienes describieron numerosas especies. Vuilemin, en 1910, estudió las diferentes clases de esporas.

Langeron, en 1930, establece la nomenclatura micológica, tomando en cuenta las formas de reproducción de los hongos, la cual ha sido reordenada en numerosas oportunidades.

A partir de 1940, aumenta el interés por el estudio de antimicóticos seguido por el de inmunología, sobre todo para el diagnóstico de enfermedades. Aumenta la preocupación por el descubrimiento de nuevos hongos causante de enfermedades y también de nuevas enfermedades producidas por agentes micóticos, así como la contribución a la epidemiología.

En la actualidad, los organismos que llamamos hongos constituyen un reino independiente de seres vivos, llamado *Reino Fungi*, difícil de definir por su heterogeneidad.

El “Dictionary of the Fungi” de Ainsworth & Bisby, considera como hongos aquellos organismos con células provistas de núcleo (eucariotas), carentes de pigmentos fotosintéticos y de plastos, con paredes celulares de quitina y β -glucanos, unicelulares o filamentosos (micelio); que se reproducen de forma asexual y sexual; se nutren por absorción y pueden ser saprobios, mutualistas o parásitos (Ainsworth Aan Biby's, 2004).

La etimología de la palabra hongo es variada y depende de los diferentes idiomas. En general se acepta su derivación del griego, *Mikes* significa “hongo” y *logos* “discurso”, de esa forma etimológicamente, Micología es la ciencia que estudia el discurso de los hongos.

Los biólogos usan el término hongos (Latin: *fungus* = setas, del Griego: *sphongos* = esponja) para definir a los hongos como:

"Eucariontes portadores de esporas, sin clorofila y por lo tanto heterótrofos, uni o multinucleados, de reproducción sexual o asexual, de nutrición absorbiva, cuyas estructuras somáticas, ramificadas y filamentosas, están rodeadas con paredes celulares que contienen quitina o celulosa, o ambas sustancias, junto con otras muchas moléculas orgánicas complejas; con meiosis dentro de un zigoto y con síntesis de lisina por la vía del ácido amino adípico". (Kirk, P.M, et.al, 2001)

Los hongos ocupan con pleno derecho una categoría taxonómica única: el “Reino Fúngico”, del que nuestros antepasados mostraron un gran conocimiento de ellos y de sus propiedades.

1.2. Características de los hongos

Los hongos en un principio fueron considerados como vegetales, sin organización tisular y sin pigmento asimilador o clorofila. Por tanto con nutrición heterótrofa.

En la actualidad les consideran pertenecientes a un reino independiente, el “Reino Fúngico” con reproducción sexual y asexual, con cuerpo vegetativo formado en general por

estructuras ramificadas y filamentosas y con una pared celular constituida por celulosa y quitina.

La característica principal que diferencia a los hongos de los vegetales es la carencia de clorofila. Por ese motivo han de vivir en simbiosis con otros seres o como parásitos, tomando de otros organismos las sustancias que requieren para su desarrollo, ya que no pueden realizar la función fotosintética

La mayoría de los hongos, son pluricelulares o filamentosos y se caracterizan por estar constituidos por filamentos ramificados o hifas que se desarrollan y entrelazan formando el micelio. Existe un micelio vegetativo inmerso o adosado a superficie del sustrato (suelo, plantas, alimentos) y un micelio aéreo o reproductor, donde se forman las esporas (asexuales y sexuales). (Koneman y Roberst, 1987)

Según el tipo de relación con otros organismos, los hongos pueden ser sapróbios, parásitos y simbiontes.

La mayoría de los hongos forman parte del medio externo y se desarrollan a partir de la materia orgánica en descomposición, denominándose hongos saprofitos.

Los hongos simbóticos, son aquellos que viven asociados con otros organismos en beneficio recíproco.

Existen tres grupos dentro de los hongos parásitos, los fitopatógenos, los cuales se desarrollan sobre un huésped vegetal produciéndole lesiones. Los hongos micopatógenos, que parasitan otros hongos, y los hongos parásitos de los animales y del hombre, los cuales pueden causar enfermedades, fundamentalmente por tres mecanismos: invasivo directo, alérgico y tóxico.

Todos los hongos se caracterizan por tener un aparato vegetativo o talo. El talo varía según los hongos, pueden ser filamentosos, lo cual puede estar constituido por filamentos o hifas de diámetro regular (variable entre 2 y 15 μm) y longitud variable; o dividido por tabiques (septos). Cuando la tabicación no existe o es muy escasa, este grupo se denomina sifonado o cenocítico.

Los hongos microscópicos tienen un talo formado por filamentos libres, mientras que los hongos macroscópicos caracterizados por ser visibles al “ojo desnudo”, están constituidos por agregados de filamentos o agrupaciones miciliares de estructuras complejas, desprovistas de vasos y sin formar nunca verdaderos tejidos como se observa en los vegetales.

Las unidades celulares aisladas, designados con el término levadura. A veces algunas levaduras en lugar de presentarse aisladas como organismos unicelulares gemantes se presentan alargadas, unidas formando cadenas de longitud variable, y reciben el nombre de pseudohifas, que forman pseudomicelio porque se asemejan a los verdaderos filamentos.

En la práctica, los hongos filamentosos y las levaduras también se diferencian en el laboratorio en dos grupos según el aspecto macroscópico de sus colonias: las levaduras forman colonias húmedas, cremosas, opacas o pastosas, y los hongos filamentosos producen colonias algodonosas, lanosas o pulverulentas.

Algunos hongos son dimórficos, es decir, unas veces se comportan como hongos filamentosos y otras se comportan como levaduras.

Los hongos tienen un núcleo bien individualizado rodeado de una membrana nuclear, son, por tanto, Eucariota.

La estructura celular de los hongos se caracteriza por la existencia de vacuolas bien desarrolladas. Poseen mitocondrias y están desprovistas de cloroplastos.

Las hifas se alargan por crecimiento apical, a veces aparecen otros alargamientos que salen lateralmente produciendo las ramificaciones. La parte más joven del filamento está situada en el extremo o Ápice, que carece de orgánulos citoplasmáticos, pero tiene una alta concentración de vesículas que intervienen en el crecimiento de la membrana y de la pared celular. Este fenómeno se observa en los cultivos de hongos microscópicos por su crecimiento centrífugo, debiendo trabajar siempre con la parte externa en la que se encuentra mayor viabilidad de la célula fúngica.

Los filamentos de un número importante de especies fúngicas tienen la propiedad de aglomerarse formando estructuras más o menos complejas. Estas concentraciones miciliares pueden ser de dos tipos: rizomórficas (filamentos paralelos) o escleróticas (nódulos)

Los hongos se multiplican según los casos de forma asexuada (estado anamórfico) y sexuada (teleomorfo) o solamente de una forma, por ejemplo asexuada, como sucede en el caso de los hongos imperfectos- Deuteromycetos- donde se encuentran la mayoría de los hongos patógenos.

La ordenación sistemática del conjunto de los hongos es una cuestión sumamente controvertida. Las divergencias entre los diversos autores son numerosas y afectan sobre todo a las categorías de mayor rango, incluida la inicial. Existen criterios que se apoyan en los últimos

avances del conocimiento sobre la ultraestructura, la bioquímica y la biología molecular de estos organismos.

Para la ubicación de un hongo dentro del Reino Fungi, y más tarde para su identificación, es necesario conocer los caracteres del hongo, y sobre todo considerar que su clasificación se realiza basándose fundamentalmente en la forma de reproducción.

En la reproducción asexuada intervienen procesos más o menos complejos de diferenciación que desembocan en la formación de pequeños orgánulos llamados esporas. En la reproducción sexuada interviene una conjugación de talos diferentes después la conjugación de núcleos y luego una reducción cromosómica. La estructura final es igual que en el caso anterior, una espora que permitirá la propagación y conservación de la especie. La morfología en los dos casos es comparable, tan solo el mecanismo de formación es diferente.

La reproducción sexual se verifica por gametos unicelulares de distintos sexos, que se copulan para generar un zigoto uninucleado o por gametos pluricelulares que originarán un zigoto plurinucleado.

La reproducción asexual se produce por esporas que se forman dentro o fuera de órganos especializados.

Se parte de una primera clasificación en hongos inferiores y hongos superiores, siendo los primeros los que presentan talo cenocítico o no tabicado, reproducción sexual o asexual, aparato esporífero y esporas internas, como sucede con el género *Mucor*, *Absidia* y *Rhizopus*. Los hongos superiores presentan micelio tabicado con aparato específico y esporas externas. A su vez, estos se subdividen en hongos perfectos con reproducción sexual y asexual conocida (que se encuadran en la división *Ascomycota* y *Basidiomycota*) y hongos imperfectos (*deuteromycotas*), solo con reproducción asexual conocida y alguna excepción con las dos.

Uno de los grupos de hongos son los mixomicetes (hongos plasmodiales o mucilaginosos) que se caracterizan por presentar una fase vegetativa de vida libre, constituida por una masa plasmática plurinucleada (plasmodio), que puede desplazarse sobre el substrato y que se nutre por ingestión de partículas orgánicas (fagotrofia). Los plasmodios diferencian esporocarpos, que contienen numerosas esporas unicelulares de paredes celulósicas o quitinosas, que son relativamente frecuentes en la atmósfera.

El género *Plasmopara* pertenecientes a los *Oomycota*, que son organismos terrestres o acuáticos, saprófitos o parásitos con talo unicelular o micelio de hifas cenocíticas, sin tabiques y con paredes celulares de glucano-celulosa.

La mayoría de las esporas identificadas en este estudio, están encuadradas dentro de la división *Deuteromycota/deuteromycotina* (hongos imperfectos, hongos mitospóricos), que reúne un elevado número de hongos de importancia económica y sanitaria y que tienen en común ausencia de reproducción sexual conocida.

Es un grupo artificial, que no se considera como una categoría taxonómica de rango determinado. Se trata de un conjunto heterogéneo en el que se sitúan algunos hongos levaduriformes, además de micelio estéril y todos los hongos con hifas septadas, pero sin estructuras reproductoras sexuales, que se multiplican activamente mediante esporas asexuales originadas por mitosis y denominadas conidios.

Los hongos imperfectos se dividen en grupos de inferior categoría, atendiendo principalmente a caracteres morfológicos, sobre todo de los conidios (ontogenia).

El resto de esporas identificadas pertenecen a una de las dos divisiones de hongos, Ascomycota o Basidiomycota. El grupo de los ascomicetes es el más numeroso de los hongos, y se caracterizan principalmente por los esporangios de tipo asco (meiosporangios en cuyo interior se forman generalmente de cuatro a ocho ascósporas que son meiosporas endógenas). Los basidiomicetos se caracterizan por la presencia de basidios, meiosporangios que originan de modo exógeno cuatro basidiósporas, unidas al esporangio por los esterigmas.

La esporulación y el crecimiento vegetativo de las hifas propiamente dicho están sometidos a condiciones nutricionales y ambientales diferentes.

La luz es un factor importante en la ecología de los hongos, la luz visible, por ejemplo, inhibe el crecimiento vegetativo y, sin embargo promueve la esporulación. Dentro de los factores climáticos muchos hongos no necesitan luz solar; incluso, muchas veces los procesos vegetativos se ven frenados por los rayos de luz y en determinadas condiciones las hifas crecen en dirección contraria a la fuente luminosa (fototropismo negativo); en algunas especies las hifas y los esporangios crecen hacia la fuente luminosa (fototropismo positivo). (Wainwright, 1992)

De acuerdo con su capacidad de soportar diferentes temperaturas los hongos pueden dividirse en grupos, generalmente la capacidad de crecer permite unos márgenes de temperatura más amplios que la capacidad de fructificar, dependiendo de las necesidades térmicas los hongos pueden dividirse en mesófilos (10° a 40°C, temperatura optima entre 25° a 35°C), termófilos (20° a 40°C, temperatura optima 40°C), termotolerantes 12° a 55°C) y psicrófilos (0° a 20°C). (Wainwright, 1992)

La mayoría de los hongos son aerobios estrictos, requieren oxígeno al menos en pequeñas cantidades para poder crecer.

Son organismos heterótrofos. La ausencia de pigmento asimilador o clorofila no les permite producir energía a partir de la fotolisis de la molécula de agua. Obtienen su energía de la oxidación de compuestos carbonados, como la glucosa. Viven de la materia orgánica y su obtención de sustancias es por absorción. (Wainwright, 1992)

Para obtener nutrientes los hongos excretan enzimas que degradan los polímeros en monómeros y, para que pueda haber difusión de enzimas, se requiere una película de agua, por lo que el crecimiento se limita a medios dotados de un mínimo de humedad. Casi se podría decir que no hay un solo compuesto orgánico natural que no pueda ser utilizado por un hongo u otro. Su forma de nutrición es característica y altamente exitosa. (Wainwright, 1992)

A pesar de que las condiciones óptimas de crecimiento varían de una especie a otra, en general la temperatura optima varía entre 18° y 32° C y requieren oxígeno, agua y una fuente de carbohidrato.

Los hongos en general agrupan un número considerable de especies. Se han descrito más de 100.000 especies de hongos, los cuales se encuentran muy expandidos en la naturaleza, suelo, aire o agua y eventualmente sobre organismos vivos de naturaleza animal o vegetal.

De este gran número de especies solo algunos cientos son oportunistas y dentro de los hongos microscópicos, más de cien especies son reconocidas por implicarse en patologías veterinarias y humanas como responsables en procesos infecciosos en el hombre (De Hoog GS., 2000).

La mayor parte de enfermedades causadas por hongos es debida a la inhalación, ingestión de esporas de hongos y células vegetativas (hifas) o por contacto con células fúngicas. En contraste con otras fuentes alergénicas, los hongos están extendidos en el ambiente, y la exposición a las esporas ambientales es constante a lo largo del año.

Más de ochenta géneros de hongos fueron relacionados con la causa de personas susceptibles, sin embargo solo se identificaron proteínas alergénicas en apenas 23 géneros (Simon-Nobbe B., 2007).

1.3. Historia de la aerobiología

Desde los tiempos de Hipócrates (460-377 a.C.), se sostenía la idea de que el hombre era atacado por “fiebres epidémicas” cuando inhalaba aire infectado de “contaminantes que son hostiles a la raza humana” (Gregory, 1973).

Los botánicos de Roma, como Discórides (siglo I d. C.) y Plinio (23-79 d. C.), se interesaron por la estructura macroscópica y por las aplicaciones terapéuticas y bromatológicas de los vegetales pero no por los aspectos fisiológicos de las plantas, de esa forma hasta finales del siglo XV no se encuentran referencias sobre aspectos relacionados con el polen, cuando Monardi (1462-1536) comenzó a estudiar el papel que los estambres desempeñaban en las flores. Grez (1628-1711), médico y botánico inglés, realizó las primeras descripciones morfológicas de pólenes.

En el jardín Público de Florencia, el botánico P.A. Micheli (1679-1737), observó que las esporas de mohos se reproducían durante varias generaciones, detectando que podía haber contaminaciones, y concluyendo que las esporas de los mohos se dispersaban a través del aire (Gregory, 1973).

El primer experimento aerobiológico, más bien conocido fue cuando Pasteur demostró las causas de la putrefacción, cuando propuso que el polvo del aire, incluyendo los gérmenes, eran *bioaerosoles*.

Los bioaerosoles pueden ser definidos como organismos vivos y otras partículas derivadas biológicamente. (NRC, 1981)

Aún a pesar de equipamientos relativamente sencillos de que se disponía en el siglo XIX, fueron establecidos algunos principios básicos de aerobiología.

En 1860, Luis Pasteur, probó que la materia viva existente en el aire es la causa de procesos de fermentación y putrefacción. A fin de identificar dicha materia hizo pasar el aire de la ciudad de París por un filtro de algodón con alcohol y éter y luego examinó al microscopio la materia sedimentada, identificando bacterias, mohos y levaduras. Tras estudios para realizar el cálculo de microorganismos por m^3 de aire, propuso el estudio de esta materia viva en el aire durante la aparición de brotes de enfermedades infecciosas.

Entretanto, el primer muestreo periódico de la atmósfera con métodos volumétricos, fue realizado por el farmacéutico y médico Pierre Miquel (1850-1922), en diferentes lugares del mundo, gracias a su empeño en desarrollar el primer colector volumétrico, capaz de succionar

un volumen de 20 litros de aire por hora. Pierre, concluyó en su tesis, “Les organisms vivants de l’atmosphere”, en 1883, que el número de microbios en el aire variaba enormemente en el mismo sitio a diferentes horas, estaciones o altitud.

A principios de 1900, ya existía por lo menos un texto guía de microbiología que declaraba que placas de petri abiertas y expuestas, no era un método aceptable para indicar la concentración de los bioaerosoles, porque no se conocía el volumen de aire muestreado (Ball; 1900)

A partir de esa fecha fueron desarrollados muchos muestreadores volumétricos, entretanto, la aerobiología renació esencialmente en la mitad del siglo 20th.

Los primeros muestreadores fueron desarrollados por Hirst y Andersen. (Hirst; 1952; Andersen; 1958).

Gregory fue uno de los pioneros en el renacimiento de la aerobiología. Contribuyó a ello mediante un trabajo descriptivo sobre aerobiología y a la ciencia básica sobre el comportamiento de pequeñas partículas en fluidos como el aire, a mediados de la década de sesenta. (Gregory, PH, 1973)

Más tarde, el trabajo de Lacey fue fundamental para las aplicaciones del muestreo aerobiológico y la aerodinámica de las partículas biológicas en salud humana asociado con exposición a los bioaerosoles (Lacey J.; 1981)

Actualmente, el énfasis está en la aplicación de la inmunoquímica, análisis molecular y química del aire. (Schmeichel D.; 1994)

Un siglo después de los estudios de Pasteur, en los años 70 del siglo XX, apareció una mayor incidencia de quejas por cefaleas, irritación de mucosas y sensación de fatiga entre trabajadores de grandes edificios de oficinas.

Se han propuesto varios términos, “síndrome de la oficina enferma”, “síndrome del edificio hermético” síndrome del ojo de oficinista” y “síndrome del edificio enfermo”.

Para describir este fenómeno, 1982, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoció el término “síndrome del edificio enfermo” (OMS, 1990), y en un intento de subclasicar el Síndrome del Edificio Enfermo (S.E.E) diferenció entre S.E.E temporal y S.E.E permanente, cuando los síntomas disminuyen o desaparecen con el tiempo o persisten pese a las medidas de intervención, respectivamente (Franck, 1986).

Los aspectos epidemiológicos del S.E.E se refieren a los síntomas que se presentan con mayor frecuencia como irritación de ojos, nariz y garganta; sequedad de piel y mucosas, eritema cutáneo, fatiga mental, somnolencia, dificultad de concentración, cefaleas, sensación vertiginosa, mayor incidencia de infecciones de vías respiratorias, disnea, sibilancias, cuadros asmáticos/asmatiformes, disfonía, tos, trastornos del sentido del olfato y del gusto y náuseas (Gravensen et. al 1986).

Las principales causas responsables del S.E.E identificadas por la mayoría de investigadores son los contaminantes ambientales (Tueriel et.al, 1983; Whorton et al., 1987; Gravensen et. al 1986); olores (Smith et.al. 1978; Guidoti et.al. 1987); pérdida de iones negativos en el aire (Hawkins, 1982; Assael, 1984; Hedge y Collis, 1987); sistemas de ventilación del aire inadecuados (Finnegan et.al., 1984; Burge et. al., 1985; Robertson et.al., 1985). Baja humedad relativa (Green, 1984); ambiente de trabajo poco confortable, con temperatura elevada o mala ventilación (Griffiths y Wilkison, 1985); iluminación deficiente (Robertson y Burger, 1985; Robertson et.al., 1989; Sterling y Sterling, 1983; Travis, 1984; Hansen y Andersen 1986; Turiel, 1983); causas psicosomáticas/ insatisfacción (Skov, 1987; Wilson y Hedge, 1987).

Los hongos más comunes existentes en el polvo de origen doméstico pueden fácilmente pasar al aire; y si se dan las condiciones adecuadas para su desarrollo pueden establecerse sobre cualquier tipo de material, creciendo desmesuradamente, proyectando al ambiente un número elevado de esporas con el consiguiente riesgo para la salud.

El conocimiento de los factores que influyen en la presencia y concentración de esporas nos sirven para conocer la relación entre la dispersión de las esporas y las alergias respiratorias producidas por ellas.

Las concentraciones de esporas, y sus metabolitos volátiles, en un ambiente cerrado, con el tiempo tienden a aumentar. Con eso, las personas en esos ambientes, tienden a estar en contacto constante con tales fuentes.

Estudios conducidos por la Agencia Nacional de Protección Ambiental de Estados Unidos de America, y otros, muestran que muchas veces los niveles de contaminación encontrados en ambientes intramurales es mayor que los extramurales (EPA, 1997).

Para la Agencia Nacional de Protección Ambiental de Estados Unidos de America (EPA), la calidad del aire intramural es un problema de salud pública, ya que según Burglund,

de ochenta a noventa por cien de las personas pasan la mayor parte de su tiempo en espacios cerrados (Burglund et.al., 1988).

La identificación en las diferentes áreas geográficas, y el reconocimiento de su distribución tiene un gran interés, tanto para el conocimiento del tipo de esporas existentes en un determinado hábitat como por la supuesta sensibilización de la población frente a ellas.

Por tanto, el conocimiento de la micoflora en ambientes interiores, es especialmente importante desde el punto de vista alergológico, a pesar de la dificultad de evaluar tales ambiente, en función de su complejidad (Burge, 1989).

El interés cuantitativo y cualitativo en las partículas aerovagantes es considerado relevante, porque está directamente relacionado con datos epidemiológicos de enfermedades infecciosas, alérgicas y tóxicas en el hombre (Lacey, 1981).

1.4. Definiciones sobre aerobiología:

Las esporas, como las demás partículas biológicas que se encuentran en la atmósfera, se hallan inmersas en lo que denominamos “proceso aerobiológico”, que comienza por la producción de las partículas desde la fuente originaria, su dispersión en la atmósfera, su transporte, deposición e impacto sobre cualquier objeto. Aún cuando la mayoría de las esporas aéreas procede de fuentes cercanas al lugar donde se recoge las muestras, también hay un aporte procedente de las esporas transportadas por las corrientes de aire. Las esporas pequeñas y de baja densidad, por tanto con mínimo peso, pueden ser transportadas a largas distancias y a diversas alturas. La temperatura, la fuerza del viento y la pluviosidad parecen ser factores decisivos en este proceso (Sáenz L.C. & Gutiérrez B.M, 2001)

El término Aerobiología fue cuñado en los años 30 por Fred C. Meier, con el fin de incluir bajo esta denominación los estudios que estaban realizando sobre las esporas de hongos, granos de polen y bacterias contenidos en la atmósfera (Gregory, 1973).

En 1975, Parthirane consideró la aerobiología como “el estudio de pólenes, esporas y microorganismos presentes en el aire, sus fuentes, liberación, retención, dispersión, deposición, incidencia atmosférica, su impacto sobre otros sistemas de vida y el efecto de las condiciones ambientales en todos estos procesos”.

Por tanto, la aerobiología es una ciencia multidisciplinar, que se ocupa de estudiar el origen, liberación, transporte, disposición y efecto de las partículas biológicas transportadas por el aire. (Solomon W.R, 1998).

Se sabe que los hongos son ubicuos, presentes tanto en medio exterior con en ambientes intramurales. Actualmente, la aerobiología, a efecto práctico, se divide en intramural, o de interiores, y extramural, o de exteriores (Gregory, 1973).

El aire es una mezcla de gases que forma la atmósfera terrestre, sujetos alrededor de la Tierra por la fuerza de la gravedad. Está compuesto en propiedades ligeramente variables por nitrógeno, oxígeno, vapor de agua, ozono, dioxido de carbono, hidrógeno, algunos gases nobles como cripton o el argón. En suspensión se encuentran más o menos numerosas partículas inertes de polvo, humo y impurezas, así como el aeropláncton.

En el aire interior hay partículas propias y las que entran desde el exterior. (Burge H.A, 1982, Licorish et.al. 1985).

El aeropláncton es definido como el conjunto de organismos aerovagantes o planctónicos que “viven” en la atmósfera, como ácaros, polen, esporas de hongos, bacterias y virus los cuales son responsables de un ascendente impacto en la salud humana, desde tres puntos de vista: alergias, infecciones e intoxicaciones.

Se sabe que tanto el aire intramural como el aire extramural contienen polenes, ácaros y esporas fúngicas libres, estas, procedentes de hongos que viven y crecen en asociación con los seres humanos, animales, plantas y materia orgánica en descomposición.

Por concentración en la atmósfera y por su pequeño tamaño, las partículas fúngicas (esporas y fragmentos de hifas) pueden ejercer un importante papel en las alergias respiratorias. Entre todas las esporas fúngicas atmosféricas, las más importantes por su presencia casi constante en el exterior y por su capacidad de producir alergenicidad, son las atribuidas a algunos géneros como, *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.*, *Curvularia sp.*, *Drechslera sp.* (incluido *Helminthosporium*), *Epicoccum sp.*, *Fusarium sp.*, *Nigrospora sp.*, y *Stemphylium sp.* (Kendrick, 1990)

En general, las esporas que pueden reconocerse en las muestras aéreas son comunes en todas las regiones de la tierra: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phythomyces*, *Epicoccum*, *Aspergillus/Penicillium*, *Stachybotrys*, *Ganoderma*, *Coprinus*, *Leptosphaeria* o similares, basidiósporas hialinas, ascosporas bicelulares, u otras ascosporas (Escamilla B, 2000)

Los niveles de esporas se ven afectados por la temperatura, humedad relativa, estación geográfica, condiciones meteorológicas, además de una presencia local de diferentes fuentes de las que emanan esporas, como el contenido de material biológico degradable, la presencia de

animales, plantas y alfombras, además de los microhabitats propios de los hongos (Dharmage S, 1999)

Se estima que la concentración de esporas fúngicas en el aire varía substancialmente dependiendo de diversos factores, la mayoría crece en ambientes exteriores, pudiendo llegar a concentraciones que varían entre 230 a 10^6 esporas/m³ (D'Amato G, 1995; Lacey L, 1981)

Según autores, la concentración de esporas fúngicas intramural es menor que la mitad encontrada en ambientes exteriores, pudiendo variar entre 100 a 1,000 esporas/ m³ (Burge H.A, 1985; Nevalainen A, 1994)

1.5 Métodos de muestreos aerobiológicos:

La evaluación de exposición de hongos alergénicos es, generalmente, realizada por recuento de esporas o cuantificación de las unidades formadoras de colonia obtenido por medio de métodos de cultivo (Peyton, 2001).

El método ideal de muestreo de las esporas fúngicas sería aquel que combinase el muestreo continuo volumétrico con la posibilidad real de identificar de forma precisa todas las esporas atmosféricas. Actualmente tal método no existe. Las técnicas llamadas “no viables”, basadas en captadores de tipo Hirst (como los comercializados por Burkard y Lanzoni), realizan un muestreo continuo y permiten obtener resultados cuantitativos (número de esporas por metro cúbico de aire), mediante el análisis microscópicos de las muestras. Los métodos “viables” son aquellos que permiten el posterior cultivo de las esporas (por ejemplo, métodos gravimétrico o volumétrico sobre medio de cultivo). Ambos métodos tienen ventajas y desventajas.

El principal inconveniente de la identificación visual de las esporas captadas es que la mayoría de las veces solo puede hacerse a nivel de género y en muchos casos, las semejanzas morfológicas solo permiten referirse a grupos muy amplios como es el caso de *Aspergillus/Penicillium*. Finalmente, muchas esporas pequeñas e hialinas son difíciles de apreciar.

Los métodos viables recogen las esporas en placas de Petri con un medio de cultivo. Las placas se incuban, las esporas germinan y desarrollan colonias, que pueden ser identificadas y enumeradas. Este método está fundamentalmente limitado por el hecho de que no todas las esporas crecen en un medio de cultivo. Es eficaz para los hongos imperfectos (anamórficos), pero las ascósporas y las basidiósporas no son viables en cultivo. Además puede producirse competencia e inhibición del crecimiento entre diferentes hongos. En cambio una de las ventajas de los métodos viables, comparado con los no viables, es la posibilidad de

diferenciar y cuantificar *Penicillium* y *Aspergillus*. Los resultados de ese método dependen del medio elegido y la temperatura de incubación, de la velocidad de muestreo, numero de repeticiones, tiempo de muestro, y aparato utilizado.

A la clasificación de los hongos encontrados en los análisis atmosféricos por los métodos viables, está la posibilidad de identificar rigurosamente los taxones mediante la secuenciación de su ADN, comparando con el banco de datos. (Gn Bank/EMBL, Heidelberg)

1.6. Aerobiología y Salud:

La biodiversidad fúngica de un ambiente intramural, normalmente es una mezcla de lo que proviene del exterior existe la dificultad de llegar a alguna conclusión significativa respecto a la presencia de esporas fúngicas y respuesta alérgica. Se sabe que las esporas fúngicas tanto en ambientes interiores como exteriores, pueden ser estudiados cuantitativamente y cualitativamente.(Licorish K., 1985),

La evaluación de la exposición a contaminantes biológico (bioaerosoles) tiene el inconveniente de que, por el momento, no existen criterios de valoración numéricos que permitan una interpretación de la situación de trabajo analizada. El hecho de que se desconozca dicha relación entre contaminantes biológicos y enfermedades en los seres humanos, es quizás, el mayor obstáculo a la hora de establecer criterios de valoración para evaluar la exposición a los contaminantes (Miller J.D, 1992)

El mayor reto en la actualidad, considerando el estudio de bioaerosoles, se refiere a la falta de valores umbrales ambientales considerados a nivel internacional, para poder definir con un criterio cuantitativo y objetivo, el nivel de exposición admisible (Miller J.D, 1992).

No solo la cantidad de esporas en un ambiente interior es relevante, sino también su poder de alergenicidad, lo cual conlleva a las manifestaciones clínicas.

Datos sobre la carga de esporas y la asociación con los niveles de alergenicidad tanto en ambientes intramurales como extramurales, son caracterizados de forma incompleta. Similarmente, no existen guías sobre la carga de esporas fúngicas para diferentes ambientes o los que están no son fiables (Lippalainen et.al., 1999).

Sin embargo está bien documentado el hecho de que la concentración de hongos ambientales no presenta una distribución normal, los hongos varían logarítmicamente, cuantitativa y cualitativamente en un mismo ambiente (Barkova T. et.al, 1995).

Debido a factores como ciclos biológicos inconstantes, característica cosmopolita y dificultad de muestreo e identificación, la relación exposición - síntomas no está bien definida en el caso de esporas fúngicas, (Suárez- Cervera, 1990).

La comisión para los bioaerosoles de la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) afirma que no es posible establecer dichos criterios, porque no tiene justificación científica cualquier valor límite de exposición general para la concentración de los bioaerosoles cultivables (hongos y bacterias totales) o contables (polen total, esporas de hongos o bacterias), debido a que los bioaerosoles son mezclas complejas de diferentes clases de partículas, y, a parte de eso, las concentraciones medidas de los bioaerosoles cultivables y contables dependen del método de toma de muestra y análisis. No sería posible recoger y evaluar todos los componentes de los bioaerosoles utilizando un único método de muestreo.

Aunque no se han establecido valores límite de exposición para los bioaerosoles individuales cultivables o contables para prevenir la irritación o las respuestas tóxicas o alérgicas, actualmente, existe una información relativa a tales concentraciones, en su mayor parte, obtenidas a partir de estudios de casos que contienen sólo datos cualitativos de la exposición (Miller J.D, 1992).

Los datos epidemiológicos que existen son insuficientes para describir las relaciones exposición- respuesta.

La mayor parte de los datos de las concentraciones de los bioaerosoles específicos proceden más de medidas indicadoras que de la determinación de los agentes causantes reales. Por ejemplo, la determinación de hongos cultivables se utiliza para representar la exposición a los alérgenos. Además, la mayor parte de las determinaciones proceden de los puntos de acumulación de estos agentes (reservorios) o de las muestras del aire ambiental. Por lo tanto es poco probable que estas aproximaciones representen exactamente la exposición humana a los agentes causantes reales.

Los componentes y las concentraciones de los bioaerosoles varían ampliamente. Los muestreadores de aire más comúnmente utilizados sólo toman muestras "puntuales" en períodos cortos de tiempo y estas muestras aisladas pueden no representar la magnitud exacta de exposición humana. (Peyton, 2001)

Los contaminantes de procedencia biológica que son analizables son sustancias producidas por la materia viva, que se pueden detectar utilizando ensayos químicos,

inmunológicos o biológicos y comprenden a las endotoxinas bacterianas, micotoxinas, alérgenos y compuestos orgánicos volátiles.

Los métodos de ensayo para ciertos aeroalergenos comunes y endotoxinas están avanzando constantemente. Las innovadoras técnicas moleculares están permitiendo analizar la concentración de organismos específicos, detectados hasta ahora normalmente sólo por cultivo o recuento.

Los hechos todavía no respaldan el establecimiento de valores límite de exposición para ninguna de estas sustancias analizables. Sin embargo, en estudios experimentales y ocasionalmente en estudios epidemiológicos, se han observado relaciones dosis-respuesta para algunos de los bioaerosoles analizables.

La Comisión para Bioaerosoles de la ACGIH ha desarrollado unas guías para la evaluación de la exposición a contaminantes biológicos en ambientes interiores. Estas guías tienen en cuenta la valoración médica de los síntomas, la evaluación del funcionamiento del edificio y el juicio profesional.

En ausencia de criterios numéricos de valoración, es necesario decidir con antelación los criterios de interpretación que serán utilizados para determinar si un ambiente está o no contaminado. En términos generales, se podrían considerar los siguientes criterios de interpretación de los resultados obtenidos:

- Los tipos y frecuencias relativas de los contaminantes biológicos en el ambiente con problemas y en un ambiente "control" (el exterior u otro local sin problemas).
- La evidencia médica de que una infección o alergia ha sido causada por un contaminante biológico específico.
- Las relaciones existentes entre el ambiente interior y el ambiente control pueden indicar posibles amplificaciones.
- La evaluación de los reservorios y las posibilidades de amplificación y de diseminación.

Se sabe que la carga aérea de esporas cambia según el área geográfica, ya que el substrato sobre el que crecen los hongos, los ciclos del desarrollo de las plantas y las características geoclimáticas inciden directamente sobre su reproducción (Li Dw; 1995); y que un gran número de esporas fúngicas están presentes en el ambiente exterior durante todo el año,

dependiendo de los factores ambientales como actividad de agua, nutrientes, temperatura y viento. (Burge H.A, 1989)

A pesar de no existir valores patrones para interpretar los resultados de hongos encontrados en un determinado ambiente, el National Allergy Bureau, programó algunas guías basado en muestreros para el aire extramural. Como los efectos sobre la salud de tales bioaerosoles dependen de la susceptibilidad individual, el Índice de la exposición relativa no está basado en los efectos sobre la salud. Existen números relativos y límites.

The National Allergy Bureau es una sesión de la American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (AAAAI) Aeroallergen Network, que es responsable de reportar los niveles de hongos y polenes a los medios de comunicación. La Red es formada por 65 estaciones en los Estados Unidos de América y Canadá, formada por miembros de la AAAAI, encargada de los conteos de polenes y hongos ambientales, los cuales facilitan unos niveles fiables de tales bioaerosoles (Bleimel L, 1996; AAAAI, 2002).

Considerando que el nivel seguro aceptable de partículas aerovagantes todavía no haya sido acordado, pues mucho dependerá de la concentración exterior y del tipo de esporas presentes en el interior, cada ambiente interno debe ser considerado un caso único e independiente (Leventin, E.; 1995).

La red Aerobiológica de Cataluña (Xarxa Aerobiológica de Cataluña, XAC) suministra recuentos polínicos desde 1983. Desde 1994 el método de muestreo aerobiológico usado por la Xac es el método de Hirst, estandarizado en España y Europa y siguiendo las normas establecidas para las estaciones aerobiológicas de España (Dominguez E, 1992)

1.7 Alergia y Immunológica

La mayoría de las especies fúngicas, al estar distribuidas de manera universal, constituyen una parte importante del material biológico en suspensión en el aire intramural y extramural (Solomon WR, 1998).

Se sabe que las variables como área geográfica, estacionalidad, los ciclos de las plantas y las características geoclimáticas influyen directamente en la reproducción de los hongos, consecuentemente en la carga aérea de esporas (Morin O; 2001).

La carga de alergenos generalmente proviene del ambiente exterior. Las características, respecto a la biodiversidad de los ambientes interiores, en muchas ocasiones es reflejo del

exterior. Ciertas especies como, *Penicillium* y *Aspergillus* muchas veces pueden estar en mayor proporción en ambientes interiores que exteriores (Salomon, WR, et.al; 1998).

La posibilidad de que una persona inhale esporas fúngicas, tanto en ambientes abiertos como cerrados, es elevada.

La **composición alergénica** de los hongos puede variar según se considere la forma micelar o la espora. Entretanto, las respuestas alérgicas a los hongos se han relacionado de una manera más directa con las esporas fúngicas, que con la presencia de restos miceliares u otras parte de las células fúngicas. Las respuestas a cada tipo de espora difieren según las personas y los alérgenos fúngicos, que presentan una gran variabilidad en la severidad de la respuesta alérgica que provocan (Iversen M, Dahl R, 1995).

Los hongos a través de sus esporas, micotoxinas y por la emisión de VOC (compuestos volátiles orgánicos), pueden causar diferentes tipos de enfermedades o alteraciones de la salud, como enfermedades infecciosas (*Aspergillosis*), histoplasmosis (por *Histoplasma*), criptococosis (por *Cryptococcus*) y coccidiomicosis (por *Coccidioides*); reacciones alérgicas, como rinitis y asma; neumonitis por hipersensibilidad; cáncer debido a micotoxinas carcinogénicas; desórdenes inmunológicos por micotoxinas inmunosupresoras; reacciones de inflamación debidas al β -1,3-glucano (compuesto de la pared celular de los hongos); irritación debida a VOC fúngicos como por ejemplo alcohol. (Albright D.M., 2001; Fernandez, 1996).

Los antígenos de estos microorganismos se asocian a las partículas inocuas del aire, provocando numerosas clases de enfermedades infecciosas o toxigénicas cuyo único vehículo de infección es el aire

La definición de **antígeno** es: sustancia que tiene la capacidad, tras contactar con el sistema inmune, de producir respuesta inmunitaria específica y de reaccionar con los productos de esta respuesta. Un alergeno es capaz de generar una respuesta inmune mediada por IgE y que resulta en la formación de anticuerpos IgE específico.

Un **alergeno** es una sustancia capaz de producir anticuerpos en un organismo sensibilizado y da lugar a una reacción antígeno-anticuerpo al producirse un nuevo contacto del organismo con el alergeno. El descubrimiento del antígeno y su anticuerpo específico, responsables de la sintomatología clínica, es la base del diagnóstico etiológico en las enfermedades alérgicas. (Aalberse, 2000)

Por tanto, un alérgeno es un antígeno que provoca la producción de una clase específica de inmunoglobulina E por parte del sistema inmune, y puede inducir, tras unirse a ella una reacción local o sistémica, denominada Alergia.

Los aeroalérgenos son las partículas que son transportadas por el aire, capaces de producir alergia respiratoria, cutánea o conjuntival. Los neumoalérgenos de interés en patología clínica son los pólenes, ácaros, epitelios y caspa de animales y hongos.

Los alérgenos, causantes de las enfermedades Alérgicas, pueden ser de origen muy diverso, por ejemplo ácaros, pólenes, esporas de hongos, epitelio de animales domésticos, alimentos, bacteria, látex y fármacos. Muchas de las moléculas causantes de estos síntomas alérgicos están bien caracterizadas y de algunas se conoce la secuencia parcial o total de sus aminoácidos.

La mayoría de los alérgenos son proteínas, glicoproteínas y polipéptidos, y más raramente polipéptidos puros, inocuos para la mayor parte de los individuos, y sólo aquellos con una disposición personal de producir IgE específica contra dichos alérgenos, reaccionarán de forma anormal.

Los alérgenos suelen tener un tamaño entre 5.000 y 70.000 daltons y raramente son inmunógenas, son sustancias menores de 1 kilodalton, que pueden actuar como haptenos de bajo peso molecular que por sí solo tiene capacidad inmunógena. Pero no antigénica, de ese modo, precisa unirse a otra molécula o proteína coadyuvante para producir una reacción alérgica.

La mayor parte de los alérgenos transportados por el aire suelen ser proteínas o sustancias unidas a estas; resultan ser glico-proteínas solubles, con peso molecular variable entre 10.000 y 40.000 daltons (Dreborg S. et.al., 1994).

Los aeroalérgenos mejor conocidos varían entre 1 y 6 μm . Solo las partículas de tamaño menor que 2-4 μm son capaces de alcanzar vías aéreas inferiores (Dankaart, et.al, 1991; Pepys, J., 1965).

Las circunstancias que favorecen que una molécula se comporte como alérgeno en una persona susceptible serían entre otras la capacidad de acceder al sistema inmune la concentración en el ambiente, la complejidad molecular, solubilidad (los alérgenos hidrosolubles tienen mayor facilidad de pasar hacia el epitelio respiratorio), estabilidad, la predisposición genética del individuo, la alteración de los mecanismos defensivos del

individuo, la coexistencia con otras sustancias alergénicas o con factores irritantes. (Dankaart, W.F.J.M., 1991; Pomés A, et .al, 2007)

Los organismos, una vez expuestos a aeroalérgenos, pueden expresar una reacción inmune exagerada o reactiva a determinado agente biológico inocuo que reconozca extraño (Albright D.M.2001; Fernandez, Pinto, V.E. 1996).

Las reacción alérgicas se ponen de manifiesto tras sucesivos contactos con el aeroalérgeno y depende de la susceptibilidad individual y de la carga del alérgeno (Albright D.M.2001; Fernandez, Pinto, V.E.,1996)

La **reacción alergia** puede ser definida como una enfermedad humana causada por una reacción de hipersensibilidad del propio organismo frente a seres bióticos o sustancias en si inocuas.

La respuesta individual depende de múltiples factores. Uno inherentes al sujeto alérgico, como sistema inmune, susceptibilidad, edad y esto físico, etc; y otras dependientes del alergeno como características fisico-químicas, dosis, frecuencia de la exposición, vía de penetración, adyuvantes etc. (Pomés A, et .al, 2007)

Un alérgeno tendrá importancia clínica cuando posea grupos antigenicos específicos capaces de provocar respuestas alérgicas en el hombre, y encontrarse en concentración suficiente en el aire de modo que el nivel de exposición sea adecuado para desencadenar una respuesta inmunológica. A partir de la década de 90, se han podido identificar especies de reconocida capacidad alergizante en concentraciones suficientes como para inducir respuestas específicas de IgE y como para desencadenar síntomas respiratórios en aquellos individuos sensibilizados (Arduoso L.R.F et.al, 1999; Baena-Cagnani C, et.al, 1993; Baena-Cagnani C, et.al, 2001)

El término atopia, del griego *a*: fuera, sin; *topos*: lugar; y por lo tanto extraño, raro, sin lógica (utilizado inicialmente para describir las reacciones cutáneas inmediatas de pápula y eritema producidas en respuestas a alergenos en pacientes con síntomas respiratórios de asma y rinitis). Actualmente se podría definir como la “*predisposición genética de algunos individuos a producir una respuesta exagerada, mediada por anticuerpos de clase inmunoglobulina E (IgE) específicos para cada alergeno, demostrada a través del laboratorio por definida clínicamente por la presencia de una o más pruebas cutáneas positivas y a través del laboratorio por concentraciones de IgE específica elevada) frente a sustancias ambientales*”. (Johansson et.al, 2004)

Atopia, no implica la presencia de síntomas clínicos, no obstante se considera un factor de predisposición para desarrollar enfermedad alérgica.

El término alergia, del griego, *allos*: otros; *ergon*: acción, hace alusión a la reacción inmunitaria anómala, habitualmente desencadenada por un antígeno inofensivo, de la que va a resultar un prejuicio para el organismo. Fue definido en 1906, por von Pirquet, para describir una reactividad alterada en seres humanos causada por sustancias externas. (Von Pirquet C., 1907 In.: Horner W.E, 1995; Rojido M. G, 2001)

Habitualmente, en la práctica, se refiere a los mecanismos de hipersensibilidad inmediata mediado por IgE, por lo que la alergia sería la expresión clínica de la predisposición atópica, e incluye asma, rinitis, conjuntivitis, dermatitis atópica y reacciones alérgicas por alimentos, fármacos y veneno de himenópteros entre otros cuadros. Otras enfermedades alérgicas, como la neumonitis por hipersensibilidad o la dermatitis de contacto, producidas por reacciones de hipersensibilidad no mediadas por IgE, podrían ser denominadas manifestaciones alérgicas no atópicas. (Coombs RRA GP, 1975)

Con el fin de unificar y definir estos conceptos, la Academia Europea de Alergología e Inmunología (EAACI) publicó en el año de 2001 una revisión de la nomenclatura en alergología, posteriormente revisada en el 2003 por la Organización Mundial de Alergia (OMA). (Johansson et.al, 2003)

La OMA establece que el término **hipersensibilidad** se debe usar para describir síntomas o signos objetivos y reproducibles iniciados por la exposición a estímulos definidos a una dosis tolerada; define alergia aquella reacción de hipersensibilidad iniciada por mecanismos inmunológicos específicos. Que puede ser mediada por anticuerpos o por células. Cuando el anticuerpo pertenece al isótipo inmunoglobulina E (IgE), se habla de alergia mediada por IgE. En el contexto de una reacción inmunológica, la sustancia desencadenante se denomina antígeno.

Frecuentemente se utilizan los términos genéricos de alergia, atopia, hipersensibilidad y anafilaxia para describir reacciones inflamatorias dirigidas contra sustancias extrañas, que en otras condiciones serían inocuas.

1.8 Reacción alérgica:

Cuando un alérgeno entra en contacto con el sistema inmune, es reconocido como extraño y es captado por las células presentadoras de antígenos. Dichas células opsonizan (hacían más susceptibles de ser fagocitadas) la molécula antigénica y la procesan, migrando

posteriormente a los ganglios linfáticos donde los presentan, unidos al Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (MHC II), al precursor del linfocito T cooperador o “helper”, que al reconocer la sustancia extraña, se activa, secretando una serie de citoquinas. La sensibilización conlleva un efecto memoria de los linfocitos B hacia la producción de IgE y la existencia de linfocitos tipo T con memoria alergeno específica.

De un modo general, el proceso alérgico se manifiesta cuando dos o más moléculas de IgE unidas a su receptor reconocen a una misma molécula de alergeno, provocan el entrecruzamiento de los receptores, y desencadenar una serie de reacciones bioquímicas de señalización que culminan en la degranulación del mastocito con la liberación de una serie de mediadores preformados (histamina, triptasa, serotonina, quimasa, peroxidasa, etc.) o sintetizados *de novo*: metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos), factor activador de plaquetas, quimiocinas y citocinas.

La reacción excesiva del sistema inmune se va adquiriendo después de exposiciones prolongadas a concentraciones elevadas de antígenos durante meses o años. Sin embargo, una vez que el sistema inmune ha sido sensibilizado, la reacción de hipersensibilidad se desencadena con la exposición a mínimas cantidades del alérgeno específico.

En la reacción alérgica inmediata, los siguientes y repetidos contactos con el alergeno estimularán, con la ayuda de los linfocitos tipo T, a los linfocitos tipo B hacia la producción de elevados niveles de IgE específica. Esta IgE específica se une a la superficie de mastocitos, basófilos, monocitos, células dendríticas y células B por medio de receptores específicos (FcεRI: receptor de alta afinidad para la IgE; FcεRII, receptor de baja afinidad para la IgE).

Estos mediadores producen una serie de efectos biológicos: constricción del músculo liso bronquial, vasodilatación o aumento de la permeabilidad capilar, secreción de moco en las vías aéreas, etc., que son los responsables de los síntomas de la enfermedad alérgica (prurito, eritema cutáneo, hidrorrea, congestión nasal, broncoespasmo (Navarro M, et.al; 2005).

Con frecuencia la reacción inmediata se acompaña de una reacción tardía, que ocurre pasadas unas horas, como consecuencia de la respuesta inflamatoria procedente de eosinófilos, neutrófilos y macrófagos.

Tras episodios recurrentes de inflamación aguda, se van a producir cambios inflamatorios persistentes con infiltrado celular a expensas fundamentalmente de neutrófilos y eosinófilos, que van a perpetuar la cadena inflamatoria con tendencia a la cronificación.

Las respuestas alérgicas se caracterizan inmunológicamente en cuatro tipos de reacciones destacándose la clasificación general: hipersensibilidad tipo I, hipersensibilidad tipo II, hipersensibilidad tipo III e hipersensibilidad tipo IV. (Cohen, J.J., 1988)

Se sabe que en las reacciones de **hipersensibilidad de tipo I**, como en la fiebre del heno o el asma, tras una primera exposición al alérgeno la persona se sensibiliza, produciendo anticuerpos específicos contra el antígeno (generalmente IgE), que quedan expuestos sobre la superficie de mastocitos y basófilos. Después de una segunda exposición al alérgeno, la reacción se produce muy rápidamente, en pocos minutos. Una sustancia de gran importancia que se libera durante la reacción alérgica es la histamina. También son liberados otros mediadores químicos, como leucotrienos (LTC4, LTD4, LTE4), factor de agregación plaquetaria (PAF) y prostaglandinas (como la PGD2).

La histamina es un potente mediador de la inflamación y su liberación por mastocitos y basófilos da lugar a una disminución de la tensión sanguínea, una contracción del músculo liso (broncoconstricción, vasoconstricción...) y un aumento de la secreción de las glándulas mucosas. Los mastocitos y los basófilos son dos tipos celulares relacionados con la liberación de histamina. Los anticuerpos IgE producidos por las células plasmáticas se unen a los receptores presentes en la superficie de mastocitos (presentes en piel, mucosas y tejidos) y basófilos (torrente sanguíneo). Ambos tipos celulares contienen gránulos con histamina y otros mediadores químicos y una reacción entre los alérgenos y los anticuerpos IgE sobre las superficies celulares (entre cruzamiento) provoca el comienzo de la desgranulación celular y la liberación subsecuente de mediadores químicos. La histamina produce la contracción del músculo liso de los bronquiolos (broncoconstricción) que se observa en el asma, la secreción de mayor cantidad de moco en las paredes bronquiales y alveolares, la secreción de fluido nasal y de lágrimas, con congestión nasal y prurito nasal y conjuntival, y finalmente, la alteración de la permeabilidad vascular con una disminución de la presión sanguínea (que en raras ocasiones puede conducir a un choque alérgico o anafiláctico). No es infrecuente que exista una fase tardía del proceso. A través de este proceso se producen algunas formas de asma extrínseca, rinitis alérgica estacional, urticaria, angioedema, choque anafiláctico y alergia digestiva.

La respuesta inmediata por inmunoglobulinas Ig-G o IgM, caracteriza la **hipersensibilidad tipo II**, la cual suele producirse como respuesta a biotoxinas ambientales. Clínicamente se expresan como una neumonitis hipersensible o alveolitos intrínseco.

La reacción de Arthus, o **hipersensibilidad tipo III**, está mediada por inmuno-complejos circulantes de inmunoglobulinas Ig-G. Esta reacción se manifiesta en patologías como la neumonitis hipersensible, la fiebre del humidificador y pulmón del granjero.

La **hipersensibilidad tipo IV**, también denominada hipersensibilidad retardada, produce la liberación de linfocinas. Se puede presentar por ejemplo en la neumonitis por hipersensibilidad y en reacción típica de la dermatitis de contacto.

Los alérgenos respiratorios fúngicos suelen ser proteínas hidrosolubles presentes en las esporas fúngicas⁹ que son extraídas de las mismas por los fluidos mucosos de las vías respiratorias.

La hipersensibilidad a Hongos:

Se han descrito dos tipos de reacciones de hipersensibilidad resultado de la exposición a alérgenos fúngicos: las reacciones de hipersensibilidad de tipo I y de tipo III de Gell y Coombs. Por otra parte, se ha observado la presencia de reacciones de hipersensibilidad de tipo IV en el transcurso de infecciones por dermatofitos y en candidiasis mucocutáneas. Sin embargo, las reacciones de hipersensibilidad de tipo II se encuentran muy raramente en las alergias a hongos.

Cuando los antígenos fúngicos atraviesan las barreras mucosas van a ser fagocitados por los macrófagos y otras células presentadoras profesionales de antígenos (APC) que degradan a los alérgenos. Durante la degradación del alérgeno, las APC procesan a estos componentes proteicos para presentárselos posteriormente, bajo restricción de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad de tipo II (MHC II), a los receptores (TCR) de los linfocitos T cooperadores (CD4+). Los linfocitos B, a través de su receptor específico (BCR), también van a reconocer a los alérgenos. El intercambio de señales químicas por mediadores como las interleucinas entre linfocitos T cooperadores y linfocitos B va a posibilitar que las células B se transformen en células plasmáticas y produzcan anticuerpos de la clase IgE. Esta activación que en personas sin alergia produce una respuesta defensiva contra los diferentes agentes infecciosos (bacterias, virus, protozoos, hongos), en las personas atópicas conlleva una sobreproducción de IgE que produce numerosos efectos indeseables.

1.9 Alergia y Aerobiología:

Las sustancias que con mayor frecuencia, producen cuadros alérgicos, a través de la inhalación, son pólenes, esporas de hongos, diferentes tipos de polvo, ácaros, epitelio de animales, y otras sustancias que invaden directamente la mucosa respiratoria. (Leher, S.B., 1983).

Desde el punto de vista médico, las partículas reproductivas de los hongos son los responsables de numerosas patologías, las cuales experimentan regularmente un transporte atmosférico (Gregory, P.H.; 1973).

La implicación de los hongos en patologías alérgicas como la rinitis y el asma alérgica ha quedado demostrada, en las últimas décadas, a partir de los estudios sobre la aerobiología y su papel como alergeno, y se ha comprobado que son más significativos que los pólenes en causas molestias alérgicas (Mosby, et.al; 2003; Solomon WR et.al.; 1998).

Los hongos pueden actuar como aeroalergenos a nivel de las mucosas ocular, nasal y/o bronquial, desarrollando enfermedades como rinoconjuntivitis y/o asma alérgicas, sinusitis fúngica alérgica, aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) y la alveolitos alérgica extrínseca (Chapman J.A., et.al., 2003; Fung, F. et.al.; 2003).

Los hongos de mayor interés alergológico son los llamados imperfectos. A estos pertenecen los *Deuteromycetos*, con reproducción asexuada, que están presentes de forma abundante, y que, tienen un papel muy importante por mantener el equilibrio ecológico, transformando el detritus de materiales orgánicos.

Entre los *Deuteromycetos*, las especies más relevantes como aeroalérgenos fúngicos son *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, y *Penicillium notatum*.

Respecto a la prevalencia en los ambientes, las especies a destacar en el ambiente extramural son *Alternaria* y *Cladosporium*, halladas sobre plantas y en zonas putrefactas del suelo, en cuanto que *Aspergillus* y *Penicillium* se encuentran en graneros, almacenes, sótanos y ambientes domésticos, siendo considerados hongos de interior (Beaumont, F., 1985; Licorish, K., 1985). Últimamente *Alternaria* está recibiendo también importancia como hongo de interior.

A partir de los resultados obtenidos en estudios diferentes, publicados en Biocontaminants in Indoor Environment, en el aire interior son las especies más comúnmente identificadas son *Cladosporium sp.*; *Penicillium sp.*, Levaduras rosas y blancas; *Botrytis cinerea*; *Aspergillus sp.*; *Paecillomyces variotii*; *Phoma sp.*, *Aureobasidium*; *Alternaria alternata*; *Epicoccum purpurascens*; *Geotrichum candidum*; *Ulocladium sp.*, *Trichoderma viride*; *Trichoderma harzianum* y *Mucor sp.* (Dagmar S.E, 1994).

Según Gravensen, 100 esporas/m³ para *Alternaria* y 300 esporas/m³ de *Cladosporium* son las concentraciones umbrales de esporas alergénicas para provocar síntomas clínicos, con valores considerablemente variables de unos a otro, pues depende del agente individual aislado (Gravensen, et.al, 1986).

Peat y Verhoeff en los años noventa, revisaron y describieron la relación entre la humedad, prevalencia fúngica y los riesgos para la salud (Peat & Dickenson, 1998; Verhoeff AP & Burge; 1997).

La implicación de los hongos en patologías alérgicas, como la rinoconjuntivitis y/o asma alérgica, ha quedado demostrado a partir de estudios aeorobiológicos.

La incidencia de enfermedades respiratorias tras la exposición a aeroalérgenos es un hecho conocido (Costantino et al., 1995, D`Amato et al., 2000), así como el incremento de la prevalencia de enfermedades alérgicas (Voltorini e al., 2000), siendo muchos los autores que relacionan este aumento con factores ambientales, principalmente con la contaminación del aire (Berggre et.al, 2000; Lorenzoni-Chierusa et.al, 2000; Feo et.al, 2007; Mur, et.al, 2007)

Existe una amplia evidencia histórica que relaciona determinados tipos de alergias con los hongos. La primera descripción conocida que relaciona hongos y cuadros alérgicos data de 1726, cuando Sir John Floyer observó síntomas asmáticos en pacientes que habían visitado una bodega. (Floyer J, 1745).

A principios del siglo XX, el medico Bostock (1919), observó la aparición de síntomas de rinitis en granjeros que almacenaban heno en silos, definiendo dicha entidad como enfermedad de los silos o fibre del heno. (Bostock, 1919)

En 1883, Blackley se provocó una crisis de “catarro bronquial” con roncus pulmonar sevaro (*Catarrhus Aestivus*, fiebre del heno o asma de heno), al inhalar esporas de *Penicillium* y *Chaetomium* buscando demostrar tal relación (Blackley CH, 1873. In Emmanuel, 1998).

Posteriormente, ya en el siglo XX, Noon y Friedman, en 1911, utilizan por primera vez extractos de polen en solución de coca administrados a pacientes con fiebre del heno, cuantificando la proporción de polen crudo en la solución, etiquetandola en unidades (unidades de Noon) y sentando las bases de la inmunoterapia específica con extractos alergénicos (ITE). Desde entonces, se ha utilizado la ITE para tratar enfermedades alérgicas, como una de las modalidades de tratamiento de los pacientes con rinoconjuntivitis alérgica estacional o perene, asma y reacciones anafilácticas a himenópteros (Noon L, 1911).

En 1924, los estudios comenzaron a extenderse, Van Leeuwen documentó la relación entre un cuadro de asma alérgica, con la presencia de esporas fúngicas ambientales (Van Leeuwen WS, 1924).

En la misma época, Cadman, relató el primer caso documentado de asma por hongos del trigo (Cadman, 1924)

En el final de los años treinta, Prince y colaboradores y Feinberg describieron que el aire de espacios abiertos era un reservorio importante de conidios, y constataron que muchos de sus pacientes presentaban reacciones cutáneas frente a extractos de hongos (Prince HE et al., 1934; Feinberg SM, 1953).

La importancia de la sensibilidad a hongos en una variedad de enfermedades alérgicas fue establecida por pruebas de provocación. En 1941, Harris expuso a sus pacientes, en un local cerrado de veinte metros cuadrados, a un gramo de polvo de *Alternaria*, lo que provocó asma y rinitis alérgica en ochenta y tres por cien de los pacientes con pruebas cutáneas positivas y historia clínica compatible con sensibilización a este hongo (Harris LH; 1941).

También fue demostrado que la inhalación de esporas de *Alternaria* o *Penicillium* en cantidades comparables con lo que se puede encontrar naturalmente expuesto, puede inducir a una crisis inmediata y tardía en individuos sensibilizados (Licorish, K, et.al; 1985).

Se sabe que la sensibilización a hongos es un factor de riesgo para casos severos y fatales de asma (Zureik M et.al; 2002).

Se puede asegurar que los hongos son causantes de alergia en personas sensibilizadas pero la relación entre la presencia de sintomatología alérgica y recuentos de hongos atmosférico no siempre puede ser establecida (Willim PB, et.al, 2001).

En los últimos años, un interés relevante y creciente en artículos científicos es la contaminación biológica de ambientes interiores como causa de enfermedades relacionadas con la calidad del aire intramural (Burge H, 1990).

Un punto a destacar es la correlación que se constató en estudios epidemiológicos entre el aumento del numero y gravedad de las crisis asmáticas en días de tormentas.

Un reciente estudio realizado en Canadá reportó una fuerte asociación entre visitas de emergencia por asma y tormentas lo que no podría ser explicado por el aumento del número de polen pero si, que podría deberse al aumento del numero de esporas de hongos (Dales RE; 2003).

Targonski et. al., encontraron que el riesgo de asma relacionado a muerte era más del doble durante días con altas concentraciones de esporas fúngicas en el aire (Targonski PV;

1995). Un estudio realizado por Newson et. al., indicó que la epidemia del asma en la región de Trent, Reino Unido, fue diez veces más probable en días con altas prevalencia de hongos (Newson et.al; 2000).

Epidemias de asma asociado a tormentas, fueron previamente descritas en Birmingham, Reino Unido, entre los días 6 y 7 de julio de 1983 (Packe GE, 1986); Nottingham, Reino Unido, 20 de junio de 1984 (Alderman P.M, 1986); Melbourne, Australia, a finales de primavera de 1984 y 1987 y 29 de noviembre de 1989 (Bellomo R, 1992); en Londres, Reino Unido, día 24 de junio de 1994 (Venables K.M et.al, 1997); y Wagga Wagga, Australia, 30 de octubre de 1997 (Marks G.B et.al; 2001, Grgis S.T et.al, 2000; Suphioglu C, 1998).

D'Amatto et.al, realizaron un estudio epidemiológico en Europa, en una población con rinitis o asma alérgica, y constataron que la prevalencia de sensibilización a *Alternaria* y *Cladosporium* situaba entre 3% y 20% (D'amatto et.al, 1997).

Leher et.al, en un estudio multicéntrico, realizado en distintos puntos de Europa y Estados Unidos de America, concluyeron que de 25,4% de los participantes eran sensibilizados a por lo menos un extracto de basidiomiceto. (Leher et.al., 1994).

Corsico et.al, realizaron un estudio en Italia, y constataron que un 10,4% de los participantes estaban sensibilizados a *Alternaria*, y que de estos, 79,7% sufría de rinitis y 53,3% de asma, sugiriendo que el extracto estandarizado de *Alternaria* deberían ser incluidos en el listado de alérgenos responsables para la investigación en casos de alergia respiratoria. (Corsico R, 1998).

Mari, et al., realizaron pruebas de alergia en 4962 personas, con extractos de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Saccharomices* y *Trichophyton*, y pruebas de IgE con los mismos extractos más *Malassezia*, y concluyeron que el 19% de la población alérgica, reaccionó a por lo menos un extracto fúngico por la pruebas de prick, siendo que *Alternaria* y candida entre las más positivas. (Mari et.al., 2003).

Una investigación de la prevalencia de sensibilización a en niños atópicos, diferentes hongos, fue realizada por Nolles, el cual observó valores de 18% a *Cladosporium*, 15% a *Aspergillus*, 14% a *Alternaria*. (Nolles et.al., 2001).

Un estudio realizado entre 810 personas con problemas respiratorios, en Kuwait, demostró que la prevalencia de sensibilización a 6 hongos ambientales fue de un 20,9%; y que los valores eran mucho más elevados entre los sujetos con asma (45,8%), o ambos asma y rinitis (28,3%). Los mayores valores de sensibilización se presentaron frente a *Aspergillus*

(23,1%), seguidos de *Cladosporium* (15,9%), *Alternaria* (14,6%) y *Penicillium* (13,9%). (Ezeamuzine C.I, 2000).

En el norte de Europa, (Finlandia), Reijula, et.al, diseñaron un estudio con 6376 personas, realizaron pruebas de *skin prick test* y IgE; concluyeron que la prevalencia de positivos en las pruebas cutáneas era de 2,8% a *Alternaria alternata* y 2,7% a *Cladosporium herbarum*, pero entre estos (40 participantes), fue encontrado un 58% con síndrome de eczema atópico/dermatitis, 44% con asma y 13% con rinitis los valores fueron de 58%, (Reijula K, 2003).

En 2007, Thomas B. et al; comprobaron por primera vez la relación entre asma y hongos ambientales, a partir de un estudio relacionando el aumento de casos de asma alérgica con los niveles ambientales de especies de *Alternaria*, y especies de *Cladosporium* encontrados en cantidades exacerbadas en el aire, por efecto de una tornado (Thomas B et al, 2007).

La asociación entre la sensibilización a *Alternaria alternata* como factor de riesgo para asma bronquial, está en consonancia con trabajos epidemiológicos a grande escala como el de Eggleston et.al., de 1998 y Gergen et.al, de 1987.

La sensibilización a hongos y la exposición a los hongos alergénicos aerovagantes fue asociada innumerables veces en estudios científicos como un factor de riesgo de asma. Pero la mayoría de los trabajos no establecen una relación directa entre exposición y la prevalencia de sintomatología asmática en personas sensibilizadas.

Desde que en 1966 Ishizaka et.al. demostraron que la hipersensibilidad inmediata estaba mediada por anticuerpos IgE y que éstos se podían medir *in vitro*, se han desarrollado diversas técnicas para el diagnóstico de la alergia. (Ishizaka et.al, 1966).

El progreso para el conocimiento de las alergias a hongos ha sido lento debido a la gran variedad de alergenos fúngicos potenciales, la inestabilidad y la variabilidad de los alergenos, la falta de consenso en la nomenclatura actual de los hongos y la selección de la materia prima para la preparación de extractos. Por éstas y otras razones, la caracterización de alergenos fúngicos ha quedado por detrás de la de otros aeroalergenos. (Horner W.E, 1995)

1.10 Estandarización de los extractos alergénicos:

En 1944, cuando se celebró el primer encuentro de la Academia Americana de Alergia, Louis Tuft dijo: "Creo que todos estamos de acuerdo que la estandarización de los extractos alergénicos es extremadamente importante. (Reed Ce et.al, 1989)

En la actualidad, existe un esfuerzo para aislar, purificar, analizar, caracterizar, denominar y estandarizar cada alergeno importante. Hasta ahora se han purificado alrededor de 100 proteínas alergénicas causantes de enfermedades mediadas por IgE, y los genes codificados de muchas de ellas ya se han clonado y se están utilizando cada vez más para fines de diagnóstico clínico, y valorando su utilidad en tratamientos inmunitarios.

Solo una pequeña parte de lo que habitualmente denominamos como alergeno (ácaros, pólenes, hongos) posee verdadero poder alergénico. Mediante técnicas de *inmunoblotting* se pueden diferenciar las fracciones de una sustancia que actúan como alergeno. Se denomina alergeno principal o mayor, a aquella fracción que produce reacción cutánea o induce la producción de IgE específica en más de 50% de pacientes alérgicos a dicha sustancia. De igual modo, alergenos menores serían los que sensibilizan a menos de 10% de los individuos alérgicos. Normalmente un extracto alergénico contiene uno o dos alergenos mayoritarios.

En la actualidad los alergenos se identifican de acuerdo con la normativa de la IUIS (International Union of Immunological Societies), de tal modo que para cada sustancia se utilizan las tres primeras letras del género, seguidas de la primera letra de la especie y un número según el orden de caracterización; por ejemplo *Alt 1* (Løwenstein H, 1983)

Un extracto alergénico es un preparado farmacéutico que deriva de materiales existentes en la naturaleza, que contienen alergenos (en su mayoría proteínas, pero también glicoproteínas).

Los extractos alergénicos son soluciones acuosas de los materiales alergénicos, que son en su práctica totalidad proteínas, al menos en los alergenos inhalantes fácilmente solubles en agua (Barber D; 2005)

Los alergenos purificados son reactivos esenciales para los estudios de investigación epidemiológica. Están destinados al diagnóstico y/o tratamiento de las enfermedades alérgicas.

La estandarización comprende un conjunto de procesos y reacciones químicas que, a partir de un alergeno en estado puro natural, permiten la caracterización del mismo, eliminando de su contenido todos los componentes y materia impura no inmunológica, para la obtención de una fracción o fracciones proteicas mayores y menores. El producto resultante, elaborado y cuantificado en diferentes tipos de unidades, debe tener la misma potencia alergénica total conocida (en solución al extracto de referencia) y que sea constante entre los futuros lotes elaborados, por tanto susceptibles de producir la misma respuesta inmunológica (Chardin H, et.al, 2005).

Muchos factores influyen en el método de extracción y purificación de los extractos alergénicos de hongos, como el medio para el cultivo, que se adapta a las características de cada especie; el inóculo, que tiene que proceder de una siembra joven crecida en un medio sólido y con pocos nutrientes, lo que favorecerá la producción de cantidades importantes de conidios. La siembra reciente debe ser realizada a partir de una cepa que se ha de conservar adecuadamente y que se ha seleccionado por sus características macroscópicas y microscópicas, además de demostrar que produce los alergenos deseados, con control de su pureza. (Horner, WE; 1995)

Otros factores importantes, son las condiciones de incubación, que incluye la determinación del pH, los niveles de oxígeno y dióxido de carbono, la temperatura, luz, medio de cultivo y velocidad de agitación (en el caso de que haya esa etapa) así como la concentración de los productos derivados del metabolismo fúngico, considerando que las condiciones óptimas de crecimiento y de esporulación difieren entre especies e incluso dentro de la misma especie, por esto es necesario estandarizar tales condiciones. (Horner W.E, 1995)

La elección de la materia prima es de suma importancia, porque se han identificado alergenos fúngicos pertenecientes tanto a esporas, como a-l micelio, e incluso el medio de cultivo, no existiendo un consenso sobre cuál es la mejor fuente de alérgenos fúngicos, aunque se ha propuesto que las esporas estén incluidas para asegurar que todos los alergenos estén presentes, resulta difícil porque implica la necesidad de disponer de éstas en grandes cantidades como fuente (Horner WE, 1995).

Basada en la localización de origen del material alergénico, se puede clasificar los antígenos fúngicos en tres tipos distintos, es decir, los antígenos metabólicos (procedentes de los productos extracelulares obtenido del filtrado del cultivo), los antígenos hidrosolubles (que tienen su origen tanto de la pared celular, tanto de las hifas como de las estructuras de resistencia o formas de reproducción) y los antígenos somáticos (que son intracelulares, y corresponden al contenido citoplasmático del microorganismo después de producirse la rotura celular. (Horner W.E, 1995)

Otras etapas igualmente relevantes referentes a los métodos de extracción y purificación de los extractos alergénicos fúngicos, son la conservación de los extractos, los cuales deben ser estables tanto en su uso clínico como para la investigación. La estabilidad depende del tipo y cantidad de los alergenos, de la temperatura de almacenaje y de la presencia de conservantes y otras sustancias no alergénicas que están en los extractos. La liofilización es el método más usado, porque es el que mejor mantiene la potencia alergénica de los extractos (Ardusso L, 2002)

La estandarización de los extractos fúngicos es una tarea difícil, considerando que los extractos fúngicos son mezclas complejas. En el proceso de estandarización se destacan tres puntos, la caracterización de los extractos, la cuantificación del alergeno principal y la cuantificación de la potencia del extracto.

La actividad biológica de un extracto se refiere a su capacidad de inducir una respuesta en la piel de los pacientes alérgicos, existiendo una correlación entre la concentración de sustancias alergénicas y el tamaño de pápula. A la concentración del extracto que induce un área de pápula media se le debe otorgar un valor en unidades de actividad biológica (o de modo absoluto o referidas al área inducida por una sustancia control como histamina).

La consecución de extractos estandarizados para diagnóstico o terapia es una necesidad y todavía constituye un problema en el tratamiento de alergias a hongos.

La introducción de la ingeniería genética ha permitido la síntesis de alergenos recombinantes. Su uso ha sido y es muy importante para conocer los mecanismos implicados en la alergia, ya que ha permitido trabajar con moléculas puras y homogéneas que han hecho posible la caracterización estructural de los alergenos, el estudio de sus epítopos, la resolución de su estructura tridimensional y las interacciones con las distintas inmunoglobulinas, entre otras.

La definición de la estructura y la función del ADN y un mayor conocimiento y comprensión, de las técnicas usadas para su manipulación han conducido a un enorme progreso en el campo de la Biología Molecular en los últimos años.

La Biología Molecular es la parte de la Biología que estudia los seres vivos a nivel molecular. Las técnicas básicas de producir, partir y unir DNA que han sido adoptadas por los biólogos moleculares son las usadas por virus y organismos procariotas como un medio para asegurar su supervivencia. De hecho, las técnicas de biología molecular han evolucionado por la necesidad de entender la genética de organismos primitivos, como bacterias y fagos, y también de células eucariotas (Wallner M, 2004).

El impacto de la Biología Molecular y de la Biotecnología en la Medicina es cada vez mayor y la Alergología no escapa a esta influencia. El advenimiento de las técnicas de Biología Molecular y Biotecnología ha permitido la producción de alergenos recombinantes en grandes cantidades, como moléculas biológicamente activas y muy homogéneas, como reactivos para el diagnóstico alergológico (Wallner M, 2004).

Todo el esfuerzo de las distintas áreas de la comunidad científica mundial referente a la estandarización de los extractos alergénicos tiene un objetivo fundamental que es mejorar el diagnóstico, estudio y tratamiento de la alergia.

1.11 Estudios Epidemiológicos:

El triángulo epidemiológico causal de las enfermedades está formado por el medio ambiente, los agentes y el huésped. Un cambio en cualquiera de estos tres componentes alterará el equilibrio existente para aumentar o disminuir la frecuencia de la enfermedad, por lo tanto se pueden llamar factores causales o determinantes de la enfermedad.

Las bases de la epidemiología moderna fueron sentadas por Girolamo Fracastoro en sus obras *De sympathia et antipathia rerum* ("Sobre la simpatía y la antipatía de las cosas") y *De contagione et contagiosis morbis, et eorum curatione* ("Sobre el contagio y las enfermedades contagiosas y su curación"), ambas publicadas en Venecia en 1546, donde Fracastoro expone sucintamente sus ideas sobre el contagio y las enfermedades transmisibles. (Sabbatini S., 2004)

John Snow, considerado el precursor de la epidemiología contemporánea, formuló la hipótesis de la transmisión del cólera por el agua.

Un progreso muy importante en el siglo XX, publicado en 1956 con los resultados del estudio de médicos británicos, fue la demostración de la relación causal entre fumar tabaco y el cáncer de pulmón.

La epidemiología surgió del estudio de las epidemias de enfermedades infecciosas; de ahí su nombre.

La epidemiología es la disciplina científica que estudia la distribución, frecuencia, determinantes, relaciones, predicciones y control de los factores relacionados con la salud y enfermedad. La epidemiología en sentido estricto, que podría denominarse humana, ocupa un lugar especial en la intersección entre las ciencias biomédicas y las ciencias sociales y aplica los métodos y principios de estas ciencias al estudio de la salud y la enfermedad en poblaciones humanas determinadas. Pero existe también una epidemiología veterinaria y también podría hablarse de una epidemiología zoológica y botánica, íntimamente relacionadas con la ecología. (Rothman, Kenneth J, 1987).

La epidemiología se considera una parte básica de la medicina preventiva y una fuente de información para la formulación de políticas de salud pública. La epidemiología estudia, sobre todo, la relación causa-efecto entre exposición y enfermedad.

La metodología de la epidemiología se basa en el método cintífico para la obtención de conocimientos, a través de los estudios epidemiológicos. Ante un problema de salud y datos los datos disponibles sobre el mismo, se formula una hipótesis cual se traduce a una serie de consecuencias contrastables mediante experimentación (Colimon, Kahl-Martín, 1987).

Se realiza entonces un proyecto de investigación que comienza con la recogida de datos y su posterior análisis estadístico, con el cual se calculan medidas de impacto y de contraste de hipótesis. De los resultados de esta investigación se puede obtener tanto unos

conocimientos que conduzcan a proponer en recomendaciones de salud pública, como datos adicionales con los que generar nuevas hipótesis. (Colimon, Kahl-Martín, 1987).

Existen cuatro ramas en la epidemiología. Una de ella, la **Descriptiva**, describe el fenómeno epidemiológico en tiempo, lugar y persona, cuantificando la frecuencia y distribución del fenómeno mediante medidas de incidencia, prevalencia y mortalidad, con la posterior formulación de hipótesis.

La **Epidemiología Analítica** busca, mediante la observación o la experimentación establecer posibles relaciones causales entre "factores" a los que se exponen personas y poblaciones y las enfermedades que presentan (Rothman, Kenneth J, 1987).

La **Epidemiología Experimental**, mediante el control de las condiciones del grupo a estudiar, sacar conclusiones más complejas que con la mera observación no son deducibles. Se basa en el control de los sujetos a estudiar y en la aleatorización de la distribución de los individuos en dos grupos, un grupo experimental y un grupo control. Se ocupa de realizar estudios en animales de laboratorio y estudios experimentales con poblaciones humanas. (Rothman, Kenneth J, 1987)

Encuanto que la **Ecoepidemiología**, busca, mediante herramientas ecológicas, estudiar integralmente como interaccionan los factores ambientales con las personas y poblaciones en los medios que los rodean y como ello puede influir en la evolución de enfermedades que se producen como consecuencia de dicha interacción.

Los estudios epidemiológicos son los estudios en los que se basa la investigación médica, también llamados estudios de investigación médica, que según la temporalidad, pueden ser clasificados como estudio retrospectivo, transversal y prospectivo.

El estudio retrospectivo, es un estudio longitudinal en el tiempo que se analiza en el presente, pero con datos del pasado.

Estudio prospectivo es un estudio longitudinal en el tiempo que se diseña y comienza a realizarse en el presente, pero los datos se analizan transcurridos un determinado tiempo, en el futuro.

El estudio transversal se realiza con los datos obtenidos en un momento puntual como el estudio de prevalencia.

Un estudio transversal o estudio de prevalencia es un estudio epidemiológico, observacional, descriptivo, en el que en un único momento temporal, se mide a la vez la prevalencia de la exposición y del efecto en una muestra poblacional, es decir, permiten estimar la magnitud y distribución de una enfermedad o condición en un momento dado.

Son sinónimos de estudio transversal: Estudio de prevalencia, Estudio de corte, cross-sectional Studies, cross sectional surveys, estudios verticales.

El objetivo de un estudio transversal es conocer todos los casos de personas con una cierta condición en un momento dado, sin importar por cuánto tiempo mantendrán esta característica ni tampoco cuando la adquirieron.

La técnica de un estudio transversal: Selección de una muestra de población de estudio; Medición de la variable predoctora (factor de riesgo) y variable resultado (enfermedad).

Los estudios de prevalencia son de uso frecuente en Salud Pública, porque permiten la descripción de un fenómeno de salud; la identificación de la frecuencia poblacional de un fenómeno de salud y la generación de hipótesis de trabajo o hipótesis explicatorios.

Las ventajas de un estudio transversal es que permiten estudiar variables como enfermedad y exposición; existe un control de la selección de los sujetos de estudio, necesita-se de poco tiempo de ejecución del estudio puesto que no hay seguimiento de los individuos y generalmente poco costo económico; proporcionan estimadores de prevalencia.

1.12 Técnicas para diagnóstico de sensibilización:

El diagnóstico de alergias se basa en la historia clínica, la demostración de IgE específica *in vivo* o *in vitro*, y la confirmación de la relación entre la exposición al agente y el desarrollo de los síntomas.

Las técnicas “*in vivo*” se realizan directamente en la persona estudiada con el fin de determinar el alergeno responsable de la enfermedad, o bien con el fin de llegar a un diagnóstico. Están comprendidas fundamentalmente de pruebas cutáneas, de las que existen tres tipos con fines diagnósticos; las pruebas epicutáneas, (la “*prueba del parche*”), que son de lectura retardada, se aplican en casos eczema de contacto; las pruebas intracutáneas o intradérmicas (“*intradermoreacción*”), usada para el diagnóstico del contacto tuberculoso y el estudio de la inmunidad celular; y finalmente, las pruebas percutáneas (“*prick test*”), que es la más usada, se caracteriza por ser de lectura inmediata, lo que permite la demostración de reacciones alérgicas por hipersensibilidad mediadas por la IgE. (García, JC, et.al, 2007)

Las pruebas percutáneas (prueba del pinchazo, prueba por punción, prueba epicutánea), o “*prick test*”, detecta IgE específica a los receptores celulares en la superficie de los mastocitos. Así que cuando una persona está sensibilizada a un determinado alergeno, la introducción del alergeno en la zona dérmica repite el proceso de interacción antígeno anticuerpo (alergeno-IgE específico) lo que provoca la degranulación de los mastocitos y la aparición de un habón y un halo eritematoso circundante.

Las técnicas “*in vitro*”, son las que se realizan utilizando muestras de fluidos (o tejidos) de la persona, siendo la determinación de IgE la prueba “*in vitro*” por excelencia. Las pruebas en “*in vitro*” sirven para confirmar el diagnóstico por la historia y por las pruebas cutáneas.

La determinación de IgE específica frente a uno o varios alergenos, permite cuantificar “*in vitro*” la sensibilización a estos y se correlacionan muy bien con los resultados de las técnicas “*in vivo*”, aunque existen diferencias entre ambas pruebas.

Las ventajas de la determinación de IgE específica frente al *prick test*, es la seguridad, al facto de no ser interferida por medicamentos y la valoración es cuantitativa, pero el inconveniente es la demora en los resultados y el precio.

El “*prick test*” es mínimamente invasivo, es una técnica sensible, inmediata, barata, los resultados son visibles para la persona, y se evalúa de forma simultanea a muchos alergenos, pero presenta las desventajas de ser interferida con medicamentos (como antihistamínicos), presentar posibles falsos positivos, y la valoración es cualitativa (Pleboni, M., 2003;).

Como un método complementario a las pruebas cutáneas, tiene especial utilidad la determinación de IgE específica, cuando no es posible realizar las pruebas cutáneas o cuando su interpretación es difícil por la coexistencia de dermatopatías (Pleboni M, 2003).

Como en las pruebas cutáneas, la presencia o ausencia de IgE sérica específica no presupone la existencia de manifestaciones clínicas, que generalmente no se correlacionan con los títulos séricos. (Bousquet J, 2001).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS:

Los objetivos planteados para la realización del estudios epidemiológicos fueron, cuantificar e identificar los hongos ambientales en dos áreas geográficas distintas, en ambientes intramurales y extramurales y conocer la prevalencia de sensibilizados a hongos y otros neumoalergenos, expuestos.

2.1 Estudio aerobiológico (Medición de la variable predictora (factor de riesgo):

2.1.1 Conocer los niveles de esporas de hongos ambientales presentes en las aulas de la UAB

- Conocer los niveles de hongos en ambientes intramural (interior) e extramural (exterior)

» Universidad Autònoma de Barcelona (UAB)

2.1.2 Conocer y comparar la prevalencia de hongos ambientales entre las dos unidades docentes estudiadas (Facultad de Medicina)

» Udimas- urbanizado (altitud 0 m)

» Bellaterra- semi-urbanizado (altitud 148 m)

2.1.3 Conocer la distribución por especies

- Estudio de Biodiversidad

2.1.4 Conocer las variaciones estacionales de los hongos ambientales:

- Primavera, verano, otoño y invierno de 2007

2.1.5 Conocer las diferencias entre los niveles y prevalencia de los hongos ambientales en relación a la presencia o no de los estudiantes y profesor en el interior de las aulas.

2.2 Estudio epidemiológico observacional (Medición de la variable resultante (enfermedad):

2.2.1 Conocer la prevalencia de sensibilización de los alumnos de la UAB

- Conocer la prevalencia sensibilización a 4 hongos ambientales: *Alternaria alternata*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium cladosporioides*

- Conocer la prevalencia de sensibilizados a otros neumoalergenos presentes en el ambiente: ácaro, cucaracha, pólenes y epitelios de animales

2.2.2 Comparar dos técnicas de diagnóstico alergológico: Prick Test y ImmunoCap Rapid (*in vitro* e *in vivo*)

- Conocer la sensibilidad y especificidad

- Concordancia entre las técnicas **in vivo** e *in vitro*

MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1. Diseño general del estudio:

Se ha diseñado un estudio para conocer la prevalencia y distribución de esporas fúngicas en aulas (ambiente intramural) de dos unidades docentes de la Facultad de Medicina de la Universidad Autònoma de Barcelona (UAB), localizadas en zonas con distintas características geográficas, y compararlas con la prevalencia de las esporas fúngicas en el exterior, en puntos próximos a las unidades docentes muestreadas.

También se ha considerado de interés conocer las posibles variaciones cuantitativas y cualitativas en los ambientes interiores en relación a la presencia o ausencia de los alumnos para ello, los muestreos fueron realizados en dos momentos, antes de las clases, en aulas vacías y durante la ocupación de cada aula.

Para conocer las variaciones estacionales de la flora micológica en los ambientes seleccionados, fue necesario hacer muestreos en cada una de las cuatro estaciones del año de 2007.

El muestreo se realizó con un método microbiológico de cultivo, utilizando un captador volumétrico, y un medio de cultivo seleccionado para optimizar los resultados.

Como medidas paralelas a usar en la interpretación de los resultados se tuvieron en cuenta las variables independientes: temperatura y humedad, en ocasión de cada muestreo.

Como segundo objetivo se diseñó un protocolo de estudio para conocer la sensibilización alérgica de la población expuesta de las dos unidades docentes, mediante una encuesta epidemiológica, por medio de un cuestionario anónimo y voluntario entregado a los alumnos. Se consideró significativo cien (100) estudiantes en cada unidad docente, como un número significativo.

También ofreció a los estudiantes participar, de forma voluntaria, en un estudio que determinara la sensibilización cutánea a una batería de los cuatro (4) alergenos fúngicos más importantes, además de otros neumoalergenos ambientales comunes como los ácaros y algunos pólenes.

Finalmente se ofreció la posibilidad de efectuar un estudio para determinar la IgE específica en sangre capilar, a una batería de diez (10) alergenos, 5 de los cuales coincidiendo con las pruebas cutáneas.

La duración del estudio se determinó en 18 meses (2007-2008), tiempo suficiente para realizar los estudios aerobiológicos, y el estudio epidemiológico observacional en los estudiantes que ocupan las dependencias de la Facultad de Medicina. (Takahashi T, 1997).

3.2 Metodología del estudio aerobiológico:

3.2.1 Características geo-topográficas de las áreas del estudio:

Tabla 1: Características geo-topográficas de las áreas del estudio:

	Latitud	Longitud	Altitud (nivel del mar)	Altura (suelo)
Udimas	41°23'7.63"N	2°11'40.17"E	5 m	25 m
Bellaterra	41°29'51.98"N	2°6'21.35"E	148 m	30 m

Udimas se caracteriza por estar localizado en una zona urbana, frente al Litoral del Mar Mediterráneo.

Bellaterra, está localizada en una zona semi-urbanizada, próximo a un área verde, y algunas Carreteras importantes, en el interior.

Udimas y Bellaterra se distancian entre ellas 24 Km y quedan separadas por la Serralada Prelitoral, cuya altitud máxima es el Tibidabo (512 m).

3.2.2 Ambientes interiores y exteriores.

Se seleccionaron el mismo número de aulas en la Unitat Docent de l'Institut Municipal d'Assistència Sanitaria -IMAS-, Hospital del Mar y en el área del Campus de Bellaterra-Cerdanyola del Vallès. A la primera zona le llamamos de Udimas (Zona A), y a la segunda Bellaterra (Zona B).

Los espacios seleccionados fueron 5 aulas teóricas y 1 aula de prácticas en cada zona, resultando en un total de 12 aulas independientes.

Las características y distribución de las 6 aulas en Udimas y Bellaterra, están especificadas en las Tablas 2M y 3M.

Se seleccionó 3 puntos exteriores en cada Zona muestreada.

Tabla 2M: Características de los puntos de muestreo en Udimas:

Int/Ext	IdPuerta	Descripcion	Tamaño	Planta	Nº Ventanas	Nº Puertas	A/C	Calefaccion
Int	A1	aula, teórica código: A1	112,3	-1	1	1	No	Sí
Int	A2	aula teórica, código A2	66,9	-1	1	1	No	Sí
Int	A3	aula teórica, código A3	66,9	-1	1	1	No	Sí
Int	A4	aula teórica, código A4	112,3	-1	1	1	No	Sí
Int	A5	aula d'habilitats, código A5	54	-1	0	1	No	Sí
Int	A6	laboratório, aulas prácticas, código A6	92,55	-1	1	2	No	Sí
Ext	A7	passillo/comedor, código A7	-	-1	-	2	No	Sí
Ext	A8	jardin interno, código A8	-	-1	-	2	No	No
Ext	A9	entrada principal, IMIM, código interno A9	-	1	-	2	No	No

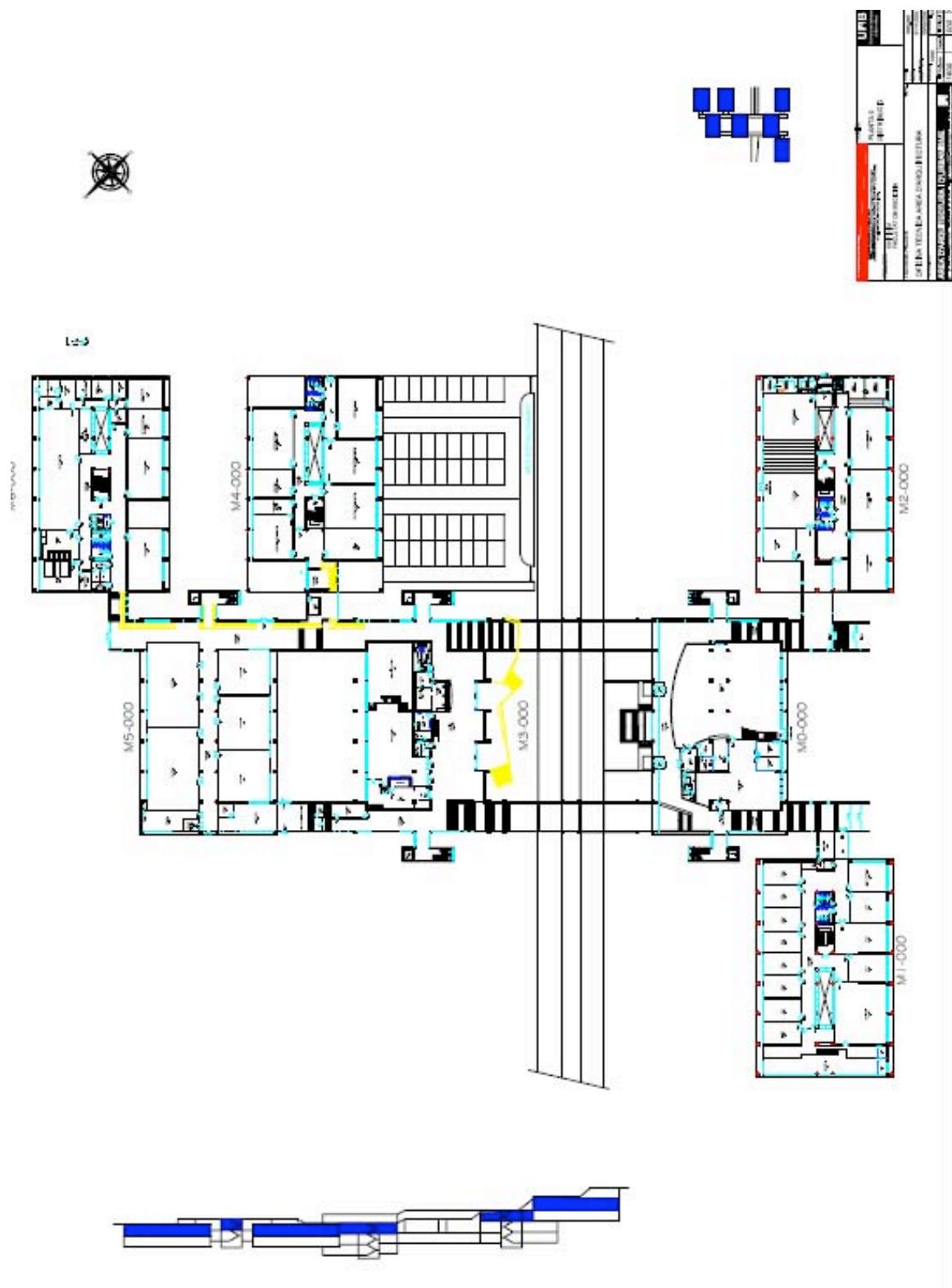
Tabla 3M: Características de los puntos de muestreo en Bellaterra:

Int/Out	IdPuerta	Descripcion	Tamaño	Planta	Nº Ventanas	Nº Puertas	A/C	Calefaccion
Int	M5-002	aula, teórica código: B10	231,6	1	5	2	No	Sí
Int	M5-003	aula teórica código B11	231,6	1	5	2	No	Sí
Int	M5-007	aula teórica código B12	149	1	4	2	No	Sí
Int	M5-009	aula teórica código B13	51,5	1	1	1	No	Sí
Int	M6-001	aula d'habilitats código B14	115,7	0	7	1	No	Sí
Int	M2-011	Laboratório/aulas prácticas código B15	125,4	-1	1	1	No	Sí
Ext	B16	Passillo código B16	-	1	-	-	No	No
Ext	B17	Entre los arboles, fondos del edificio código B17	-	1	-	1	No	No
Ext	B18	entrada principal, de Facultat de Medicina código interno B18	-	1	-	2	No	No

Figura 1M: Plano del Edificio de la facultad de Medicina: Hospital del Mar: UDIMAS:



Figura 2M: Plano del Edificio de la facultad de Medicina: BELLATERRA:



3.2.3 Período de muestreo:

La rutina de muestreo se dividió en cuatro fases, basadas en las estaciones del año y la toma de muestras de Invierno, fue realizada entre los meses de febrero/ marzo (In); la toma de Primavera, entre los meses de mayo/ junio (Pr); la toma de Verano entre los meses de agosto/ septiembre (Ve), y finalmente la toma de Otoño, entre los meses de noviembre/ diciembre (Ot).

Las tomas de las aulas se efectuaron sistemáticamente antes de iniciar la clase, con el aula vacía, y durante la clase, en presencia de los alumnos y profesor.

Cada muestro fue repetido dos veces en la misma estación, aunque en días próximos. Así para cada punto de muestro, estación del año y momento de muestreo hemos tomado dos medidas en días distintos (muestras por duplicado).

Las tomas fueron autorizadas por los Coordinadores de la Unidades Docentes de Bellaterra y Udimas, así como por el Decanato de la Facultat de Medicina de Universidad Autònoma de Barcelona.

3.2.4 Código de las muestras:

Cada ambiente (intramural/extramural) fue codificado, según los siguientes criterios:

- código de 1 letra (A/B) referente a la zona
- código de 1 ó 2 números (1-18) referente a aula
- código de 2 letras (In/Pr/Ve/Ot) referente a la estación del año
- código de 1 número (1/2) referente a si es primer o segundo muestreo (todos se duplican)
- código de 1 letra (a/d/e) para indicar el momento de muestreo (antes/durante/exterior)

Ejemplo:

A1In1a: Udimas; A1; ambiente interno; Invierno; muestreo uno; antes

B18Ot2e: Bellaterra, B18; ambiente exterior; Otoño; muestreo 2; exterior

3.2.5 Variable independiente:

En los impresos utilizados para cada toma de muestra se registraron los datos referentes a: fecha y hora de muestreo, temperatura, humedad, y número de ocupantes en los ambientes de interior tomadas Durante las clases.

3.2.6 Método de Muestreo aerobiológico:

Se utilizó muestreador microbiológico de aire, comercialmente denominado Microflow® (Microflow 60 A.P. Buck, Inc. Orlando, Florida, USA) (Figura 3M).

Consiste en un método volumétrico cuantitativo, basado en la captación de las esporas de hongos por el impacto sobre las placas (Tipo Rodac®, Nunc, Roksilde site, Denmark), y el posterior cultivo de aquellas que resultan ser viables.

Figura 3M: Microflow®:



3.2.6.1 Descripción del funcionamiento del aparato utilizado:

El aire es aspirado, a velocidad constante y siempre durante el mismo período de tiempo (previamente definido) a través de un cabezal de poros multiorificio. El flujo de aire es proyectado directamente sobre la superficie de una placa Rodac®, previamente preparada, con un medio de cultivo concreto y seleccionado especialmente para este estudio.

Acabado el tiempo de muestreo, la placa se incuba a temperatura ambiente, en cajas negras para aislarlas de cualquier contaminación externa, y evitar la exposición de las mismas a la luz solar.

Durante de período de incubación hasta el desarrollo completo de las colonias viables captadas, todas las placas fueron debidamente monitorizadas, realizando contajes de las colonias en el transcurrir del período.

Acabado el tiempo de incubación, aproximadamente cinco a siete días después del muestreo, se realiza el recuento definitivo del número de colonias que se han desarrollado y se hace el cálculo necesario para expresar el valor en Unidades Formadoras de Colonias por centímetro cúbico de aire (UFC/m³):

Número de colonias contables en la superficie de cada placa/litros muestreados x 100= UFC/m³*

* Los resultados del numero de colonias por placa de cada especie fueron convertidos a su concentración en el aire, dividiendo el numero de colonias contadas/identificadas por el volumen del aire muestreado, obteniendo en el Total de Unidades Formadoras de Colonias / m³.

3.2.6.2 Medio de cultivo utilizado:

Se utilizaron placas de Rodac® con medio Diclorán 18% glicerol (DG18), recomendado por diversos autores (Pei-Chih, 2000; Hocking, 1980; Takahashi, 1997; Al-Doory, 1984; McKernan, 2007; Koch, 2000; Ren, 2001; Russel, 1999; Wang, 2005, Beuchat 1993, Verhoeff, 1990; Smid, 1989; Oslen, 1997). La composición y fórmula se muestran en el apartado I 1.9.

3.2.6.3 Calibración del Aparato portátil:

De acuerdo con el Proyecto de Normativa Europea CEN/TC243/WG2, se estima adecuado un caudal equivalente a 1,6 Litros/segundo a esta velocidad de muestreo igual a 1,6 L/s, la velocidad de impacto del microorganismo sobre el medio de cultivo es de 9,7 m/s. (INSHT, 1998).

El manual de uso recomienda que para hacer el muestreo en estas condiciones es necesario un tiempo de muestreo igual a tres (3) minutos y un volumen de aire equivalente a trescientos litros (300 L).

El muestreador de impacto, utilizado en medios sólidos, demuestra eficiencia del 100% para partículas de tamaño comprendido entre 4-20 μ , cuando se muestran a más de 200 litros de aire (Manual de instrucciones: Microflow®)

3.2.6.4 Característica del muestreo:

Todas las muestras (intramural y extramural) fueron captadas a un (1) metro de distancia sobre el suelo. En las aulas, el captador se instaló en el centro.

3.2.7 Consideraciones sobre el medio de cultivo y modo de preparación:

- Agar Diclorán 18% glicerol (DG18):

- 1) Pesar **15,75g de DG18 (Merck KgaA, Darmstadt, Alemania, Referencia: 100465 CM0729)** a 500 mL de Agua destilada: calentar hasta disolver completamente
- 2) Añadir **98 mL de glicerol**
- 3) Rehidratar 1 vial de suplemento de cloranfenicol (50mg) con 3 mL de etanol.

4) Añadir el cloranfenicol previamente rehidratado (3mL)

Composición química de DG18:

- Diclorán (2,6-dichloro-4-nitroaniline) solution (0,2% w/v; 1,0 ml); glucosa (10,0g); peptona (5,0g); fosfato de potasio (KH₂PO₄; 1,0g); sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO₄.7H₂O; 0,5g); agar (15,0g); chloranfenicol (0,1g).

- Glicerina (**Panreac, Castellar del Vallès, España**)

- Cloranfenicol selective supplement SR0078 (Oxoid S.A.)- Manipular asépticamente durante todo el procedimiento.

- Etanol (**Panreac, Castellar del Vallès, España**)

3.2.8 Transporte, incubación e identificación de las muestras:

3.2.8.1 Transporte e incubación:

Considerando que se muestraron 2 zonas (Udimas y Bellaterra), en seis (6) puntos intramurales cada una; y que cada punto intramural fue muestreado en dos momentos (antes y durante las clases), en las cuatro estaciones del año de 2007; más tres (3) puntos extramurales, en cada zona; muestreados por duplicado en cada vez; obtenemos un total de doscientas y cuarenta (240) muestras.

En cada etapa, las placas fueron, debidamente codificadas, y transportadas dentro de cajas negras para posterior incubación. Una vez en el laboratorio, eran conservadas a temperatura ambiente dentro de las cajas negras.

3.2.8.2 Identificación de las colonias:

Aproximadamente 5-7 días después del muestreo, sería posible conocer el numero total de colonias (convertir en UFC/m³) e identificar cada colonia a nivel de especie, utilizando métodos de observación macro y microscópicos.

A fin de identificar cada especie presente en la placa (Figura: 3M), se realizó una observación macroscópica de cada colonia, analizando su anverso y el reverso.

Enseguida, se realizaban análisis microscópico.

Para la identificación microscópica de las colonias, se tomaba 3 muestras con el sistema de la cinta adherente. Se utilizó una cinta de celofán adherente (scotch tape) de buena calidad, de una anchura suficiente para colocarla sobre un portaobjetos de vidrio. Se utilizó un producto aclarante para mejorar la visualización de la muestra (Azul de Lactofenol).

El procedimiento utilizado consistía en utilizar 3 trozos de cinta adherente, a fin de cubrir toda el área de la placa, enseguida, con un rotulador, se marcaba sobre la cinta cada una de las colonias, siempre considerando la orientación exacta de cada una de las colonias respecto a la placa como unidad.

Una vez seleccionada la zona a identificar, se retiraba la cinta celofán y se depositaba la cara adherente con la muestra sobre un portaobjetos de vidrio limpio y desengrasado, al que previamente se había colocado una gota de solución aclarante (lactofenol, azul de lactofenol y/o agua). Se extendía la cinta sobre el portaobjetos y con un material absorbente (algodón, gasa y/o papel secante) se presionaba sobre la cinta para eliminar el exceso de aclarante y las burbujas. A partir de ese momento ya se podía realizar la observación microscópica (Microscopio de alta resolución Olympus HB61 con cámara DP71; Microscopio óptico Olympus BH2 de doble cabezal).

Para la identificación morfológica se utilizaron las descripciones y claves (De Hoog, 2000).

Cada especie identificada era contabilizada en la base de datos, en la cual el valor de UFC/m³ total y de cada especie era automáticamente calculada. Tales valores serían posteriormente analizados estadísticamente.

Figura 4M: Fotografía de una placa tipo Rodac, posterior a los días de incubación.



3.2.9 Control de calidad de la identificación:

Se consideró importante la confirmación de la identificación microscópica de las principales especies presentes en el muestreo. A fin de poder certificar las determinaciones microscópicas, enviamos algunas cepas seleccionadas para su identificación a nivel molecular. Las cepas: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Occhorconis*, *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium decumbens* fueron enviadas al Centro Nacional de Microbiología, en El Instituto de Salud Carlos III.

3.3 Epidemiología:

3.3.1 Diseño del estudio epidemiológico:

Un total de 200 alumnos de la Facultad de Medicina de la UAB aceptaron participar en el estudio epidemiológico. Cien (100) alumnos que asistían a las clases en Udimas, en el área urbana, cerca de la costa de la Barceloneta, sobre el Mar Mediterráneo (representando 42% del total de alumnos de medicina de ese centro; edad media 22,4 años). Cien (100) alumnos que asistían a las clases en las aulas del Campus de Bellaterra, situado en una área semi-urbanizada (representando 17% del total de alumnos de medicina de ese centro; edad media: 19,4 años). El estudio fue realizado entre octubre de 2007 y abril de 2008.

Cuestionarios: todos los participantes llenaron un cuestionario antes de la realización de las pruebas.

Pruebas realizadas:

Método in vivo: Skin Prick Test (SPT):

SPT fue realizado de acuerdo con métodos estandarizados (Mari; 2001) y utilizando extractos alergénicos estandarizados proporcionados por *Probelte Pharma*®, y que se solicitaron en función de los principales alérgenos conocidos en el área de estudio (Alergológica 2005).

Método in Vitro: ImmunoCAP™ Rapid:

Un porcentaje de los estudiantes que realizaron el SPT, consintieron en la extracción de sangre capilar (110µL), que se analizó utilizando *ImmunoCAP™ Rapid* Asthma/Rhinitis Adult (Pharmacia Diagnostics) para detectar anticuerpos IgE en la sangre total humana, contra diez (10) alérgenos.

No todos estos alérgenos coinciden con los anteriores (SPT) porque esta batería viene predeterminada del laboratorio.

3.3.1.1 Cuestionarios

Se confeccionó un cuestionario (Figura 5M), adaptado a partir de un modelo estandarizado (Grupo ISAAC Español, 1997) y validado, para conocer la prevalencia de asma, rinitis alérgica, conjuntivitis, eccema atópica y urticaria.

Los propios estudiantes participantes compilaron los cuestionarios, previamente a la realización de la prueba del *Prick*. Las respuestas de los cuestionarios fueron introducidas en una base de datos especialmente confeccionada para tal fin, lo cual se procesaba automáticamente. (Figura 5M)

Los cuestionarios eran compilados de forma voluntaria y anónima, a fin de conocer de un modo general ambas poblaciones estudiadas.

3.3.1.1.1 Población candidata:

Alumnos de medicina, ocupantes de las aulas de las dos (2) unidades docentes donde fue realizado el Estudio Aerobiológico.

Alumnos de primero y segundo año del curso de medicina: Bellaterra

Alumnos de tercer, cuarto, quinto y sexto cursos de medicina: Udimas

3.3.1.1.2 Instrumento del estudio:

Se ha valorado el orden de las respuestas Sí/No, bien como las discursivas.

En la Figura 5M expuesto a seguir, se especifican las preguntas del cuestionario. A continuación se hacen comentarios sobre la interpretación de las respuestas.

Figura 5M: Cuestionario sobre el Estudio epidemiológico de los hongos ambientales en las aulas de la Facultad de Medicina /UAB:

<p>QUESTIONARI SOBRE L'ESTUDI EPIDEMIOLÒGIC DELS FONGS AMBIENTALS EN LES AULES DE LA FACULTAT DE MEDICINA/UAB</p> <p>CUESTIONARIO SOBRE EL ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LOS HONGOS AMBIENTALES EN LAS AULAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA/UAB</p> <p>El present qüestionari busca conèixer el possible impacte del nivell de fongs atmosfèrics que es troben en condicions normals dins de les aules ocupades pels estudiants de Medicina de la UAB. Aquest estudi compta amb el suport de les autoritats del Degànat i Coordinador de les Unitat implicades (Bellaterra i UDIMAS/Htal del Mar)</p> <p>El qüestionari és anònim i voluntari, però es prega que sigui degudament omplert i entregat a la persona encarregada de portar a terme l'estudi.</p> <p>QUESTIONARI/CUESTIONARIO</p> <p>Sexo <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> Edad _____ años <input type="checkbox"/> Código postal donde vives: _____ <input type="checkbox"/> Curso _____</p> <p><input type="checkbox"/> ¿Eres fumador/a? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Cuantos cigarrillos por dia: _____</p> <p>1. ¿Tienes el diagnóstico médico de padecer Alergia? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>1.1 Asma bronquial <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.2. Rinitis <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>1.3. Conjuntivitis <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.4. Eczema o urticaria <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>1.5 Otro (indicar) <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.6. ¿Te han especificado que alergenos te afectan?: hincarlos: _____</p> <p>2. Si has marcado NO en la anterior pregunta:</p> <p>2.1. ¿Presentas alguno de estos síntomas, fuera de procesos gripales o resfrios comunes? <input type="checkbox"/></p> <p>2.2. Estornudos <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>2.3. Secreción abundante de moco nasal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>2.4. Obstrucción o congestión nasal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>2.5. Picor ocular <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>2.6. Lagrimeo <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>2.7. Dificultad para respirar con ruidos (pitidos) en el pecho <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>2.8. Otros (indicar cuales): <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>3. En los últimos 12 meses cuando has presentado alguno de los síntomas anteriores?</p> <p>4. Los síntomas indicados ¿Dónde suelen presentarse con mayor frecuencia?</p> <p>4.1. En ambientes exteriores <input type="checkbox"/> urbano <input type="checkbox"/> rural <input type="checkbox"/></p> <p>4.2. En ambientes interiores <input type="checkbox"/> casa <input type="checkbox"/> aulas <input type="checkbox"/></p> <p>5. ¿Tienes interés en que se te practiquen pruebas cutáneas del prick para determinar si eres alérgico? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si tienes interés por favor contactar con Mariana Buss: mbussefontana@imim.es</p>
--

3.3.1.1.3 Consideraciones sobre el Cuestionario:

Pregunta 2:

Respuesta positiva para por lo menos una de las preguntas 2.2, 2.3, 2.4: se clasificó como *Rinitis no diagnosticada*. **Comentario:** La meta principal de esta pregunta es distinguir entre individuos riníticos y no riníticos de la población general.

Respuesta positiva para la pregunta: 2.5 y/o 2.6: *Conjuntivitis no diagnosticada*

Respuesta positiva para la pregunta: 2.7: *Asma no diagnosticada*

Pruebas realizadas:

3.3.1.2 Método *In vivo*: Skin Prick Test (SPT):

3.3.1.2.1 Población estudiada:

- » Udimas: 100 alumnos (representando 42% del total de alumnos de medicina de ese centro)
- » Bellaterra : 100 alumnos (representando 17% del total de alumnos de ese centro)

Cada uno de los alumnos al presentarse voluntario para realizar la prueba, recibía un código.

- Alumnos codificados en la base de datos de 1-100: Udimas; - Alumnos codificados en la base de datos de 101-200: Bellaterra

3.3.1.2.2 Batería de extractos:

- **Batería de extractos utilizados para la técnica in vivo: Skin Prick Test:**
- Hongos:

- » *Alternaria alternata (m6)*
- » *Penicillium sp. (pn)*
- » *Aspergillus fumigatus (as)*
- » *Cladosporium cladosporioides (cl)*

- Ácaro:

- » *Dermatophagoides pteronyssinus (d1)*

- Pólenes:

- » *Olea europaea (t9)*
- » *Platanus acerifolia (pl)*
- » *Gramíneas espontáneas (g6)*
- » *Parietaria judaica (w21)*

3.3.1.2.3 Prueba *In vivo*: *Skin Prick test*:

La prueba cutánea utilizada fue la prueba de punción, conocida por el nombre de *Skin Prick Test*.

Se fundamenta en la provocación de una reacción IgE-mediada a nivel de la piel. Actualmente, constituye la principal herramienta en la metodología diagnóstica *in vivo* en la práctica alergológica, por su sencillez, reproducibilidad y rapidez. (J.M Torres-Rodríguez; 2005)

La prueba se basa en la punción superficial de la piel, a través de una gota de extracto antigénico glicerinado depositada sobre el antebrazo, utilizando una lanceta. Esta prueba es ideal para estudiar una batería amplia de alergenos y conocer la respuesta cutánea inmediata, puesto que el grado de reacción está en relación con la concentración del antígeno y el nivel de anticuerpos IgE fijados a los mastocitos de la piel. Por ello refleja el estado de sensibilización del individuo. (Mari; 2003)

Para mayor reproducibilidad de la prueba del *prick* se utilizaron extracto estandarizados y una lanceta especial cuya punta es de un milímetro (1mm) de longitud (*Icogamma*, Novico Medica S.A.), la cual facilita la penetración homogénea del alergeno y evita el sangrado.

3.3.1.2.4 Procedimiento para la técnica:

(Mari A, 2003; J.M Torres-Rodríguez; 2005)

- Desinfectar la piel con alcohol de 70°
- Marcar en el antebrazo el código del alergeno
- Aplicar una gota de los extractos alergénicos y de los controles sobre la piel
- Puncionar la piel con una lanceta* a través de la gota (para que se introduzca una parte mínima de dicho extracto en la piel)
- A los 15-20 minutos, valorar los resultados midiendo las pápulas producidas por el control positivo (Histamina) y los alergenos, verificando la ausencia de reacción con el control negativo. Introducir los resultados en la hoja personalizada para cada alumno (Anexo 4).

* Lancetas para un solo uso: esterilizadas por rayos Gamma Co 60. Código 8552100, Novico S.A, Ascoli Piceno, Italy

Figura 6M: Fotografía:



3.3.1.2.5 Interpretación de los resultados:

-Criterio de evaluación de positividad, negatividad o invalidez:

Para medir la reacción cutánea se utilizó un Papulímetro (Figura 7M). Para calcular la superficie de las pápulas se medió el diámetro mayor y se multiplicó por el diámetro menor, expresando en mm^2 el resultado. Este resultado ha de compararse con el producido por la solución de histamina al 1% (control positivo) y el producido por la solución salina glicerinada (control negativo).

El alergeno que produzca una pápula mínima equivalente a 9 mm^2 , es considerado positivo, siempre que exista una reacción frente al control positivo y siempre que no provoque reacción frente a la solución salina (control negativo) (Eigenmann PA, 1998). Valores menores no se consideraron reproducibles (Bock SA, 1977; Bock SA, 1988; Dreborg S. 1991).

Algunos autores se refieren a la relación entre la superficie de la pápula producida por la histamina con la del alergeno en términos de Unidades de Histamina Equivalente (U.H.E) (Aas K, 1973; Dreborg S, 1989).

Nosotros hemos seguido a Mailling (1987) que los llama Grados. Todos los resultados encontrados en la población estudiada mayores que 9 mm^2 , eran considerados positivos y automáticamente transformados en porcentiles y convertidos en una variable cualitativa (o categórica), (1,2,3 ó 4), representando el valor 1 un grado de sensibilización menor que el valor 4.

La formula utilizada para calcular el porcentaje del alergeno es (Mailling, 1987):

$$\% \text{ alergeno} = \frac{\text{Área (mm}^2\text{) del alérgeno} - \text{área (mm}^2\text{) del control negativo}}{\text{Área (mm}^2\text{) control positivo} - \text{área (mm}^2\text{) control negativo}} \times 100 = \%$$

El porcentaje obtenido se categoriza según:

Negativo: (-) < 25% del área de la histamina

Positivo Grado 1: entre 25-50% del área de la histamina

Positivo Grado 2: 50-100% del área de la histamina

Positivo Grado 3: 100-200% del área de la histamina

Positivo Grado 4: $\geq 200\%$ del área de la histamina

Figura 7M: Papulímetro:



3.3.1.3 Método *In Vitro*: *ImmunoCAP™ Rapid*

3.3.1.3.1 Población estudiada*:

- » Udimas: 56 alumnos (56% de los voluntarios en quien se realizó el SPT aceptaron continuar en el estudio)
- » Bellaterra : 58 alumnos (58% de los voluntarios en quien se realizó el SPT aceptaron continuar en el estudio)

3.3.1.3.2 Batería de extractos:

- Batería de extractos utilizados en la técnica *in vitro*: *ImmunoCAPTM Rapid Asthma/Rhinitis Adults*
- Hongo:

m6: *Alternaria alternata*

- Ácaro e insecto:

d1: *Dermatophagoides pteronyssinus*

i6: Cucaracha

- Polenes:

t3: *Betula verrucosa*

g6: *Phleum* sp. (Gramíneas)

t9: *Olea europaea*

w21: *Parietaria judaica*

w6: *Artemisia* sp

- Epitelio de animales:

e1: Gato (epitelio y caspa)

e5: perro (caspa)

3.3.1.3.3 Pruebas *in vitro*: *ImmunoCAPTM Rapid Asthma/Rhinitis Adults*

Para la realización del ensayo *in vitro*, se utilizó un dispositivo, comercialmente denominado *ImmunoCAPTM Rapid Asthma/Rhinitis Adults* (Nº art. 82-1001-01 - Phadia Diagnostics- Sweden).

La prueba se fundamenta en la determinación cualitativa de los anticuerpos IgE específicos de alergenos en la sangre humana total.

El aparato dispone de una batería de múltiples alergenos en la cual 10 diferentes extractos están presentes en un único reactivo y permite valorar analíticamente la presencia de anticuerpos IgE contra estos alergenos (Merrett J, 1987; Matricardi P.M, 1989; Lilja G, 1995; Costongs G.M, 1997; Williams P.B, 2001)

ImmunoCAPTM Rapid Asthma/Rhinitis Adults es una prueba de flujo lateral, para la cual es necesaria extracción de sangre capilar, la cual se introduce en el “Orificio de muestra” (Figura 8M). La parte separada de plasma fluye a través de las tiras de prueba.

Si hay IgE específica contra alguno de los alérgenos, reaccionará con los extractos presentes en la tira y se expresará semicuantitativamente en forma de intensidad de color en el área correspondiente al alérgeno.

La solución de desarrollo se añade en el “Orificio de Solución” de Desarrollo (Figura 8M), liberando anti-IgE conjugado a un reactivo de oro seco. El conjugado forma un complejo con los anticuerpos IgE ya unidos, visible como líneas rosadas en las ventanas de análisis. El conjugado restante sigue migrando, formando líneas rosadas en las dos ventanas de control. Esto ocurrirá independientemente de si la muestra es o no positiva, para indicar el buen funcionamiento del Kit y comprobar que la prueba se ha realizado correctamente.

3.3.1.3.4 Procedimiento de la Prueba:

Recogida de muestra: Muestra de sangre capilar:

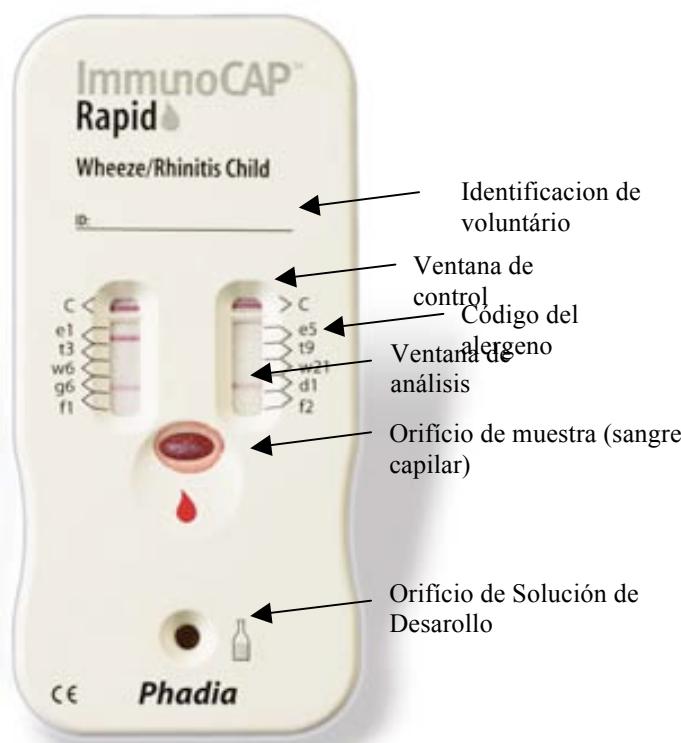
- Calentar la punta del dedo:
- Desinfectar y secar el lugar de la punción
- Pinchar la punta del dedo con una lanceta según las instrucciones del fabricante (*)
- Recoger la sangre utilizando capilar heparinizado incluido en el Kit de *ImmunoCAPTM Rapid Asthma/Rhinitis Adults*
- Inclinar ligeramente el capilar heparinizado hacia abajo para que la sangre penetre en el interior por “capilaridad”.
- Rellenar el capilar heparinizado hasta el límite*.
 - *el límite de sangre establece el volumen de muestra correcto: 110µL

Procedimiento de ensayo

- Vaciar la sangre del capilar en el orificio de muestra (Figura 8M)
- Activar el temporizador y esperar 5 minutos
- Llenar la Pipeta (suministrada por el fabricante del Kit) hasta la marca superior*, con Solución de Desarrollo. * la marca superior establece el volumen de la solución de desarrollo correcto: 500 µL
- Añadir el volumen de la solución de desarrollo al Orificio de solución de desarrollo (Figura 8M)

- Activar el temporizador y esperar 15 minutos
- Leer los resultados (colorimétrica)*

Figura 8M: Kit *ImmunoCAP™ Rapid Asthma/Rhinitis Adults*



3.3.1.3.5 Interpretación de resultados:

- Criterio de evaluación de positividad:

Considerando que es una prueba cualitativa, existen dos posibles resultados,: negativo, no reactivo o no detectable y positivo, reactivo o detectable.

Cualquier línea rosada en la ventana de análisis (Figura 9M) situada al lado del código de alergeno (Figura 9M) indica la presencia de anticuerpos IgE específicos que reaccionaron con ese alergeno en concreto. Las líneas rosadas en las ventanas de control indican que la prueba se ha realizado correctamente.

El manual de uso de *ImmunoCAP™ Rapid* indica que se trata de evidencias semicuantitativas. Sin embargo no establece equivalencias entre intensidad de color y cantidad de IgE, algunos autores (Torregosa-Bertet et.al, EAACI, 2007) han relacionado la intensidad de color con concentraciones de IgE específica, con un método cuantitativo estandar expresando en KU/L.

La intensidad del color de las líneas (de rosa claro hasta rojo intenso) del *ImmunoCAP™ Rapid Asthma/Rhinitis Adults* esta relacionada con los niveles (concentración de IgE) por este motivo se puede considerar una técnica semi-cuantitativa.

Basándonos en este criterio, hemos definido los grados, de acuerdo con las intensidades de los colores encontrados.

Siendo que el grado 1 es negativo y de 2-6 positivo, correspondiendo a 6 la mayor concentración de IgE frente a un determinado alergeno de la batería, representado por una línea coloreada más intensa.

Resultado de la prueba negativo:

Si no aparecen líneas rosadas visibles al lado de un código de alergeno, esto indica que no se detectan anticuerpos IgE específicos de este alergeno en concreto.

Según el estudio, el valor 1 sugiere, una concentración menor de 0,35KU/l de IgE.

Figura 9M: Niveles de intensidad para el análisis semicuantitativo (colorimetrico)



(Torregosa-Bertet, et.al, EAACI, 2007)

- Criterio de evaluación de negatividad o invalidez

Control de calidad de la prueba: El dispositivo dispone de un control de procedimientos. Quince minutos después de añadir la solución de desarrollo aparecerán unas líneas rosadas en las ventanas de control (Figura 8M), que indican que la prueba se ha realizado correctamente. Es imprescindible chequear que en las ventanas de control (Figura 8M) se coloreea en rojo al añadir la muestra de sangre.

Prueba inválida: se las líneas de control no se vuelven de color rosado a cabo de quince minutos de haber añadido la solución de desarrollo. Si esto pasara, la muestra sería inválida y debería volver a analizarse con un nuevo dispositivo.

3.3.1.4 Base de datos y Análisis Estadístico:

La descripción de las variables cuantitativas se efectuó mediante las medidas de centralización y dispersión al uso (media y desviación típica), empleando como estimador la mediana y algunos indicadores de posición característicos (cuartiles, rango intercuartílico y valores adyacentes superior e inferior) en los casos de dispersión amplia o atípica de los datos.

Se compararán diferencias entre porcentajes de variables cualitativas, determinando el intervalo de confianza del 95% de la diferencia de porcentajes apreciados o empleando la prueba estadística de Chi cuadrado (χ^2) (o prueba exacta de Fisher), según requiera cada circunstancia.

La comparación de valores promedio en variables cuantitativas se efectuó mediante la prueba T de Student (para datos independientes); U de Mann-Whitney, (en el caso de una distribución no normal), o la prueba de Kruskal-Wallis (en los casos de comparaciones múltiples).

Para valorar la sensibilidad de Prick frente a IgE se utilizó la prueba de Mc Nemar.

El nivel de significación utilizado en todos los contrastes fue $\alpha \leq 0,05$.

Para este trabajo se diseñaron cuatro Bases de Datos utilizando el programa *Base de Datos de Access 2002-2003* (archivos *.mdb, *Microsoft Office Access 2003*), compatible Windows versión 12.0.

Para describir, comparar y representar gráficamente las variables se utilizó el programa SPSS versión 14 (SPSS Inc. Chicago IL, USA).

El software Excel también fue utilizado para confección de algunos graficos.

Estudio aerobiológico:

En esta Base de datos se añade datos sobre la muestra, cómo identificación del ambiente muestreado (idAmbiente); identificación de la muestra (IdMuestra); fecha del muestreo (Fecha/Muestra); información respecto a ser primera o segunda toma (1/2); momento de la muestra de interior: antes/durante (a/d) o exterior (e); datos referente a las variables independientes cómo Temperatura y Humedad; datos referentes a la calibración del aparato, cómo Volumen de aire muestreado, Caudal y Tiempo de muestreo; Número de ocupantes, si es caso de muestreo de ambiente interior en presencia de los alumnos. A parte de estas informaciones generales, cuenta con un listado de especies, y el Número total de colonias. (Anexo 1)

Estudio epidemiológico:

Cuestionarios:

En esta base de datos se añade las respuestas cualitativas de los alumnos al compilar el cuestionario.

En los análisis estadísticos se estimará la prevalencia de cualquier respuesta positiva dividido por el total de la población que participó en cada centro (Arnedo Pena, L. 2004). (Anexo 2)

Pruebas *in vivo*: *Prick test*:

En esta Base de datos se añade los valores de los diámetro “X” e “Y” (obtenidos a través de la medición de la pápula), los cuales son automáticamente multiplicados, resultando en una superficie expresada en mm².

También cuenta con datos sobre el alumno: nombre, centro de estudio, fecha de nacimiento y fecha en la que se realiza la Prueba, una vez introducidos estos datos, se procesa automáticamente un Número para identificar el alumno (Id Alumno). (Anexo 3 y 4)

Pruebas *in vivo*: IgE *ImmunoCAPTM Rapid*

Para la determinación cuantitativa de la prueba, se valora la presencia o ausencia de alguna línea rosada al lado del alergenos (+/-). Para la evaluación semi-cuantitativa, se valora los grados de intensidad de las líneas indicadoras de positividad, de 2 hasta 6. Siempre que se marca la opción (-) el grado aparecía automáticamente como 1.

También cuenta con un espacio donde se añade el numero de identificación del alumno: una vez introducido este numero los datos sobre el alumno como nombre, centro de estudio, fecha de nacimiento y fecha se almacenan automáticamente en la Base de Datos. (Anexo 5)

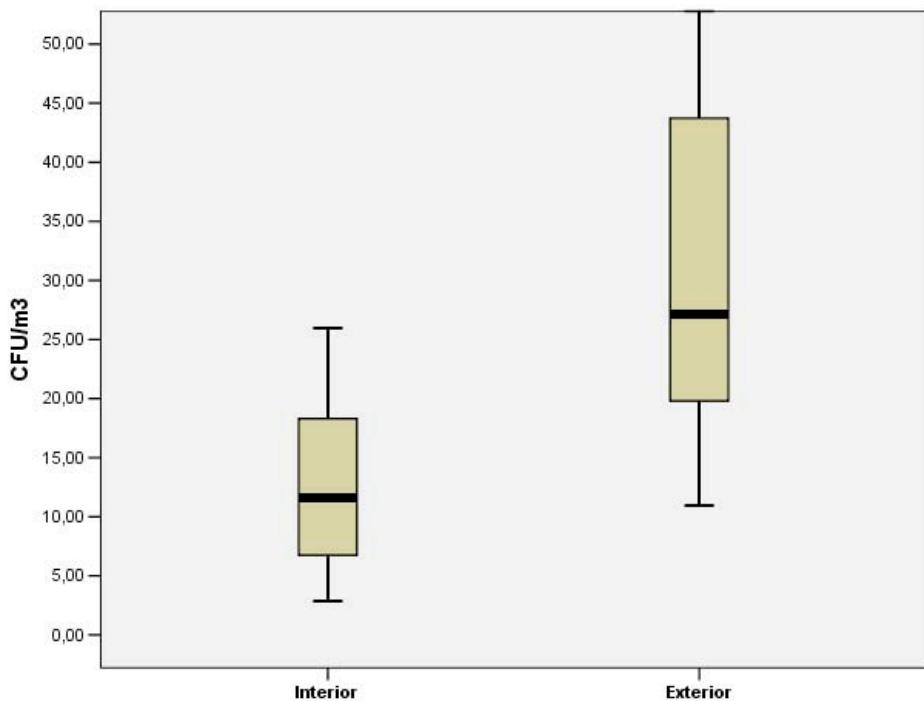
RESULTADOS

4. RESULTADOS:

4.1 Parte Primera: Aerobiología:

4.1.1 Resultados Generales:

Figura 1R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ (x 10) contrastados entre ambiente Interior y Exterior** ⁽¹⁾



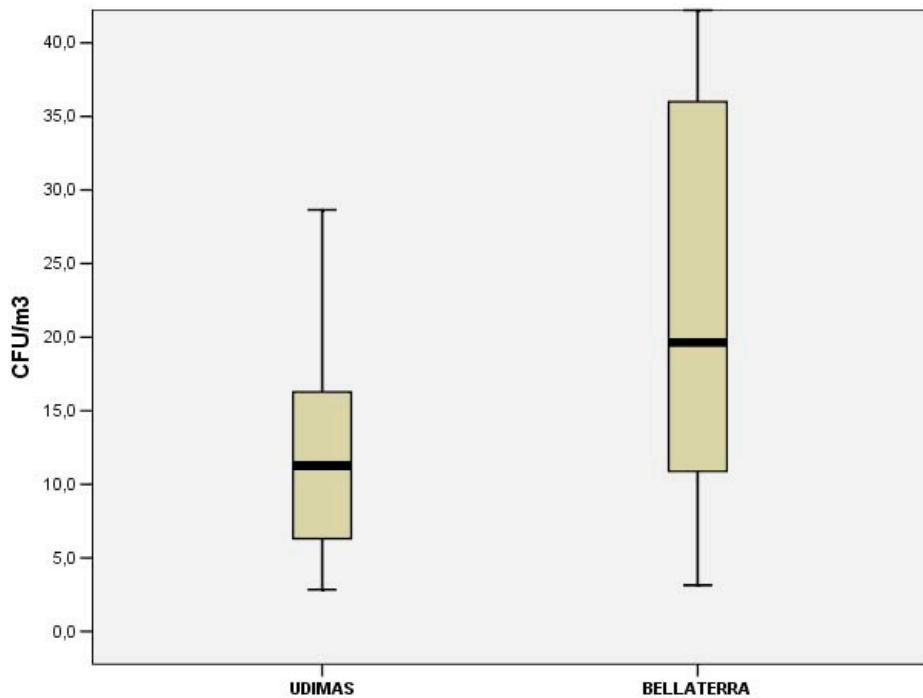
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las cargas fúngicas entre ambiente Interior y Exterior ($p<0,001$), siendo la de Interior inferior a la de Exterior (Tabla 1 – Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 2 – Anexo 7).

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para los contrastes de las variables.

(1) Los resultados representados en la Figura 1R corresponden al valor de Interior es la media aritmética de la suma de los niveles de las Unidades Formadoras de Colonias por Metro Cúbico (UFC/m³), resultado del muestreo de las doce aulas (antes y durante las clases) y referente al exterior, resultados de la media aritmética de las suma de los niveles de UFC/m³, resultados del muestreo de los seis puntos de Exterior; ambos por las cuatro estaciones muestreadas. (Media aritmética de Interior n=192; Exterior n=48)

Figura 2R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ (x 10) contrastados entre Udimas y Bellaterra (Interior más Exterior)**⁽²⁾



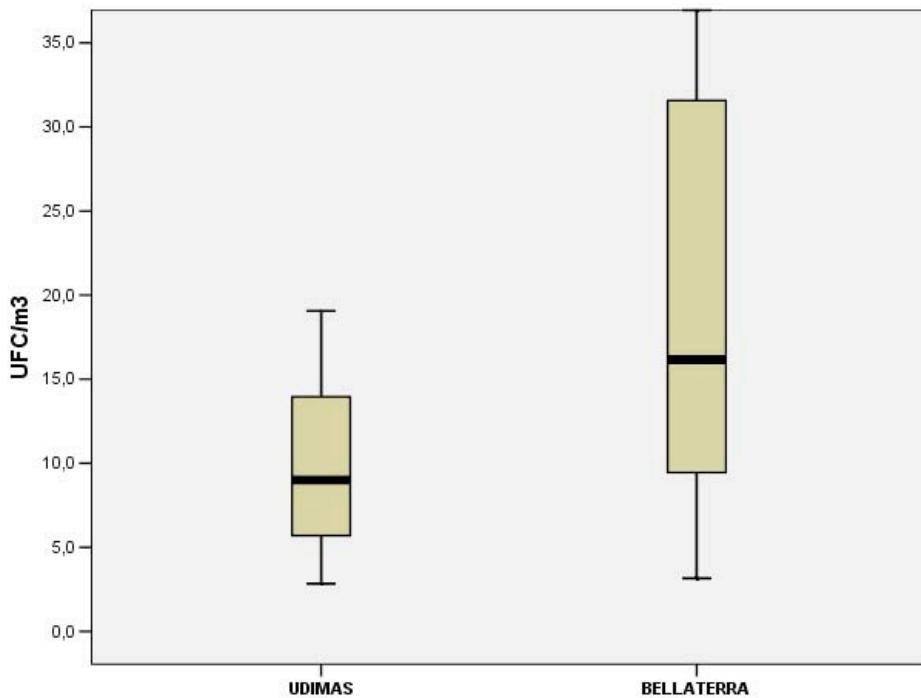
Se ha comprobado que existe significación estadística entre la carga fúngica (incluyendo los valores de Exterior) encontrada en Udimas y Bellaterra, siendo los de Udimas inferiores que los de Bellaterra ($p<0,001$) (Tabla 3 – Anexo 7).

Los valores de percentiles 25, 50, 75 se presentan en la Tabla 4 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi Square* en los contrastes entre variables.

(2) Los resultados representados en la Figura 2R correspondiente al valor de Udimas es la suma de las media aritmética de los niveles de UFC/m³, resultado del muestreo de las seis aulas (antes y durante las clases) y los niveles de los tres puntos de Exterior de Udimas por las cuatro estaciones muestreadas. Los resultados representados correspondiente al valor de Bellaterra es la suma de las media aritmética de los niveles de UFC/m³, resultado del muestreo de las seis aulas (antes y durante las clases) y los niveles de los tres puntos de Exterior de Udimas por las cuatro estaciones muestreadas. (Udimas n=120; Bellaterra n=120)

Figura 3R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ (x 10) contrastados entre Udimas y Bellaterra. (Interior)**⁽³⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística entre la carga fúngica de interior encontrada en Udimas y Bellaterra, siendo la de Udimas inferior a la de Bellaterra ($p<0,001$) (Tabla 5 – Anexo 7).

Los valores de percentiles 25, 50, 75 se presentan en la Tabla 6 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi Square* en los contrastes entre las variables analizadas.

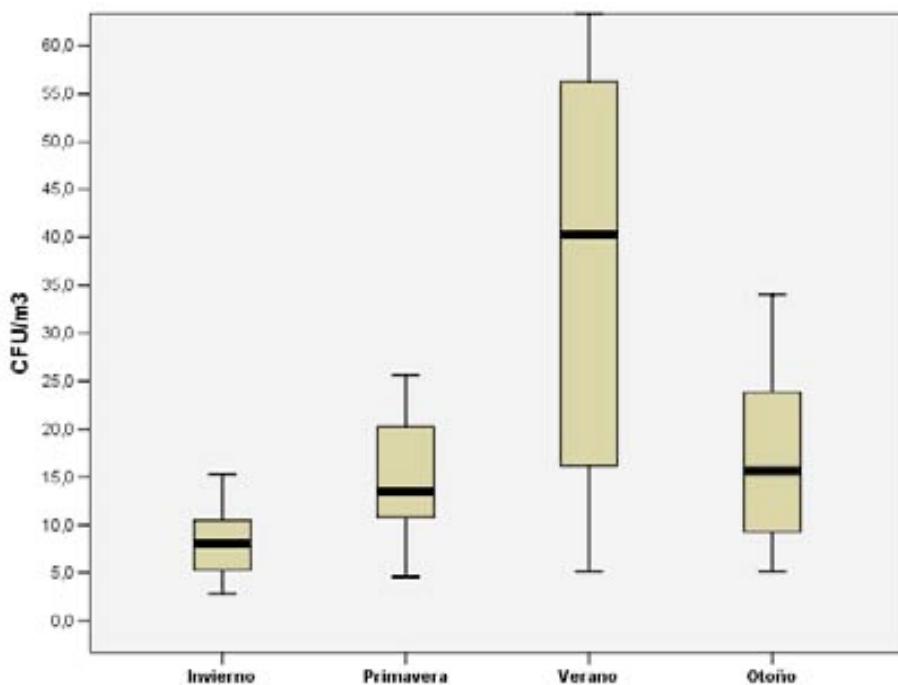
Se puede observar que los niveles de los percentiles 50 de las Figuras 2 (Interior y Exterior) y 3 (Interior) son distintos, mostrando que existe un incremento significativo cuando se añaden los valores de Exterior en las dos zonas muestreadas. (Tabla 7)

Tabla 7: Valores de los percentiles 50th, correspondientes a las Figuras 2R y 3R:

Zonas	Interior y Exterior	Interior
	Percentil 50	Percentil 50
UDIMAS	11,250	9,000
BELLATERRA	19,650	16,175

(3) Los resultados representados en la Figura 3R correspondiente al valor de Udimas es la suma de las media aritmética de los niveles de UFC/m³, resultado del muestreo de las seis aulas (antes y durante las clases) por las cuatro estaciones muestreadas. Los resultados representados correspondiente al valor de Bellaterra es la suma de las media aritmética de los niveles de UFC/m³, resultado del muestreo de las seis aulas (antes y durante las clases) por las cuatro estaciones muestreadas. (Udimas n=96; Bellaterra n=96)

Figura 4R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ (x 10) encontradas en las cuatro estaciones muestreadas: Invierno, Primavera, Verano e Otoño (Interior más Exterior)**⁽⁴⁾



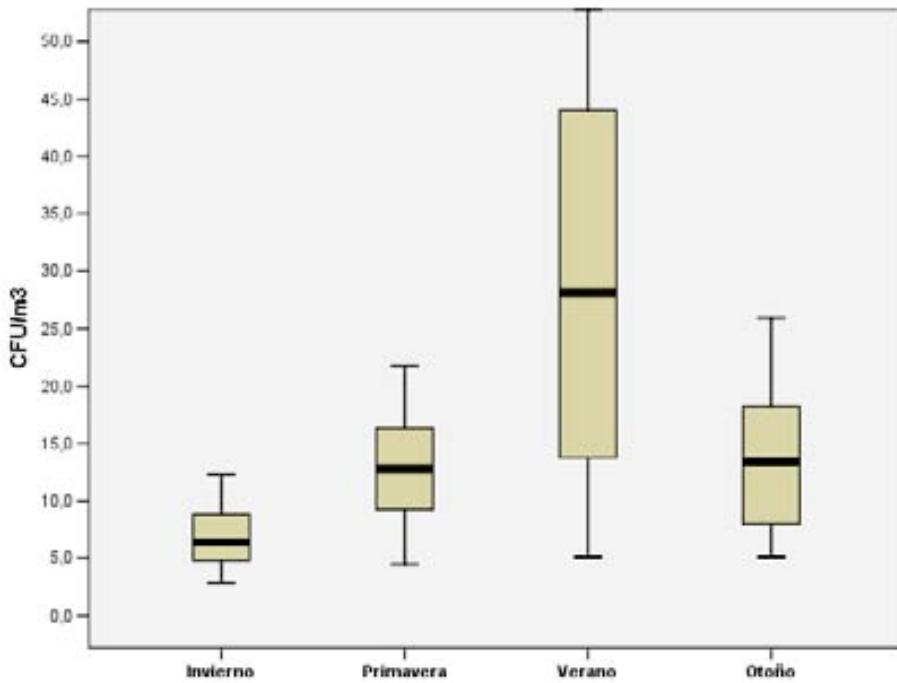
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las cargas fúngicas encontradas en las cuatro estaciones muestreadas (Interior y Exterior), siendo los valores de Verano superiores a los de Otoño, éstos superiores a los de primavera y los de Invierno los mínimos ($p<0,001$) (Tabla 8 – Anexo 7).

Los valores de percentiles 25, 50, 75 se presentan en la Tabla 9 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi Square* en los contrastes entre variables.

(4) Los resultados representados en la Figura 4R correspondiente al valor de cada estación es la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³, muestreos de interior y Exterior de Udimas y Bellaterra (Invierno n=60; Primavera n=60, Verano n=60; Otoño n=60)

Figura 5R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ (x 10) encontradas en las cuatro estaciones muestreadas (Invierno, Primavera, Verano e Otoño)** (Interior)⁽⁵⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las cargas fúngicas encontradas en las cuatro estaciones muestreadas, excluyendo los valores de Exterior, siendo los valores de Inverno inferiores a los de Primavera, seguida de Otoño y Verano ($p<0,001$) (Tabla 10 – Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75 se presentan en la Tabla 11 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi- Square* en los contrastes entre variables

Se puede observar nuevamente que los percentiles 50th de las cuatro estaciones incluyendo exterior (Figura 4R) son superiores a los que excluyen exterior (Figura 5R) (Tabla 12).

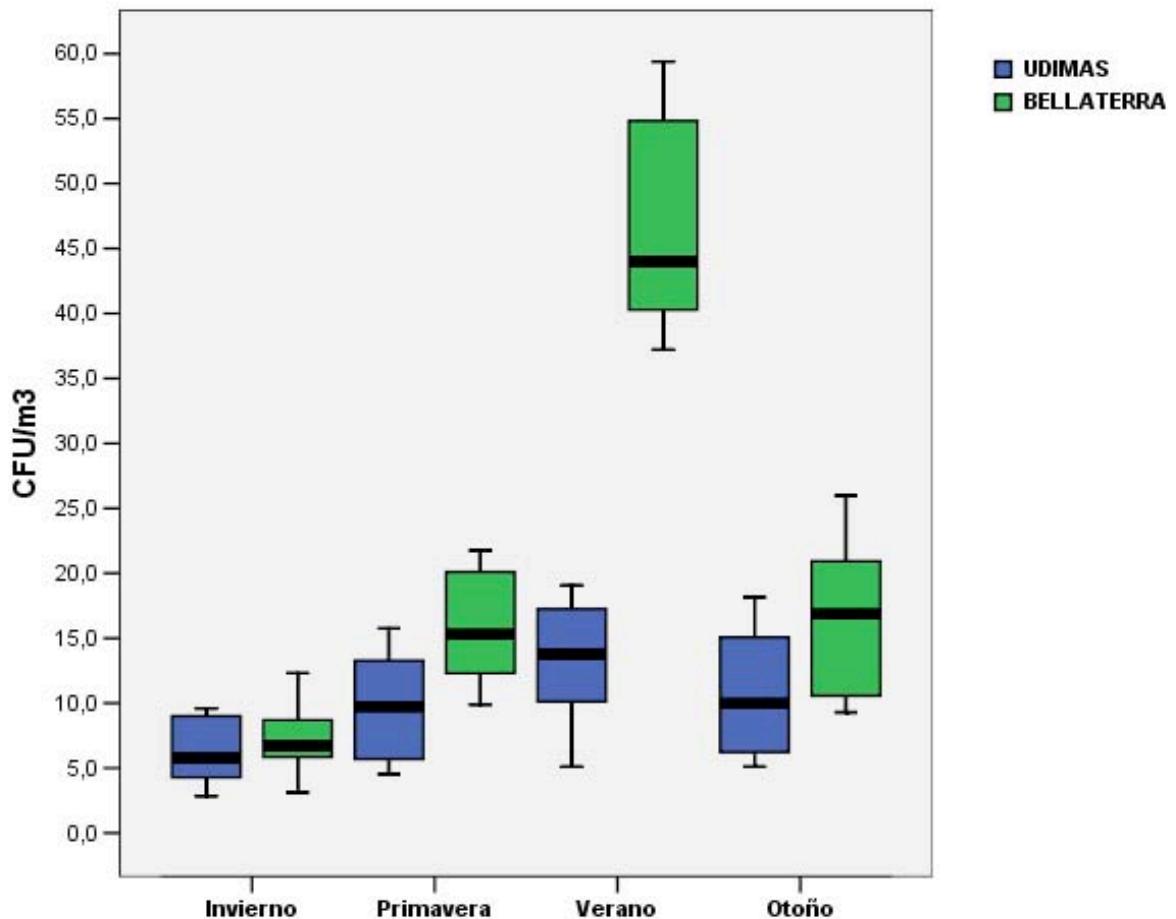
Se puede observar una magnitud superior en los valores de verano.

Tabla 12: Valores de los percentiles 25th, 50th y 75th, correspondientes a las Figuras 4R y 5R.

Estación	Interior y Exterior	Interior
	Percentiles 50	Percentiles 50
Invierno	7,950	6,450
Primavera	13,500	12,825
Verano	40,275	28,125
Otoño	15,650	13,500

5) Los resultados representados en la Figura 5R correspondiente al valor de cada estación es la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³, muestreos de interior de Udimas y Bellaterra Invierno n=48; Primavera n=48, Verano n=48; Otoño n=48

Figura 6R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente al contraste entre los **niveles de UFC/m³ (x 10) encontradas en los ambientes de Interior de Udimas y Bellaterra en las cuatro estaciones muestreadas** (Invierno, Primavera, Verano e Otoño)⁽⁶⁾



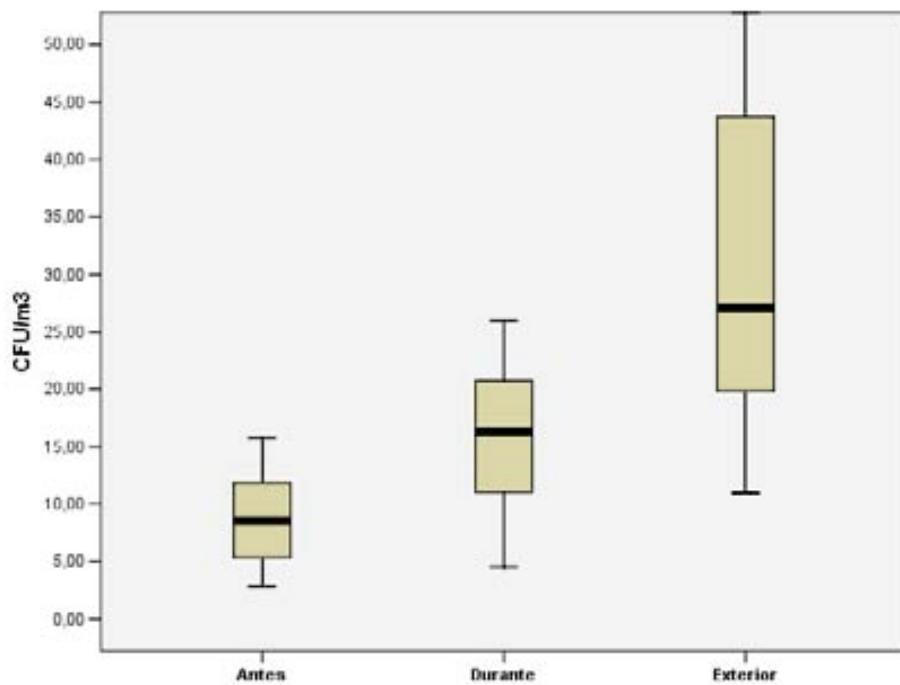
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas la cargas fúngicas de los ambientes de interior de Udimas y Bellaterra en las cuatro estaciones muestreadas: Verano ($p<0,001$), Primavera ($p=0,004$), e Otoño ($p=0,024$), siendo los valores de Udimas inferiores a los de Bellaterra, en las tres situaciones. No se ha encontrado significación estadística entre las cargas fúngicas de Udimas y Bellaterra en Invierno. (Tabla 13 – Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75 se presentan en la Tabla 14 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann Withney-Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(6) Los resultados representados en la Figura 6R correspondiente al valor de Udimas y Bellaterra en Invierno Primavera, verano y Otoño, es la media aritmética de los niveles de UFC/m³, resultado del muestreo de interior de cada Zona, en las determinadas estaciones. (Invierno: Udimas: n= 24/Bellaterra: n=24; Primavera: Udimas: n= 24/Bellaterra: n=24; Verano: Udimas: n= 24/Bellaterra: n=24; Otoño: Udimas: n= 24/Bellaterra: n=24)

Figura 7R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ (x 10) encontradas Antes, Durante y Exterior** (7)



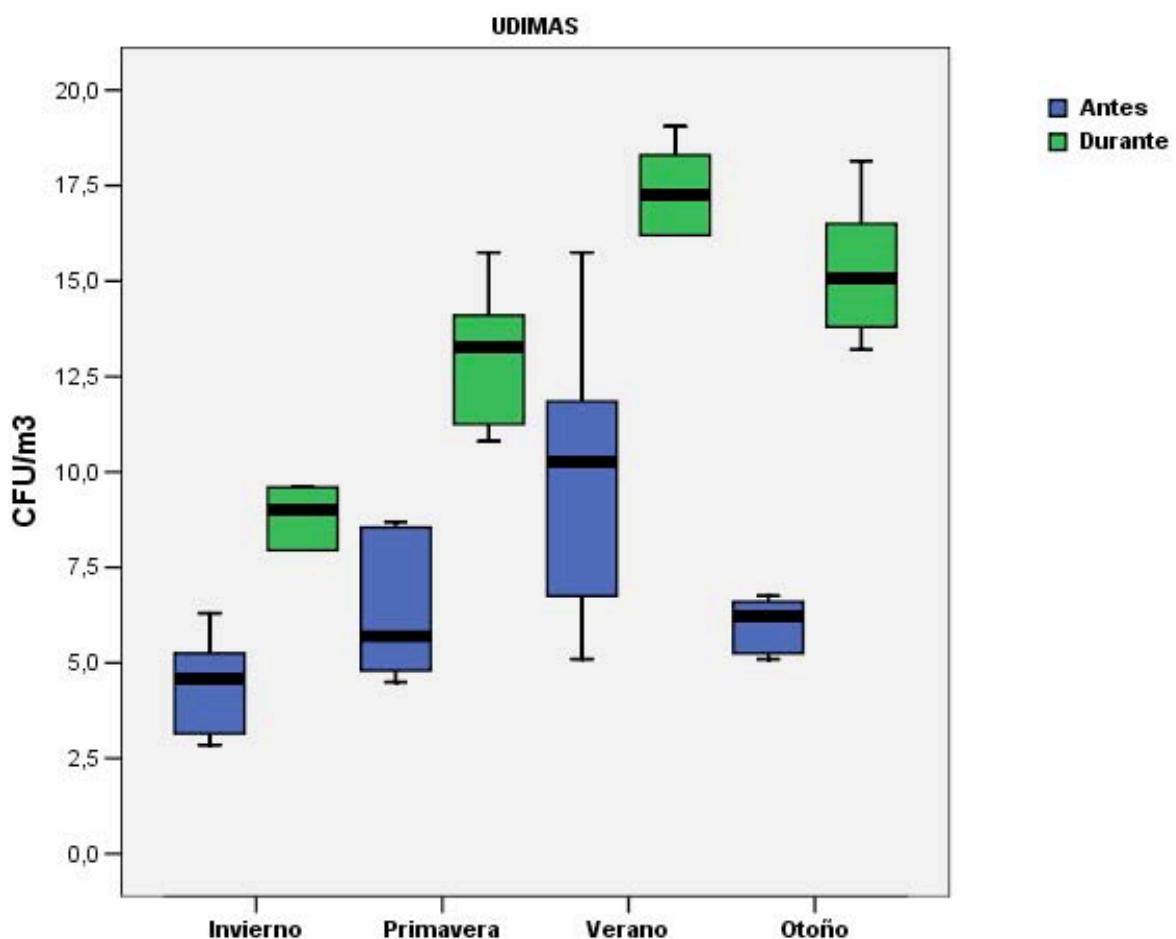
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las cargas fúngicas entre los valores de Antes, Durante y Exteriores ($p, <0,001$) siendo los valores de Antes inferiores a los de Durante, seguidos de Exterior. (Tabla 15 – Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75 se presentan en la Tabla 16 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi- Square* en los contrastes entre variables.

(7) Los resultados representados en la Figura 7R correspondientes al valor de Antes, es la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Antes en Udimas y Bellaterra, en las cuatro estaciones; valor de Durante, es la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Durante en Udimas y Bellaterra, en las cuatro estaciones. Los valores de Exterior son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ econtradas en los muestreos de Exterior en Udimas y Bellaterra en las cuatro estaciones. (Antes n= 96; Durante n=96; Exterior n=48)

Figura 8R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ (x 10) contrastados entre Antes y Durante las clases en Udimas, y su distribución respecto a las cuatro estaciones muestreadas** ⁽⁸⁾



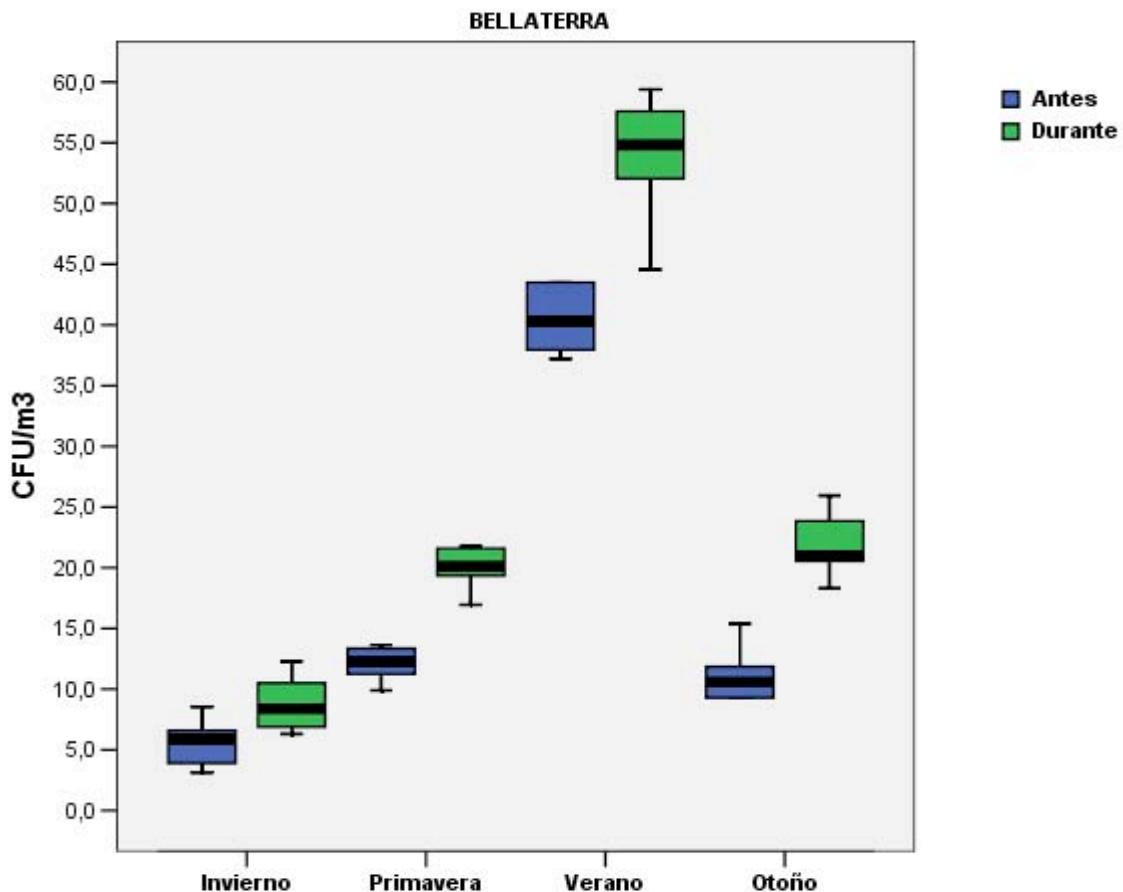
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las cargas fúngicas de Udimas entre Antes y Durante en Verano ($p=0,015$), Otoño ($p=0,002$), Primavera ($p=0,002$) e Invierno ($p=0,015$), e, siendo los valores de Antes inferiores a los de Durante en los cuatro contrastes realizados. (Tabla 17 – Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75 se presentan en la Tabla 19 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann Withney-Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(8) Los resultados representados en la Figura 8R correspondiente a los valores de Antes, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Antes en Udimas, y los valores de Durante, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Durante en Udimas; en las en las cuatro estaciones. Invierno: Antes: n=12 Durante n=12; Primavera: Antes: n=12 Durante n=12; Verano: Antes: n=12 Durante n=12; Otoño: Antes: n=12 Durante n=12

Figura 9R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles medios de UFC/m³ (x 10) contrastados entre Antes y Durante las clases en Bellaterra, y su distribución respecto a las cuatro estaciones muestreadas**⁽⁹⁾



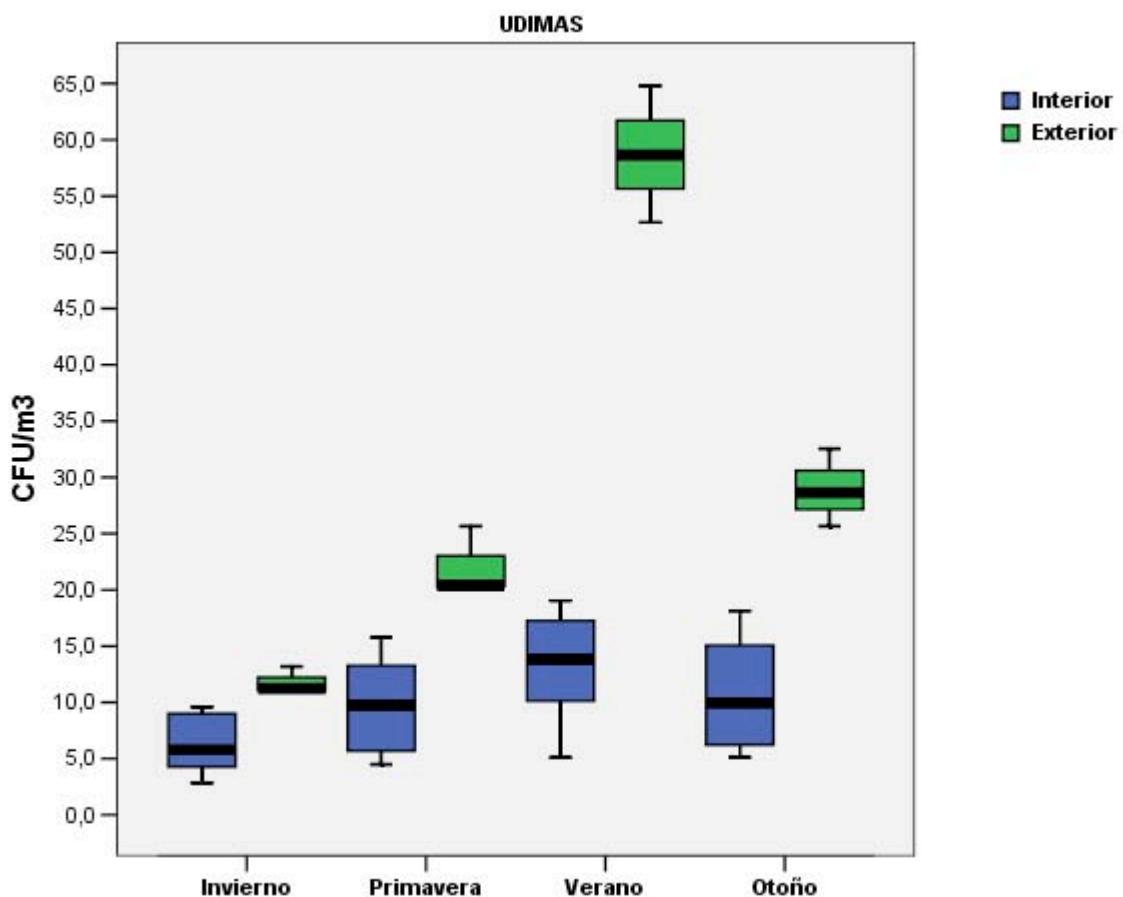
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las cargas fúngicas de Bellaterra, entre Antes y Durante en Verano ($p=0,002$), Otoño ($p=0,002$), Primavera ($p=0,002$) e Invierno ($p=0,026$), , siendo los valores de Antes inferiores a los de Durantes en los cuatro contrastes realizados. (Tabla 17 – Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 19 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann Withney-Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(9) Los resultados representados en la Figura 9R correspondiente al los valores de Antes, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Antes en Bellaterra, y los valores de Durante, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Durante en Udimas; en las en las cuatro estaciones. Invierno: Antes: n=12 Durante n=12; Primavera: Antes: n=12 Durante n=12; Verano: Antes: n=12 Durante n=12; Otoño: Antes: n=12 Durante n=12

Figura 10R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles medios de UFC/m³ (x 10) contrastados entre Interior y Exterior en Udimas, y su distribución respecto a las cuatro estaciones muestreadas**⁽¹⁰⁾



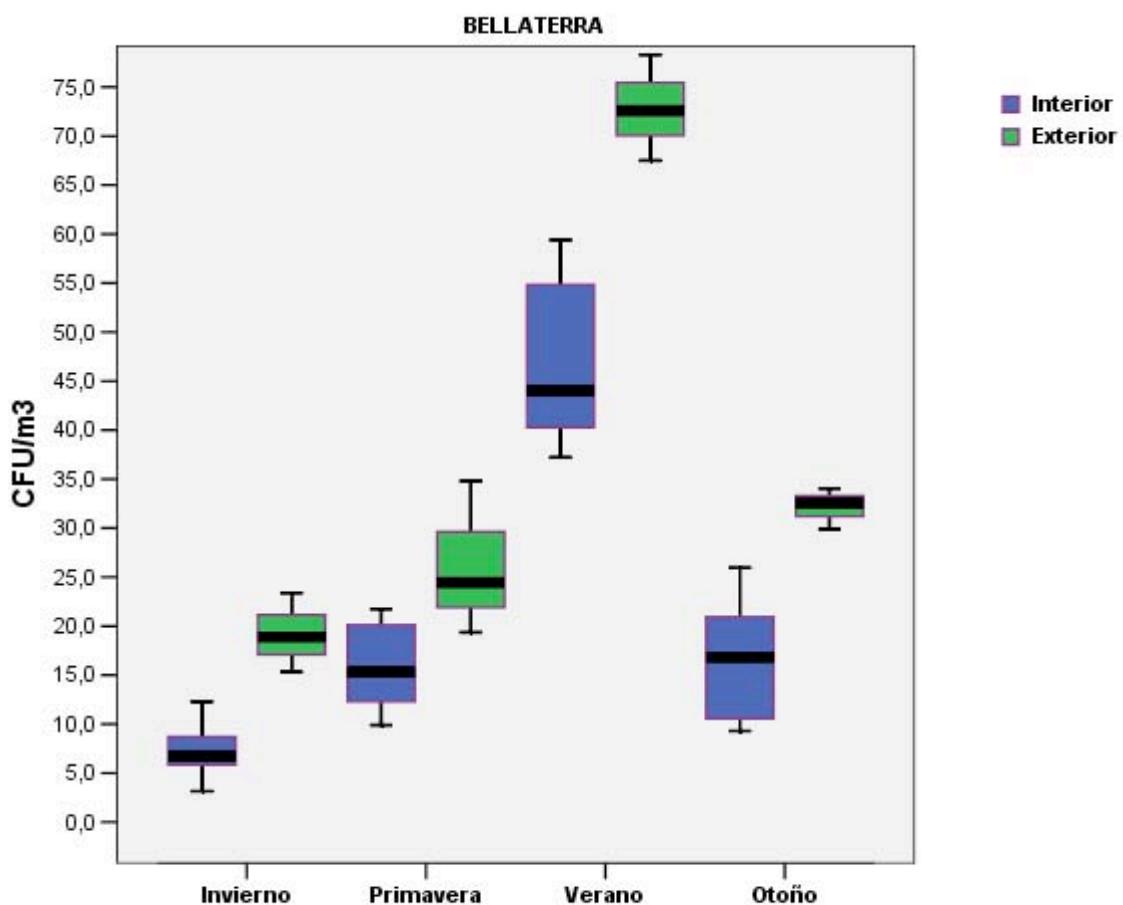
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las cargas fúngicas en Udimas entre Interior y Exterior en Invierno ($p=0,004$), Primavera ($p=0,004$), Verano ($p=0,004$) e Otoño ($p=0,004$), siendo los valores de Interior inferiores a los de Exterior en los cuatro contrastes realizados. (Tabla 18 – Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 19 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann Withney-Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(10) Los resultados representados en la Figura 10 R correspondiente a los valores de Interior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Interior en Udimas, y los valores de Exterior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Exterior en Udimas; en las en las cuatro estaciones. (Invierno: Interior: n=24 Exterior n=6; Primavera: n=24 Exterior n=6; Verano: n=24 Exterior n=6; Otoño: n=24 Exterior n=6).

Figura 11R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles medios de UFC/m³ (x 10) contrastados entre Interior y Exterior en Bellaterra, y su distribución respecto a las cuatro estaciones muestreadas**⁽¹¹⁾



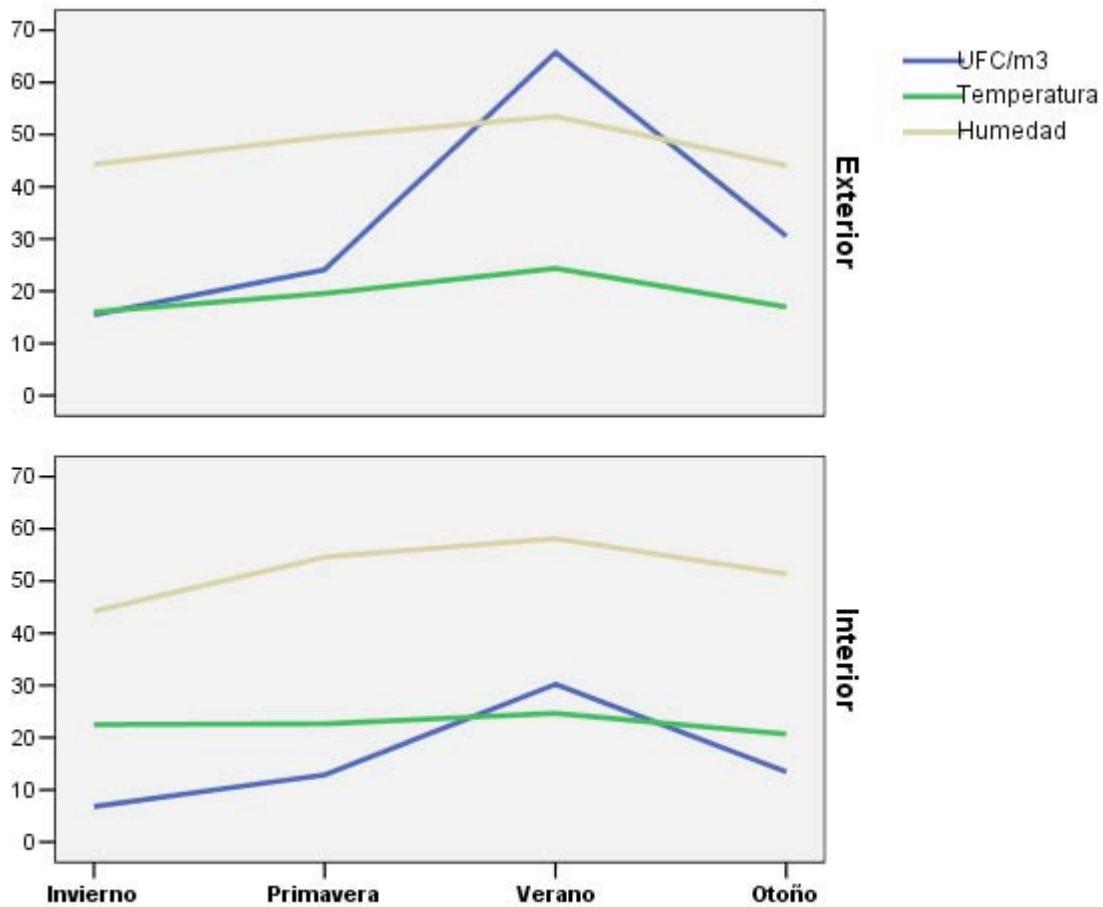
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las carga fúngicas en Bellaterra entre Interior y Exterior en Invierno ($p=0,004$), Primavera ($p=0,004$), Verano ($p=0,004$) e Otoño ($p=0,004$), siendo los valores de Interior inferiores a los de Exterior en los cuatro contrastes realizados. (Tabla 18 – Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 19 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann Withney-Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(11) Los resultados representados en la Figura 11R correspondiente a los valores de Interior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Interior en Bellaterra, y los valores de Exterior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Exterior en Bellaterra; en las en las cuatro estaciones. (Invierno: Interior: n=24 Exterior n=6; Primavera: n=24 Exterior n=6; Verano: n=24 Exterior n=6; Otoño: n=24 Exterior n=6)

Figura 12R: Líneas de tendencia correspondiente a las variaciones de $\text{UFC}/\text{m}^3(\times 10)$ Temperatura y humedad en los ambientes Exterior e Interior, representados en las cuatro estaciones muestreadas.



Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 20.

4.1.2 Biodiversidad: Consideraciones generales:

Estudio de la prevalencia (presencia en placa, independiente del número de colonias) y distribución (en el espacio y en el tiempo) de los diferentes géneros encontrados en el estudios aerobiológico.

Tabla 21: Listado de los géneros y sus respectivas especies.

***Acremonium* sp.;**

Acr. alternatum

***Alternaria*. sp (Alt sp)**

Alt. alternata; *Alt. brassicicola*; *Alt. chartarum*; *Alt. consortiale*; *Alt. dentritica*; *Alt. injectoria*; *Alt. oleracea*; *Alt. saponariae*; *Alt. sonchi*; *Alternaria* spp.; *Alt. tenuissima*

***Aspergillus* sp. (Asp sp.)**

Asp. alliaceus; *Asp. avenaceus*; *Asp. caespitosus*; *Asp. candidus*; *Asp. carneus*; *Asp. clavat-nanicus*; *Asp. conicus*; *Asp. deflectus*; *Asp. eburneo-cremeus*; *Asp. flavipes*; *Asp. flavus*; *Asp. Fumigatus*; *Asp. glaucus*; *Asp. s japonicus*; *Asp. melleus*; *Asp. nidulans*; *Asp. niger*; *Asp. niveus*; *Asp. ochraceus*; *Asp. oryzae*; *Asp. ostianus*; *Asp. parasiticus*; *Asp. petrakii*; *Asp. silvaticus*; *Asp. speluneus*; *Asp. spp*; *Asp. sydowi*; *Asp. tamarii*; *Asp. terreus*; *Asp. ustus*; *Asp. versicolor*

Levaduras

Candida albicans; *C. dubliniensis*; *C. famata*; *C. humicola*; *C. spp*; *Rhodotorula* sp.

***Cladosporium* sp.; (Cla sp.)**

Cla. cladosporioides; *Cla. herbarum*; *Cla. macrocarpum*; *Cla. oxysporum*; *Cla. sphaerospermum*; *Cla. spp*.

***Fusarium* sp.; (Fus SP.)**

F. chlamydosporum; *F. oxysporum*; *F. solani*.

Micélio estéril;

Micelio esteril hialino; *Micelio esteril pigmentado*

***Mucor/Rhizopus*;**

M. hiemalis; *M. plumbeus*; *M. racemosus*; *M. circinelloides*; *M. spp*;

***Ochroconis* sp.; (Och sp.)**

Ochroconis sp.;

***Paecilomices* sp.;**

Pae. carneus; *Pae. farinous*; *Pae. spp*; *Pae. variotii*.

***Penicillium* sp. (Pen sp.)**

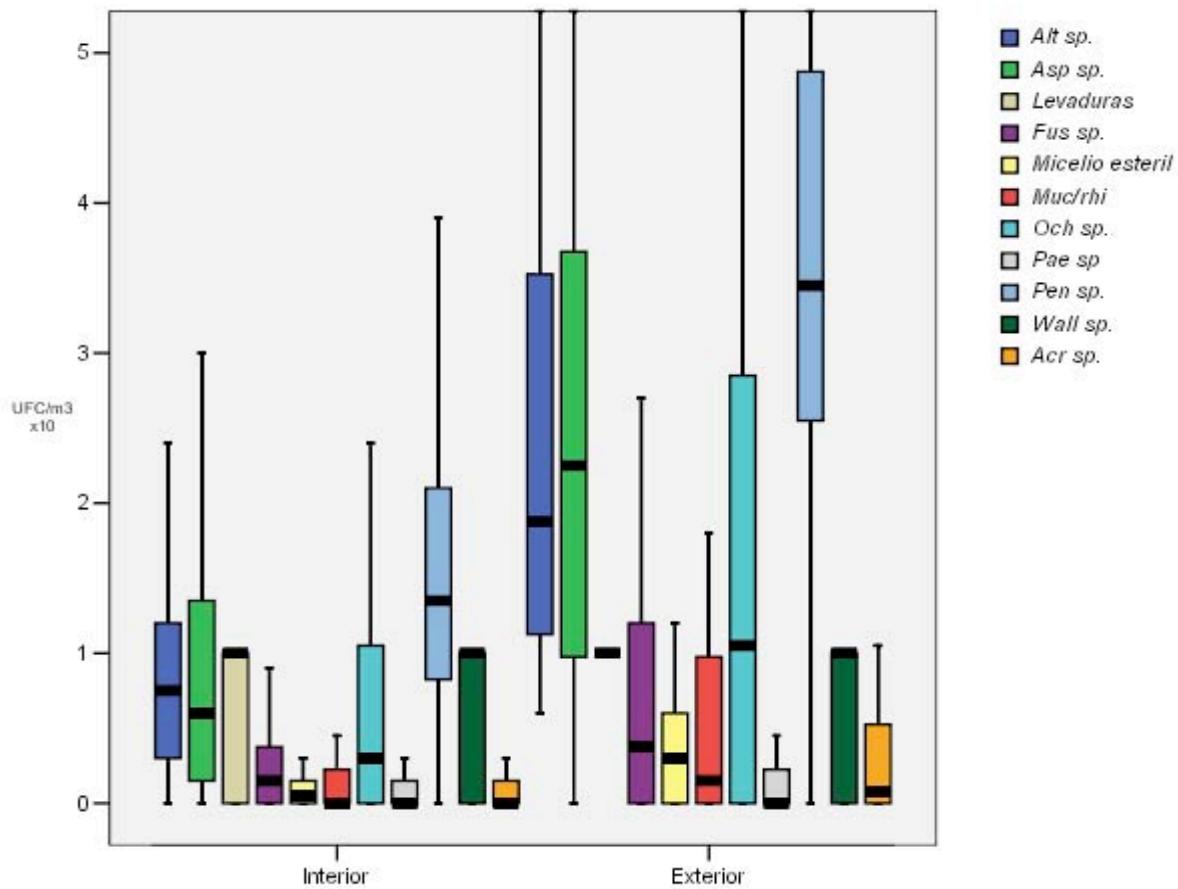
Pen. atro-virens; *Pen. aurantiogriseum*; *Pen. brevicompactum*; *Pen. chrysogenum*; *Pen. citrinum*; *Pen. commune*; *Pen. decumbens*; *Pen. digitatum*; *Pen. expansum*; *Pen. frequentans*; *Pen. funiculosum*; *Pen. oxalicum*; *Pen. piceum*; ; *Pen. purpurogenum*; *Pen. rugulosum*; *Pen.spp*; *Peni. stoloniferum*

***Wallemia* sp.; (Wal sp.)**

Wal. spp.;

Figura 13R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 11 géneros, contrastados en Interior y Exterior**⁽¹²⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



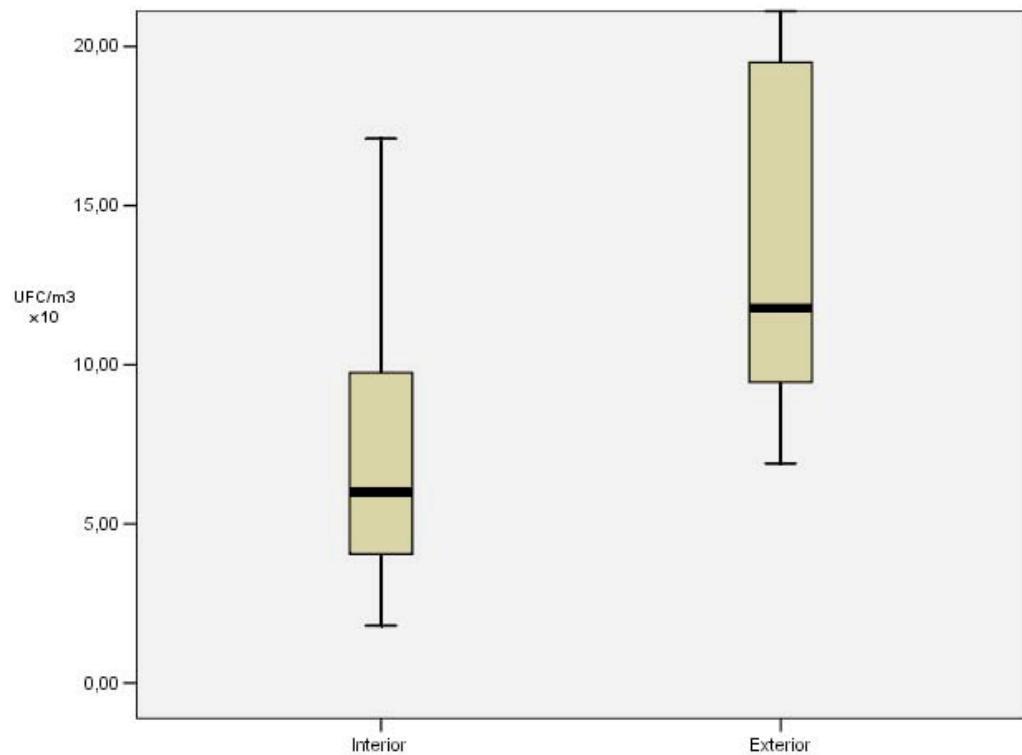
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas los niveles de UFC/m³ encontrados en Interior y Exterior para los géneros: *Alternaria sp.* ($p<0,005$); *Aspergillus. sp.* ($p<0,005$); *Penicillium sp.* ($p<0,005$); Levaduras ($p=0,045$); *Fusarium. sp.* ($p=0,012$), Micelio estéril ($p=0,006$) y *Acremoniun sp.* ($p=0,008$), siendo los valores de Interior inferiores a los de Exterior (Tabla 22 – Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 23 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(12) Los resultados representados en la Figura 13R correspondiente a los valores de Interior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Interior (Antes más Durante) en Udimas y Bellaterra, en las cuatro estaciones y los valores de Exterior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Exterior en Udimas y Bellaterra; en las en las cuatro estaciones, para los doce género analizados. (Interior n= 192; Exterior n=48)

Figura 14R: Diagrama de Cajas correspondientes a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de *Cladosporium sp.*, contrastados en Interior y Exterior**⁽¹³⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas los niveles de UFC/m³ encontradas en Interior y Exterior para el género *Cladosporium sp.* ($p<0,005$); siendo los valores de Interior menores que los de Exterior. (Tabla 22 – Anexo 7)

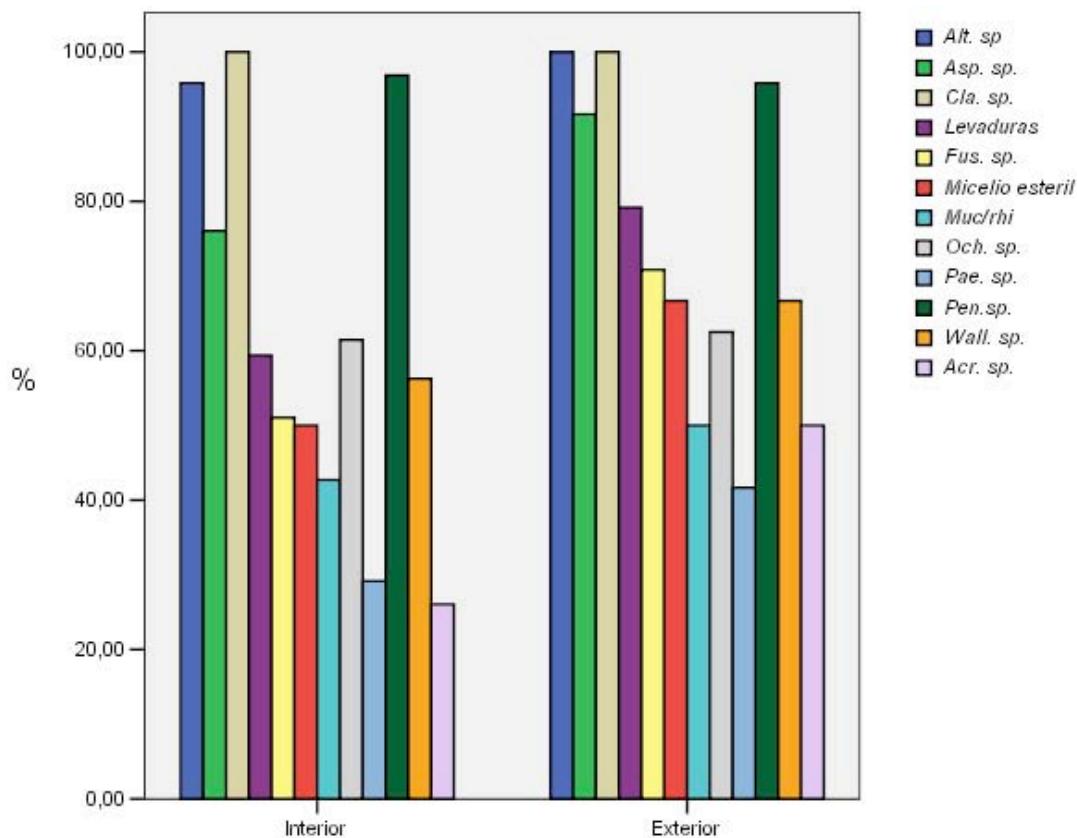
Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 23 – Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(13) Los resultados representados en la Figura 14R correspondiente a los valores de Interior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Interior (Antes y Durante) en Udimas y en Bellaterra, en las cuatro estaciones y los valores de Exterior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Exterior en Udimas y Bellaterra; en las en las cuatro estaciones, para el género *Cladosporium sp.* (Interior n= 192; Exterior n=48).

Post scriptum: este gráfico se corresponde con la Figura 13R, donde no se incluía en género *Cladosporium sp.* por incompatibilidad de escala.

Figura 15R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a las **prevalencias de los 11 géneros más Micelio esteril, contrastados en Interior y Exterior**⁽¹⁴⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las prevalencias de los doce (12) géneros encontrados en Interior y Exterior para *Acremonium sp.* ($p=0,023$) siendo, la prevalencia de Interior (26%) inferior a la de Exterior (50%). Para los demás géneros no se observa significación estadística cuando contrastados las prevalencias en los ambientes de Interior y Exterior. Para Levaduras y *Aspergillus sp.*, la significación estadística es marginal ($p=0,072$ y $p=0,0074$), siendo la prevalencia en Interior inferior a la de Exterior.

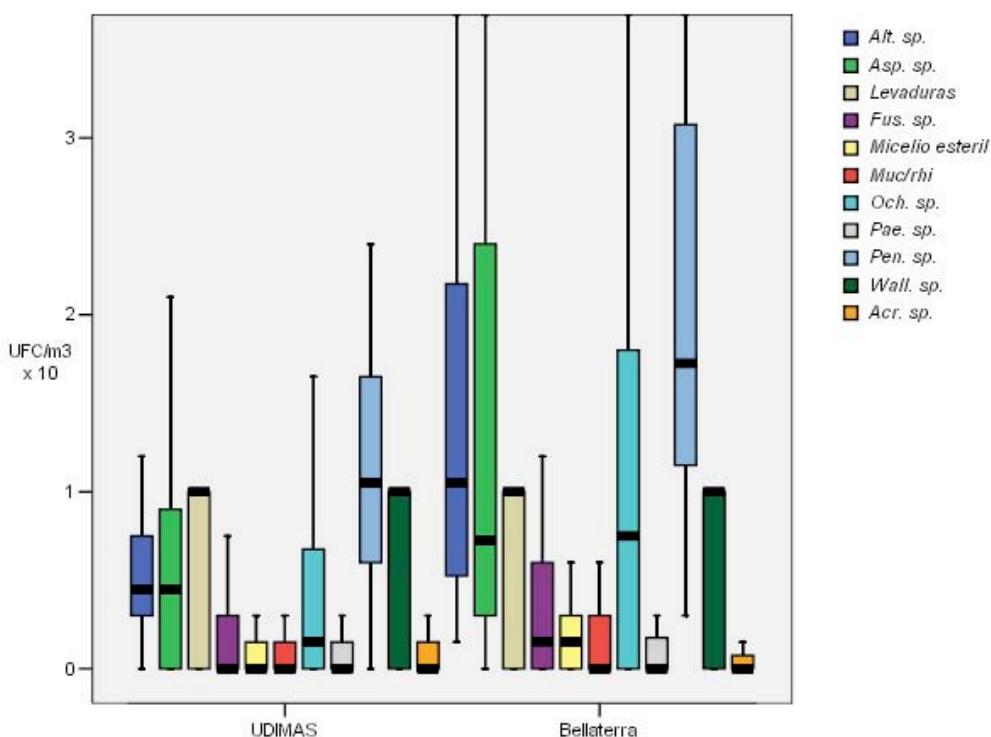
Los valores de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 24 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi -Square* para los contrastes de las variables.

(14) Los resultados representados en la Figura 15R correspondiente a los valores de Interior, se refiere a la prevalencia de cada uno de los doce géneros encontrados en los muestreos de Interior (Antes más Durante), de Udimas y Bellaterra, en las cuatro estaciones muestreadas; y los valores de Exterior, se refiere a la prevalencia de cada uno de los doce géneros encontrados en los muestreos de Exterior, de Udimas y Bellaterra, en las cuatro estaciones muestreadas. (Interior n=192; Exterior n=48)

Figura 16R: Diagrama de Cajas correspondientes a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Interior contrastados entre Udimas y Bellaterra**⁽¹⁵⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



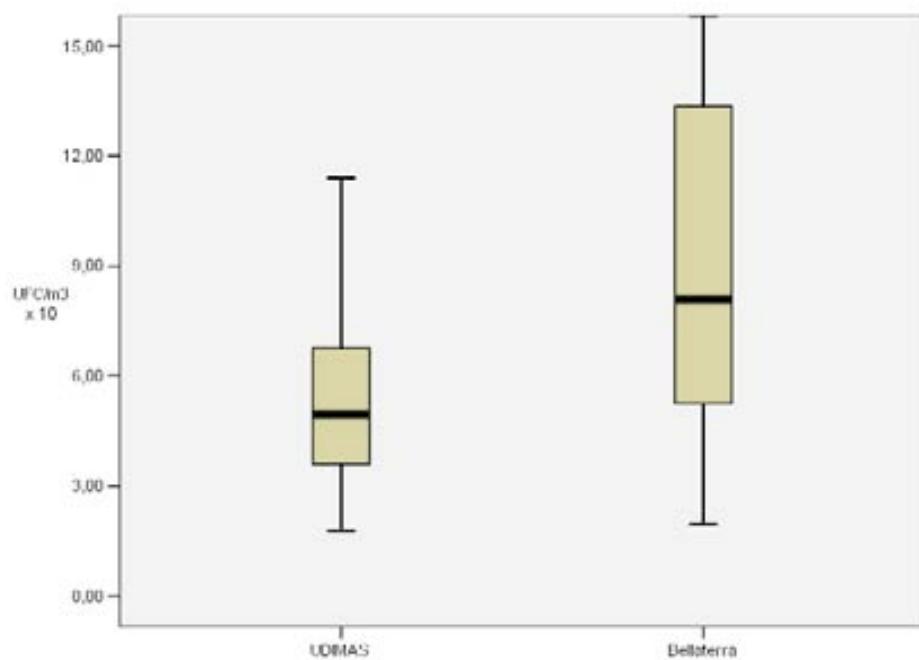
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Udimas y Bellaterra para los géneros: *Alternaria sp.* (p<0,005), *Aspergillus sp* (p=0,021), Micelio Esteril (p=0,005), *Ochroconis sp.* (p=0,001), *Penicillium sp.* (p<0,005), siendo los valores de Udimas inferiores a los de Bellaterra (Tabla 25 - Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 26 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(15) Los resultados representados en la Figura 16R correspondiente a los valores de Interior en Udimas y en Bellaterra son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestrados de Interior (Antes y Durante), en las cuatro estaciones para los once géneros analizados. (Interior Udimas n=96; Bellaterra n=96)

Figura 17R: Diagrama de Cajas correspondientes a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de *Cladosporium sp.*, encontradas en Interior, contrastados entre Udimas y Bellaterra** ⁽¹⁶⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas los niveles de UFC/m³ encontrados en Udimas y Bellaterra para el género *Cladosporium sp.* ($p<0,005$); siendo el valor de Udimas inferior a lo de Bellaterra. (Tabla 25 - Anexo 7)

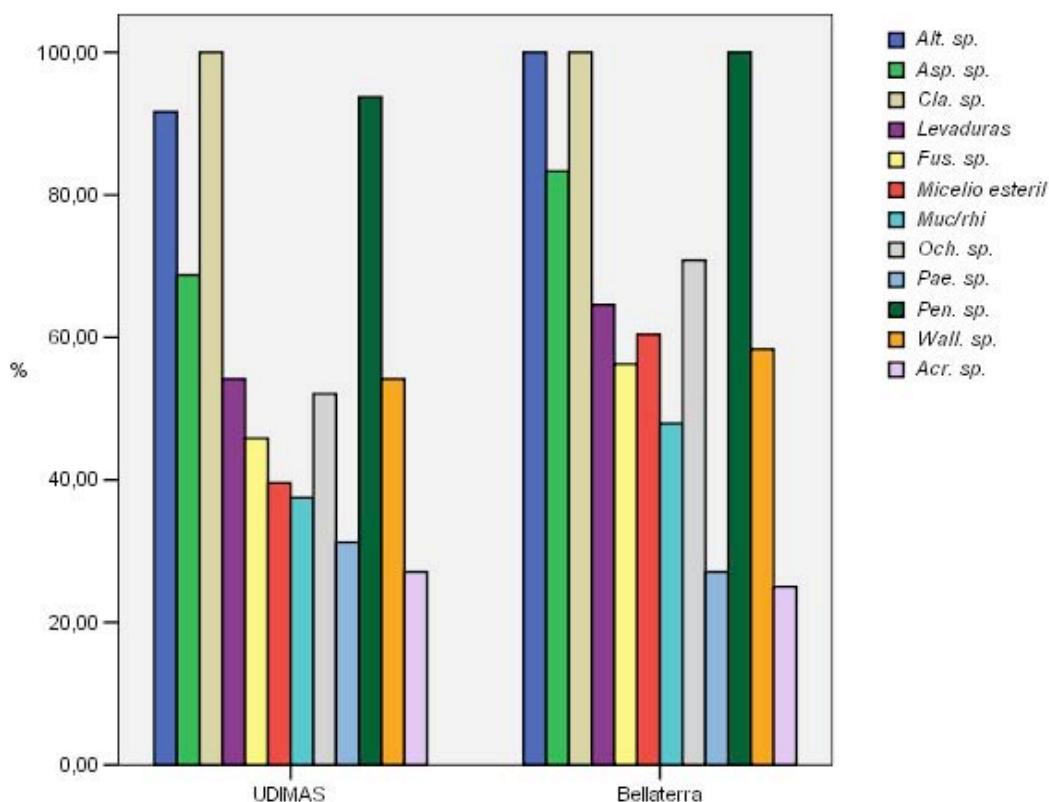
Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 26 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(16) Los resultados representados en la Figura 17R correspondiente a los valores de Interior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Interior (Antes y Durante) en Udimas y en Bellaterra, en las cuatro estaciones para el género *Cladosporium sp.* (Interior Udimas n=96; Bellaterra n=96)

Post scriptum: este gráfico se corresponde con la Figura 16R, donde no se incluía en género *Cladosporium sp.* por incompatibilidad de escala.

Figura 18R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente de la prevalencia en Interior, de los 11 géneros más Micelio esteril, contrastados entre Udimas y Bellaterra⁽¹⁷⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las prevalencias en Udimas y Bellaterra en Interior, para Micelio estéril ($p=0,041$) (prevalencia de 39,6% en Udimas y 60% en Bellaterra) y *Ochroconis sp.* ($p=0,046$; prevalencia de 52% Udimas y 70% Bellaterra) siendo, los valores de Udimas inferiores a Bellaterra. Para los demás géneros no se observa significación estadística cuando contrastados las prevalencias en los ambientes de Interior de Udimas y Bellaterra.

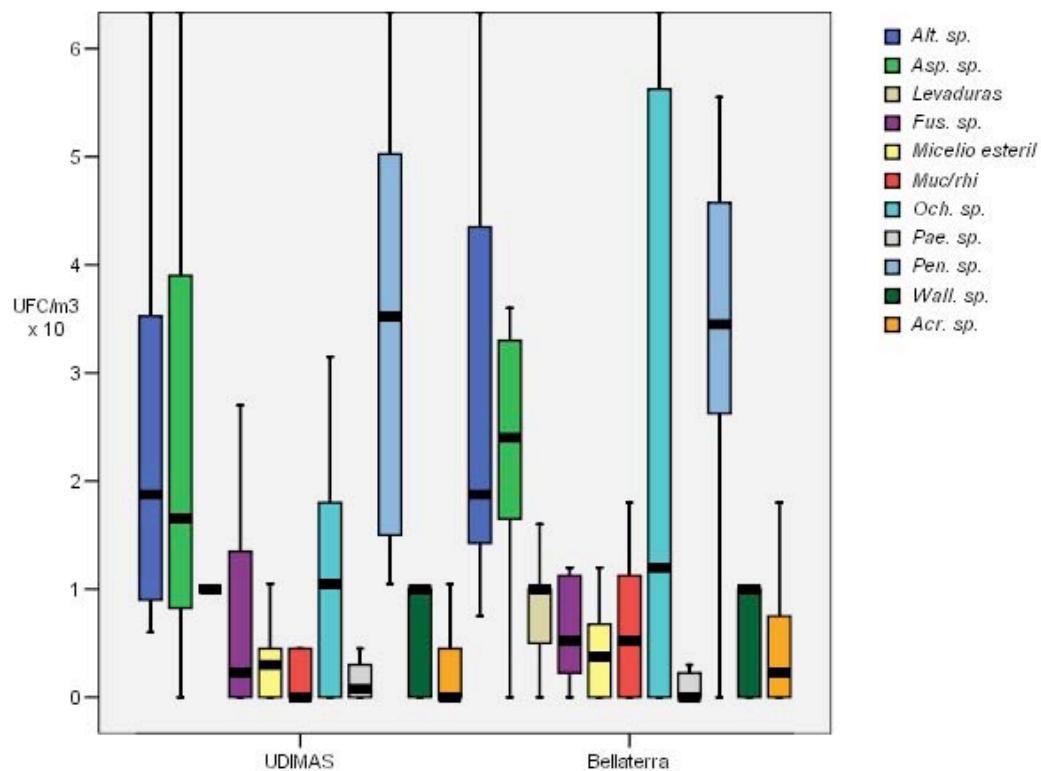
Los valores de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 27 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(17) Los resultados representados en la Figura 18R correspondiente a los valores de Udimas y Bellaterra, se refieren a la prevalencia de los doce géneros en Udimas y Bellaterra encontrados en los ambientes de Interior (Antes y Durante) (Interior; Udimas n= 96; Bellaterra n=96)

Figura 19R: Diagrama de Cajas correspondientes a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Exterior contrastados entre Udimas y Bellaterra**⁽¹⁸⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



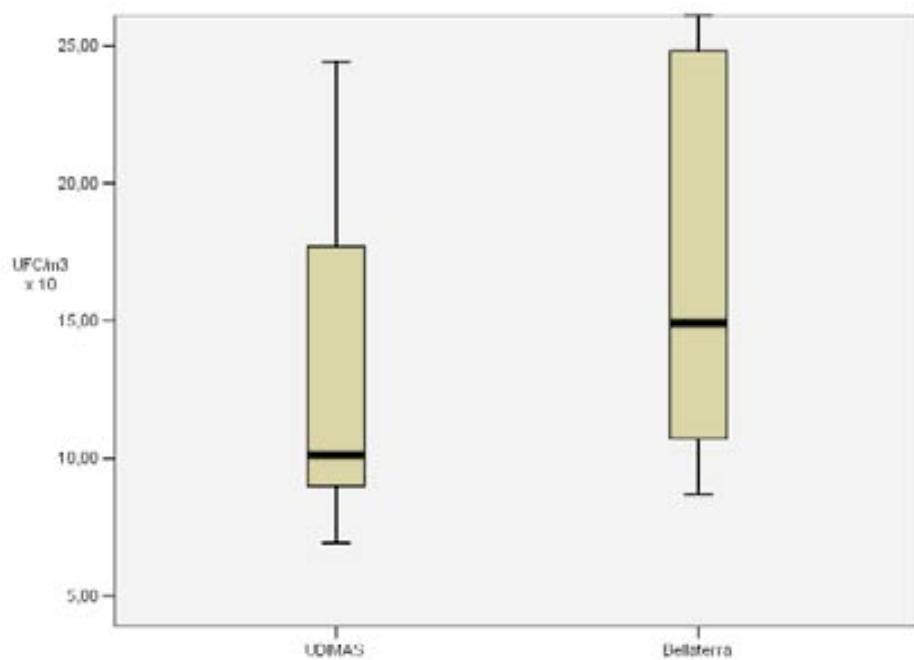
No se ha comprobado que exista significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Udimas y Bellaterra en Exterior para ninguno de los géneros analisados (Tabla 28 - Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 29 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(18) Los resultados representados en la Figura 19R correspondiente a los valores de Exterior en Udimas y en Bellaterra son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Exterior, en las cuatro estaciones para los once géneros analizados. (Exterior Udimas n=24; Bellaterra n=24)

Figura 20R: Diagrama de Cajas correspondientes a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de *Cladosporium sp*, encontradas en Exterior, contrastados entre Udimas y Bellaterra** ⁽¹⁹⁾



No se ha comprobado que exista significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Udimas y Bellaterra en Exterior para *Cladosporium sp.* (Tabla 28 - Anexo 7).

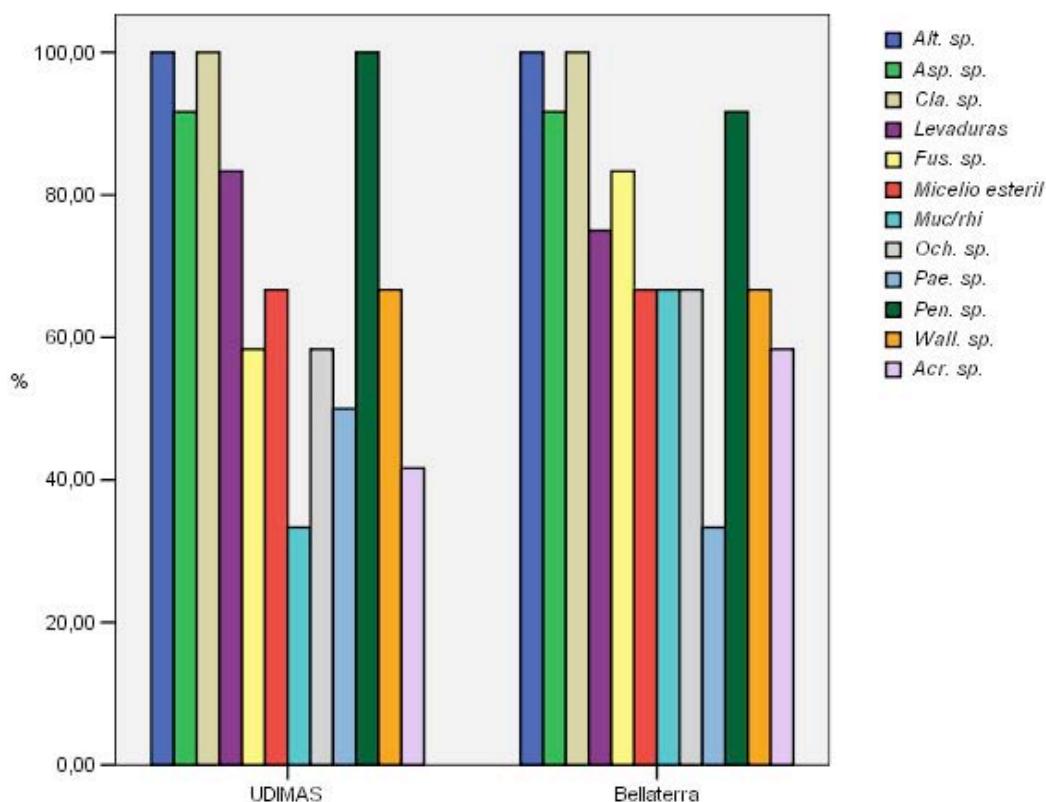
Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 29 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(19) Los resultados representados en la Figura 20R correspondiente a los valores de Exterior, son la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ encontradas en los muestreos de Exterior (Antes y Durante) en Udimas y Bellaterra, en las cuatro estaciones para el género *Cladosporium sp.* (Exterior Udimas n=24; Exterior Bellaterra n=24)

Post scriptum: este gráfico se corresponde con la Figura 19R, donde no se incluía en género *Cladosporium sp.* por incompatibilidad de escala.

Figura 21R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente de la **prevención en Exterior, de los 11 géneros más Micelio esteril, contrastados entre Udimas y Bellaterra** ⁽²⁰⁾



No se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las prevalencias en Udimas y Bellaterra en Exterior, para ninguno de los doce géneros contrastados.

Los valores de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 27 - Anexo 7.

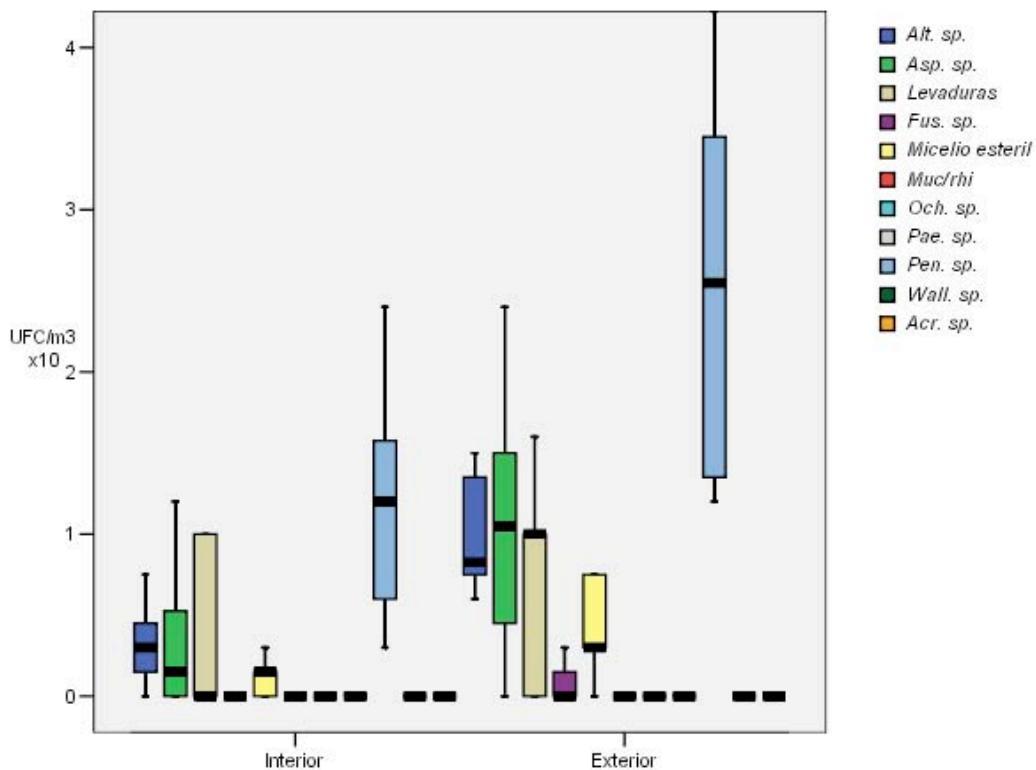
Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(20) Los resultados representados en la Figura 21R correspondiente a los valores de Udimas y Bellaterra, se refiere a la prevalencia de los doce géneros encontrados en los ambientes de Exterior (Exterior; Udimas n= 24; Bellaterra n=24)

4.1.3. Espectro fúngico en las estaciones del año:

Figura 22R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Invierno, contrastados entre Interior y Exterior** ⁽²¹⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



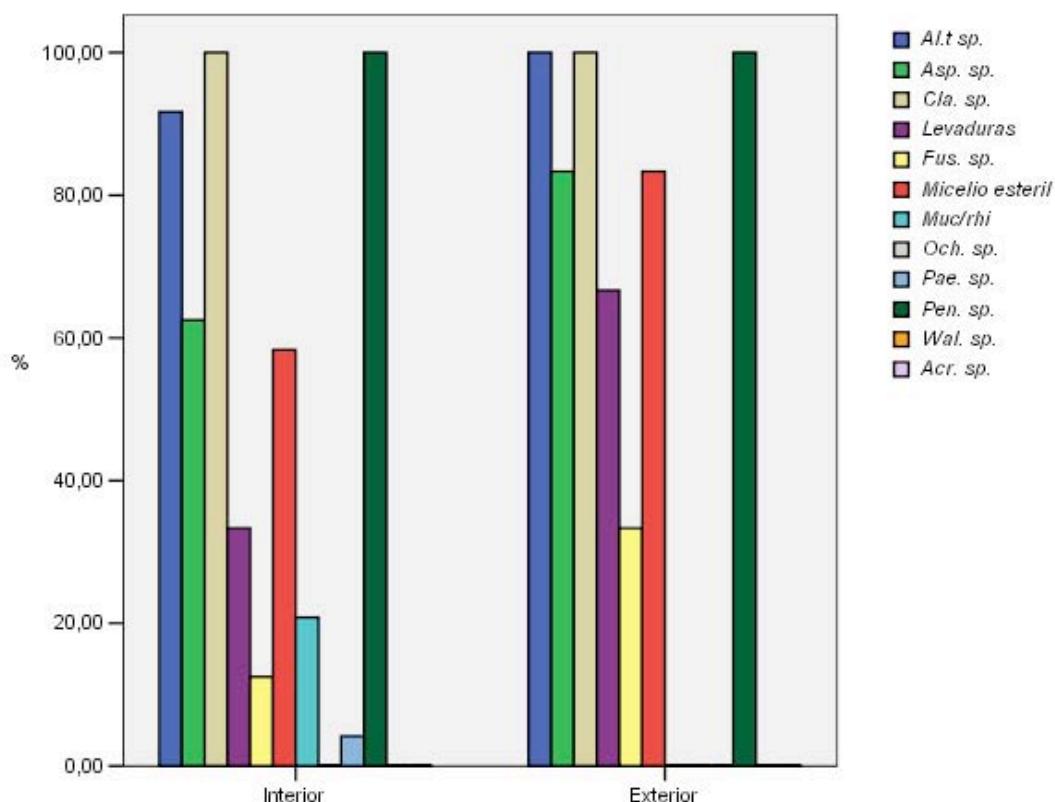
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Interior y Exterior, en Invierno para los géneros: *Alternaria sp.* (p<0,005), *Aspergillus sp* (p=0,029), Micelio estéril (p=0,013) y *Penicillium sp.* (p=0,013), siendo los valores de Interior inferiores a los de Exterior. (Tabla 30 - Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 31 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(21) Los resultados representados en la Figura 22R corresponden a las prevalencias en Interior y Exterior, encontradas en los muestreos realizados Udimas más Bellaterra, en Invierno (Interior n=48; Exterior n= 12)

Figura 23R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a la **prevalecia en Invierno, de los 11 géneros más Micelio esteril, contrastados en Invierno entre Interior y Exterior** ⁽²²⁾



No se ha comprobado significación estadística cuando contrastadas las prevalencias de Interior y Exterior, en Invierno para ninguna de los doce géneros analizados.

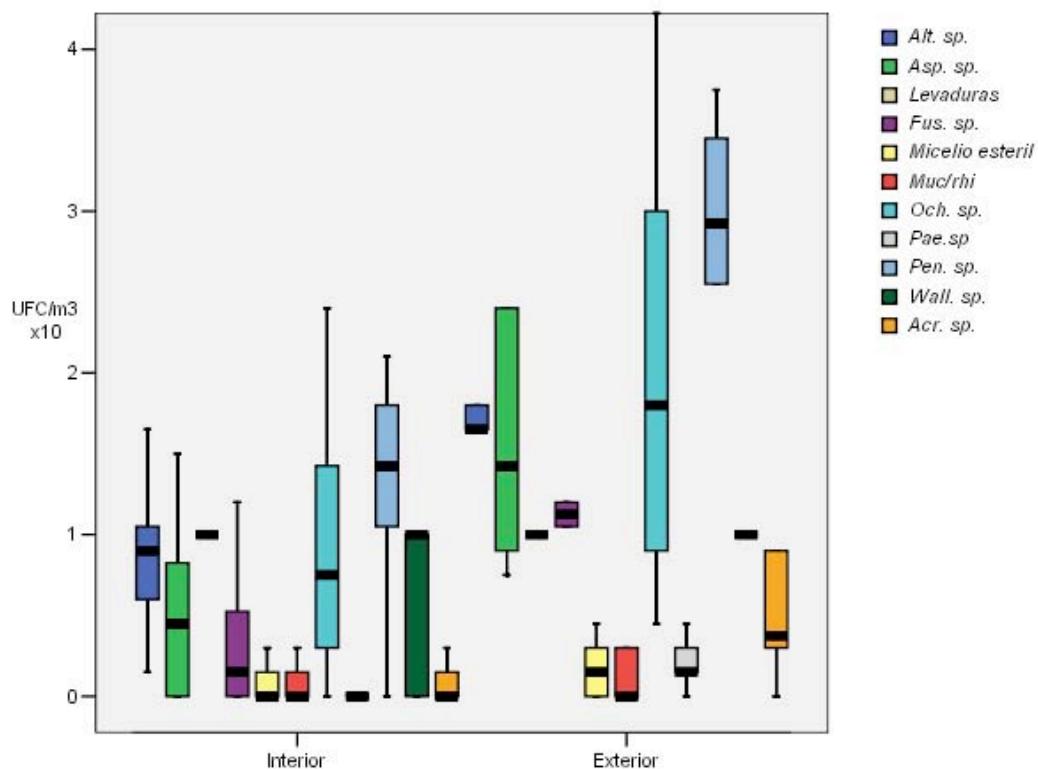
Los valres de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 32 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi -Square* para los contrastes de las variables.

(22) Los resultados representados en la Figura 23R correspondientes los valores de Udimas y Bellaterra, se refieren a la sprevalencias de los doce generos encontrados en los ambientes de Exterior (Exterior; Udimas n= 24; Bellaterra n=24).

Figura 24R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Primavera, contrastados entre Interior y Exterior**⁽²³⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



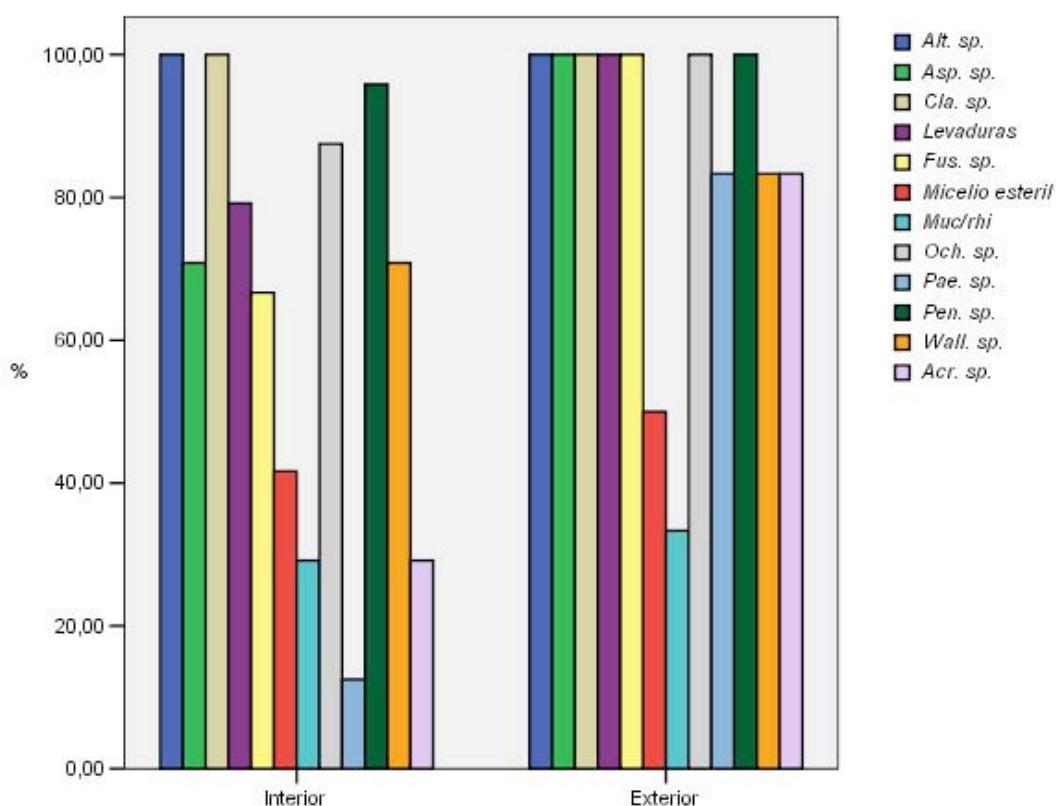
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Interior y Exterior, en Primavera para los géneros: *Alternaria sp.* (p=0,004), *Aspergillus sp.* (p=0,003), *Fusarium sp.* (p=0,001), *Paecilomyces sp.* (p=0,008) *Penicillium sp.* (p=0,015) y *Acremonium sp.* (p=0,018), siendo los valores de Interior inferiores a los de Exterior. (Tabla 30 - Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 31 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(23) Los resultados representados en la Figura 24R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ en Interior y Exterior, resultado de muestreos realizados en Udimas y en Bellaterra, en Primavera (Interior n=48; Exterior n= 12)

Figura 25R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a la **prevalencia en Primavera, de 11 géneros más Micelio esteril, contrastados entre Interior y Exterior**⁽²⁴⁾



Se ha comprobado que existen diferencias significativas entre las prevalencias de Interior y Exterior, en Primavera para los géneros: *Paecilomyces sp.* ($p=0,002$; Prevalencias: Interior: 12,5%; Exterior: 83,3%) y *Acremonium sp.* ($p=0,026$; Prevalencias: Interior: 29,2%, Exterior: 83%), siendo las prevalencias de Interior inferiores a los de Exterior.

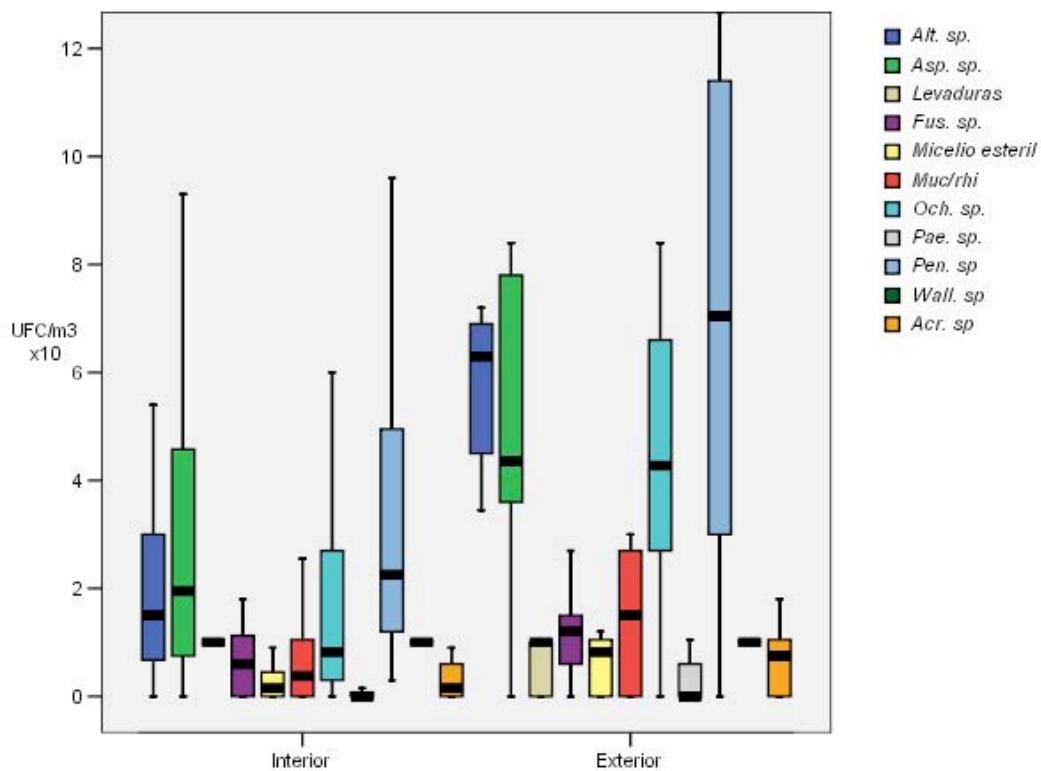
Los valores de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 32 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(24) Los resultados representados en la Figura 25R corresponden a las prevalencias en Interior y Exterior, encontradas en los muestreos realizados Udimas y Bellaterra, en Primavera (Interior n=48; Exterior n= 12)

Figura 26R: Diagrama de Cajas **correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Verano, contrastados entre Interior y Exterior**⁽²⁵⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



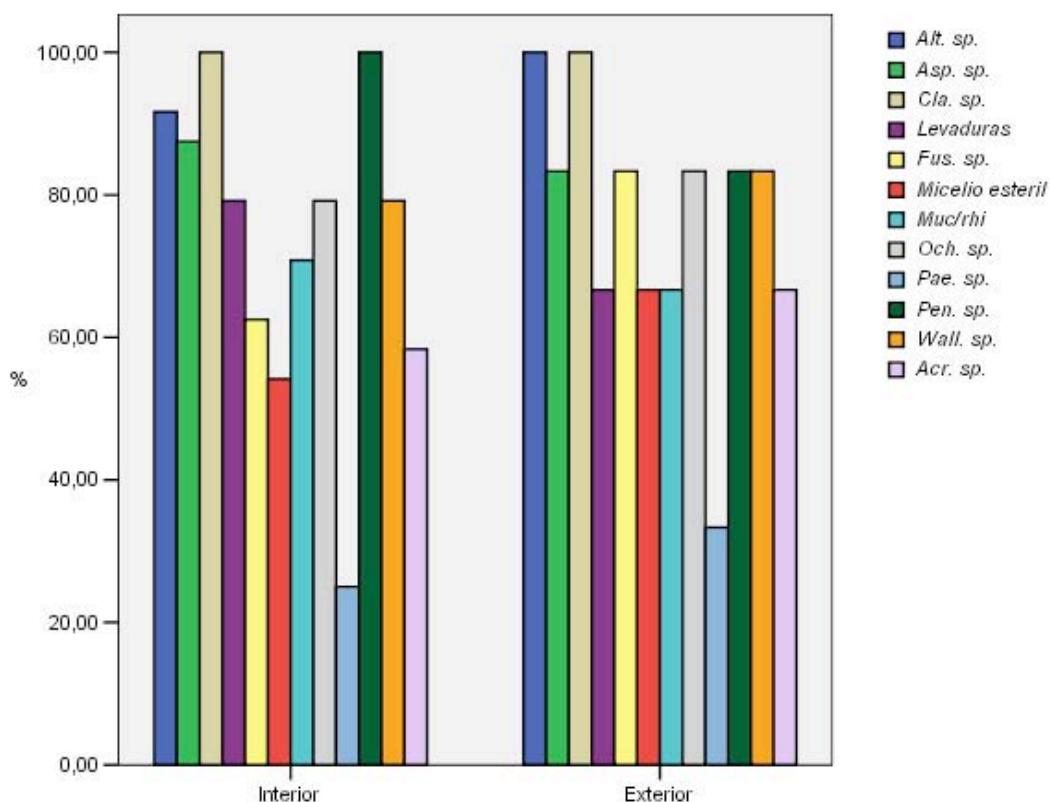
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Interior y Exterior, en Verano para el género: *Alternaria sp.* ($p<0,005$), siendo los valores de Interior inferiores a los de exterior. (Tabla 30 - Anexo 7).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 31 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(25) Los resultados representados en la Figura 26R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ en Interior y Exterior, resultado de muestreos realizados en Udimas y en Bellaterra, en Verano (Interior n=48; Exterior n= 12)

Figura 27R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente de la **prevalecia en Verano, de los 11 géneros más Micelio esteril, contrastados entre Interior y Exterior**⁽²⁶⁾



No se ha comprobado significación estadística cuando contrastadas las prevalencias de Interior y Exterior, en Verano, para ninguno de los doce géneros analizados.

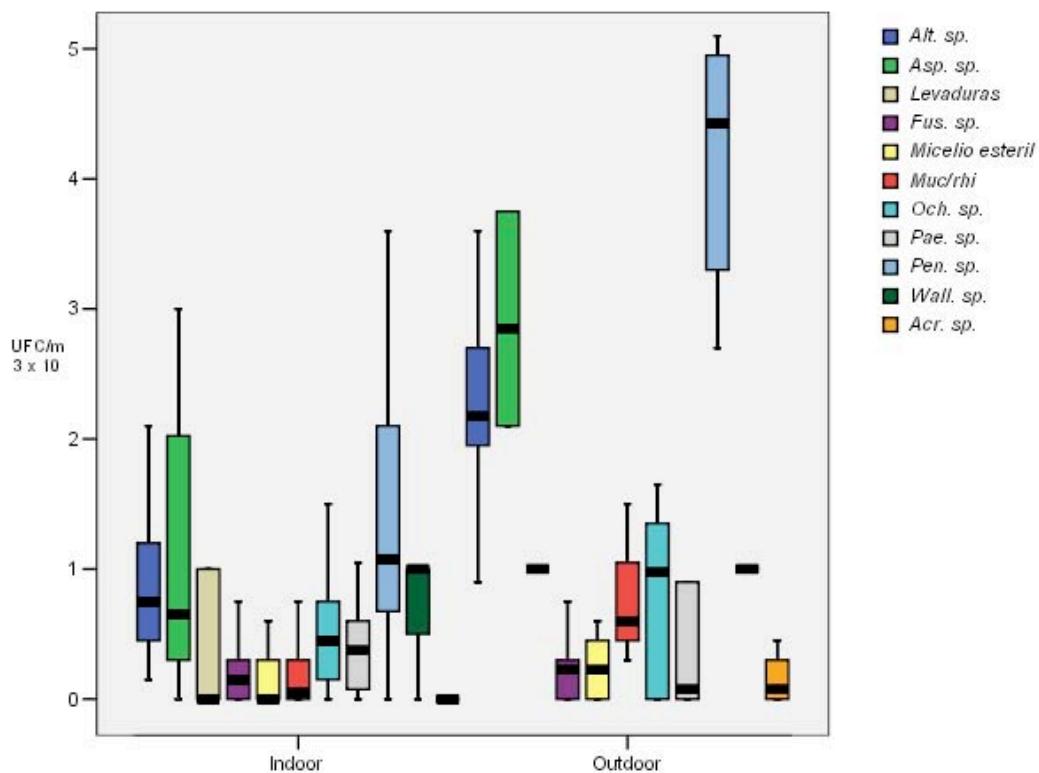
Los valres de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 32 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(26) Los resultados representados en la Figura 27R corresponden a las prevalencias en Interior y Exterior, encontradas en los muestreos realizados Udimas y en Bellaterra, en Verano (Interior n=48; Exterior n= 12)

Figura 28R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Otoño, contrastados entre Interior y Exterior** ⁽²⁷⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



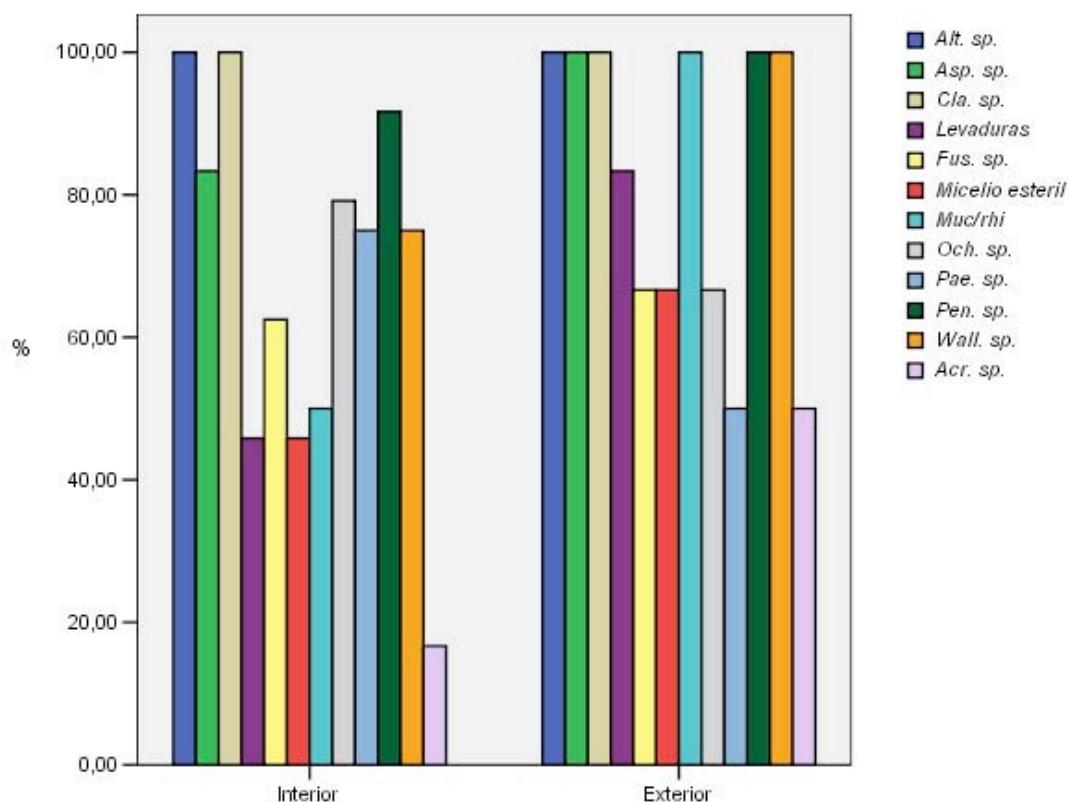
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Interior y Exterior, en Otoño para los géneros: *Alternaria sp.* (p=0,005), *Aspergillus sp.* (p=0,001), *Mucor/Rhizopus* (p=0,001) y *Penicillium sp.* (p<0,005), siendo los valores de Interior inferiores a los de Exterior. (Tabla 30 - Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 31 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(27) Los resultados representados en la Figura 28R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ en Interior y Exterior, resultado de muestras realizadas en Udimas y en Bellaterra, en Otoño (Interior n=48; Exterior n= 12)

Figura 29R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente de la **prevalecia en Otoño, de 11 géneros más Micelio esteril, contrastados entre Interior y Exterior**⁽²⁸⁾



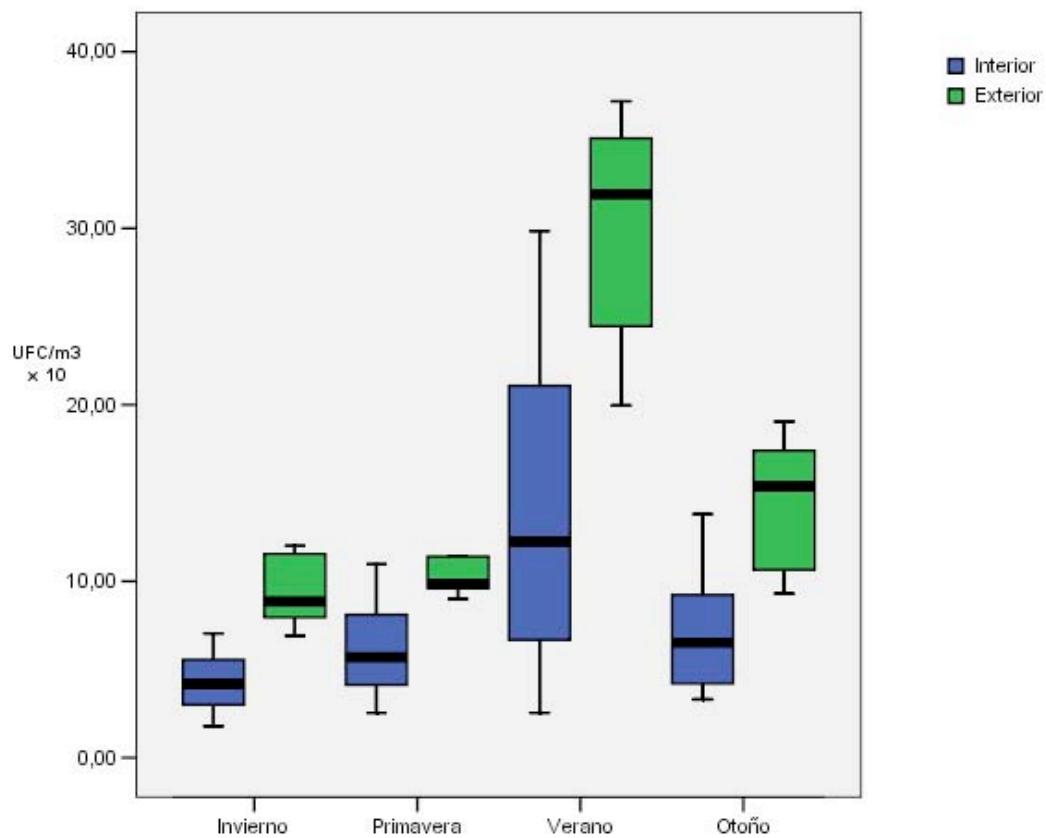
Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las prevalencias de Interior y Exterior, en Otoño para los géneros: *Mucor/Rhizopus* ($p=0,031$), Prevalencias Interior: 50%, Exterior: 100%), siendo las prevalencias de Interior inferiores a los de Exterior.

Los valores de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 27 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(28) Los resultados representados en la Figura 29R corresponde a las prevalencias en Interior y Exterior, encontradas en los muestreos realizados Udimas más Bellaterra, en Otoño (Interior n=48; Exterior n= 12)

Figura 30R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de *Cladosporium sp.*, encontrados en Invierno, Primavera, Verano y Otoño, contrastados entre Interior y Exterior**⁽²⁹⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Interior y Exterior, en Invierno, Primavera, Verano y Otoño para el género: *Cladosporium sp.* (p<0,005; p=0,001; p<0,005; p<0,005, respectivamente), siendo los valores de Interior inferiores a los de Exterior. (Tabla 30 - Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 31 - Anexo 7.

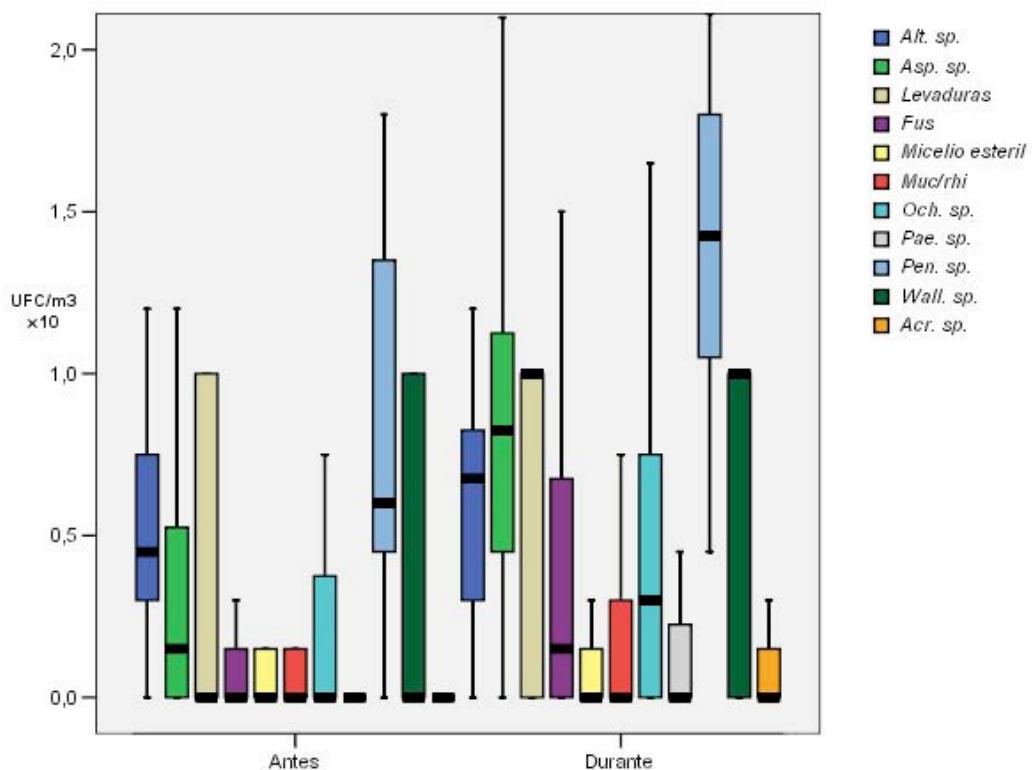
Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(29) Los resultados representados en la Figura 30R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ en Interior y Exterior, resultado de muestreos realizados en Udimas y en Bellaterra, en las cuatro estaciones muestreadas para el género *Cladosporium sp.* (Interior n=48; Exterior n= 12)

Post scriptum: este gráfico se corresponde con las Figuras 22R, 24R, 26R y 28R, donde no se incluía en género *Cladosporium sp.* por incompatibilidad de escala.

Figura 31R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Udimas, contrastados entre Antes y Durante**⁽³⁰⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Udimas cuando contrastados la carga fúngica de Antes y Durante, para los géneros: *Aspergillus sp* (p=0,01), *Levaduras* (p= 0,022), *Penicillium sp* (p<0,05), *Wallemia sp* (p=0,022), siendo los valores de Antes inferiores a los de Durante (Tabla 33 - Anexo 7).

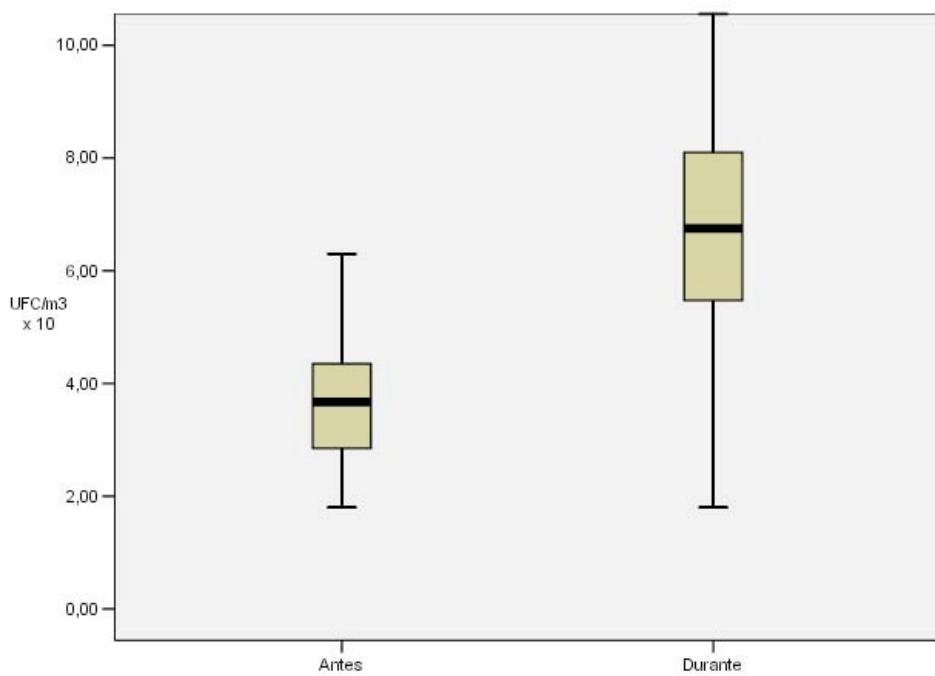
Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 34 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(30) Los resultados representados en la Figura 31R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ de Antes y Durante, resultado de muestreos realizados en Udimas, en todas las estaciones (Antes n=24; Durante n= 24)

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.

Figura 32R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de *Cladosporium sp.*, encontrados en Udimas, contrastados entre Antes y Durante** ⁽³¹⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Udimas cuando contrastados la carga fúngica de Antes y Durante, para el género: *Cladosporium sp* (p<0,05) (Tabla 33 - Anexo 7)

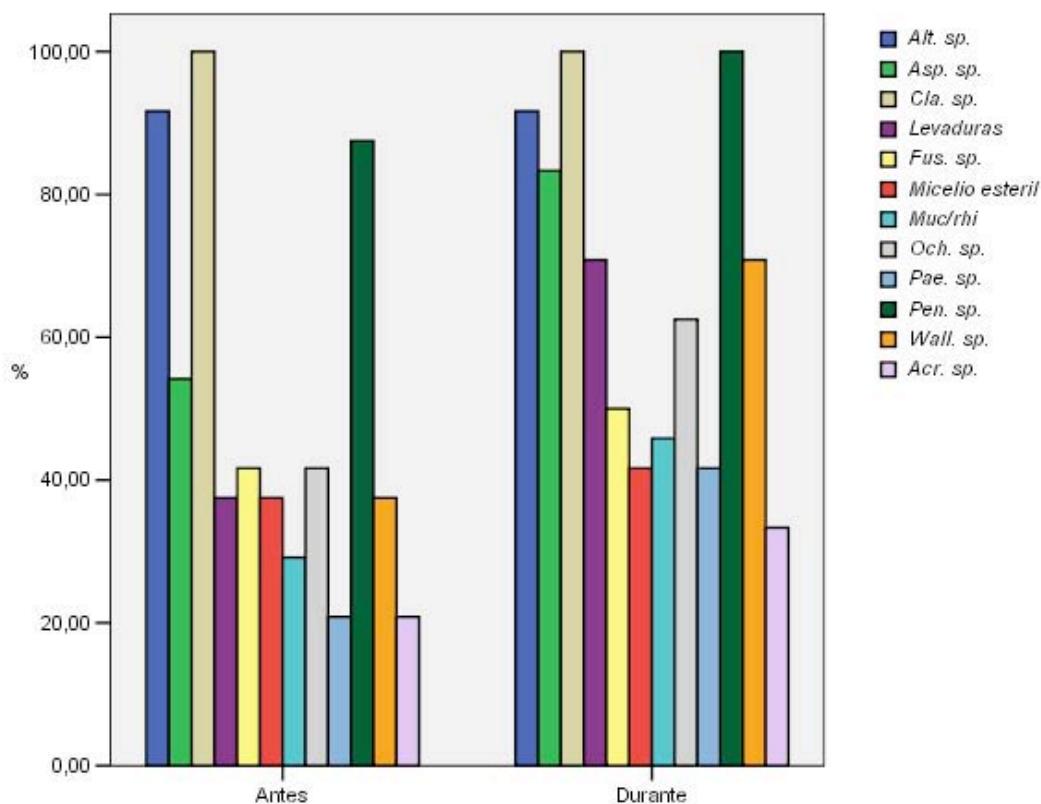
Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 34 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(31) Los resultados representados en la Figura 32R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ de Antes y Durante, resultado de muestreos realizados en Udimas, corresponden a la suma de todas las estaciones (Antes n=24; Durante n= 24)

Post scriptum: este gráfico se corresponde con la Figura 31R, donde no se incluía en género *Cladosporium sp.* por incompatibilidad de escala.

Figura 33R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a las prevalencias de 11 géneros más **Micelio esteril**, encontrados en Udimas, contrastados entre Antes y Durante⁽³²⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las prevalencias de Antes y Durante, resultado del muestreo en Udimas para los géneros: *Aspergillus sp.* ($p=0,029$, Prevalencia de Antes: 59% y de Durante: 83%), Levaduras ($p=0,02$, Prevalencia de Antes: 37%, y de Durante: 71%), y *Wallemia sp.* ($p=0,021$, Prevalencia de Antes: 37,5% y de Durante 70%)

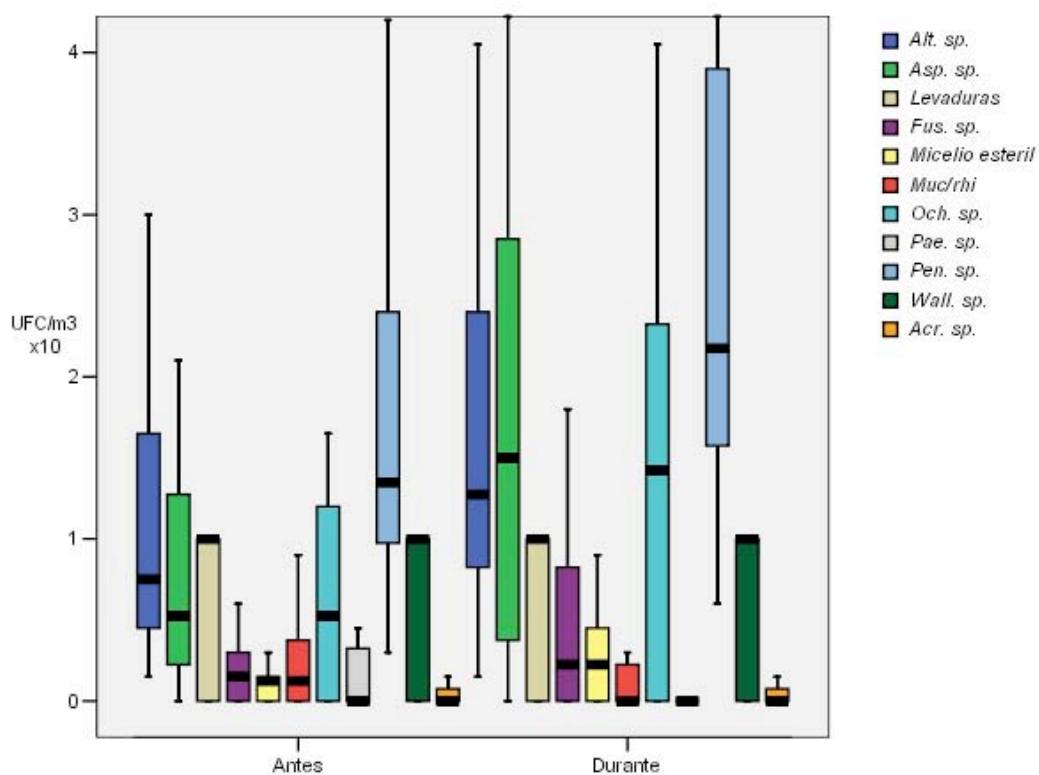
Los valores de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 35 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(30) Los resultados representados en la Figura 33R corresponden a la prevalencia de Antes y Durante, resultado de muestreos realizados en Udimas, corresponden a la suma de todas las estaciones (Antes n=24; Durante n= 24)

Figura 34R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de 10 géneros más Micelio esteril, encontrados en Bellaterra, contrastados entre Antes y Durante** ⁽³³⁾

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Bellaterra cuando contrastados la carga fúngica de Antes y Durante, para el género: *Penicillium sp.* (p=0,010). (Tabla: 36 - Anexo 7)

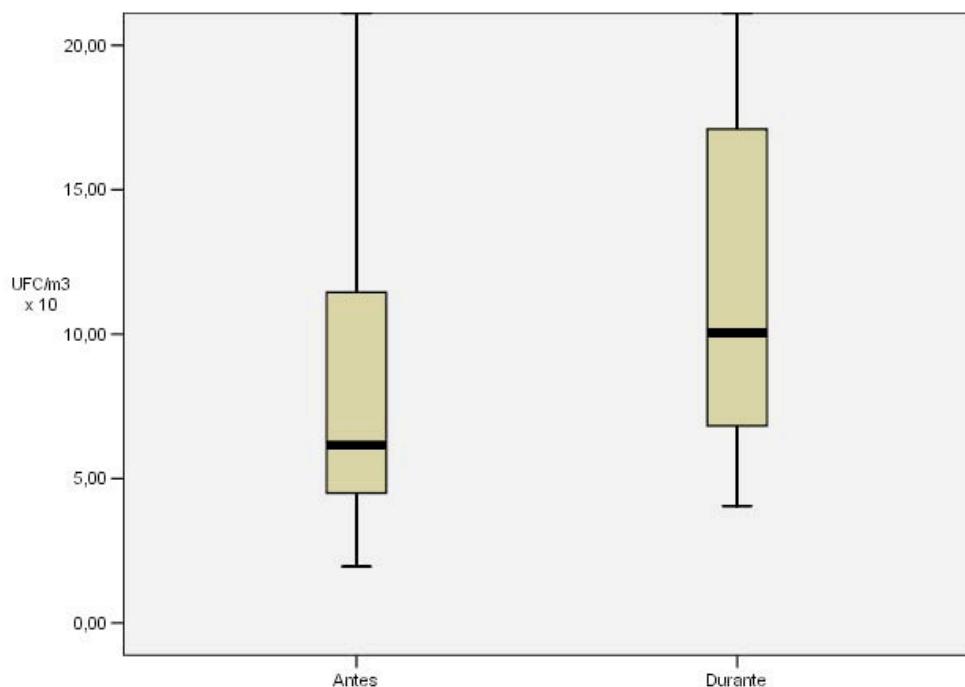
Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 37 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(33) Los resultados representados en la Figura 34R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ de Antes y Durante, resultado de muestreos realizados en Bellaterra, en todas las estaciones (Antes n=24; Durante n= 24)

Post scriptum: Por incompatibilidad de escala, el género *Cladosporium sp.*, fue apartado del gráfico donde están representados los demás géneros analizados, pese a haber sido analizado juntamente, y haber sido analizado con las mismas pruebas estadísticas.

Figura 35R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a los **niveles de UFC/m³ de *Cladosporium sp.*, encontrados en Bellaterra, contrastados entre Antes y Durante** ⁽³⁴⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados los niveles de UFC/m³ encontrados en Udimas cuando contrastados la carga fúngica de Antes y Durante, para *Cladosporium sp* (p=0,014) (Tabla: 36 - Anexo 7)

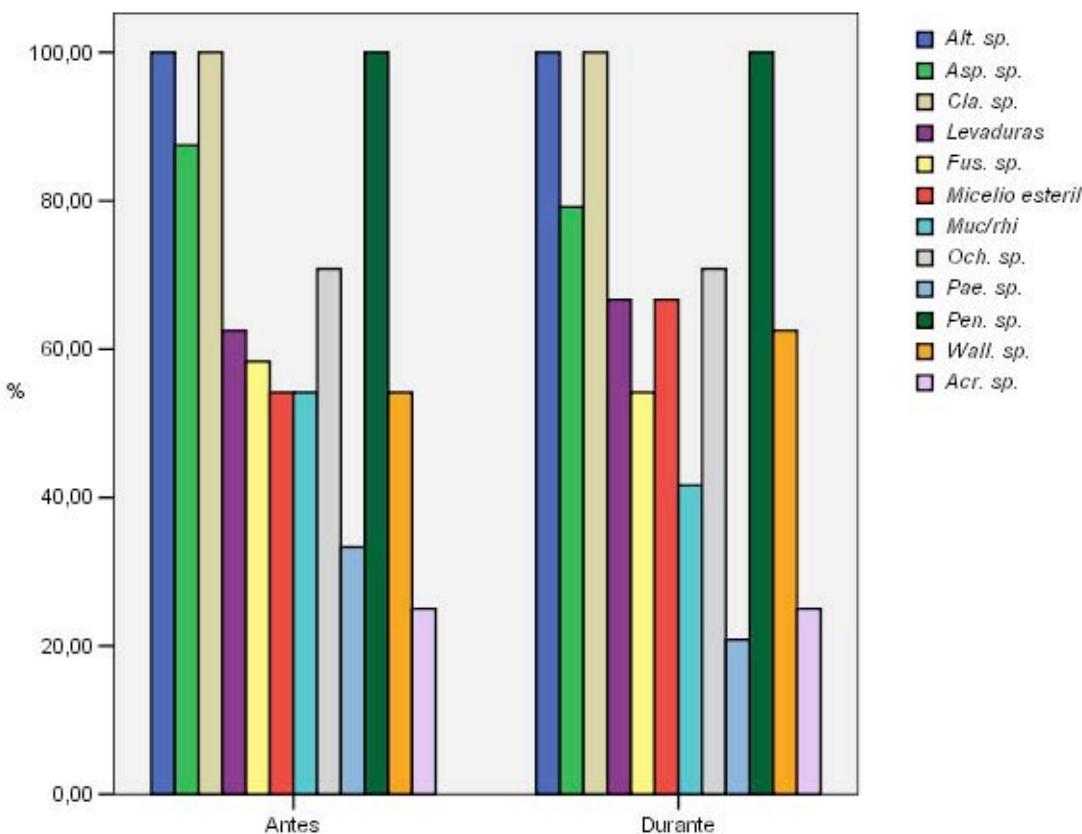
Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 37- Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(35) Los resultados representados en la Figura 35R corresponden a la suma de las medias aritméticas de las UFC/m³ de Antes y Durante, resultado de muestreos realizados en Bellaterra, corresponden a la suma de todas las estaciones (Antes n=24; Durante n= 24)

Post scriptum: este gráfico se corresponde con las Figura 34R, donde no se incluía en género *Cladosporium sp.* por incompatibilidad de escala.

Figura 36R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a las **prevalencias de 11 géneros más Micelio esteril, encontrados en Bellaterra, contrastados entre Antes y Durante** ⁽³⁵⁾



No se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las prevalencias de Antes y Durante, resultado del muestreo en Bellaterra para ninguna de las doce especies analizadas.

Los valres de prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 35 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(35) Los resultados representados en la Figura 36R corresponden a la prevalencia de Antes y Durante, resultado de muestreos realizados en Bellaterra, corresponden a la suma de todas las estaciones (Antes n=24; Durante n= 24)

4.2 Parte Segunda: Epidemiología:

4.2.1 Cuestionario:

Un total de 200 alumnos contestaron los cuestionarios.

Udimas:

Cien (100) alumnos de medicina, que atienden a las clases en Udimas, contestaron el Cuestionario (anexo x), representando un 42 % del total de estudiantes de medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona. De los cien, un 31% matriculado en el Tercer curso académico de Medicina, 19% en el cuarto, 27% en el quinto y 23% en la Unidad del IMAS.

La distribución por sexo de los que contestaron el cuestionario demuestra que un 70% eran mujeres y un 30% hombres.

La edad media de los alumnos encuestados en Udimas fue de: 22,8 años (+/-2,5).

Un 26% declaró ser fumador activo.

Bellaterra:

Cien (100) alumnos de medicina contestaron el Cuestionario (anexo x), representando un 17% del total de estudiantes de medicina de la UAB. De los cien, un 42% matriculado en el Primer curso académico de Medicina, y un 58% en el Segundo curso, en el Campus de Bellaterra.

La distribución por sexo de los que contestaron el cuestionario demuestra que un 71% eran mujeres y un 29% hombres.

La edad media de los alumnos encuestados en Bellaterra fue de 19,4 años (+/-2,4).

Un 21% contestó ser fumador activo

Figura 37R:

<p>QUESTIONARI SOBRE L'ESTUDI EPIDEMIOLÒGIC DELS FONGS AMBIENTALS EN LES AULES DE LA FACULTAT DE MEDICINA/UAB</p> <p>CUESTIONARIO SOBRE EL ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LOS HONGOS AMBIENTALES EN LAS AULAS DE LA FACULTAT DE MEDICINA/UAB</p> <p>El present qüestionari busca conèixer el possible impacte del nivell de fongs atmosfèrics que es troben en condicions normals dins de les aules ocupades pels estudiants de Medicina de la UAB. Aquest estudi compta amb el suport de les autoritats del Degànat i Coordinador de les Unitat implicades (Bellaterra i UDIMAS/Htal del Mar)</p> <p>El qüestionari és anònim i voluntari, però es prega que sigui degudament omplert i entregat a la persona encarregada de portar a terme l'estudi.</p> <p>QUESTIONARI/CUESTIONARIO</p> <p>Sexo H <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> Edad _____ años Código postal donde vives: _____ Curso _____</p> <p>¿Eres fumador/a? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Cuantos cigarrillos por dia: _____</p> <p>1. ¿Tienes el diagnóstico médico de padecer Alergia? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>1.1 Asma bronquial Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.2. Rinitis Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.3. Conjuntivitis Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.4. Eczema o urticaria Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.5 Otro (indicar) Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 1.6. ¿Te han especificado que alergenos te afectan?: hincarlos: _____</p> <p>2. Si has marcado NO en la anterior pregunta:</p> <p>2.1 ¿Presentas alguno de estos síntomas, fuera de procesos gripales o resfrios comunes? 2.2 Estornudos Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 2.3. Secretión abundante de moco nasal Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 2.4. Obstrucción o congestión nasal Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 2.5. Picor ocular Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 2.6. Lagrimeo Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 2.7. Dificultad para respirar con ruidos (pitidos) en el pecho Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> 2.8. Otros (indicar cuales): Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>3. En los últimos 12 meses cuando has presentado alguno de los síntomas anteriores?</p> <p>4. Los síntomas indicados ¿Dónde suelen presentarse con mayor frecuencia? 4.1. En ambientes exteriores <input type="checkbox"/> urbano <input type="checkbox"/> rural <input type="checkbox"/> 4.2. En ambientes interiores <input type="checkbox"/> casa <input type="checkbox"/> aulas <input type="checkbox"/></p> <p>5. ¿Tienes interés en que se te practiquen pruebas cutáneas del prick para determinar si eres alérgico? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si tienes interés por favor contactar con Mariana Buss: mbusscfontana@imim.es</p>	
--	--

Figura 38R y 39R: Prevalencia de Asma diagnosticada (Asma dg) y No diagnosticada (Asma no dg) en Udimas (n=100) y Bellaterra (n=100)



Referente a las Figuras 38R y 39R:

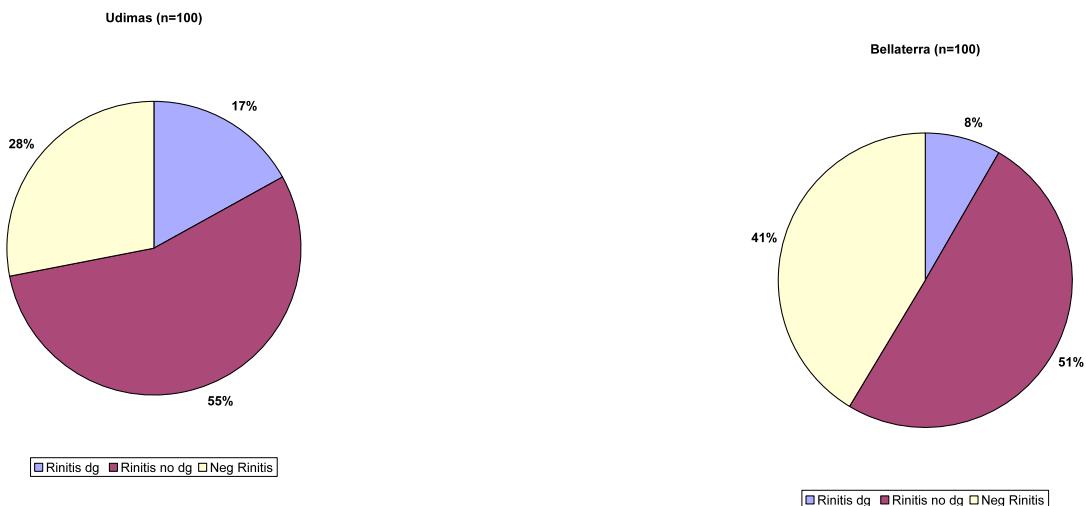
Para valorar la prevalencia de Asma Diagnosticada, se consideraron positivas las respuestas afirmativas a la pregunta 1.1 del Cuestionario (Figura 37R).

Para valorar la prevalencia de Asma No Diagnosticada: se consideraron positivas las respuestas afirmativas a la pregunta 2.7 del Cuestionario (Figura 37R)

Cuando comparadas las prevalencias de Asma Diagnosticada y No Diagnosticada en la población de Udimas (Figura 38R) y de Bellaterra (Figura 39R), no se ha encontrado significación estadística.

Para evaluar los contrastes entre variables cualitativas se utilizó la prueba *Chi Square* o la exacta de *Fisher*, en función de las condiciones de aplicación.

Figura 40R y 41R: Prevalencia de Rinitis diagnosticada (Rinitis dg) y No diagnosticada (Rinitis no dg) en Udimas (n=100) y Belaterra (n=100)



Referente a las Figuras 40R y 41R:

Para valorar la prevalencia de Rinitis Diagnosticada, se consideraron positivas las respuestas afirmativas a la pregunta 1.2 del Cuestionario (Figura 37R)

Para valorar la prevalencia de Rinitis No diagnosticada: se consideraron positivas una (1) o más respuesta(s) afirmativa(s) a la(s) pregunta(s) 2.2, 2.3, 2.4 del Cuestionario (Figura 37R).

Cuando comparadas las prevalencia de Rinitis Diagnosticada en la población de Udimas (Figura 40R) y de Bellaterra (Figura 41R), se ha encontrado significación estadística marginalmente significativa ($p=0,065$), siendo que la prevalencia en Udimas mayor que la de Bellaterra. Comparando las prevalencias de Rinitis No Diagnosticada en la población de Udimas (Figura 41R) y de Bellaterra (Figura 42R), no se ha encontrado significación estadística.

Para evaluar los contrastes entre variables cualitativas se utilizó la prueba *Chi Square* o la exacta de *Fisher* en función de las condiciones de aplicación.

Figura 42R y 43R: Prevalencia de Conjuntivitis diagnosticada (Conjuntivitis dg) y No diagnosticada (Conjuntivitis no dg) en Udimas (n=100) y Bellaterra (n=100)



Referente a las Figuras 42R y 43R:

Para valorar la prevalencia de Rinitis Diagnosticada, se consideraron positivas las respuestas afirmativas a la pregunta 1.3 del Cuestionario (Figura 37R).

Para valorar la prevalencia de Rinitis No diagnosticada: se consideraron positivas para una (1) o más respuesta(s) afirmativa(s) a la(s) pregunta(s) 2.2, 2.3, 2.4 del Cuestionario (Figura 37R).

Cuando comparadas las prevalencias Conjuntivitis Diagnosticada en la población de Udimas (Figura 42R) y de Bellaterra (Figura 43R), se ha encontrado una significancia estadística ($p=0,022$), siendo que la prevalencia en Udimas mayor que la de Bellaterra. Comparando la prevalencia Conjuntivitis No Diagnosticada de Udimas (Figura 42R) y de Bellaterra (Figura 43R), se ha encontrado una significancia estadística marginalmente significativa ($p=0,56$), siendo que la prevalencia en Bellaterra es mayor que en Udimas.

Para evaluar los contrastes entre variables cualitativas se utilizó la prueba *Chi Square* o la exacta de *Fisher* en función de las condiciones de aplicación.

Figura 44R y 45R: Prevalencia de Eccema diagnosticada (Eccema dg) en Udimas (n=100) y Bellaterra (n=100)



Referente a las Figuras 44R y 45R:

Para valorar la prevalencia de Eccema Diagnosticada, se consideraron positivas las respuestas afirmativas a la pregunta 1.4 del Cuestionario (Figura 37R)

En el Cuestionario no existen preguntas para valorar la prevalencia de Eccema no diagnosticada.

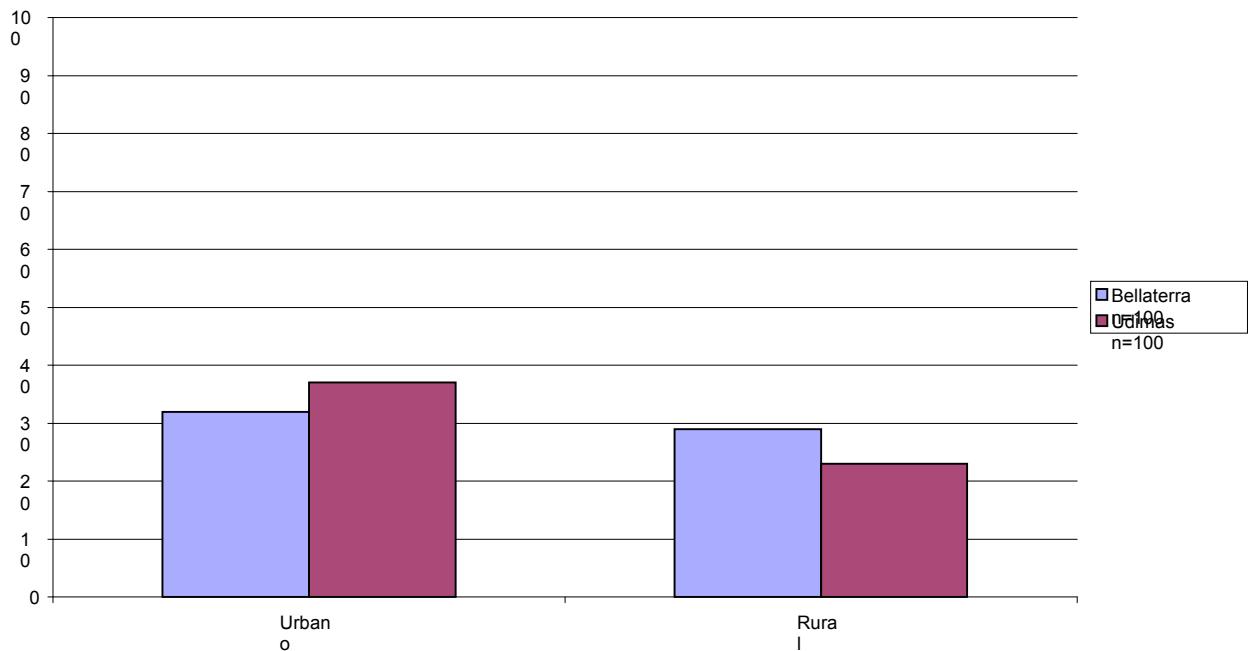
Para evaluar los contrastes entre variables cualitativas se utilizó la prueba Chi Square o la exacta de Fisher en función de las condiciones de aplicación.

Comparando la prevalencia de los casos de Eccema diagnosticada de Udimas (Figura 44R) y Eccema diagnosticada de Bellaterra (Figura 45R), no se ha encontrado significancia estadística.

Tabla 38: Resumen entre las prevalencias (en %) de los casos diagnosticados, no diagnosticados y Negativo.

		Udimas	Bellaterra	media
Asma	diag.	8	11	9,5
	no Diag.	6	6	6
	Neg	86	83	
Rinitis	diag.	17	8	12,5
	NoDiag.	28	41	34
	Neg	55	51	
Conjuntivitis	diag.	15	5	10
	no Diag.	38	52	45
	Neg	47	43	
Eccema	diag.	7	6	6,5
	no Diag.	-	-	
	Neg	93	94	

Figura 46R: Representación gráfica de la prueba estadística referente a la **prevalecia de respuestas afirmativas respecto a manifestación de síntomas alérgicos en ambientes exteriores (Urbano/Rural)**

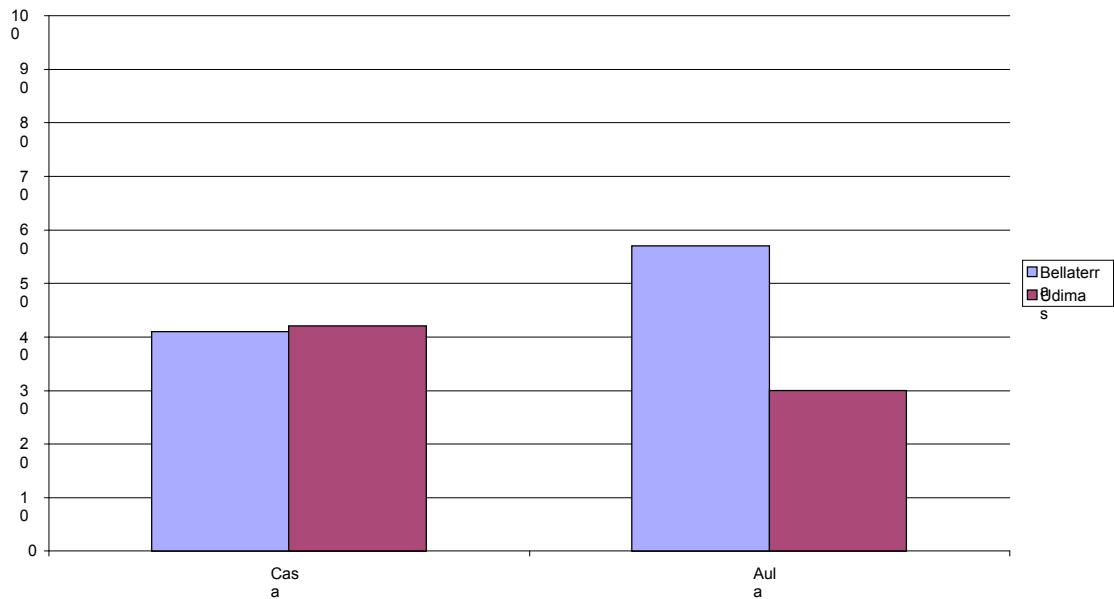


En este gráfico se representan valores afirmativos a las preguntas 4.1.1 (Urbano) y 4.1.2 (Rural) del Cuestionario (Figura 37R).

Al comparar la prevalencia de respuestas positivas para las manifestaciones de síntomas alérgicos entre los dos ambientes de exterior, entre las poblaciones de Udimas y Bellaterra (Figura 46R) no se encuentran valores con significancia estadística.

Para evaluar los contrastes entre variables cualitativas se utilizó la Prueba *Chi Square* o la exacta de *Fisher* en función de las condiciones de aplicación.

Figura 47R: Representación gráfica de la prueba estadística referente a la **prevención de respuestas afirmativas respecto a manifestaciones de síntomas alérgicos en ambientes interiores (Casa/ Aulas)**



En este gráfico se representan valores afirmativos a las preguntas 4.2.1 (Casa) y 4.2.2 (Aulas) de Cuestionario (Figura 37R)

Al comparar la prevalencia entre Bellaterra y Udimas en el ambiente interior: Casa (Figura 47R) no se encuentran valores con significancia estadística.

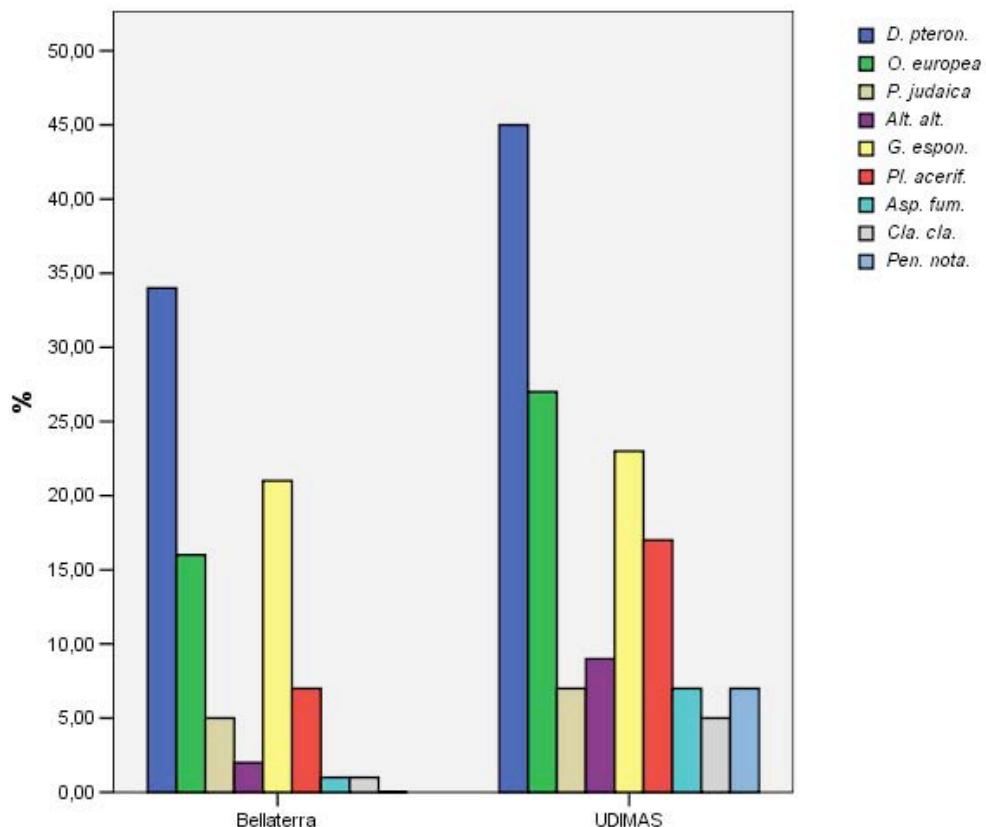
Al comparar la prevalencia de respuestas positivas para las manifestaciones de síntomas alérgicos entre los dos ambientes de interior, entre las poblaciones de Udimas y Bellaterra (Figura 46), se observa significación estadística ($p<0,001$), siendo que en Bellaterra la prevalencia de respuestas afirmativas referente a manifestaciones alérgicas en el ambiente interior Casa es superior que en Udimas.

Para evaluar los contrastes entre variables cualitativas se utilizó la Prueba *Chi Square* o la exacta de *Fisher* en función de las condiciones de aplicación.

4.2.2 Pruebas *in vivo*: Skin Prick Test (SPT)

Figura 48R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a **prevalencia de sujetos sensibilizados en Bellaterra y Udimas, frente a los 9 extractos alergénicos analizados por el método *in vivo* (SPT)**⁽⁴⁵⁾

Criterio de positividad: reactividad de los extractos alergénicos respecto a la histamina, considerando positivos los Grados 1, 2,3 y 4 (Materiales y Métodos)



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados la prevalencias de sujetos sensibilizados en Bellaterra y Udimas, para los extractos alergénicos: *Alternaria alternata* ($p=0,030$, Prevalencias: Bellaterra: 2%; Udimas: 9%); *Platanus acerifolia* ($p=0,030$; Prevalencias: Bellaterra: 7%; Udimas: 17%) y *Penicillium notatum* ($p=0,07$); Prevalencias: Bellaterra: 0%; Udimas: 7%). Se ha comprobado que existe significación estadística marginalmente significativa para los extractos alergénicos: *Olea europaea*: $p=0,058$ (Prevalencias: Bellaterra 16%; Udimas: 27%) y para *Aspergillus fumigatus*: ($p=0,065$; Prevalencias: Bellaterra: 1%, Udimas: 7%), siendo las prevalencias en Bellaterra inferiores a las de Udimas.

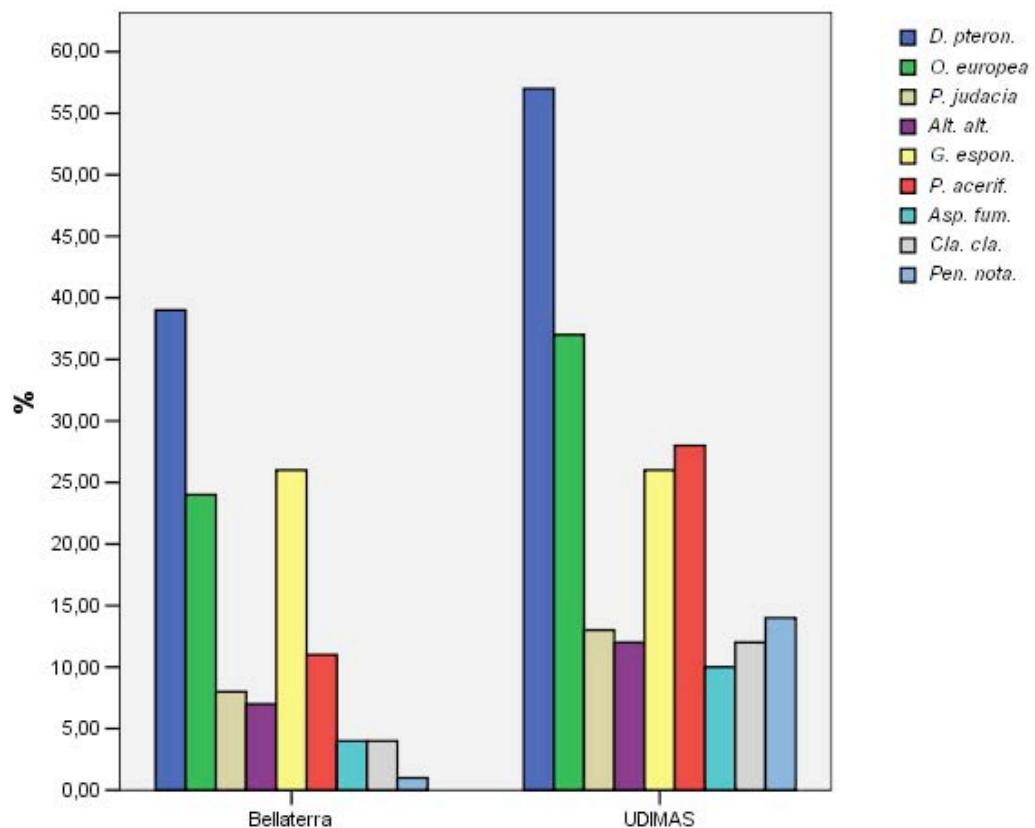
Las prevalencias y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 39 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi –Square* para los contrastes de las variables.

(45) Los resultados representados en la Figura 48R corresponden a la prevalencia de sujetos sensibilizados a los 9 extractos alergénicos testados, en Udimas y Bellaterra, utilizando como criterio de positividad la reactividad de los extractos alergénicos respecto a la histamina , considerando positivos los Grados 1, 2, 3, y 4..(Fórmula Materiales y Métodos) (Bellaterra n=100; Udimas n=100).

Figura 49R: Histograma correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a **prevalencia de sujetos sensibilizados en Bellaterra y Udimas, frente a 09 extractos alergénicos analizados por el método *in vivo* (SPT)**⁽⁴⁶⁾

Criterio de positividad: reactividad de los alergenos, considerándose positivo la manifestación de pápula/ eritema con superficie $\geq 9\text{mm}^2$ (Materiales y Métodos)



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastadas las prevalencias de sujetos sensibilizados en Bellaterra y Udimas, para los extractos alergénicos: *D. pteronyssinus* ($p=0,011$, Prevalencias: Bellaterra: 39%; Udimas: 57%); *Olea europaea* ($p=0,046$; Prevalencias: Bellaterra: 24%; Udimas: 37%); *Platanus acerifolia* ($p=0,002$; Prevalencias: Bellaterra: 11%; Udimas: 28%); *Cladosporium cladosporioides* ($p= 0,037$; Prevalencias: Bellaterra: 4%; Udimas: 12%); *Penicillium notatum* ($p<0,001$; Prevalencias: Bellaterra: 1%; Udimas: 14%) Siendo las prevalencias en Bellaterra inferiores a las de Udimas.

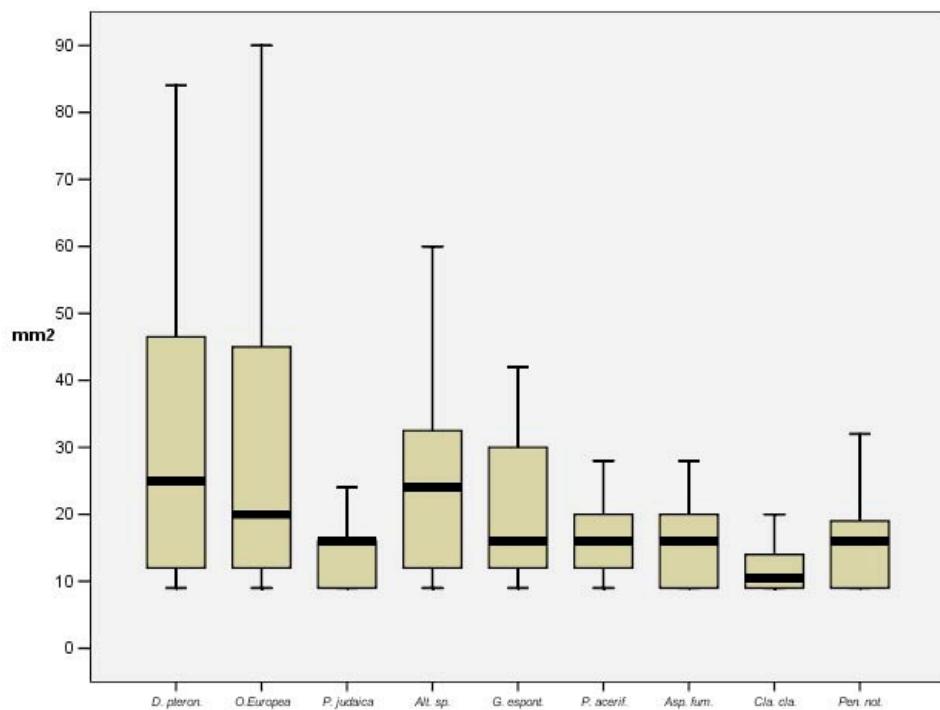
Las prevalencia y valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 40 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi -Square* para los contrastes de las variables.

(45) Los resultados representados en la Figura 49R corresponden a la prevalencia de sujetos sensibilizados a los 09 extractos alergénicos testados, en Udimas y Bellaterra, utilizando como criterio de positividad la reactividad de los extractos alergénicos, considerando-se positivo la manifestación de pápula con superficie $\geq 9\text{mm}^2$. (Bellaterra n=100; Udimas n=100).

Figura 50R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica descriptiva de las **superficies de las pápulas/eritema** respecto a la reactividad de los 9 extractos alergénicos y las prevalencias de sujetos sensibilizados a los mismos⁽⁴⁷⁾

Criterio de positividad: reactividad de los alergenos, considerándose positivo la manifestación de pápula/ eritema con superficie $\geq 9\text{mm}^2$ (Materiales y Métodos)



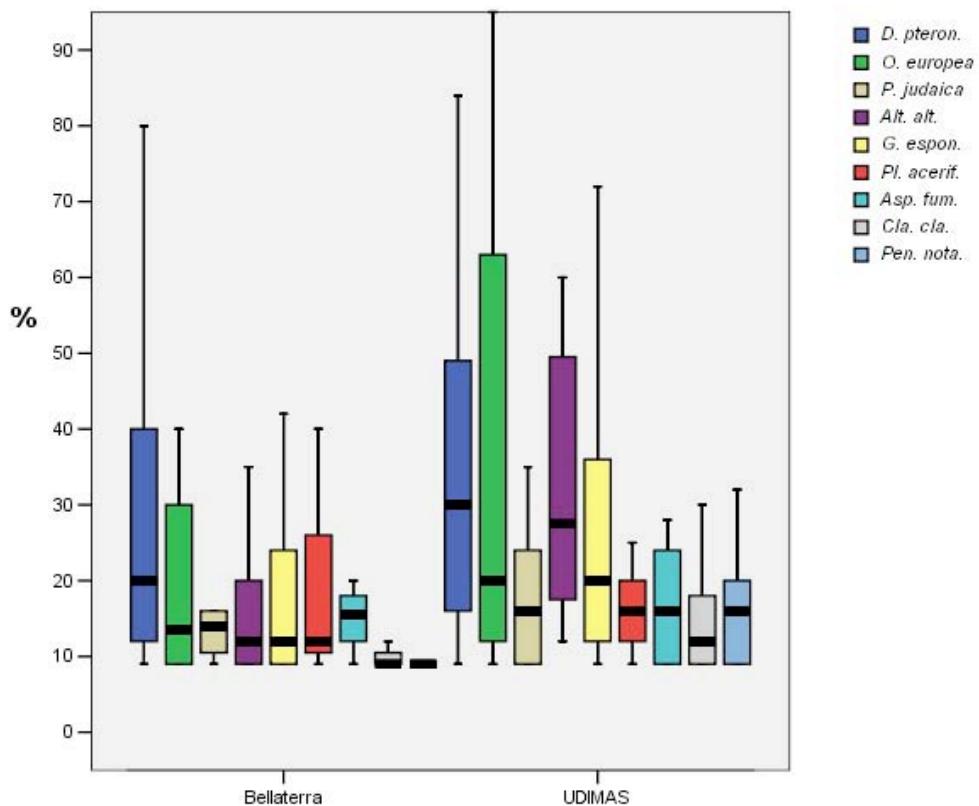
Los extractos alergénicos pueden ordenarse según el tamaño medio de las papulas que han generado (de mayor a menor): *D. pteronyssinus* (d1) (P50: 25mm^2); *Alternaria alternata* (m6) (P50= 24mm^2), *Olea europea* (t9) (P50= 20mm^2), seguidos de *Parietaria judaica* (w21) (16mm^2), *Gramineas espontaneas* (g6), *Platanus acerifolia* (pl), *Aspergillus fumigatus* (as) y *Penicillium notatum* (pn) (P50: 16 mm^2) seguidos de *Cladosporium cladosporioides* (cl) (P50: 10mm^2). También pueden ordenarse según las prevalencias (en %, n=200) de sujetos sensibilizados (de mayor a menor): *D. pteronyssinus* (d1) (48%), *Olea europea* (t9) (30,5%), *Gramineas espontaneas* (g6) (26%), *Platanus acerifolia* (pl) (19,5%), *Parietaria judaica* (w21) (10,5%), *Alternaria alternata* (m6) (9,5%), *Cladosporium cladosporioides* (cl) (8%), *Penicillium notatum* (pn) (7,5%), *Aspergillus fumigatus* (as) (7%).

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 41 - Anexo 7.

(47) Los resultados representados en la Figura 50R corresponden a las medias de las superficies del area de los 9 extractos alergénicos de los sujetos sensibilizados, de Udimas más Bellaterra, utilizando como criterio de positividad la reactividad de los extractos alergénicos , considerándose positivo la manifestación de pápula con superficie $\geq 9\text{mm}^2$. (n=200)

Figura 51R: Diagrama de Cajas correspondiente a la representación gráfica de la prueba estadística referente a las medias de las pápulas (em mm²) de los **sujetos sensibilizados en Bellaterra y Udimas**, frente a 09 extractos alergénicos **analizados por el método *in vivo* (SPT)** ⁽⁴⁸⁾

Criterio de positividad: reactividad de los alergenos, considerandose positivo la manifestación de pápula/ eritema con superficie $\geq 9\text{mm}^2$ (Materiales y Métodos)



Se ha comprobado que existe significación estadística cuando contrastados las medias de las superficies de los halos (em mm²) encontrados en Bellaterra y Udimas, para los extractos alergénicos: *Olea europaea* (t9) ($p=0,043$); *Aternaria alternata* (m6) ($p=0,022$), *Gramíneas espontaneas* (g6) ($p=0,019$). Siendo las medias de la superficie de los halos en Bellaterra inferiores a las de Udimas. (Tabla 42 - Anexo 7)

Los valores de los percentiles 25, 50, 75, se presentan en la Tabla 43 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba de *Mann. Whitney- Wilcoxon* para los contrastes de las variables.

(48) Los resultados representados en la Figura 51R corresponden a la media de la superficie de los halos de sujetos sensibilizados a los 9 extractos alergénicos testados, en Bellaterra y Udimas, utilizando como criterio de positividad la reactividad de los extractos alergénicos y considerándose positivo la manifestación de pápula con superficie $\geq 9\text{mm}^2$. (Bellaterra n=100; Udimas n=100).

Los extractos alergénicos pueden ordenarse según el tamaño medio de las papulas que han generado (de mayor a menor): Bellaterra: *D. pteronyssinus* (d1) ; *Aspergillus fumigatus* (as); *Parietaria judaica* (w21); *Olea europea* (t9); seguido de, *Alternaria alternata* (m6)/*Gramineas espontaneas* (g6)/*Platanus acerifolia* (pl); *Cla. cladosporioides* (cl)/*Penicillium notatum* (pn); mientras que en Udimas: *D. pteronyssinus* (d1); *Alternaria alternata* (m6); *Olea europea* (t9)/*Gramineas espontaneas* (g6); *Parietaria judaica* (w21)/*Platanus acerifolia* (pl)/ *Aspergillus fumigatus* (as)/ *Penicillium notatum* (pn); seguidos de *Cladosporium cladosporioides* (cl). Los porcentajes están descritos en la Tabla 43- Anexo 7.

En la tabla 44 están ordenados según las prevalencias (en %):

Tabla 44: Ranking de prevalencia referente al número de sujetos sensibilizados en Bellaterra (n=100) y Udimas (n=100).⁽⁴⁹⁾

Ranking:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Extracto:	d1	g6	t9	pl	w21	m6	as	cl	pn
Nº individuos en Bellaterra	39	26	24	11	8	7	4	4	1
% (n=100)	39%	26%	24%	11%	8%	7%	4%	4%	1%
Ranking:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Extracto:	d1	t9	pl	g6	pn	w21	m6	cl	as
Nº individuos en Udimas	57	37	28	26	14	13	12	12	10
% (n=100)	57%	37%	28%	26%	14%	13%	12%	12%	10%

(49): **Códigos:** **d1:** *Dermatophagoides pteronissinus*, **t9:** *Olea europea*; **w21:** *Parietaria judaica*; **m6:** *Alternaria alternata*; **g6:** *Gramineas espontaneas*; **pl:**

Platanus acerifolia; **as:** *Aspergillus fumigatus*; **cl:** *Cladosporium sp.*; **Pn:** *Penicillium notatum*

Figura 52R: Representación grafica de las Prevalencias de los grados 1, 2, 3 y/o 4, (cuando presentes), de los 9 extractos alergénicos testados por la prueba *in vivo* (SPT) ⁽⁵⁰⁾



Tabla 45: Valores correspondientes a la Figura 52R:

Extracto alergénico:	Grado 1 (%)	Grado 2(%)	Grado 3 (%)	Grado 4 (%)	Negativo
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	15,5	13,0	7,5	3,5	61
<i>Olea europaea</i> (t9)	7,5	5,5	5,5	3,0	79
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	4,0	1,5	0	0,5	94
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	2,0	1,5	1,5	0,5	95
<i>Gramíneas espontáneas</i> (g6)	12,5	5,5	3,0	1,0	78
<i>Platanus acerifolia</i> (pl)	8,0	3,0	1,0	0	88
<i>Aspergillus</i> sp (as)	3,5	0	0,5	0	96
<i>Cladosporium</i> sp. (cl)	2,0	1,0	0	0	97
<i>Penicillium</i> sp. (pn)	2,0	1,0	0,5	0	97
media	6,3%	3,5%	2,1%	0,95%	

(50) Los resultados representados en la Figura 52R corresponden a las prevalencias de los grados 1, 2, 3 y/o 4 de cada alergeno, correspondiente a la población general analizada. Se ha utilizando como criterio de positividad la reactividad de los extractos alergénicos respecto a la histamina, considerando positivos los Grados 1, 2, 3, y 4 (Fórmula: Materiales y Método), (n=200

Figura 53R: Representación grafico de las Prevalencias de los Grados 1, 2, 3 y/o 4) (cuando presentes), de los 9 extractos alergénicos testados por la prueba *in vivo* (SPT) en Bellaterra (B) y Udimas (U)⁽⁵¹⁾



Valores representativos para cada una de las dos poblaciones analizadas (Bellaterra n=100 y Udimas n=100)

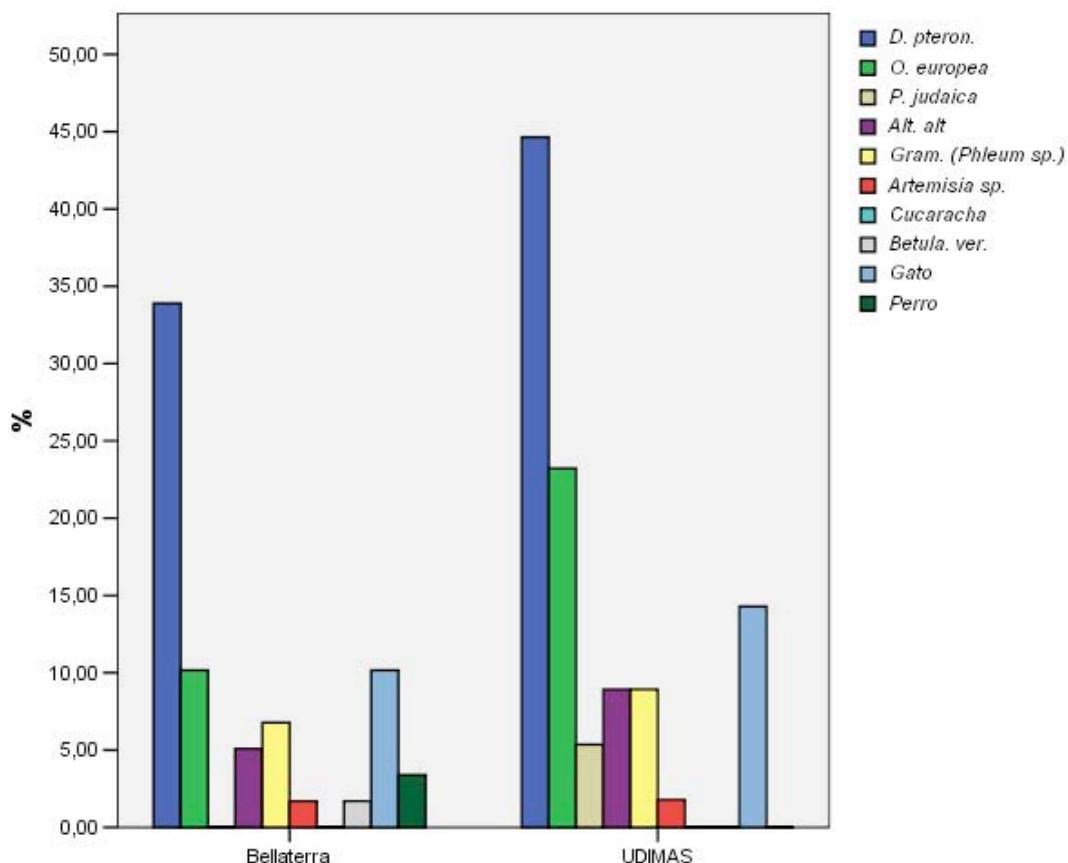
Tabla 46: Valores correspondientes a la Figura 53R:

Extracto alergénico:	Centro	Grado 1 (%)	Grado 2 (%)	Grado 3 (%)	Grado 4 (%)	Negativo
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	Bellaterra	12	13	6	3	66
	UDIMAS	19	13	9	4	55
<i>Olea europaea</i> (t9)	Bellaterra	7	3	4	2	84
	UDIMAS	8	8	7	4	73
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	Bellaterra	4	1	0	0	95
	UDIMAS	4	2	0	1	93
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	Bellaterra	0	1	1	0	98
	UDIMAS	4	2	2	1	91
<i>Gramíneas espontáneas</i> (g6)	Bellaterra	11	7	3	0	79
	UDIMAS	14	4	3	2	77
<i>Platanus acerifolia</i> (pl)	Bellaterra	4	2	1	0	93
	UDIMAS	12	4	1	0	83
<i>Aspergillus sp</i> (as)	Bellaterra	1	0	0	0	99
	UDIMAS	6	0	1	0	93
<i>Cladosporium sp.</i> (cl)	Bellaterra	1	0	0	0	99
	UDIMAS	3	2	0	0	95
<i>Penicillium sp.</i> (pn)	Bellaterra	0	0	0	0	100
	UDIMAS	4	2	1	0	93

(51) Los resultados representados en la Figura 53R corresponden a las prevalencias de los grados 1, 2, 3 y/o 4 de cada alergeno, correspondiente a la población de Bellaterra (B) y Udimas (U). (Fórmula: Materiales y Método). (B: n=100; U: n=100).

4.2.3 Pruebas *in vitro*: *ImmunoCAPTM Rapid*

Figura 54R: IgE: Representación gráfica de la comparación entre la prevalencia de sujetos sensibilizados en Bellaterra y Udimas, frente a los 10 extractos alergénicos analizados por el método *in vitro* (IgE *ImmunoCAPTM Rapid*) y prueba estadística.⁽⁵²⁾



Se ha comprobado que existe significación estadística marginalmente significativa para cuando contrastados las prevalencias de sujetos sensibilizados en Bellaterra y Udimas para *Olea europea* (t_9) ($p=0,060$), siendo la prevalencia de en Udimas superior a la de Bellaterra.

Los valores de la prueba estadística están descritos en la Tabla 47 - Anexo 7.

Se utilizó la prueba *Chi -Square* para los contrastes de las variables.

(52) Los resultados representados en la Figura 54R corresponden a las prevalencias de cada alérgeno, correspondiente a la población de Bellaterra (B) u Udimas (U). Se ha utilizando como criterio de positividad la reactividad de los extractos alergénicos respecto a la intensidad del color de la tira correspondiente al alérgeno (B: n=51; U: n=149).

Figura 55R: Representación grafica de la prevalencia de los diferentes grados (2, 3, 4,5 y/o 6 (cuando presentes) frente a los 10 extractos alergénicos testados por la prueba *in vitro* (*ImmunoCAPTM Rapid*), sugiriendo una análisis semi-cuantitativa. Valores representativos de toda la población analizada (n=114) ⁽⁵³⁾

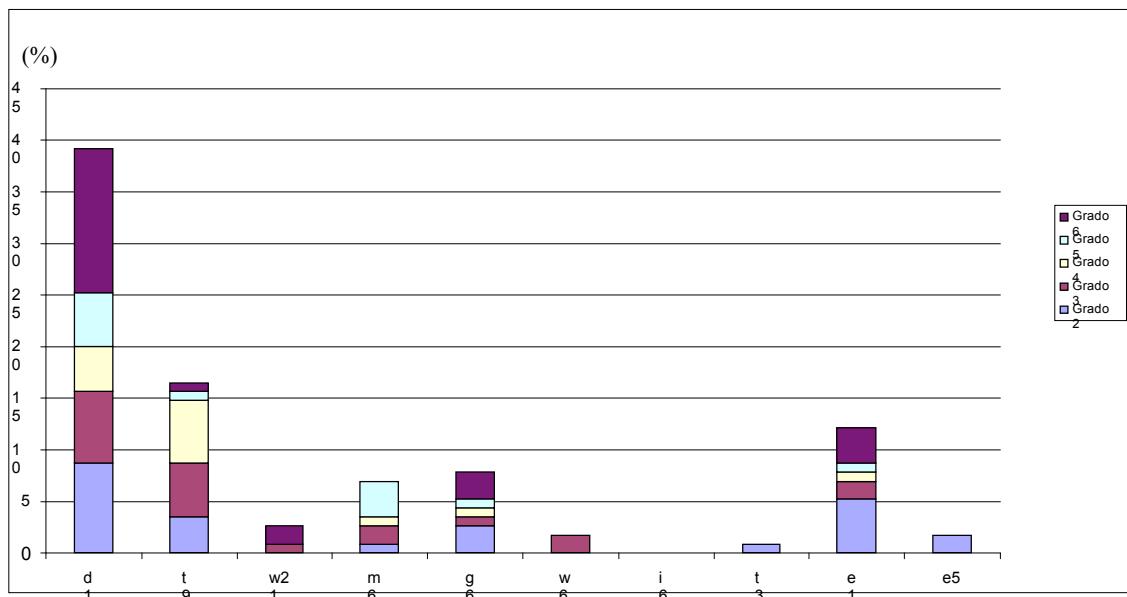


Figura 56R: IgE: Representación grafico de la prevalencia de los diferentes grados (2, 3, 4,5 y/o 6: cuando presentes), frente a los 10 extractos alergénicos testados por la prueba *in vitro* (*ImmunoCAPTM Rapid*). Valores representativos para cada una de las dos poblaciones analizadas (Bellaterra n=58 y Udimas n=56) ⁽⁵³⁾

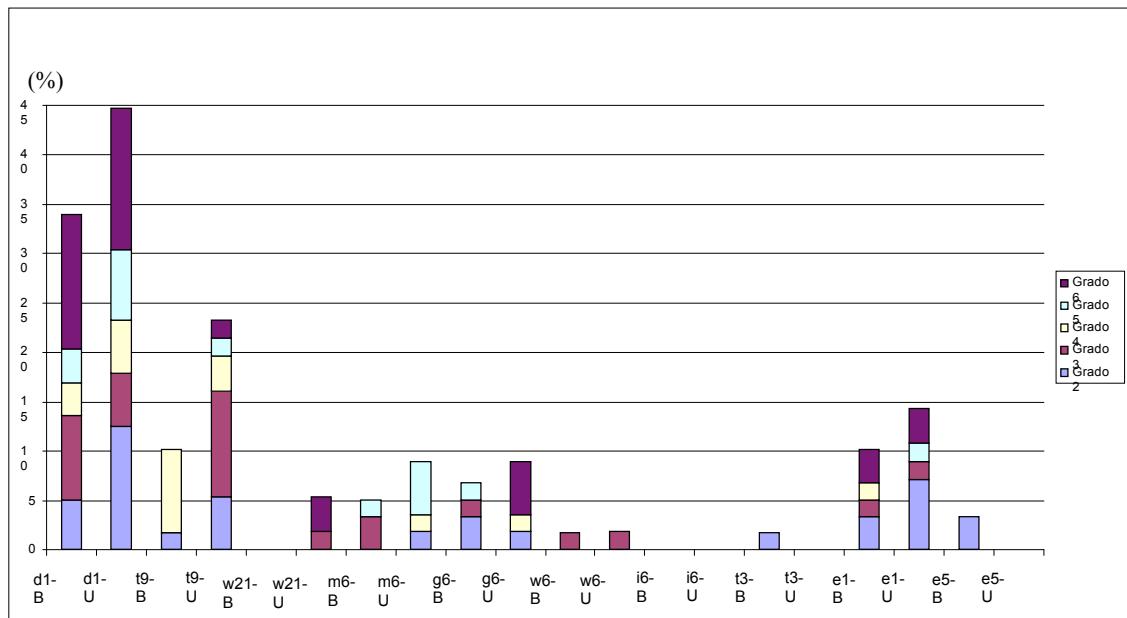
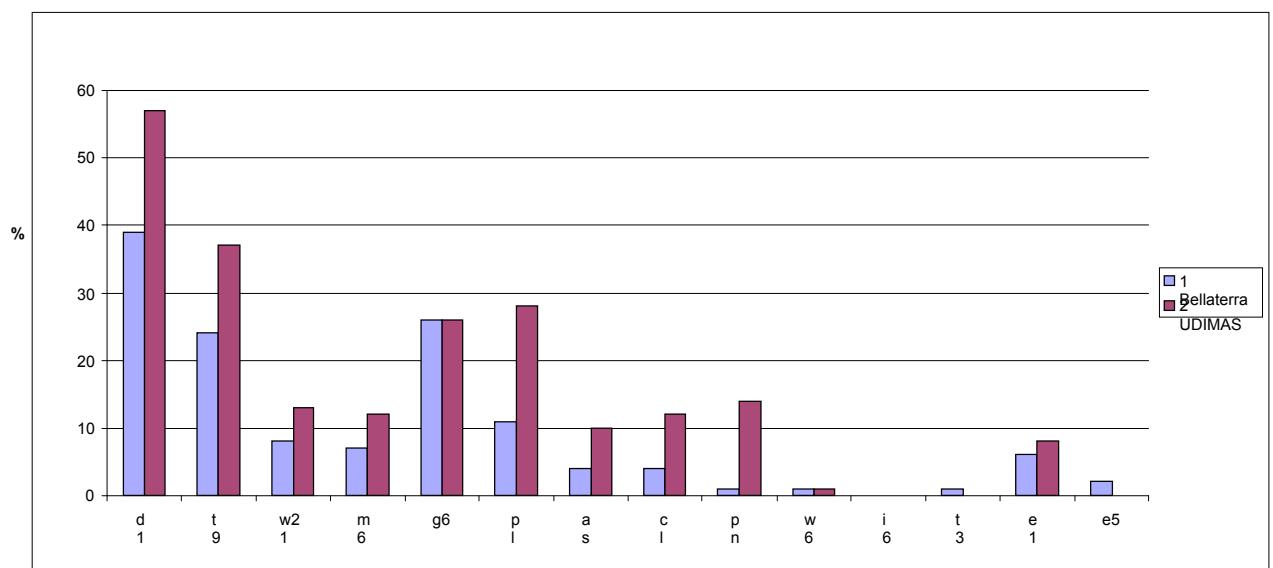


Figura 57R: Representación Gráfica de las prevalencias de los sensibilizados en Udimas y Bellaterra frente a los 14 alergenos testados (*in vivo e in vitro*)⁽⁵³⁾



(53) Consideraciones sobre los códigos: d1: *D. pteronissynus*; t9: *Olea europea*; w21: *Par. judaica*; m6: *Alt. alternata*; g6: *Grmanieas (Phleum sp.)*; w6: *Art.sp.*; i6: Cucaracha; t3: *Betula verrucosa*; e1: Gato (epitelio y caspa); e5: perro (caspa). Las Letras U:dimas y B:Bellaterra.

4.2.4 Prevalencias de mono y polisensibilizaciones en las técnicas *in vivo* e *in vitro*

4.2.4.1 Skin Prick Test: (Criterio de positividad grados 1, 2, 3 y 4):

Figura 58R: Prevalencia de Positividad y negatividad de la población total analizada por SPT (n=200)

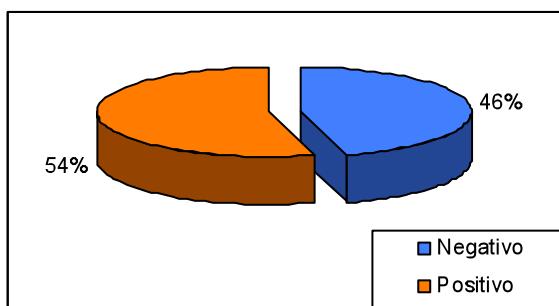


Figura 59R: Prevalencia de Mono y polisensibilizaciones entre la población total “Positiva” analizada por SPT (n=108)

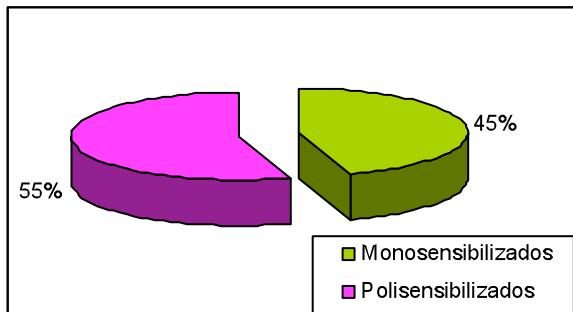
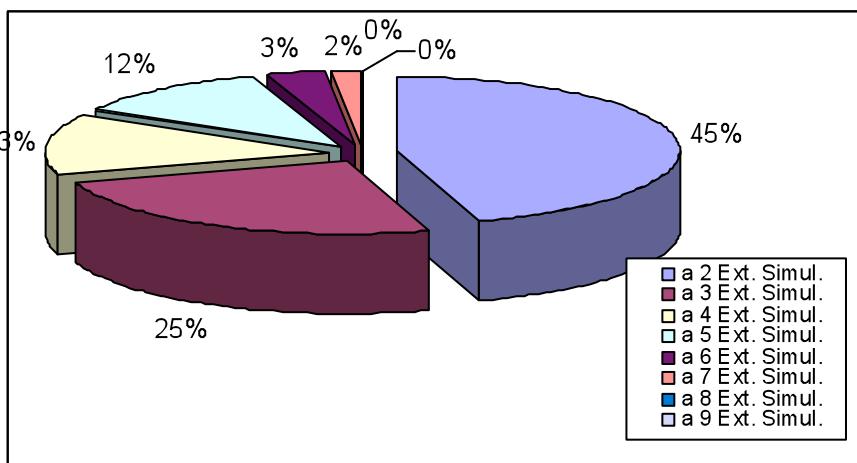


Figura 60R: Prevalencia de la simultaneidad entre los Polisensibilizados de la población total analizada por SPT (n=200)



Udimas: n=100

Figura 61R: Prevalencia de Positividad y Negatividad de la población de Udimas analizada por SPT (n=100)

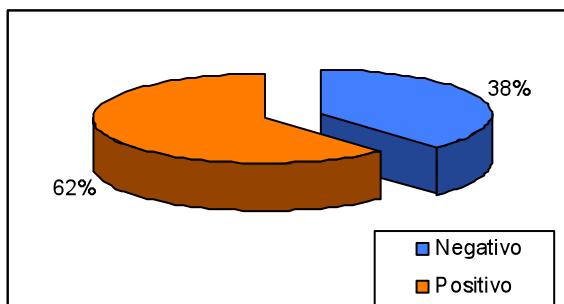


Figura 62R: Prevalencia de Mono y Polisensibilizaciones entre la población “Positiva” de Udimas, analizada por SPT (n=62)

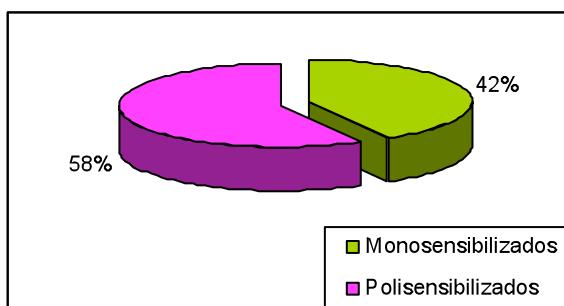
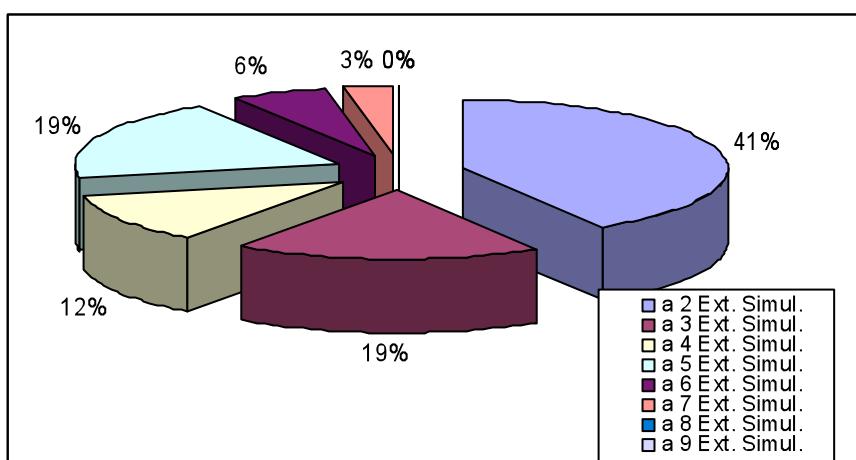


Figura 63R: Prevalencia de simultaneidad entre los Polisensibilizados de la población de Udimas analizada por SPT (n=36)



Bellaterras n=100

Figura 64R: Prevalencia de Positividad y Negatividad de la población de Bellaterra analizada por SPT (n=100)

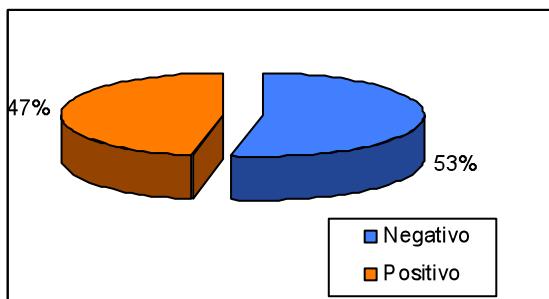


Figura 65R: Prevalencia de Mono y Polisensibilizados en la población de Bellaterra "Positiva" analizada con SPT (n=100)

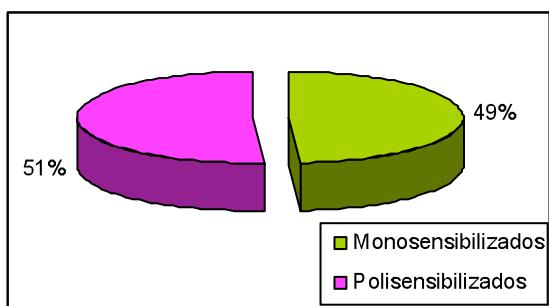
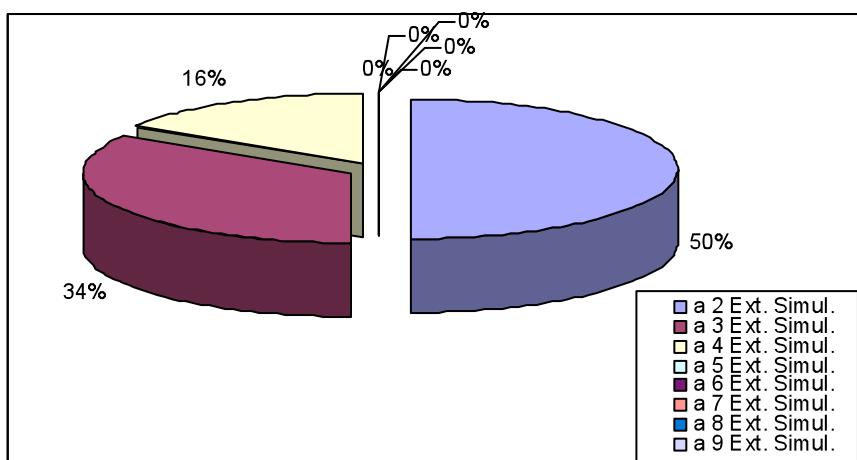


Figura 66R: Prevalencia de la simultaneidad de los Polisensibilizados de la población de Bellaterra analizada por SPT (n=100)



4.2.4.2 Skin Prick Test: (Criterio de positividad eritema/pápula $\geq 9\text{mm}^2$):

Udimas: n=100

Figura 68R: Prevalencia de Positividad y Negatividad de la población de Udimas analizada por SPT (n=100) (Criterio de positividad eritema/pápula $\geq 9\text{mm}^2$):

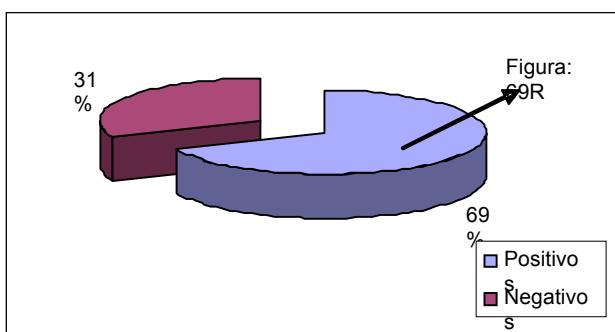


Figura 69R: Prevalencia de Mono y Polisensibilizaciones entre la población “Positiva” de Udimas, analizada por SPT (n=69)

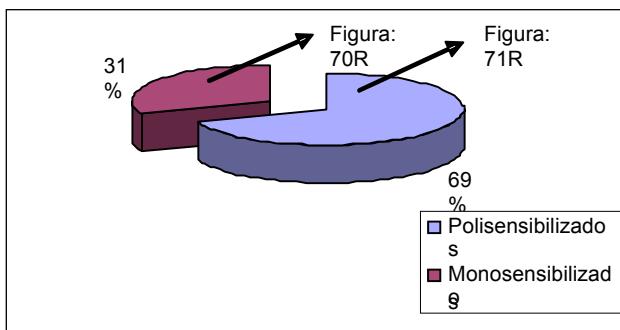


Figura 70R: Prevalencias entre los Monosensibilizados en Udimas (n=21)

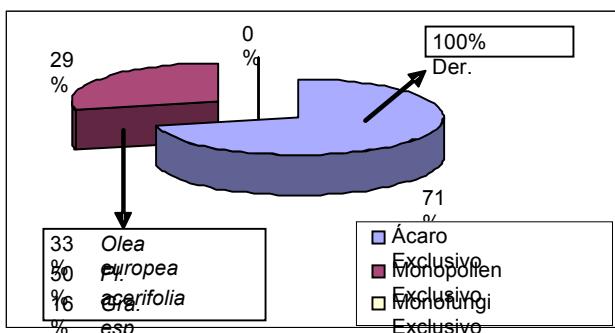
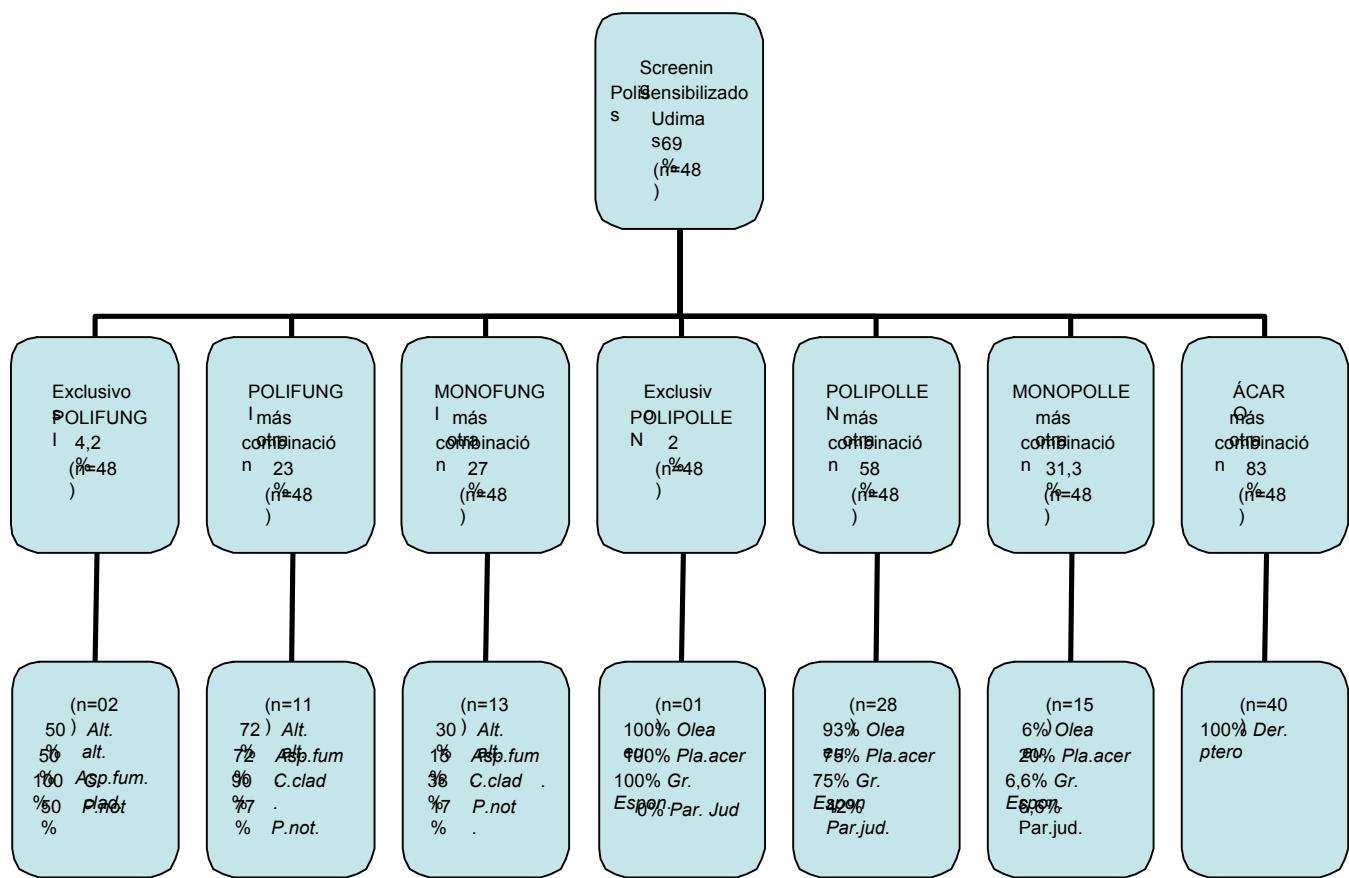


Figura 71R: Organigrama con las prevalencias discriminadas entre los Polisensibilizados en Udimas (n=48)⁽⁵⁴⁾



(54) Consideraciones sobre los códigos: Polifungi: más de un hongo, Monofungi: solo un hongo, Polipolen: más de un pólen, Mono polen: apenas a un polen.

Bellaterra: n=100

Figura 72R: Prevalencia de Positividad y Negatividad de la población de Bellaterra analizada por SPT (n=100) (Criterio de positividad eritema/pápula $\geq 9\text{mm}^2$):

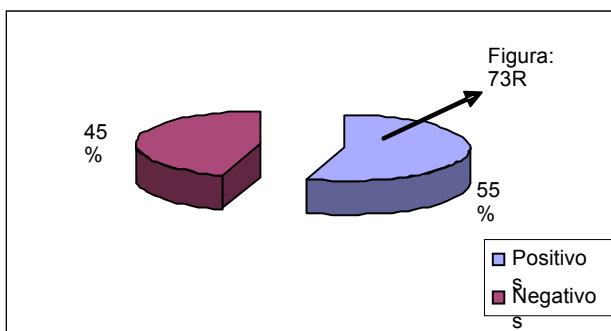


Figura 73R: Prevalencia de Mono y Polisensibilizaciones entre la población “Positiva” de Bellaterra, analizada por SPT (n=56)

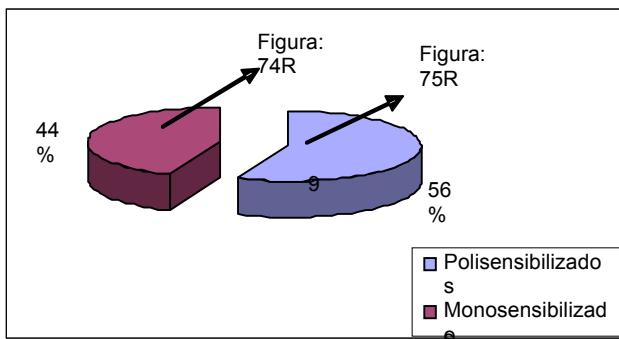


Figura 74R: Prevalencias entre los Monosensibilizados en Bellaterra (n=24)

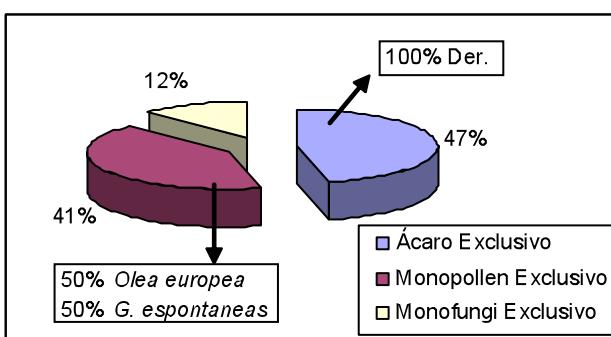
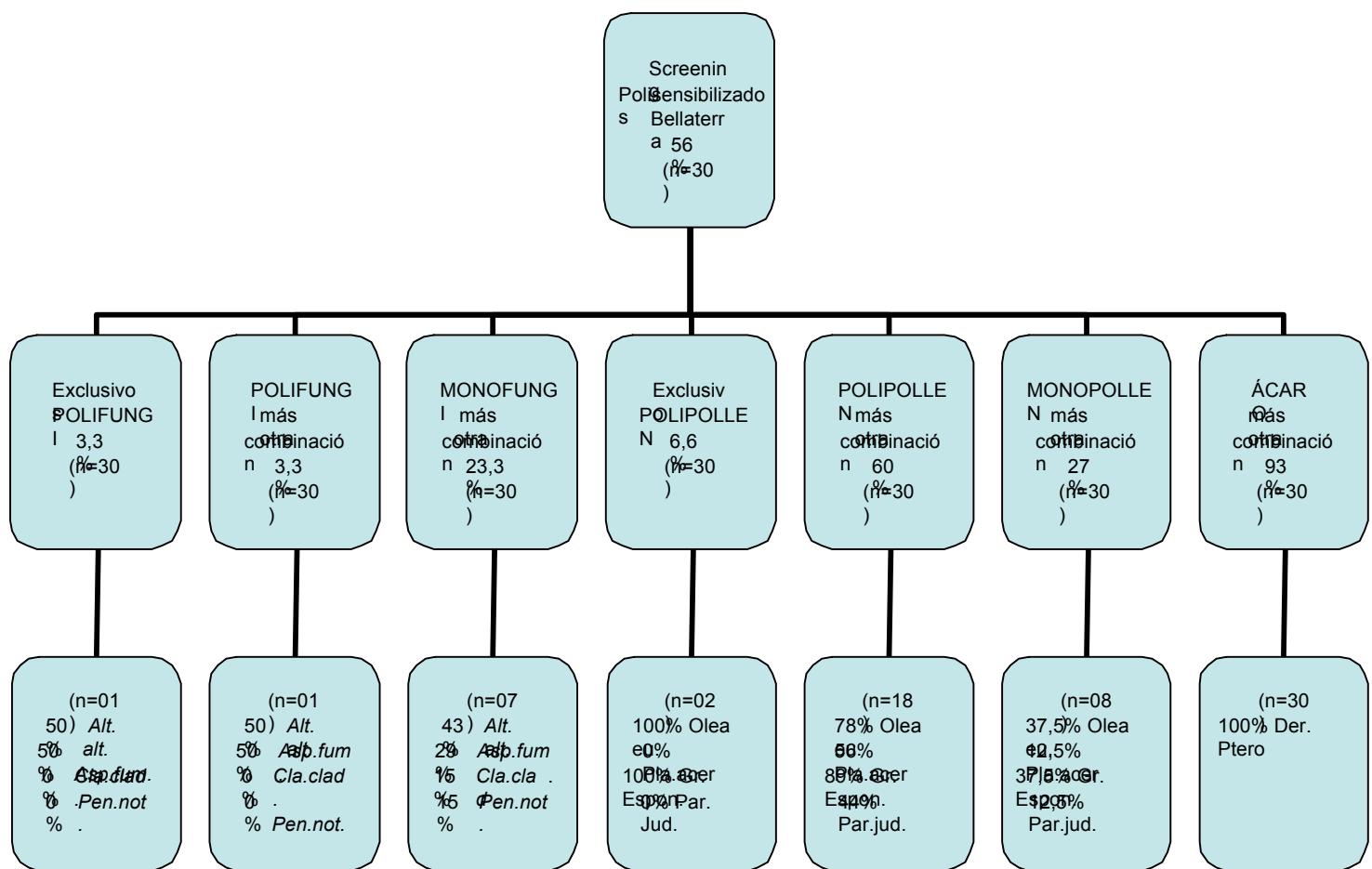


Figura 75R: Organigrama con las prevalencias discriminadas entre los Polisensibilizados en Bellaterra (n=30)⁽⁵⁵⁾



(55) Consideraciones sobre los códigos: Polifungi: más de un hongo, Monofungi: apenas un hongo, Polipolen: más de un polen, Mono polen: apenas a un polen.

4.2.4.3: *ImmunoCAPTM Rapid*:

Udimas y Bellaterra: n=114

Figura 76R: Prevalencia de Positividad y negatividad entre la población total analizada por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=114)

■

Figura 77R: Prevalencia de Mono y Polisensibilizaciones entre la población general “Positiva” analizada por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=60)

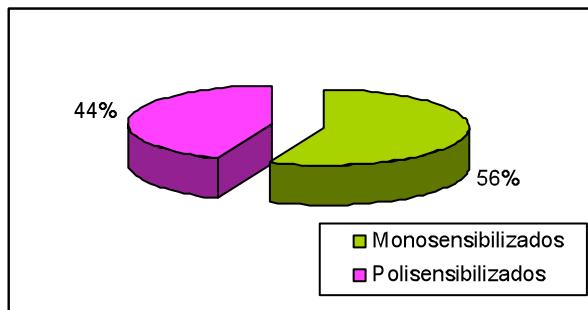


Figura 78R: Prevalencia de simultaneidad entre los Polisensibilizados de la población general analizada por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=27)

■

Udimas: n=56

Figura 79R: Prevalencia de Positividad y Negatividad en Udimas, analizada por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=56)

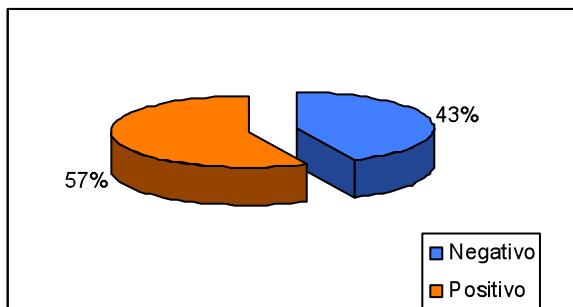
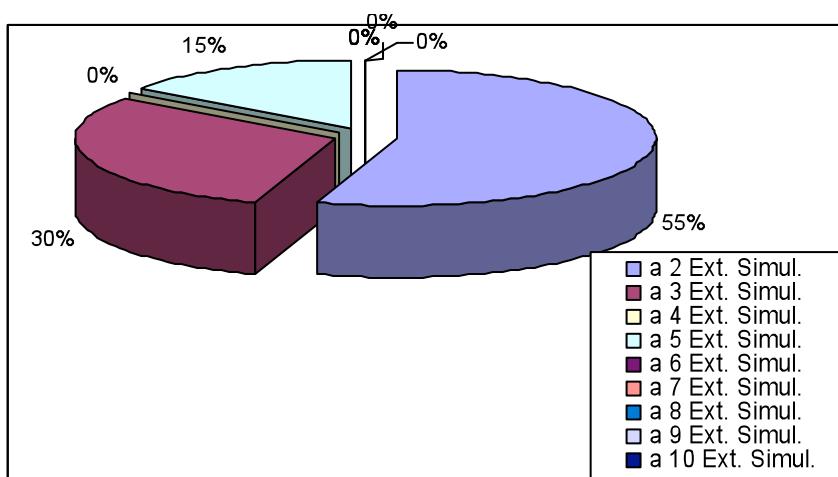


Figura 80R: Prevalencia de Mono y Polisensibilizaciones entre la población “positiva” de Udimas, analizada por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=32)

■

Figura 81R: Prevalencia de simultaneidad entre los Polisensibilizados en Udimas, analizado por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=13)



Bellaterra: n=58

Figura 82R: Prevalencia de Positividad y Negatividad en Bellaterra, analizada por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=58)

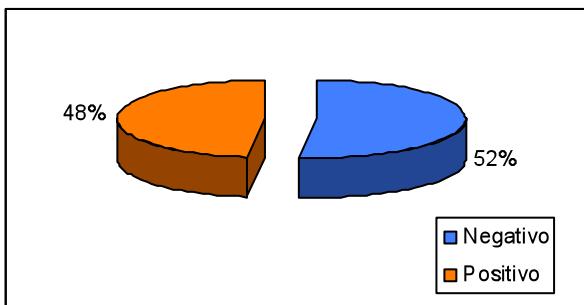
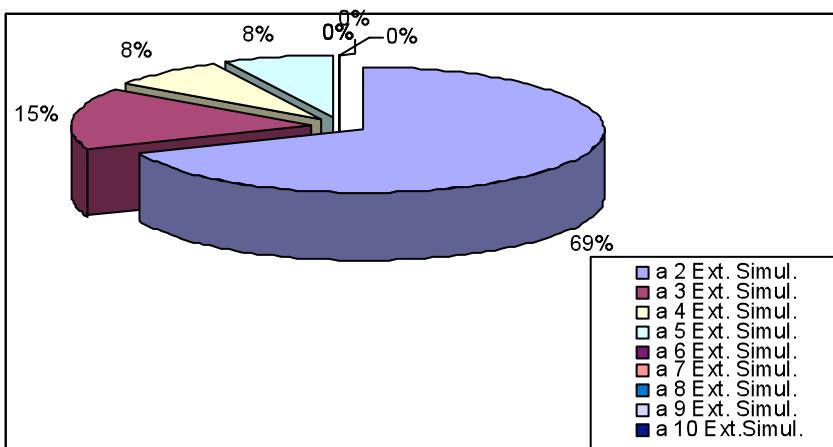


Figura 83R: Prevalencia de Mono y Polisensibilizaciones entre los “Positivos” en Bellaterra, analizada por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=28)

■

Figura 84R: Prevalencia de simultaneidad entre los Polisensibilizados en Bellaterra, analizados por *ImmunoCAPTM Rapid* (n=14)



4.2.5 Pruebas comparativas entre *in vivo* e *in vitro*

4.2.5.1 Consideraciones respecto a la población de la Segunda fase (*in vitro*):

Figura 85R: Participación de los alumnos en la Segunda Fase (IgE, n=115)

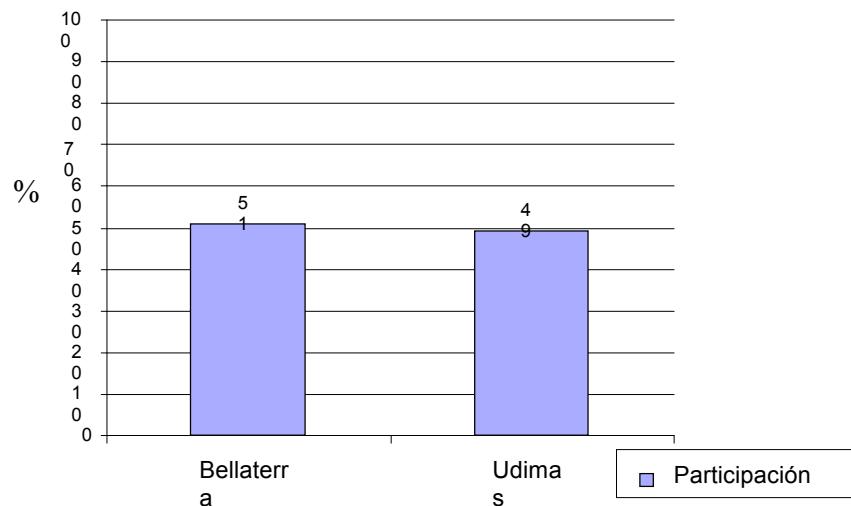


Figura 86R: Prevalencia de Reactivos y No Reactivos (n=115)

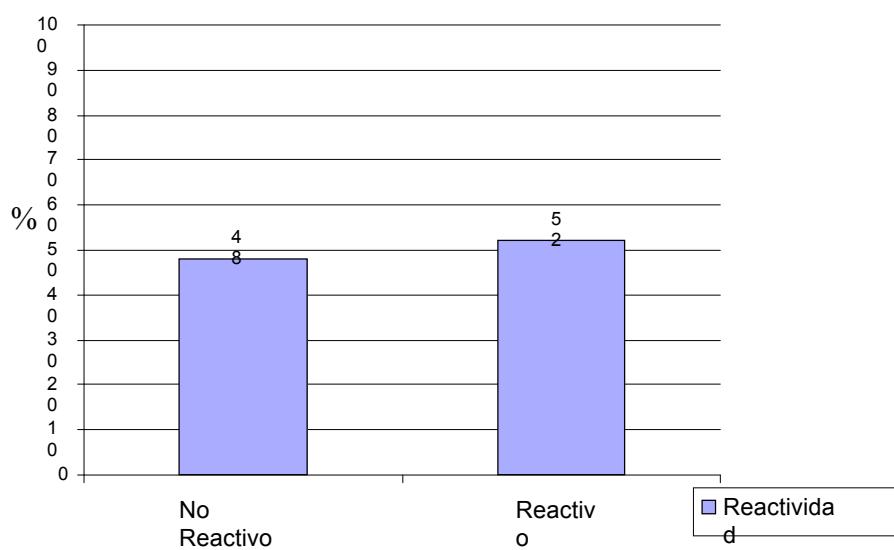


Figura 87R: Prevalencia de No Reactivos entre Udimas y Bellaterra (n=55):

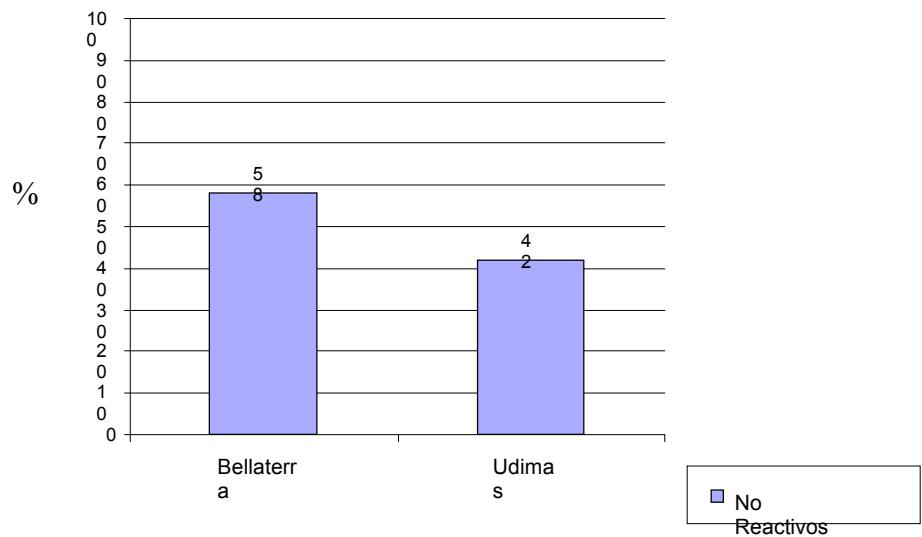
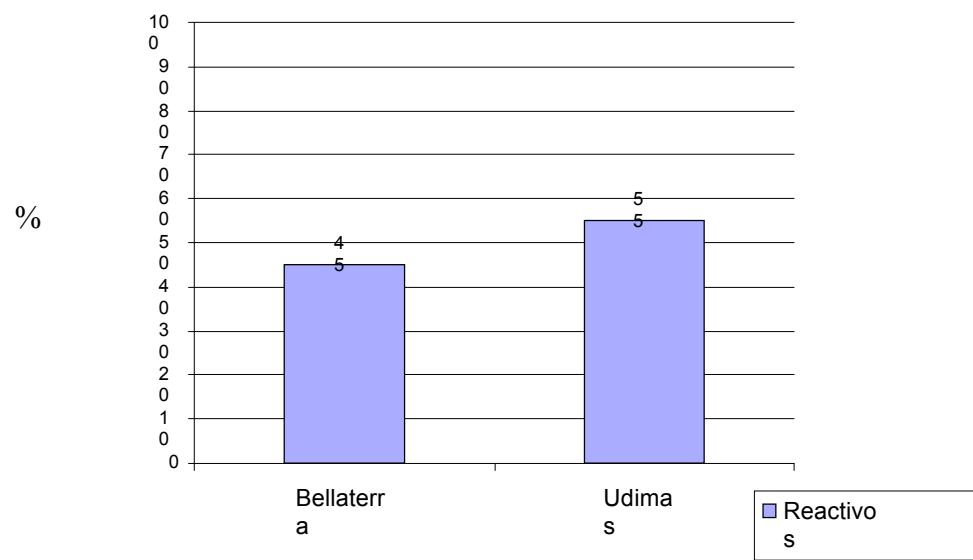


Figura 88R: Prevalencia de Reactivos entre Udimas y Bellaterra (n=60)



4.2.5.2 Definición de la “n” (n=60):

Se consideraron los alumnos que realizaron las 2 técnicas (*Skin Prick Test* y *ImmunoCap Rapid*): 115 alumnos.

Para conocer la prevalencia de cada una de las técnicas para posterior comparación estadística, se valoró los resultados de las pruebas SPT e IgE para *D. pteronyssinus* (d1), *Olea europaea* (t9), *Parietaria judaica* (w21), *Alternaria alternata* (m6) y *Gramíneas espontáneas* (g6); extractos presentes en las técnicas (*in vivo* e *in vitro*). Se utilizó SPT claramente positivo (grado ≥ 2)

De los 115 alumnos (100%) que participaron en la etapa del método *in vitro* (*ImmunoCap Rapid*: IgE): 58 alumnos en Bellaterra (**51%**) y 56 alumnos en Udimas (**49%**) (Figura 85R):

- **54 alumnos no reactivos** a ninguno de los extractos: d1, t9, w21, m6 y g6 confirmado por las dos técnicas) – representando un **48,2%** no reactivo (Figura 86R)
 - De los **no reactivos** (Figura 87R): **22 alumnos Udimas**: (42%) y **32 alumnos en Bellaterra** (58%)
- **60 alumnos reactivos** para por lo menos unos de los cinco extractos d1, t9, w21, m6 y/o g6) (confirmado por lo menos por una de las técnicas)- representando un **52,2%** reactivo (Figura 86R).
 - De los **reactivos** (Figura 88R): **33 alumnos en Udimas** (55% reactivo a por lo menos uno de los cinco extractos a por lo menos 1 de las técnicas) y **27 alumnos en Bellaterra** (45% reactivo a por lo menos uno de los cinco extractos a por lo menos 1 de las técnicas)

Resumen: Se estimó un número de 60 alumnos con por lo menos un resultados positivo a (*D. pteronyssinus* (d1), *Olea europaea* (t9), *Parietaria judaica* (w21), *Alternaria alternata* (m6) y/o *Gramíneas espontáneas* (g6), por lo menos una de las Técnicas (*Skin Prick Test* y/o *IgE*):

Figura 89R: Representación gráfica de la comparación entre la prevalencia de individuos sensibilizados según las dos técnicas (*in vivo* –Prick test (n=y *in vitro* –*ImmunoCAP™ Rapid*) (54)

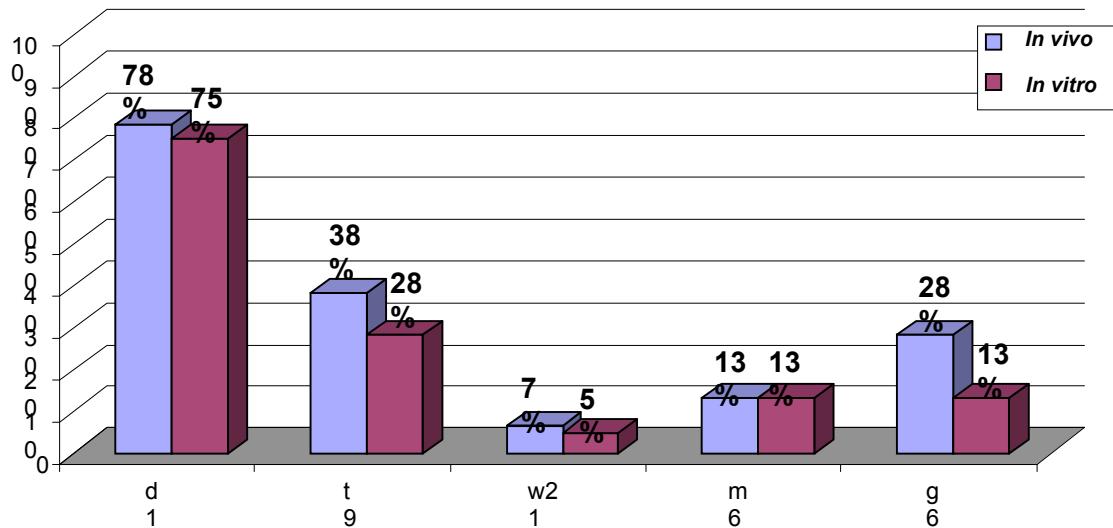


Tabla 48: Datos procesados con resultados de Udimas para la realización de las pruebas de sensibilidad /especificidad (n=33):

Udimas	d1 SPT	d1 IgE	t9 SPT	t9 IgE	w21SPT	w21IgE	m6 SPT	m6 IgE	g6SPT	g6 IgE
Suma (nºalumnos)	25	25	16	12	3	3	6	5	9	4
%	76	76	48	36	9	9	18	15	27	12

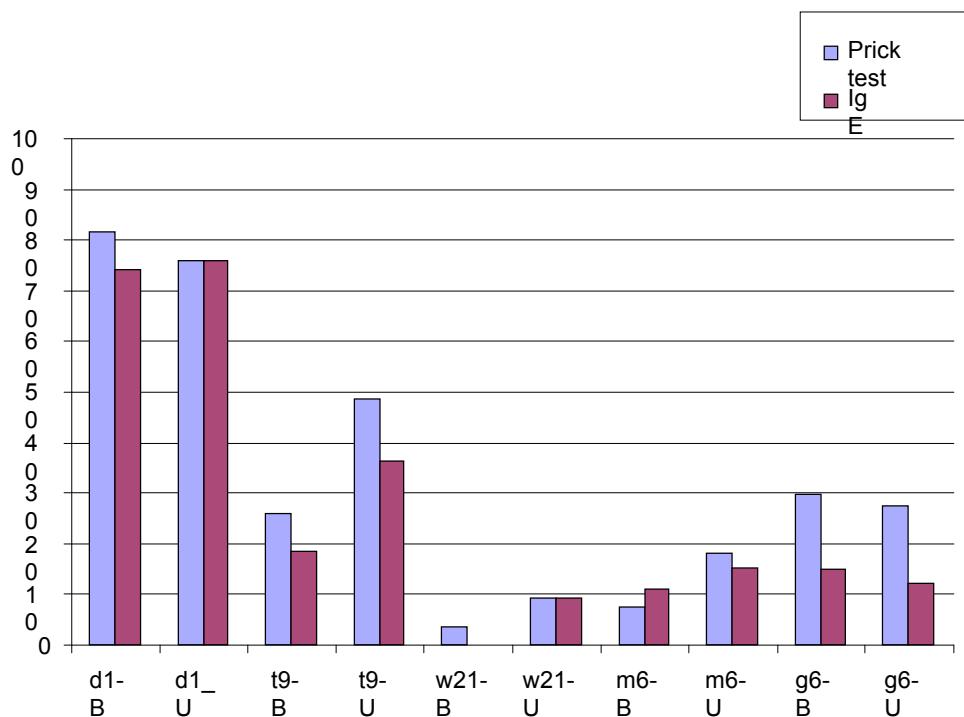
Tabla 49: Datos procesados con resultados de Bellaterra para la realización de las pruebas de sensibilidad /especificidad (n=27):

Bellaterra	d1 SPT	d1 IgE	t9 SPT	t9 IgE	w21SPT	w21IgE	m6 SPT	m6 IgE	g6SPT	g6 IgE
Suma (nº alumnos)	22	20	7	5	1	0	2	3	8	4
%	81	74	26	19	4	0	7	11	30	15

Tabla 50: Representación de las % de sensibilizados según las técnicas, en la población seleccionada (Udimas y Bellaterra) por SPT y IgE (n=60):

N=60	d1 SPT	d1 IgE	t9 SPT	t9 IgE	w21SPT	w21IgE	m6 SPT	m6 IgE	g6SPT	g6 IgE
suma	47	45	23	17	4	3	8	8	17	8
%	78	75	38	28	7	5	13	13	28	13

Figura 90R: Representacion gráfica de las prevalencias discriminadas de las sensibilizaciones según extracto, técnica realizada y población⁽⁵⁴⁾



(54) Consideraciones sobre los códigos: d1: *D. pteronissynus*, t9: *Olea europaea*; w21: *Par. judaica*; m6: *Alt. alternata*; g6: *Grmanieas espontaneas*. Las letras U: Udimas B: Bellaterra

Tabla 51: Prueba de Sensibilidad y Especificidad

Extracto alergénico:	Pruebas:	
	Especificidad	Sensibilidad
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	100%	84,8%
<i>Olea europea</i> (t9)	100,0%	58,1%
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	98,0%	25,0%
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	97,9%	77,8%
<i>Gramíneas espontaneas</i> (g6)	96,6%	28,6%

Tabla 52: Prueba de Discordancia

		<i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	
<i>D. pteronyssinus</i>		Negativo	Positivo
SPT	Negativo	19,3%	0%
	Positivo	12,3%	68,4%
<i>Olea europea</i>		<i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	
		Negativo	Positivo
SPT	Negativo	45,6%	0%
	Positivo	22,80%	31,6%
<i>Parietaria judaica</i>		<i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	
		Negativo	Positivo
SPT	Negativo	84,2%	1,80%
	Positivo	10,50%	3,5%
<i>Alternaria alternata</i>		<i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	
		Negativo	Positivo
SPT	Negativo	82,5%	1,80%
	Positivo	3,50%	12,5%
<i>Gram. espontaneas</i>		<i>ImmunoCAPTM Rapid</i>	
		Negativo	Positivo
SPT	Negativo	49,1%	1,80%
	Positivo	35,10%	14,0%

En la Tabla 53 del Anexo 7 se encuentran datos complementarios sobre la prueba de discordancia realizada.

4.2.6 Biología Molecular:

A fin de realizar un control de calidad a los métodos de identificación microbiológicos, se realizó la identificación molecular de las especies *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Ochroconis* sp., *Penicillium chrysogenun*, *Aspergillus fumigatus*.

Las cepas fueron enviadas a la Unidad de Micología del Centro Nacional de Microbiología, Instituto de salud Carlos III, Madrid.

Todas los resultados fueron congruentes excepto por el resultado obtenido a *Cladosporium herbarum*, que fue identificada como *Cladosporium* sp., y el *Penicillium chrysogenun*, identificada como *Penicillium comune*.

4.2.6.1 Fotografías de Microscopias eletrônicas:

Figura 91R: *Alternaria alternata*:



Figura 92R: *Penicillium chrysogenun*

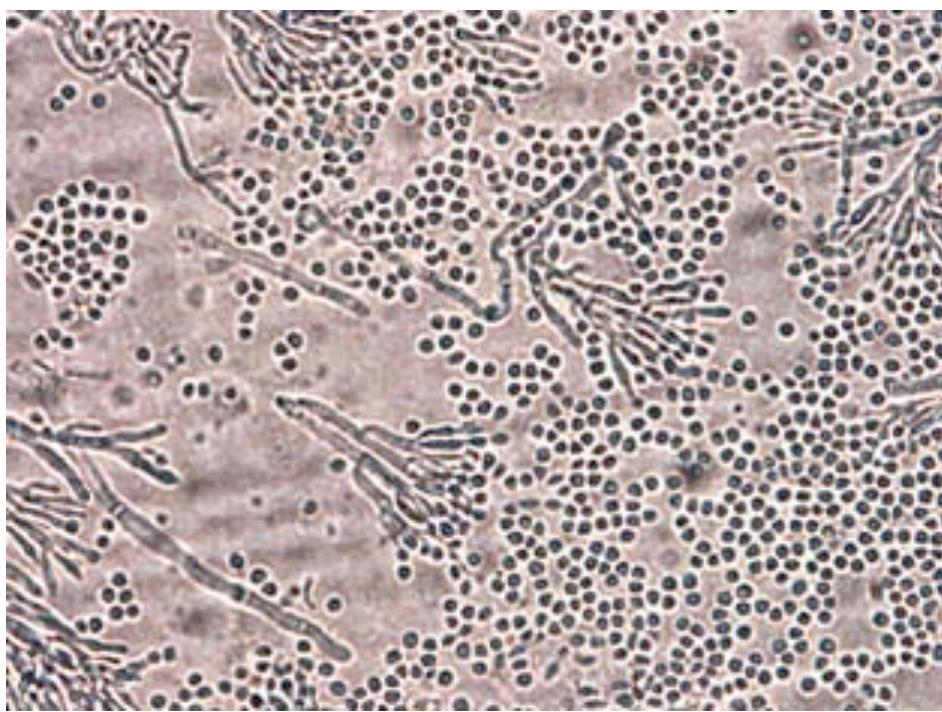


Figura 93R: *Epicoccum* sp.



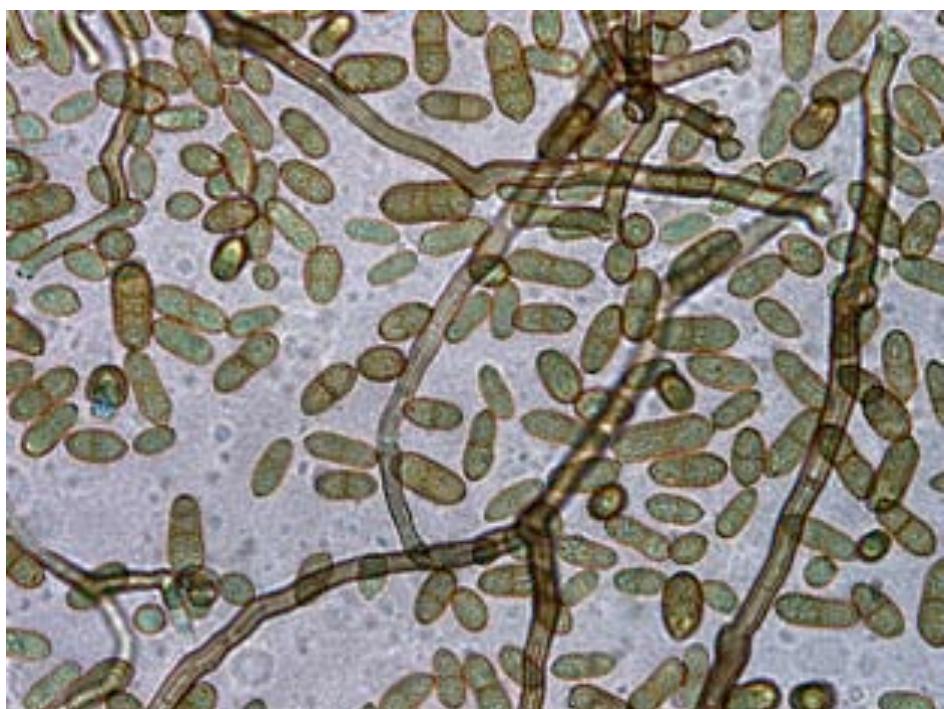
Figura 94R: *Aspergillus fumigatus*



Figura 95R: *Cladosporium cladosporioides*



Figura 96R: *Ochroconis* sp:



DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN:

El conocimiento de los posibles efectos de las esporas de hongos sobre la salud humana despierta interés en la comunidad científica desde hace años. El estudio de los hongos ambientales y su asociación con manifestaciones alérgicas es esencial para llegar a establecer las condiciones epidemiológicas en que se produce y enfocar posibles medidas de control.

El trabajo realizado describe, por primera vez, los niveles de hongos ambientales en las instalaciones de dos Unidades Docentes de la Facultad de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, localizadas en dos zonas geográficas muy diferentes.

Considerando que los estudiantes de medicina pasan la mayor parte de su vida académica en dichos ambientes, cabe suponer que la carga fúngica ambiental de las instalaciones es importante para determinar la prevalencia de sensibilización en esta población (Mendell & Health, 2005).

Con este objetivo se ha planteado esta tesis: realizar un estudio epidemiológico observacional, describir un factor de riesgo (hongos ambientales), seleccionar una población expuesta (estudiantes de medicina) y analizar los resultados, para conocer si existe una relación causa-efecto entre exposición y enfermedad alérgica.

Con la finalidad de valorar el estado de las investigaciones sobre el tema se efectuó una búsqueda bibliográfica en Mediline (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), cruzando los términos hongos, estudiantes, alergia, pruebas *in vivo*, pruebas *in vitro*, para poder observar, contextualizar y discutir nuestro trabajo.

5.1. Medición de la variable predictora (factor de riesgo):

Los muestreos aerobiológicos se efectuaron en varios ambientes interiores constituidos por aulas y laboratorios de prácticas tanto de la UDIMAS como la Unidad Docente de Bellaterra. Udimas está situada en un área esencialmente urbana, en el barrio de la Barceloneta, muy cercana a las playas, sobre el mar Mediterráneo; por el contrario, la Unidad de Bellaterra se caracterizada por estar en una zona en la que solo se encuentran edificios docentes y de servicios, rodeados por una extensa zona verde. Esta diferencia en los factores ambientales y su repercusión climática han sido fundamentales para explicar los distintos resultados obtenidos.

El método seleccionado para identificar las colonias fúngicas a nivel de especies y determinar el número total de unidades formadoras de colonias en cada muestreo fue el método microbiológico cuantitativo. Este permite identificar las colonias a nivel de especie (Belmonte, J; 2005).

Para obtener el mayor número de especies fúngicas es necesario utilizar condiciones óptimas de toma de muestra, entre ellas se cuenta el medio de cultivo. El agar *DG18* que se ha utilizado en el presente estudio actualmente se considera el más eficaz para aislamiento de hongos ambientales (Wan-Ken Jo, 2005; Ren, 2001), superior a medios convencionales como el agar-Rosa Bengala y agar-Malta, usados en otros trabajos (De Ana SG, *et.al.*, 2006).

Para conocer los niveles de las esporas de hongos ambientales de las dependencias, el primer parámetro definido fue conocer y contrastar las posibles diferencias en los niveles de hongos ambientales respecto a la **localización de las unidades docentes**. Como segundo parámetro se usó contrastar los valores **intra y extramurales**. Como tercer parámetro, conocer la variación de los niveles de hongos entre las **estaciones del año**. Como cuarto parámetro, se definió, respecto a ambientes de interior, el intervalo de los muestreos, para conocer los posibles **efectos de la actividad humana** respecto a los niveles de hongos, así se fijaron dos momentos de muestreo: *antes* de empezar las clases, o sea, sin la presencia de los alumnos (se realizaba en las primeras horas de la mañana) y *durante* las clases, o sea con la presencia de los alumnos y el profesor en el aula.

La mayor carga fúngica tanto de exterior como de interior, encontrada en la unidad de Bellaterra, se explicaría porque los ambientes situados en ambientes más naturales rodeados de vegetación y menos urbanizados, están expuestos a mayor número de fuentes de esporas de hongos, estos argumentos son compartidos por otros autores (Bovallius *et.al.*, 1978; Li an Kendrick, 1995; Hargreaves *et.al.*, 2003).

Cuando contrastados los niveles de colonias de esporas fúngicas de interior y exterior, se observó un mayor numero de géneros (mayor diversidad) con valores estadísticamente significativos en Udimas que en Bellaterra. Este hecho se atribuye a que esta unidad docente está en las instalaciones de un Hospital. En Udimas se observa diferencias significativas para *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, levaduras sp., y *Wallemia sp.*, y en Bellaterra solo para *Penicillium sp.*, y *Cladosporium sp.*, siendo siempre los valores de exterior superiores a los de interior, contradiciendo a la literatura, que dice que *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* son considerados hongos de interior, pero concordando con que *Cladosporium sp.* sea un hongo característico de exterior. (Beaumont F, 1985; Licorish K, 1985).

Estudios realizados por diversos investigadores (Jones et.al, 2000; Thatcher et.al, 2003; Vette et.al. 2001; Lee. T et.al, 2006) que analizaron la relación entre las concentraciones fúngicas de interior y exterior, coinciden con los resultados obtenidos en este trabajo en que los niveles exteriores siempre fueron más elevados que los interiores. Altos niveles fúngicos en el exterior muestran una tendencia en aumentar la carga de interiores. (Hargreaves et.al, 2003). Los resultados extraídos en este trabajo demuestran que los altos niveles fúngicos extramurales constatados en Bellaterra son directamente proporcionales a los altos niveles intramural de esta área (Tabla 1D).

De acuerdo con los estudios realizados por Taylor L, 2007, los valores de UFC/m³ de *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Cladosporium sp.* son significativamente mayores en exterior que en interior. En nuestro trabajo también añadimos a este listado *Alternaria sp.*, Levaduras, *Fusarium sp.*, Micelio estéril y *Acremonium sp.*, porque también estos al igual que los otros géneros citados, presentaron carga fúngica superior en exterior respecto a interior, tendencia observada en todas las estaciones para *Alternaria sp.* y *Cladosporium sp.*, y en 75 % de las estaciones para *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*; y 25% para *Fusarium sp.*, Micelio estéril y *Acremonium sp.*

Tabla 1D: Valores de la prueba estadística aplicada

Géneros	Interior x Exterior
<i>Alternaria sp</i>	p<0,01
<i>Aspergillus sp</i>	p<0,01
<i>Cladosporium sp</i>	p=0,045
Levaduras	p=0,022
<i>Fusarium sp</i>	p=0,012
Micelio estéril	p=0,006
<i>Mucor/ Rhizopus</i>	N.s
<i>Ochroconis sp</i>	N.s
<i>Paecilomices sp</i>	N.s
<i>Penicillium sp</i>	p<0,01
<i>Wallemia sp</i>	N.s
<i>Acremonium sp</i>	p=0,008

Los altos niveles fúngicos encontrados tanto en interior con en el exterior en las dos localidades Udimas y Bellaterra muestreadas, concuerdan con otros autores, que si bien no han estudiado el mismo tipo de instalaciones, los han encontrado en escuelas, edificios, centros comerciales, aeronaves. (Hargreaves et.al, 2003, Jones et.al, 2000; Thatcher et.al, 2003; Vette et.al. 2001; Lee. T et.al, 2006).

Según Gravensen, et.al (1986), 100 esporas/m³ para *Alternaria sp.* y 300 esporas/m³ de *Cladosporium sp.* son las concentraciones umbrales de esporas alergénicas para provocar síntomas clínicos, con valores considerablemente variables de unos a otro, pues depende del agente individual aislado y de la sensibilidad de cada afectado.

Miller et.al (1988) asume que el límite máximo de hongos contables en el aire (UFC/m³) es de 150 UFC/m³ y Morey et. al. (1984) propone límites que indican riesgo para la salud de los ocupantes sobre los 1000 UFC/m³. Oghke et. al. (1987) consideró el valor de 100 UFC/m³ como valor máximo, cuando realizó un muestreo sistemático en 11 edificios públicos.

En EEUU, considerando valores por encima de 100 un riesgo para la población expuesta. En contrapartida, Yang (1993) sugiere 200 UFC/m³, en un estudio de 2000 muestras. Kim et.al, (2007) encontró valores de interior de 360 UFC/m³ y exterior 950 UFC/m³ y los relacionó con la manifestación de síntomas alérgicos en una población de estudiantes en Uppsala (Sweeden).

Wan-kuen Jo (2005), encontró valores superiores al muestrear 44 escuelas durante 2 estaciones (verano y invierno).

El American Conference of Government Industrial Hygienist (ACGIH, 1989) limita valores de entre 100 y 1000 UFC/m³ recomendable para ambientes interiores (in: Wan-kuen Jo (2005)).

Nuestros resultados están de acuerdo con los principales resultados, pues encontramos niveles de interior igual a 116 UFC/m³ y para exterior igual 227 UFC/m³.

La distribución estacional descrita en el presente estudio, concuerda con estudios efectuados en diferentes partes del mundo que demuestran mayores picos de concentración fúngica en verano y otoño seguidos de primavera e invierno, (Richards M, 1954; Chaumont JP. et.al, 1990, Larsen L.S, 1981, Barkai-Golan. et.al, 1977), bien como una mayor diferencia entre niveles de interior y exterior, demostrando que las estaciones con más contrastes son la de primavera, seguida de invierno/otoño y verano, indicando que los niveles de exterior con más **elevados** que en de interior. (Tabla 2D)

Tabla 2D: Valores de la prueba estadística aplicada:

Géneros	(Int x Ext) Invierno	(Int x Ext) Primavera	(Int x Ext) Verano	(Int x Ext) Otoño
<i>Alternaria sp</i>	p<0,005	p=0,004	p<0,005	p=0,005
<i>Aspergillus sp</i>	p=0,029	p=0,003	N.s	p=0,001
<i>Cladosporium sp</i>	p<0,005	p=0,001	p<0,005	p<0,005
Levaduras	N.s	N.s	N.s	N.s
<i>Fusarium sp</i>	N.s	p=0,001	N.s	N.s
Micelio estéril	p=0,013	N.s	N.s	N.s
<i>Mucor/Rhizopus</i>	N.s	N.s	N.s	p=0,001
<i>Ochroconis sp</i>	N.s	N.s	N.s	N.s
<i>Paecilomices sp</i>	N.s	p=0,008	N.s	N.s
<i>Penicillium sp</i>	p=0,013	p=0,015	N.s	p<0,005
<i>Wallemia sp</i>	N.s	N.s	N.s	N.s
<i>Acremonium sp</i>	N.s	p=0,018	N.s	N.s

En la valoración de los hongos ambientales presentes en las aulas se consideró fundamental conocer los efectos de la actividad humana. De esta forma se fijaron dos momentos para el muestreo: *antes* de empezar las clases, sin la presencia de los alumnos; y

durante las clases, con la presencia de los alumnos y profesor. Los resultados obtenidos han demostrado claramente que la actividad humana incrementa significativamente el número de esporas viables en las aulas, lo que se explica por la movilización de aire y partículas de polvo, así como por los hongos que pueden transportar los mismos alumnos y profesor en sus ropas y materiales.

El aumento de la carga fúngica directamente relacionada con la actividad del hombre ha sido documentada por otros autores, en el interior de aeronaves (Taylor, 2007), en escuelas (Zhao Z.H et al, 2006; Taskinen T, 1999) y en domicilios particulares (Lee et.al, 2006, Handal G, 2004). En nuestro estudio el incremento atribuido a la actividad de alumnos y profesor se demostró principalmente en *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, levaduras, *Penicillium sp.* y *Wallemia sp.* en Udimas, y solo para *Cladosporium sp.* y *Penicillium sp.* en Bellaterra, por lo tanto cabe considerar la posibilidad de que la influencia de la actividad sea mayor sobre algunas especies de hongos que sobre otras, quizás en función de su mayor concentración en el exterior o por algunas características fisico-químicas de los propágulos fúngicos (forma, tamaño, hidrofobicidad, etc). (Tabla 3D)

Tabla 3D: **Valores de la prueba estadística aplicada:**

Géneros	(Antes x Durante) Udimas	(Antes x Durante) Bellaterra
<i>Aspergillus sp</i>	p=0,01	N.s
<i>Cladosporium sp</i>	p<0,05	p=0,014
Levaduras	p= 0,022	N.s
<i>Penicillium sp</i>	p<0,05	p=0,010
<i>Wallemia sp</i>	p=0,022	N.s

5.2 Estudio del efecto de la exposición fúngica sobre la población de las aulas.

5.2.1 Selección de la población expuesta:

En la segunda parte del estudio, el objetivo era conocer la prevalencia de sensibilización alérgica a especies de hongos y otros alergenos en los alumnos que asisten a clases en las aulas muestreadas. En cada unidad (Udimas y Bellaterra) se estableció una muestra de 100 alumnos, totalizando 200 estudiantes, que aceptaron participar voluntariamente en el estudio. Todos ellos respondieron un cuestionario y fueron sometidos a pruebas cutáneas del *prick test* y una parte de ellos a un análisis de sangre capilar. En todo momento el estudio contó con el apoyo de las autoridades universitarias tanto de Udimas como de la Facultad de Medicina de Bellaterra.

La media de edad de los estudiantes fue de 22,1 años en Udimas y 19,4 años en Bellaterra. La media de edad fue superior en Udimas, porque en esta unidad hospitalaria, los alumnos cursan de tercer a sexto curso, mientras que en Bellaterra solamente hay alumnos de primer y segundo curso. La población de estudio no presentaba predominio de sexo, dado que existía un 51% de mujeres y un 49% de hombres.

Es posible que síntomas menores o de baja intensidad no constituyan suficiente motivo para una consulta médica o bien se confundan con procesos infecciosos de vías respiratorias altas.

5.2.2 Cuestionario

El cuestionario para colectar datos sobre la salud respiratoria, fue elaborado a partir de la, propuesta del *Internacional Study of Asthma and Allergies Childhood (ISAAC)*, que se ha utilizado como referencia en trabajos epidemiológicos de gran escala. (Mi et.al, 2006; Asher M.I, 1995). (Materiales y Métodos: Figura 5M)

Los resultados de prevalencia las patologías respiratorias, obtenidos a partir de los cuestionarios, están en consonancia con los resultados descritos en el estudio Alergológica 2005.

La rinitis alérgica es una de las enfermedades más comunes en el mundo civilizado (Fierman P, 2000). Con frecuencia la rinitis alérgica es infra diagnosticada (Zhao Z.H et al, 2006), esto se comprobó en la encuesta realizada en que el 55% de los alumnos de Udimas y el 51% de Bellaterra describieron síntomas típicos de esta patología, en contra partida, el porcentaje de rinitis diagnosticada previamente por un medico era de 17% en Udimas y 8% en Bellaterra. (Tabla 4D).

También en la Tabla 4D, se puede verificar que nuestros resultados son similares a los publicados por Alergológica 2005, referente a Asma (diagnosticada y no diagnosticada), en la cual corresponde a una cifra equivalente a 12,2%, nuestros resultados expresan un 15,5%.

Nuestros resultados (Udimas 8%; Bellaterra 11%) están en consonancia con las estimativas sobre la prevalencia de asmáticos diagnosticada realizada en Europa (entre 2,3% a 10%) (Bjorksten B et.al, 1998; Nielsen N.H et.al, 1994; Remes et.al, 1996).

En los últimos años se han comunicado incrementos llamativos en la prevalencia de la rinitis alérgicas, sobre todo en los países occidentales. Se estima que entre 10 y 25 % de la población general presenta esta enfermedad, cifras que pueden ser diferentes según la edad de la muestra estudiada y su distribución geográfica. En estudios epidemiológicos internacionales, como la tercera fase del estudio ISSAC (2001-2004) se ha comunicado un incremento variable de la rinitis alérgica entre los escolares españoles, de nuevo con la variabilidad geográfica, lo que indica la existencia de factores de riesgo local. (Bousquet J, et.al, 2001; Arnedo-Pena A, et.al, 2004; Aguinaga O.I, 1999)

En lo que se refiere a adultos, el estudio europeo (ECHRS), realizado en 94, proporciona cifras de pacientes españoles que oscilaron entre 12,1 y el 17,6%, nuestros estudios indican una prevalencia de rinitis alérgica diagnosticada en un 12,5%. Ya en contra partida, los cuestionarios indican una rinitis no diagnosticada de un 53% (ECHRS, 1996).

La prevalencia de conjuntivitis (diagnosticada y no diagnosticada) fue superior en los alumnos de Bellaterra, entre otros motivos podría relacionarse con la mayor carga fúngica y de pólenes de esta área geográfica menos urbanizada y en mayor contacto con la naturaleza. Las encuestas reflejan que los estudiantes de Bellaterra notan más molestias oculares cuando presentes en las aulas que los estudiantes de Udimas, lo que podría estar relacionado con los niveles elevados de la carga fúngica y polínica en esta área. (57% en Bellaterra y 29% en Udimas) .

Respecto a la prevalencia de eczema, diagnosticamos una concordancia respecto a las estimativas de Alergológica 2005.

Tabla 4D: Resultados comparativos de la sintomatología recogida en el cuestionario de salud de este estudio y los de la publicación Alergológica 2005:

Extracto alergénico	Udimas	Bellaterra	Udimas	Bellaterra
Asma (diagnosticada y no diagnosticada)	14%	17%	15,5%	12,2%
Rino conjuntivitis (diagnosticada y no diagnosticada)	62,5%	58%	60,5%	55,5%
Eczema	7%	6%	6,5%	6,9%

5.3 Medición de la variable resultante (enfermedad):

El método *in vivo* se consideró la técnica *estándar*, como se propone en la mayoría de los trabajos, para conocer la prevalencia de este tipo de alergias. Se ha utilizado una batería amplia de neumoalergenos que incluyen los propuestos por la Academia Europea de Alergia para una batería paneuropea, además de los propios de nuestro medio. (Heinzerling L., et.al, 2005).

El método para la realización y evaluación de la prueba de *prick* fue realizado según los procedimientos estándar según guías prácticos, European Academy of Alergology and Clinical Inmunology (EACCI), Internaciona Study of Alergy in Childhood (ISAAC, 1998) y Standardización Nordica (Bernstein & Storms, 1995; Krouse & Mabry, 2003; Dreborg, 1989; EAACI, 1989; Northen Society of Allergology, 1972; Ascher et.al, 1995; Warner J.O, 1998; Carvajal-Uruena I, 1998).

A fin de determinar la prevalencia de sensibilización a hongos, ácaros, cucaracha, pólenes y epitelios de animales el trabajo fue realizado en dos etapas distintas, en la primera se aplicó un método *in vivo*, realizando la prueba de alergia o *Prick test*, con una batería de 9 extractos alergénicos. En la segunda etapa, se aplicó un método *in vitro*, realizando la prueba de flujo lateral (comercialmente denominado *ImmunoCAP™ Rapid*), con una batería de 10 extractos alergénicos. (Plebani M, 2003).

Los extractos testados en la etapa *in vitro* y la etapa *in vivo* coinciden en 5 casos.

5.3.1 Resultados de las Pruebas de sensibilidad:

Los acaros representan los alergenos sensibilizantes más relevantes a nivel mundial. (Custovic A, et.al, 1998; Korsgaard J, 1998; Platts-Mills TAE, 1998)

El alérgeno más importante detectado en nuestro trabajo han sido los ácaros (48%), en consonancia con los resultados (47,7%) de un estudio europeo. (Zureik M et. Al, 2002).

Der. pteronyssinus es la especie más relevante según el mapa Alergológico de España.

Entre los hongos, existe una mayor prevalencia de sensibilizados a *Alternaria alternata*, seguido de *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium notatum* y *Aspergillus fumigatus* datos que están en consonancia con otros estudios epidemiológicos. (Corsico R, 1998; Mari A, 2003; Nolles et.al 2001; Ezeamuzine C.L, 2000).

Dentro de los pólenes, las sensibilizaciones más frecuentes fueron a *Olea europaea*, *Gramíneas espontáneas*, *Platanus acerifolia* y *Parietaria judaica*. El porcentaje de sensibilización a estos pólenes es, de forma global en España, de un 6-35% (Alergológica 2005).

En general los resultados obtenidos en nuestro estudio para los extractos testados están en consonancia con los descritos en Alergológica 2005 para Cataluña. La diferencia principal se detectó con *Platanus acerifolia* (19,5%) muy superior al de esa publicación (7,6%), lo que probablemente se deba a la gran cantidad de árboles de esta especie en la ciudad de Barcelona, muy superior a las de otras zonas de Cataluña. Estos mismos resultados se observan al comparar la prevalencia de sensibilizados entre los alumnos de Udimas (Barcelona): 28%, y Bellaterra 11%, precisamente en la calle del Dr. Aiguader, por donde se entra a la Udimas, existe un gran número de plataneros. Lo mismo ocurre para la prevalencia de sensibilizados para *Parietaria* (Udimas 13% y Bellaterra 8%). En la Tabla 2D se muestran los valores comparativos entre nuestro estudio y los descritos en Alergológica 2005.

Se puede observar que la prevalencia de sensibilizados a hongos fue superior en Udimas que en Bellaterra. Observamos que con el criterio de positividad: tamaño de pápula) los resultados discrepan más en las dos poblaciones analizadas. (Tabla 5D)

Tabla 5D: Prevalencia de sensibilizados a los hongos:

Extracto Alergénico	Bellaterra	Udimas	Alergologica 2005 (SPT)
Criterio Grado			
<i>Aspergillus sp (as)</i>	1%	7%	1%
<i>Cladosporium sp. (cl)</i>	1%	5%	1,5%
<i>Penicillium sp. (pn)</i>	0%	7%	-
Criterio 9mm²			
<i>Aspergillus sp (as)</i>	4%	10%	
<i>Cladosporium sp. (cl)</i>	4%	12%	
<i>Penicillium sp. (pn)</i>	1%	14%	

Los resultados obtenidos en nuestro estudio están en consonancia con los descritos en Alergológica 2005 en personas que consultaron los servicios de alergia en centros de Cataluña.

Tabla 6D: Prevalencia de sensibilizados a neumoalergenos y comparativa con la publicación de Alergológica 2005:

Extracto alergénico	Promedio Udimas/ Bellaterra	Alergológica 2005 (Cataluña)
<i>D. pteronyssinus (d1)</i>	48%	47,9%
<i>Olea europaea (t9)</i>	30%	29,7%
<i>Parietaria judaica (w21)</i>	10,5%	6,8%
<i>Alternaria alternata (m6)</i>	9,5%	8,6%
<i>Gramíneas espontáneas (g6)</i>	26%	20%
<i>Platanus acerifolia (pl)</i>	19,5%	7,6%
<i>Aspergillus sp (as) Cladosporium sp. (cl)/ Penicillium sp. (pn)</i>	8,6%	7,5%

El número de estudiantes sensibilizados a la batería de neumoalergenos fue superior en Udimas respecto a los de Bellaterra, factor que pudo ser explicado por la edad discretamente superior en los alumnos de Udimas (+ 3 años), y también a que estos alumnos pasaron los dos primeros años académicos en un ambiente (Bellaterra) expuesto a una carga fúngica y polínica elevada donde podrían haberse sensibilizado, resultados concordantes con Bush R.K et al, (2006).

Esta mayor prevalencia de sensibilizaciones, puede estar determinada por la mayor edad de los estudiantes que acuden a Udimas, que también coincide con un mayor número de alumnos con rinitis diagnosticada, según el cuestionario aplicado. Cabe destacar que las pápulas generadas por el *Prick Test* con *Alternaria alternata*, *Olea europea* y *Gramíneas espontáneas* en los estudiantes de Udimas fueron significativamente mayores que las obtenidas con los alumnos de Bellaterra.

Otro punto a destacar es respecto a los grados obtenidos respecto al criterio de positividad de la prueba del *Prick Test*, los cuales fueron superiores en la población de Udimas frente la de Bellaterra.

Respecto a los mm² de las papulas entre los estudiantes de Udimas y Bellaterra, para la prueba de *Prick test*, observamos que existe significación estadística para *Olea europea*, *Alternaria alternata* y *Gramíneas espontaneas*, siendo que la dimension de las papulas de los alumnos de Udimas son superiores que las de Bellaterra.

A su vez, han comprobado diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia entre las dos muestras para *Alternaria alternata*, *Penicillium notatum*, *Platanus acerifolia*, *Olea europea* y *Aspergillus fumigatus* siendo todos los valores superiores en Udimas que en Bellaterra.

El análisis de la presencia de sensibilización simple (a un solo alergeno), o múltiple (a más de un alergeno simultáneamente), basado en la prueba cutánea, mostró que un 69% de los alumnos de Udimas eran polisensibilizados, de estos un 4,2% solamente a hongos y un 2% a varios pólenes, el hongo más prevalente fue *Alternaria alternata* y el polen *Olea europea*. En contrapartida, en Bellaterra un 56% era polisensibilizado, un 3,3% exclusivamente a hongo y un 6,6% a pólenes, el hongo y el polen coincidían en ambos grupos.

Respecto a las prevalencias de sensibilizados, por las pruebas *in vitro*, en Udimas y Bellaterra, observamos diferencias significativas para *Olea europea*, siendo la mayor proporción de estudiantes sensibilizados en Udimas que en Bellaterra.

No se encontró en ningun caso sensibilizados a cucaracha. En Bellaterra no se observó ningun caso de sensibilizado a *Parietaria Judaica*; en Udimas no se observó ningun caso de sensibilización a *Betula sp.* y gato.

Los resultados de prevalencia a *Artemisia sp.*(3%) coinciden con los de Alergológica para la población de Cataluña (2,5%).

Los grados de la prueba de flujo lateral demuestran que solamente los estudiantes de Udimas presentaron grado 6 para *Gramíneas espontáneas*.

Se observo grados 6 para la prueba de flujo lateral para los extractos: *Dermatophagoïdes ptenronyssinus*, *Olea europea*, *Parietaria judaica*, *Gramíneas espontáneas* y Gato.

El analisis de la presencia de sensibilizacion simple (a un solo alergeno), o múltiple (a más de un alergeno simultáneamente), basado en la prueba de flujo lateral mostró que un 44% era polisensibilizado, dentre estos un 8% sensible a 5 extractos simultáneamente en Bellaterra y un 15% en Udimas.

5.3.2 Pruebas de especificidad y sensibilidad entre métodos:

En la práctica clínica diaria, la prueba del *Prick Test* es un método básico de diagnóstico Alergológico. La manera habitual de valorarlo es considerar que la prueba es positiva cuando la pápula es mayor o igual a 3 mm de diámetro con un control completamente negativo para la solución salina glicerinada y una pápula mayor de 3 mm para la histamina (Eigemann, 1998).

Otros autores como Hill (2004) han propuesto criterios distintos y supuestamente más precisos como realizar un cálculo que relaciona el tamaño de la pápula producida por el alergeno con el de la producida por la histamina (llamado *grado*).

En este estudio hemos comparado ambos criterios comprobando que al utilizar el de *grado* el número global de positivos se redujo un 8% en relación al método convencional. Esta ligera disminución de los resultados positivos, no fue estadísticamente significativa. El criterio de *grado* fue más cercano a los valores de *ImmunoCAP™ Rapid* pero sólo en el 2%, nuevamente sin significación estadística. (Tabla 5D).

El criterio de positividad de la prueba del prick *grado* se equipara a los resultados de la del flujo lateral, en la Tabla 7D están representados las prevalencias de sensibilizaciones de ambas técnicas, sugiriendo que el criterio *grado*, es el más adecuado para evaluar la positividad de la prueba del prick.

Tabla 7D: Prevalencia de sensibilización según pruebas realizadas y criterio de positividad:

SPT (Grado)	TOTAL	UDIMAS	BELLATERRA
Positivo	54	62	47
Negativo	46	38	53

SPT (mm ²)	TOTAL	UDIMAS	BELLATERRA
Positivo	62	69	55
Negativo	38	31	45

IgE (InmunoCap® Rapad)	TOTAL	UDIMAS	BELLATERRA
Positivo	52	57	48
Negativo	48	43	52

Se puede inferir que el criterio de grados en relación a histamina ofrece resultados ligeramente más precisos que el método convencional y por ello es el que se ha tomado en cuenta en este trabajo.

De acuerdo con el Comité de la Academia Americana de Alergia y Inmunología las pruebas *in vitro* como la del flujo lateral (*ImmunoCap® Rapid*) es especialmente útil en casos de extrema sensibilidad al alergeno, condiciones anormales en la piel (dermografismo, dermatitis activa), o por uso de antihistamínicos.

La correlación entre las pruebas cutáneas y la prueba de *ImmunoCAP™ Rapid*, depende de diversos factores, entre ellos de la calidad del extracto utilizado en ambos tipos de técnicas y de los criterios de estandarización de los mismos.

Las correlaciones son buenas cuando las pruebas cutáneas son muy positivas o totalmente negativas, pero cuando las pruebas son más cercanas a límite positivo, o sea cuando la positividad de las pruebas cutáneas no está muy definida como positiva, con frecuencia no se detecta IgE específica, fenómeno también descrito por algunos autores (Tschopp et.al.1998), y es una situación muy común en la práctica clínica alergológica. Hay que tener en cuenta que, hasta la fecha, las pruebas cutáneas se consideran las de mayor sensibilidad y por ello se toman como punto de referencia.

La relación entre las determinaciones de IgE específica y la prueba cutánea para *Olea europea*, *Parietaria judaica* y *Gramíneas espontáneas*, presentó menor significancia estadística en las pruebas de sensibilidad y especificidad (tabla x d) que para *D. pteronyssinus* y *Alternaria sp.*

La concordancia entre el *Prick Test* e *ImmunoCAP™ Rapid* es muy elevada para ácaros (87,7%), *Alternaria sp.* y *Parietaria judaica* (87,7%) y *Olea europea* (77,2%), resultando menor para *Gramíneas espontáneas* (63,1%), probablemente por las características diferentes de los antígenos, según se ha comentado anteriormente. El *ImmunoCAP™ Rapid* solamente tiene a *Phleum sp.* como representante de los antígenos de *gramíneas* y que los extractos utilizados para el diagnóstico mediante *Prick Test* contienen una mezcla de 5 *gramíneas*, esto podría explicar la mayor sensibilidad de las pruebas cutáneas.

Estos resultados podrían inferir que la prueba de flujo lateral es menos sensible que la prueba cutánea. (Kelso J.M et.al, 1991.)

A principios de la década de 90 estudios en que la técnica *in vivo* era considerada estándar, se asumía que esta prueba era más sensible que las técnicas *in vitro*, tal y como

destacamos en nuestros resultados (Kelso J.M et.al, 1991), casi una década más tarde se asume que las diferencias no son tan destacadas. (Dolen W.K, 2000).

No obstante, la prueba del *Prick Test* sigue siendo el método de elección para el diagnóstico de la alergia respiratoria causada por neumoalergenos por su elevada sensibilidad, la rapidez y sencillez de la realización, su bajo coste y su elevada seguridad (García J.C, 2007, Li J.T, 2002). La metodología para su realización fue consensuada por la Academia Europea de Alergia en 1989 y la batería de los alergenos a estudiar es extremadamente versátil, según las condiciones epidemiológicas de cada lugar. No obstante la determinación de anticuerpos IgE específicos en sangre venosa, constituye un método complementario –y en ocasiones substitutivo- de las pruebas cutáneas. Tienen especial utilidad cuando no es posible realizar el *Prick Test* o cuando su interpretación es difícil por la coexistencia de dermopatías, o cuando se hace uso de antihistamínicos. Es un método que tiene elevada correlación con los sistemas automatizados que determinan cuantitativamente dichos anticuerpos. (Lasley MV, et.al., 2000).

El estudio medioambiental que hemos realizado en la primer parte, demuestra que los alumnos están expuestos a concentraciones elevadas de propágulos fúngicos en las aulas y en el exterior, y que la prevalencia tanto de síntomas compatibles con alergias respiratorias como de estudiantes sensibilizados es considerablemente alta. El nivel tanto de pruebas cutáneas como de IgE específica a los 4 géneros de hongos más alergógenos, es considerada normal cuando se compara con los resultados publicados con Alergológica 2005, pero baja cuando se compara con los porcentajes de sensibilizados a pólenes (lo que podríamos considerar que algunos pólenes son más alergénicos que los hongos, o que están en más cantidad en el aire).

No obstante se puede descartar que algunos alumnos pudieran estar sensibilizados a otros hongos ambientales como *Fusarium*, *Ochroconis* etc. que no se han incluido en la batería del *Prick Test*, y por lo tanto podemos haber infravalorado la prevalencia de sensibilización a hongos. También podemos destacar que la diversidad de la carga fúngica analizada en el aire es superior a la batería de las pruebas realizadas.

Según las observaciones de Katz et.al, 1999, personas atópicas expuestas a un ambiente con altos niveles carga fúngica son susceptibles a desarrollar síntomas de alérgicos. Nuestras observaciones están en consonancia con esta constatación, ya que los estudiantes de Bellaterra mismo presentando una prevalencia inferior que los de Udimas, manifestaban mayor síntomas de alergia.

Katz et.al, 1999 y otros autores, resaltan que los hongos deberían ser considerados como importantes alérgenos de ambientes interior, con un potencial poder de sensibilizar

individuos atópicos, dicho relato refleja una hipótesis presentados en nuestros resultados, donde los alumnos de Udimas, que ya habían estado por 2 años en Bellaterra (ambiente con mayor carga fúngica) son más atópicos que los de Bellaterra. (Dales et.al, 1998; Savilahti, 2000.) (tabla 8D)

Tabla 8D: Prevalencia de rinitis y conjuntivitis en las dos poblaciones analizadas:

		Udimas	Bellaterra	media
Rinitis	diag.	17	8	12,5
	NoDiag.	28	41	34
	Neg	55	51	
Conjuntivitis	diag.	15	5	10
	no Diag.	38	52	45
	Neg.	47	43	

En los últimos años, muchos estudios buscan estudiar los efectos de la exposición a hongos de interior sobre la salud, y muchos han demuestreado tales efectos adversos. (Poonai N., et.al 2001; Tarlo S.M, et.al, 1988; Bush R.K, et.al, 2006; Woodcock A, 2007; Burr M.L, et.al, 2007; Khalili B, et.al., 2005; Bardana E.J, et.al., 1997; Matheson M.C, et.al, 2005; Peat & Dickenson, 1998; Verhoeff A.P & Burge; 1997; Stark P.C, et.al, 2003; Burney P.G.J, 1994)).

Pero pocos demostraron la asociación entre la exposición a hongos ambientales y síntomas respiratorios, incluido síntomas asmáticos, en nuestro estudio a pesar de ser sutil la diferencia entre las prevalencia de síntomas en Udimas y Bellaterra, podríamos explicar por el hecho de que en este ambiente existe mayor contaminación fúngica que en Udimas. (Bush R.K, et al, 2006, Custovic & Woodcock, 2000; Fung, 2002; Ross, et.al, 2000; Dales et.al 2000). La falta de evidencias más robustas crea más expectativa referente a la importancia de dichas investigaciones. (Burr, 2001)

Es un hecho constatado por diversos estudios epidemiológicos que la prevalencia de la patología alérgica está en aumento. A pesar de ello las enfermedades alérgicas no son siempre adecuadamente diagnosticadas ni tratadas. Éste déficit en el diagnóstico y tratamiento parece ser debido a que muchos alérgicos infravalora o se adaptan a los síntomas de la enfermedad considerándolos como algo normal.

Es de grande interés realizar estudios aerobiológicos que nos permitan determinar la distribución geográfica y estacional de las esporas de los principales hongos, sin olvidar que existen importantes limitaciones de los métodos micro-micológicos de cultivo.

Así el objetivo ideal sería realizar un seguimiento en el tiempo del paciente (sin tratamiento de inmunoterapia) neumosensibilizado a hongos a lo largo del tiempo para así intentar correlacionar su alergia con los niveles de carga fúngica en cada momento.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES:

6.1. Aerobiología:

Con respecto a los resultados obtenidos a partir del estudio aerobiológico sobre esporas de hongos ambientales, realizados en dos unidades docentes de la Universitat Autònoma de Barcelona y muestradas durante las cuatro estaciones del año de 2007, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- La carga fúngica (UFC/m³) es superior:

- i. En el ambiente Exterior que en el Interior.
- ii. En Bellaterra que en Udimas (interior y exterior más exterior).
- iii. En Verano que en Otoño, seguidos de Primavera e Invierno (en ambas localidades).
- iv. *Durante* la clase que *antes* de empezar las clases (en ambas localidades).
- v. A temperatura y humedad superiores.

6.2 Biodiversidad:

- i. Se han identificado 65 especies pertenecientes a 29 taxones fúngicos.
- ii. Los principales taxones encontrados, en interior y exterior fueron: *Alternaria sp.*, *Acremonium sp.*, *Aspergillus sp.*, levaduras, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Mucor/Rhizopus*, *Ochroconis sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Penicillium sp.* y *Wallemia sp.*
- iii. La carga fúngica en UFC/m³ es superior en el exterior para: *Alternaria sp.*, *Acremonium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, levaduras, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*
- iv. La carga fúngica de *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Ochroconis sp.* y *Penicillium sp.* es significativamente superior en Bellaterra interior que en Udimas interior. En cambio no hay diferencias significativas entre Bellaterra y Udimas en exterior.
- v. Micelio estéril y *Ochroconis sp.* son más prevalentes en interior y en Bellaterra.
- vi.. En primavera se observa la mayor biodiversidad en exterior seguida de otoño, invierno y verano. Por el contrario los niveles en interior son más variables en verano. En primavera se observa mayor prevalencia de *Acremonium sp.* y *Paecilomyces sp.*, y en Otoño de *Mucor/Rhizopus*. En ambos casos los valores de exterior son mayores que los de interior.
- vii. La carga fúngica es superior en el exterior en las cuatro estaciones para *Alternaria sp.* y *Cladosporium sp.* *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* presentan una carga fúngica mayor en primavera, otoño e invierno.
- viii. El efecto de la actividad humana hace aumentar la carga fúngica en el interior de las aulas: en Udimas (5 géneros) y en Bellaterra (2 géneros).

6.3 Epidemiología:

Considerando los resultados del estudio epidemiológico realizado a los estudiantes de Udimas y Bellaterra se puede inferir:

6.3.1 Cuestionarios:

- i. El 9,5% de estudiantes habían sido diagnosticados de Asma, por un médico; el 12,5% de Rinitis, el 10,0% de Conjuntivitis y el 6,5% de Eczema.
- ii. La prevalencia de respuestas afirmativas en los cuestionarios sobre síntomas alérgicos es superior en Bellaterra que en Udimas.
- iii. Del cuestionario se desprende que hay un 35% de los estudiantes no diagnosticados por un médico que podrían sufrir Rinitis (41% en Bellaterra; 28% en Udimas).
- iv. Del cuestionario se desprende que hay un 45% de los estudiantes no diagnosticados por un medico que podrían sufrir de conjuntivitis (52% en Bellaterra; 38% en Udimas).

6.3.2 Pruebas *in vivo*: Prick Test (SPT)

- v. El 54% de los estudiantes presentó una prueba positiva a uno o más de los 9 alergenos (de los positivos: 45% son monosensibles y el 55% es polisensibles).
- vi. Se encontró mayor prevalencia de positividad en la población de Udimas (62%) que en Bellaterra (47%).
- vii. La mayor frecuencia fue para *Dermatophagoides pteronyssinus* (48,0%) seguido de *Olea europea* (30,5%), gramíneas (26,0%), *Platanus acerifolia* (19,5%); *Parietaria judaica* (10,5%); *Alternaria alternata* (9,5%), *Cladosporium cladosporioides* (8,0%), *Penicillium notatum* (7,5%) y *Aspergillus fumigatus* (7,0%).
- viii. Considerando el criterio de grado de positividad, la prevalencia de sensibilizados (con significación estadística) es superior en Udimas que en Bellaterra para *Olea europea*, *Penicillium notatum*, *Platanus acerifolia*, *Aspergillus fumigatus* y *Alternaria alternata*.
- ix. Considerando el criterio de superficie de la pápula ($\geq 9\text{mm}^2$), la prevalencia de sensibilizados (con significación estadística) es superior en Udimas que en Bellaterra para *Olea europea*,

Penicillium notatum, *Platanus acerifolia*, *Cladosporium cladosporioides* y *Dermatophagoides pteronyssinus*.

- x. *Dermatophagoides pteronyssinus* generó mayor superficie media de la pápula, seguido de *Alternaria Alternata* y los 4 pólenes (*Olea europea*, *Parietaria judaica*, *Gramíneas espontaneas* y *Platanus acerifolia*).
- xi. La valoración del *prick test* por el criterio de grados mostró un descenso de la positividad en relación al método convencional (superficie de la pápula)

6.3.3 Pruebas *in vitro*: *ImmunoCAPTM Rapid*:

- xii. El 52% de los estudiantes da positivo a alguno de los 10 extractos testados (de los positivos: 44% son monosensibles y el 56% son polisensibles, y de estos un 62% simultáneamente a 2 extractos y un 11% a 5 extractos).
- xiii. Se encontró mayor prevalencia de positividad en la población de Udimas (57%) que en Bellaterra (48%).
- xiv. La mayoría son sensibles a *Dermatophagoides pteronyssinus* (39%), seguido de 16,5% a *Olea europea*, 12,2% a epitelio de gato, 7,8% a gramíneas y el 7,0% a *Alternaria alternata*.
- xv. La prevalencia de sensibilizados (con significación estadística) es superior en Udimas que en Bellaterra para *Olea europea*.
- xvi. El mayor nivel de IgE específica (grado 6) se observó en *Dermatophagoides pteronissynus*, *Parietaria judaica*, gramíneas y epitelio de gato.

6.3.4 Pruebas de sensibilidad, especificidad y concordancias entre las técnicas *in vitro* e *in vivo*:

- xvii. Tomando la técnica *in vivo* como estándar: se observa un 84,8% de sensibilidad y un 100% de especificidad respecto de la técnica *in vitro* para el extracto *Dermatophagoides pteronyssinus*; para *Alternaria alternata*: 77,8% y 97,9%; para *Olea europea*: 58,1% y 100%; para gramíneas 28,6% y 96,6%; y para *Parietaria judaica* 25% y 98%.
- xviii. Se observó un 88% de concordancia entre ambas técnicas para *Dermatophagoides pteronyssinus*; un 95% para *Alternaria alternata*, un 77,2% para *Olea europea*, un 63.1% para gramíneas y un 88% para *Parietaria judaica*.

ANEXOS

7.1 Anexo 1: Impresión de Pantalla de la Base de datos del estudio Aerobiológico.

Formulario Consulta Medianas 1/2							
IdLocalidad	4	Asp._conicus	0	Can._hunicula	0	Geo._candidus	0
IdAmbiente	01	Asp._deflectus	0	Can._spp	0,6	Pen._funiculosum	0
EstacionDelAño	1n	Asp._elutus_cremosus	0	Cha._sp	0	Pen._malicous	0
IdMuestra	M11ne	Asp._flavipes	0	Chi	0	Pen._piceus	0
a_d_s	8	Asp._flavus	0	Chr	0	Pen._purpurogenus	0
Temperatura	19,7	Asp._fumigatus	0	Clad._cladosporoides	1,65	Pen._rugulosum	0
Humedad	49	Asp._glaucus	0	Clad._herbarum	2,25	Pen._spp	0
Caudal	1,6	Asp._japonicus	0	Clad._macrocarpum	0	Pen._stoloniferum	0
Tiempo	3	Asp._melleus	0	Clad._oxyporum	0	Phi	0
N_occupantes		Asp._nidulans	0	Clad._sphaerospermum	0	Phi_c	0
		Asp._niger	0	Clad._spp	0	Pho._glomerata	0
Total_Colonias	6,3	Asp._niveus	0	Cry._albidus	0	Pol	0
Alt._americana	0	Asp._ochraceus	0	Cry._laurentii	0	Rhi	0
Alt._alternatum	0	Asp._oryzae	0	Cry._spp	0	Rhi._nigricans	0
Alt._alternata	0,3	Asp._ostianus	0	Cry._uniguttulatus	0	Rhod._sp	0
Alt._brassicicola	0	Asp._parasiticus	0	Cun._echinulata	0	Sac	0
Alt._chartarum	0	Asp._petrakii	0	Cun._brachyspora	0	Sar._fungigata	0
Alt._consortiale	0	Asp._sativus	0	Cun._Junata	0	Sco	0
Alt._dentriticus	0	Asp._speluncus	0	Cun._oryzae	0	Scy	0
Alt._insectoria	0	Asp._spp	0	Cyp	0	Spo	0
Alt._oleracea	0	Asp._sydowi	0	Desconocidos	0	Sta._bothryosum	0
Alt._saprotaric	0	Asp._tannini	0	Dre._australis	0	Syn._acebosum	0
Alt._sonchi	0	Asp._terreus	0	Dre._bispinata	0	Pen._atricolor	0
Alt._spp	0	Asp._sulfur	0	Dre._ravenelli	0	Pen._aurantogriseum	0
Alt._tenüssima	0	Asp._versicolor	0	Erem._nidulans	0	Tri._hansanum	0
Alt._phaeospermum	0	Aur._pululans	0	Epi	0	Tri._ionangi	0
Asp._allaceus	0	Bea	0	Eur._chevalieri	0	Tri._verde	0
Asp._avenaceus	0	Bip	0	Evo	0	Tric._sp	0
Asp._caespitosus	0	Bot._cinerina	0	Fon	0	Ulo._alternans	0
Asp._candidus	0	Can._albicans	0	Fus._chlamidosporum	0	Ver	0
Asp._caneus	0	Can._dublinensis	0	Fus._oxysporum	0	Wal._spp	0
Asp._clavata_nanica	0	Can._fanata	0	Fus._solani	0	OTROS	0

Registro: 14 < 1 > = de 60

7.2 Anexo 2: Impresión de Pantalla de la Base de datos del estudio Alergológico: Cuestionarios.

Resuestas

IdEstudiante	1
Sexo	Hombrer
Edad	
Código Postal	
Curso	
Fumador	<input type="checkbox"/>
Cigarrillos por día	

1. ¿Tienes el diagnóstico médico de padecer Alergia?

1.1 Ama bronquial 1.2 Rinitis
1.3 Conjuntivitis 1.4 Eczema o urticaria
1.5 Otro (indicar)

1.6 ¿Te han especificado que alérgenos te afectan? (indicarlos)

2. Si has marcado NO en la anterior pregunta:

2.1 ¿Presentas alguno de estos síntomas, fuera de procesos gripales o resfrios comunes?

2.2 Estornudos
2.3 Secretión abundante de moco nasal
2.4 Obstrucción o congestión nasal
2.5 Picor ocular
2.6 Lagrimeo
2.7 Dificultad para respirar con náufragos (pitidos) en el pecho
2.8 Otros (indicar cuales)

2.9 Si presentas otros síntomas, indica cuales:

otro1

3. En los últimos 12 meses cuando has presentado alguno de los síntomas anteriores?

3.1 Verano 3.2 Primavera 3.3 Otoño 3.4 Invierno

4. Los síntomas indicados ¿Dónde suelen presentarse con mayor frecuencia?

En ambientes exteriores: 4.1.1 Urbano 4.1.2 Rural
En ambientes interiores: 4.2.1 Casa 4.2.2 Aulas

5. ¿Tienes interés en que se te practiquen pruebas cutáneas del prick para determinar si eres alérgico?

Si

Registro: [] de 1

7.3 Anexo: 3: Impresión de Pantalla de la Base de datos del estudio Alergológico: *Prick test*:

FormPTResultados

Información del alumno					
Nombre			Fecha de nacimiento		
Centro de Estudio			Fecha actual		
REACTIVOS / ALERGENOS	DIAMETRO PAPULA en mm				
	X	Y	Superficie	ERITEMA	OBSERVACIONES
1. Histamina				<input type="checkbox"/>	
2. Dermatophagoides pteronyssinus				<input type="checkbox"/>	
3. Olea europaea				<input type="checkbox"/>	
4. Platanus acerifolia				<input type="checkbox"/>	
5. Gramineas espontáneas				<input type="checkbox"/>	
6. Parietaria judaica				<input type="checkbox"/>	
7. Alternaria alternata				<input type="checkbox"/>	
8. Aspergillus fumigatus				<input type="checkbox"/>	
9. Cladosporium herbarum				<input type="checkbox"/>	
10. Penicillium notatum				<input type="checkbox"/>	
11. Solución salina control				<input type="checkbox"/>	

Registro: 1 de 1

7.4 Anexo 4: Hoja de Recogida de datos *in situ: Prick test:*

PRICK TEST				
Nombre completo:		Fecha de nacimiento:		
Fecha actual:		Edad actual (años y meses):		
*	Reactivos	Induración en mm a los 15 minutos	Erupción en mm a los 15 minutos	Observaciones
1	Histamina			
2	D. pteronyssinus			
3	Olea europaea			
4	Platanus acerifolia			
5	G. espontáneas			
6	Parietaria judaica			
7	Alternaria alternata			
8	Aspergillus fumigatus			
9	Cladosporium herbarum			
10	Penicillium sp.			
11	Salmo			

* se pueden utilizar estas etiquetas (números) indentificadoras para marcar en la piel

Modelo de registro de resultados hecho basado por el modelo presente en el Taller de diagnóstico de alergia en el asma- RESPIRAR, Carlos A. Díaz Vázquez

7.5 Anexo 5: Impresión de Pantalla de la Base de datos del estudio Alergológico: IgE *ImmunoCAPTM Rapid*

Formulario IgE

Información del alumno

Id del alumno: 1 Nombre: Fecha de nacimiento: 17/06/1996
Centro de estudios: UDIMAS Fecha actual: 17/10/2007

REACTIVOS	Presencia de anticuerpos IgE específico	REACTIVOS	Presencia de anticuerpos IgE específico
1. e1 cat	<input type="radio"/> + <input checked="" type="radio"/> - Grado: 1	6. e5 dog	<input type="radio"/> + <input checked="" type="radio"/> - Grado: 1
2. t3 birch	<input checked="" type="radio"/> + <input type="radio"/> - Grado: 2	7. t9 olive tree	<input type="radio"/> + <input checked="" type="radio"/> - Grado: 2
3. w6 mugwort	<input checked="" type="radio"/> + <input type="radio"/> - Grado: 3	8. w21 wall pellitory	<input type="radio"/> + <input checked="" type="radio"/> - Grado: 3
4. g6 timothy	<input checked="" type="radio"/> + <input type="radio"/> - Grado: 4	9. d1 house dust mite	<input type="radio"/> + <input checked="" type="radio"/> - Grado: 4
5. i6 cockroach	<input checked="" type="radio"/> + <input type="radio"/> - Grado: 5	10. m6 mould	<input type="radio"/> + <input checked="" type="radio"/> - Grado: 5

Registro: 1 de 2

7.6 Anexo 6: Medios de cultivo, reactivos y materiales utilizados en la identificación de las muestras:

Medios de cultivo:

Caldo Sabouraud / Agar Sabouraud (bioMérieux, La balme, farnce)

Formula:

- neopeptona (10,0g)
- bactodextros (20-40g)
- cantidad suficiente para preparar (1000ml)

Sabouraud diluido:

Formula:

- glucosa (2,0g)
- neopeptona (o bactopeptona) (1,0g)
- sulfato de magnesio (1,0g)
- agar-agar (20.0g)
- agua destilada (1000ml)

Agar-pulpa de patata-glucosado (PDA) (merck, darmstadt, Germany):

Formula:

- pulpa de patata (250g)
- glucosa (20g)
- agar (20g)
- agua destilada (1000ml)

Agar Czapek (Difco Sparks, USA):

Formula:

- sacarosa (30g)
- nitrato de sodio (3,0g)
- fosfato dipotasico (1,0g)
- sulfato magnesico (0,5g)
- cloruro potásico (0,01g)

Agar Malta (Difco Sparks, USA):

Formula:

- extracto de malta (12,5g)
- dextrina (2,75g)
- glicerina (2,35g)
- peptona de gelatina (0,78g)
- agar bacteriologico (15,0g)
- agua destilada (1000ml)

Reactivos: Colorantes y tinciones:

Solución Azul de Lactofenol (Panreac, Castellar del Vallès, España):

azul de metileno (50mg)

fenol (25,0g)

acido L(+)-láctico (20,8ml)

glicerina (39,5ml)

agua c.s.p (100ml)

Agua bidestilada o de calidad equivalente

Productos para desinfección: Alcohol de 70°

Material de laboratorio:

Placas de Rodac (referencia)

Placas de Petri grandes 90x 15mm (Nirco, Barberà del Vallès, España)

Placas de Petri pequeñas 50mm de diámetro (Nirco, Barberà del Vallès, España)

Estufas de cultivo:

Para el estudio de hongos ambientales la temperatura de incubación ha de ser la ambiental (20-25°C) a fin de inhibir los hongos que pueden crecer a temperaturas más elevadas y favorecer la flora fúngica ambiental.

No obstante, es necesario disponer de:

- Estufas de cultivo a 37°C
- Estufas de cultivo a 30°C

Esterilización:

Es imprescindible que existan métodos para la correcta esterilización de materiales y posteriormente para la eliminación de muestras, es decir, autoclaves o incineradores.

Campana de seguridad biológica Bio II A

Contenedores para residuos biológicos

Portaobjetos: 76X26 mm

Cubreobjetos: 20x20 m

Celo transparente (Scotch Brite)

Algodón absorbente:

Asas de plástico: 10 microlitros

Pipetas Pasteur: Pipetas de plástico tipo Pasteur; gruesas, 157mm de diámetro, capacidad de 3 ml.

Guantes de silicona

Nevera: Las placas, deben ser almacenadas en frío (4 a 6° C) hasta completar la identificación de las colonias. Todas las placas, eran almacenadas por el periodo correspondiente al término de la identificación de la toma de cada estación.

7.7 Anexo 7: Tablas referente a las Figuras R:

Tabla 1: Valores de la Prueba estadística correspondiente a la Figura 1 R.

Pruebas estadística:	UFC/m ³
U de Mann-Whitney	391,500
W de Wilcoxon	5047,500
Z	-4,990
Sig. asintót. (bilateral)	,000

Tabla 2: Valores de los percentiles 25, 50, 75, correspondiente a la Figura 1 R.

	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	Percentiles		
					25	50	75
Interior	15,8344	13,30887	2,85	59,40	6,7500	11,6250	18,3000
Exterior	33,9875	20,34521	10,95	78,30	19,5750	27,1500	48,1875

Tabla 3: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 2 R.

	UFC/m ³
Chi-Square	15,581
Df	1
Asymp. Sig.	,000
a Kruskal Wallis Test	
b Grouping Variable: Zone	

Tabla 4: Valores de los percentiles 25, 50, 75, correspondientes a la Figura 2 R.

Zona	Mínimo	Máximo	Percentiles		
			25	50	75
UDIMAS	2,9	64,8	6,300	11,250	16,313
Bellaterra	3,2	78,3	10,688	19,650	36,600

Tabla 5: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 3 R.

	UFC/m ³
Chi-Square	16,812
Df	1
Asymp. Sig.	,000
a Kruskal Wallis Test	
b Grouping Variable: Zone	

Tabla 6: Valores de los percentiles 25, 50 y 75, correspondiente a la Figura 3 R.

Zona	Mínimo	Máximo	Percentiles		
			25	50	75
UDIMAS	2,9	19,1	5,550	9,000	14,025
Bellaterra	3,2	59,4	9,375	16,175	34,388

Tabla 8: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 4 R.

	UFC/m ³
Chi-Square	42,840
Df	3
Asymp. Sig.	,000
a Kruskal Wallis Test	
b Grouping Variable: Season	

Tabla 9: Los valores de percentiles 25, 50 y 75, correspondientes a la Figura 4 R.

Estación	Mínimo	Máximo	Percentiles		
			25	50	75
Invierno	2,9	23,4	5,213	7,950	10,613
Primavera	4,5	34,8	10,575	13,500	20,250
Verano	5,1	78,3	16,088	40,275	56,588
Otoño	5,1	34,1	9,300	15,650	24,300

Tabla 10: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 5 R.

	UFC/m ³
Chi-Square	38,503
df	3
Asymp. Sig.	,000
a Kruskal Wallis Test	
b Grouping Variable: Season	

Tabla 11: valores de percentiles 25, 50 y 75, correspondiente a la Figura 5 R.

Estación	Minimum	Maximum	Percentiles		
			25	50	75
Invierno	2,9	12,3	4,650	6,450	8,850
Primavera	4,5	21,8	9,000	12,825	16,650
Verano	5,1	59,4	12,825	28,125	44,288
Otoño	5,1	26,0	7,388	13,500	18,263

Tabla 13: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 6 R.

Estación		UFC/m ³
Invierno	Mann-Whitney U	60,000
	Wilcoxon W	138,000
	Z	-,694
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,488
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,514(a)
Primavera	Mann-Whitney U	23,000
	Wilcoxon W	101,000
	Z	-2,830
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,004(a)
Verano	Mann-Whitney U	,000
	Wilcoxon W	78,000
	Z	-4,158
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000(a)
Otoño	Mann-Whitney U	33,000
	Wilcoxon W	111,000
	Z	-2,252
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,024
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,024(a)

Tabla 14: Valores de los percentiles 25, 50 y 75, correspondiente a las Figuras 6 R.

Estación	Zona	Mínimo	Máximo	Percentiles		
				25	50	75
Invierno	UDIMAS	2,9	9,6	4,163	5,775	9,075
	Bellaterra	3,2	12,3	5,775	6,750	8,775
Primavera	UDIMAS	4,5	15,8	5,550	9,750	13,313
	Bellaterra	9,9	21,8	12,225	15,300	20,175
Verano	UDIMAS	5,1	19,1	9,488	13,800	17,700
	Bellaterra	37,2	59,4	40,238	44,025	55,538
Otoño	UDIMAS	5,1	18,2	6,188	9,975	15,488
	Bellaterra	9,3	26,0	10,088	16,850	20,963

Tabla 15: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 7 R.

	UFC/m ³
Chi-Square	42,815
df	2
Asymp. Sig.	,000
a Kruskal Wallis Test	
b Grouping Variable: Season	

Tabla 16: Valores de los percentiles 25, 50 y 75, correspondientes a la Figura 7 R.

Momento	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	Percentiles		
					25	50	75
1 Antes	11,9156	11,35784	2,85	43,50	5,2875	8,5500	11,8500
2 Durante	19,7531	14,05893	4,50	59,40	10,9125	16,2750	20,7750
3 Exterior	33,9875	20,34521	10,95	78,30	19,5750	27,1500	48,1875

Tabla 17: Valores de la Prueba estadística correspondiente a las Figuras 8 R y 9 R.

Zona	Estación	UFC/m ³			
		Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]
UDIMAS	Invierno (Antes/Durante)	3,000	24,000	,016	,015(a)
	Primavera (Antes/Durante)	,000	21,000	,004	,002(a)
	Verano (Antes/Durante)	3,000	24,000	,016	,015(a)
	Otoño (Antes/Durante)	,000	21,000	,004	,002(a)
Bellaterra	Invierno (Antes/Durante)	4,000	25,000	,025	,026(a)
	Primavera (Antes/Durante)	,000	21,000	,004	,002(a)
	Verano (Antes/Durante)	,000	21,000	,004	,002(a)
	Otoño (Antes/Durante)	,000	21,000	,004	,002(a)

Tabla 18: Valores de la Prueba estadística correspondiente as las Figuras 10 R y 11 R.

Zona	Estación (Interior/Exterior)	UFC/m ³			
		Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]
UDIMAS	Invierno	,000	78,000	,009	,004(a)
	Primavera	,000	78,000	,009	,004(a)
	Verano	,000	78,000	,009	,004(a)
	Otoño	,000	78,000	,009	,004(a)
Bellaterra	Invierno	,000	78,000	,009	,004(a)
	Primavera	4,500	82,500	,051	,048(a)
	Verano	,000	78,000	,009	,004(a)
	Otoño	,000	78,000	,009	,004(a)

Tabla 19: Valores de los percentiles 25, 50 y 75 referente a las Figuras 8 R, 9 R, 10 R y 11 R.

Zona	Estación	Momento	Percentiles		
			25	50	75
UDIMAS	Invierno	Antes	3,075	4,575	5,513
		Durante	7,088	9,000	9,600
		Exterior	10,950	11,250	13,200
	Primavera	Antes	4,725	5,700	8,588
		Durante	11,138	13,275	14,513
		Exterior	20,250	20,400	25,650
	Verano	Antes	6,338	10,275	12,825
		Durante	15,000	17,250	18,488
		Exterior	52,650	58,650	64,800
	Otoño	Antes	5,213	6,225	6,638
		Durante	13,650	15,075	16,913
		Exterior	25,650	28,650	32,550
Bellaterra	Invierno	Antes	3,713	5,850	7,088
		Durante	6,750	8,400	10,950
		Exterior	15,300	18,900	23,400
	Primavera	Antes	10,913	12,300	13,425
		Durante	18,750	20,100	21,638
		Exterior	19,350	24,450	34,800
	Verano	Antes	37,763	40,275	43,500
		Durante	50,175	54,825	58,050
		Exterior	67,500	72,600	78,300
	Otoño	Antes	9,300	10,575	12,738
		Durante	19,988	20,925	24,375
		Exterior	29,850	32,550	34,050

Tabla 20.: Valores de los percentiles 25, 50 y 75 referente a la Figura 12 R.

Localización	Estación		Percentiles		
			25	50	75
Interior	Invierno	UFC/m ³	4,200	6,600	9,000
		Temperatura	21,750	22,800	24,475
		Humedad	42,25	45,00	48,50
	Primavera	UFC/m ³	9,375	13,050	15,825
		Temperatura	21,625	22,750	23,825
		Humedad	51,00	54,50	58,00
	Verano	UFC/m ³	12,975	29,250	46,725
		Temperatura	23,925	24,650	25,475
		Humedad	50,00	61,00	66,75
	Otoño	UFC/m ³	8,625	11,550	18,825
		Temperatura	18,825	20,300	22,300
		Humedad	47,00	51,00	55,00
Exterior	Invierno	UFC/m ³	9,600	13,350	17,250
		Temperatura	14,125	15,000	18,000
		Humedad	40,25	42,00	50,50
	Primavera	UFC/m ³	18,075	22,500	30,900
		Temperatura	16,000	20,000	22,650
		Humedad	45,00	49,00	51,00
	Verano	UFC/m ³	60,300	66,600	71,025
		Temperatura	23,350	24,500	25,000
		Humedad	41,00	55,00	62,75
	Otoño	UFC/m ³	26,175	29,250	34,425
		Temperatura	14,775	17,000	17,950
		Humedad	39,50	43,00	46,50

Tabla 22: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 13 R y 14 R.

	Mann-Whitney	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
<i>Alternaria sp</i>	440,000	5096,000	4,684	,000
<i>Aspergillus sp</i>	561,500	5217,500	−896	,000
<i>Cladosporium sp</i>	363,000	5019,000	5,177	,000
Levaduras	895,500	5551,500	2,002	,045
<i>Fusarium sp</i>	789,000	5445,000	2,504	,012
Micélio estéril	755,500	5411,500	2,766	,006
<i>Mucor/ Rhizopus</i>	923,500	5579,500	1,653	,098
<i>Ochroconis sp</i>	908,000	5564,000	1,649	,099
<i>Paecilomices sp</i>	1013,500	5669,500	1,102	,270
<i>Penicillium sp</i>	484,500	5140,500	4,385	,000
<i>Wallemia sp</i>	1032,000	5688,000	,922	,357
<i>Acremonium sp</i>	822,500	5478,500	2,645	,008

Tabla 23: Valores de los percentiles 25, 50 y 75 referente a la Figura 13 R y 14 R.

	Localización	Percentiles		
		25	50	75
<i>Alternaria sp.</i>	Interior	,3000	,7500	1,2000
	Exterior	1,0125	1,8750	3,5625
<i>Aspergillus sp.</i>	Interior	,1500	,6000	1,4250
	Exterior	,9375	2,2500	3,7125
<i>Cladosporium sp.</i>	Interior	4,0500	6,0000	9,7500
	Exterior	9,3750	11,7750	19,7250
Levaduras	Interior	,0000	1,0000	1,0000
	Exterior	1,0000	1,0000	1,0000
<i>Fusarium sp.</i>	Interior	,0000	,1500	,4125
	Exterior	,0000	,3750	1,2000
Micélio estéril	Interior	,0000	,0500	,1500
	Exterior	,0000	,3000	,6000
<i>Mucor/ Rhizopus</i>	Interior	,0000	,0000	,2625
	Exterior	,0000	,1500	1,0125
<i>Ochroconis sp.</i>	Interior	,0000	,3000	1,0500
	Exterior	,0000	1,0500	2,9250
<i>Paecilomices sp.</i>	Interior	,0000	,0000	,1500
	Exterior	,0000	,0000	,2625
<i>Penicillium sp.</i>	Interior	,7875	1,3500	2,1000
	Exterior	2,5500	3,4500	4,9125
<i>Wallemia sp.</i>	Interior	,0000	1,0000	1,0000
	Exterior	,0000	1,0000	1,0000
<i>Acremonium sp.</i>	Interior	,0000	,0000	,1500
	Exterior	,0000	,0750	,5625

Tabla 24: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 15 R.

Udimas y Bellaterra	Interior	Exterior	Chi -square
<i>Alternaria sp</i>	95,8%	100,0%	,583
<i>Aspergillus sp</i>	76,0%	91,7%	,074
<i>Cladosporium sp</i>	100,0%	100,0%	120
Levaduras	59,4%	79,2%	,072
<i>Fusarium sp</i>	51,0%	70,8%	,064
Micélio estéril	50,0%	66,7%	,108
<i>Mucor/ Rhizopus</i>	42,7%	50,0%	,338
<i>Ochroconis sp</i>	61,5%	62,5%	,560
<i>Paecilomices sp</i>	29,2%	41,7%	,175
<i>Penicillium sp</i>	96,9%	95,8%	,596
<i>Wallemia sp</i>	56,3%	66,7%	,245
<i>Acremonium sp</i>	26,0%	50,0%	,023

Tabla 25: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 16 R y 17 R.

Localización		Asymp. Sig. (2-tailed)
Interior	<i>Alternaria sp</i>	,000
	<i>Aspergillus sp</i>	,021
	<i>Cladosporium sp</i>	,000
	Levaduras	,301
	<i>Fusarium sp</i>	,158
	Micélio estéril	,005
	<i>Mucor/ Rhizopus</i>	,262
	<i>Ochroconis sp</i>	,001
	<i>Paecilomices sp</i>	,942
	<i>Penicillium sp</i>	,000
	<i>Wallemia sp</i>	,682
	<i>Acremonium sp</i>	,909

Tabla 26: Valores de los percentiles 25, 50, 75, referente a la Figura 16 R y 17 R.

Localización		Zone	Percentiles		
			25	50	75
Interior	<i>Alternaria sp.</i>	UDIMAS	,3000	,4500	,7500
		Bellaterra	,4875	1,0500	2,2125
	<i>Aspergillus sp.</i>	UDIMAS	,0000	,4500	,9000
		Bellaterra	,3000	,7250	2,5500
	<i>Cladosporium sp.</i>	UDIMAS	3,6000	4,9500	6,9000
		Bellaterra	5,1750	8,1000	13,5750
	<i>Levaduras</i>	UDIMAS	,0000	1,0000	1,0000
		Bellaterra	,0000	1,0000	1,0000
	<i>Fusarium sp.</i>	UDIMAS	,0000	,0000	,3000
		Bellaterra	,0000	,1500	,6000
	<i>Micélio estéril</i>	UDIMAS	,0000	,0000	,1500
		Bellaterra	,0000	,1500	,3000
	<i>Mucor/ Rhizopus</i>	UDIMAS	,0000	,0000	,1500
		Bellaterra	,0000	,0000	,3000
	<i>Ochroconis sp.</i>	UDIMAS	,0000	,1500	,7125
		Bellaterra	,0000	,7500	1,8000
	<i>Paecilomices sp.</i>	UDIMAS	,0000	,0000	,1500
		Bellaterra	,0000	,0000	,1875
	<i>Penicillium sp.</i>	UDIMAS	,6000	1,0500	1,6500
		Bellaterra	1,1250	1,7250	3,1125
	<i>Wallemia sp.</i>	UDIMAS	,0000	1,0000	1,0000
		Bellaterra	,0000	1,0000	1,0000
	<i>Acremonium sp.</i>	UDIMAS	,0000	,0000	,1500
		Bellaterra	,0000	,0000	,1125

Tabla 27: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 18 R y 21 R.

	Interior Udimas/Bellaterra	Exterior Udimas/Bellaterra	Chi-square Interior/Exterior
<i>Alternaria sp</i>	91%/100%	100,0%/100%	,059/,125
<i>Aspergillus sp</i>	31,3%/16,7	91,7%/91,7%	,075/,761
<i>Cladosporium sp</i>	100,0%/100,0%	100,0%/100,0%	96/24
Levaduras	54,2%/64,6%	83,3%/73,0%	,203/,500
<i>Fusarium sp</i>	45,8%/56,3%	58,3%/83,3%	,207/,185
Micelio estéril	39,6 %/60,4%	66,7%/66,6%	,041/,667
<i>Mucor/ Rhizopus</i>	37,5%/47,9%	33,3%/66,7	,205/,110
<i>Ochroconis sp</i>	52,1%/70,8%	58,2%/66,7%	,046/,500
<i>Paecilomices sp</i>	31,3%/27,1%	50,0%/33,0%	,411/,340
<i>Penicillium sp</i>	93,8%/100%	100%/91,0%	,121/,500
<i>Wallemia sp</i>	54,2%/58,3%	66,7%/66,7%	,419/,667
<i>Acremonium sp</i>	27,1%/25,0%	41,7%/58,3%	,500/,34323

Tabla 28: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 19 R y 20 R.

Localización		Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]
Exterior	<i>Alternaria sp</i>	,750	,755(a)
	<i>Aspergillus sp</i>	,386	,410(a)
	<i>Cladosporium sp</i>	,119	,128(a)
	Levaduras	,939	,977(a)
	<i>Fusarium sp</i>	,747	,755(a)
	Micelio estéril	,573	,590(a)
	<i>Mucor/ Rhizopus</i>	,156	,198(a)
	<i>Ochroconis sp</i>	,358	,378(a)
	<i>Paecilomices sp</i>	,477	,551(a)
	<i>Penicillium sp</i>	,977	,977(a)
	<i>Wallemia sp</i>	1,000	1,000(a)
	<i>Acremonium sp</i>	,458	,514(a)

Tabla 29: Valores de los percentiles 25, 50, 75 referente a la Figura 19 R y 20 R.

Localización		Zone	Percentiles		
			25	50	75
Exterior	<i>Alternaria sp.</i>	UDIMAS	,9000	1,8750	3,5625
		Bellaterra	1,3875	1,8750	5,1750
	<i>Aspergillus sp.</i>	UDIMAS	,7875	1,6500	3,9750
		Bellaterra	1,5750	2,4000	3,4500
	<i>Cladosporium sp.</i>	UDIMAS	9,0000	10,1250	18,8250
		Bellaterra	10,3125	14,9250	27,7125
	Levaduras	UDIMAS	1,0000	1,0000	1,0000
		Bellaterra	,2500	1,0000	1,0000
	<i>Fusarium sp.</i>	UDIMAS	,0000	,2250	1,4250
		Bellaterra	,1875	,5250	1,1625
	Micelio esteril	UDIMAS	,0000	,3000	,5250
		Bellaterra	,0000	,3750	,7125
	<i>Mucor/Rhizopus</i>	UDIMAS	,0000	,0000	,4500
		Bellaterra	,0000	,5250	1,1625
	<i>Ochroconis sp.</i>	UDIMAS	,0000	1,0500	1,8750
		Bellaterra	,0000	1,2000	5,7375
	<i>Paecilomices sp.</i>	UDIMAS	,0000	,0750	,3750
		Bellaterra	,0000	,0000	,2625
	<i>Penicillium sp.</i>	UDIMAS	1,4250	3,5250	5,0625
		Bellaterra	2,5875	3,4500	4,6875
	<i>Wallemia sp.</i>	UDIMAS	,0000	1,0000	1,0000
		Bellaterra	,0000	1,0000	1,0000
	<i>Acremonium sp.</i>	UDIMAS	,0000	,0000	,4500
		Bellaterra	,0000	,2250	,8250

Tabla 30: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 22 R, 24 R, 26 R, 28 R y 30 R.

	Estación	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]
<i>Aalternaria sp.</i>	Invierno	7,000	,001	,000(a)
	Primavera	19,000	,006	,004(a)
	Verano	10,500	,001	,000(a)
	Otoño	20,500	,007	,005(a)
<i>Aspergillus sp.</i>	Invierno	30,000	,026	,029(a)
	Primavera	18,000	,005	,003(a)
	Verano	45,500	,169	,174(a)
	Otoño	13,000	,002	,001(a)
<i>Cladosporium sp.</i>	Invierno	1,000	,000	,000(a)
	Primavera	14,500	,003	,001(a)
	Verano	9,000	,001	,000(a)
	Otoño	9,000	,001	,000(a)
Levaduras	Invierno	44,000	,090	,158(a)
	Primavera	57,000	,229	,462(a)
	Verano	63,000	,524	,667(a)
	Otoño	45,000	,105	,174(a)
<i>Fusarium sp.</i>	Invierno	55,500	,186	,402(a)
	Primavera	14,000	,002	,001(a)
	Verano	47,000	,185	,210(a)
	Otoño	67,500	,809	,820(a)
Micelio Esteril	Invierno	25,000	,010	,013(a)
	Primavera	55,500	,340	,402(a)
	Verano	50,000	,231	,273(a)
	Otoño	53,000	,291	,347(a)
<i>Mucor /Rhizopus</i>	Invierno	57,000	,230	,462(a)
	Primavera	64,000	,608	,705(a)
	Verano	48,500	,215	,230(a)
	Otoño	11,000	,001	,001(a)
<i>Ochroconis sp.</i>	Invierno	72,000	1,000	1,000(a)
	Primavera	36,500	,065	,065(a)
	Verano	37,000	,068	,073(a)
	Otoño	55,500	,388	,402(a)
<i>Paecilomyces sp.</i>	Invierno	69,000	,617	,900(a)
	Primavera	22,000	,001	,008(a)
	Verano	64,500	,617	,705(a)
	Otoño	61,500	,579	,595(a)
<i>Penicillium sp.</i>	Invierno	25,500	,015	,013(a)
	Primavera	26,500	,018	,015(a)
	Verano	41,000	,107	,116(a)
	Otoño	10,500	,001	,000(a)
<i>Wallemia sp.</i>	Invierno	72,000	1,000	1,000(a)
	Primavera	63,000	,543	,667(a)
	Verano	69,000	,822	,900(a)
	Otoño	54,000	,178	,374(a)
<i>Acremonium sp.</i>	Invierno	72,000	1,000	1,000(a)
	Primavera	27,000	,008	,018(a)
	Verano	47,000	,179	,210(a)
	Otoño	44,000	,049	,158(a)

Tabla 31: Valores de los percentiles 25, 50 y 75, correspondiente a las Figuras 22 R, 24 R, 26 R, 28 R y 30 R.

	Estación	Localización	Mínimo	Máximo	Percentiles		
					25	50	75
<i>Alternaria sp.</i>	Invierno	Interior	,00	,75	,1500	,3000	,4500
		Exterior	,60	1,50	,7125	,8250	1,3875
	Primavera	Interior	,15	1,80	,6000	,9000	1,0500
		Exterior	,90	2,10	1,4625	1,6500	1,8750
	Verano	Interior	,00	9,60	,6375	1,5000	3,0000
		Exterior	3,45	7,20	4,2375	6,3000	6,9750
<i>Aspergillus sp.</i>	Otoño	Interior	,15	3,00	,4500	,7500	1,2000
		Exterior	,90	3,60	1,6875	2,1750	2,9250
	Invierno	Interior	,00	1,20	,0000	,1500	,5625
		Exterior	,00	2,40	,3375	1,0500	1,7250
	Primavera	Interior	,00	2,10	,0000	,4500	,8625
		Exterior	,75	2,40	,8625	1,4250	2,4000
	Verano	Interior	,00	9,30	,7500	1,9500	4,6875
		Exterior	,00	8,40	2,7000	4,3500	7,9500
	Otoño	Interior	,00	3,00	,3000	,6500	2,0625
		Exterior	2,10	6,90	2,1000	2,8500	4,5375
<i>Cladosporium sp.</i>	Invierno	Interior	1,80	7,05	3,0000	4,2000	5,5500
		Exterior	6,90	12,00	7,6875	8,8500	11,6625
	Primavera	Interior	2,55	10,95	3,9375	5,7000	8,2500
		Exterior	9,00	14,55	9,4500	9,8250	12,1875
	Verano	Interior	2,55	29,85	6,4875	12,2250	21,4125
		Exterior	19,95	37,20	23,3250	31,9500	35,6250
	Otoño	Interior	3,30	13,80	4,2000	6,5250	9,4875
		Exterior	9,30	19,05	10,3125	15,3750	17,8125
<i>Levaduras</i>	Invierno	Interior	,00	1,00	,0000	,0000	1,0000
		Exterior	,00	1,60	,0000	1,0000	1,1500
	Primavera	Interior	,00	1,00	1,0000	1,0000	1,0000
		Exterior	1,00	1,00	1,0000	1,0000	1,0000
	Verano	Interior	,00	1,00	1,0000	1,0000	1,0000
		Exterior	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
	Otoño	Interior	,00	1,00	,0000	,0000	1,0000
		Exterior	,00	1,00	,7500	1,0000	1,0000
<i>Fusarium sp.</i>	Invierno	Interior	,00	,15	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,30	,0000	,0000	,1875
	Primavera	Interior	,00	1,65	,0000	,1500	,6375
		Exterior	,45	2,55	,9000	1,1250	1,5375
	Verano	Interior	,00	1,80	,0000	,6000	1,1625
		Exterior	,00	2,70	,4500	1,2000	1,8000
	Otoño	Interior	,00	,75	,0000	,1500	,3000
		Exterior	,00	,75	,0000	,2250	,4125
<i>Micelio estélices</i>	Invierno	Interior	,00	,30	,0000	,1500	,1500
		Exterior	,00	,75	,2250	,3000	,7500
	Primavera	Interior	,00	,45	,0000	,0000	,1500
		Exterior	,00	,45	,0000	,1500	,3375
	Verano	Interior	,00	1,20	,0000	,1500	,5250
		Exterior	,00	1,20	,0000	,8250	1,0875
	Otoño	Interior	,00	,60	,0000	,0000	,3000

		Exterior	,00	,60	,0000	,2250	,4875
<i>Mucor/Rhizopus</i>	Invierno	Interior	,00	,30	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
	Primavera	Interior	,00	,60	,0000	,0000	,1500
		Exterior	,00	,90	,0000	,0000	,4500
	Verano	Interior	,00	2,55	,0000	,3750	1,1250
		Exterior	,00	3,00	,0000	1,5000	2,7750
	Otoño	Interior	,00	,75	,0000	,0500	,3000
		Exterior	,30	1,50	,4125	,6000	1,1625
<i>Ochroconis sp.</i>	Invierno	Interior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
	Primavera	Interior	,00	3,30	,3000	,7500	1,5375
		Exterior	,45	5,85	,7875	1,8000	3,7125
	Verano	Interior	,00	8,40	,2250	,8250	3,1500
		Exterior	,00	8,40	2,0250	4,2750	7,0500
	Otoño	Interior	,00	2,10	,1500	,4500	,7500
		Exterior	,00	1,65	,0000	,9750	1,4250
<i>Paecilomyces sp.</i>	Invierno	Interior	,00	,15	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
	Primavera	Interior	,00	,30	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,45	,1125	,1500	,3375
	Verano	Interior	,00	2,40	,0000	,0000	,1125
		Exterior	,00	1,05	,0000	,0000	,7125
	Otoño	Interior	,00	1,05	,0375	,3750	,6000
		Exterior	,00	,90	,0000	,0750	,9000
<i>Penicillium sp.</i>	Invierno	Interior	,30	2,40	,6000	1,2000	1,6125
		Exterior	1,20	5,55	1,3125	2,5500	3,9750
	Primavera	Interior	,00	3,90	1,0500	1,4250	1,8000
		Exterior	1,05	3,75	2,1750	2,9250	3,5250
	Verano	Interior	,30	9,60	1,2000	2,2500	5,3250
		Exterior	,00	16,20	2,2500	7,0500	12,6000
	Otoño	Interior	,00	4,95	,6375	1,0750	2,1000
		Exterior	2,70	5,10	3,1500	4,4250	4,9875
<i>Wallemiasp.</i>	Invierno	Interior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
	Primavera	Interior	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
		Exterior	,00	1,00	,7500	1,0000	1,0000
	Verano	Interior	,00	1,00	1,0000	1,0000	1,0000
		Exterior	,00	1,00	,7500	1,0000	1,0000
	Otoño	Interior	,00	1,00	,2500	1,0000	1,0000
		Exterior	1,00	1,00	1,0000	1,0000	1,0000
<i>Acremonium sp.</i>	Invierno	Interior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,00	,0000	,0000	,0000
	Primavera	Interior	,00	,90	,0000	,0000	,1500
		Exterior	,00	1,80	,2250	,3750	1,1250
	Verano	Interior	,00	2,40	,0000	,1500	,6000
		Exterior	,00	1,80	,0000	,7500	1,2375
	Otoño	Interior	,00	,15	,0000	,0000	,0000
		Exterior	,00	,45	,0000	,0750	,3375

Tabla 32: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 23 R, 25 R, 27 R y 29 R.

	Estación	Localización	Prevalencia (%)	Chi-square Test
<i>Alternaria sp.</i>	Invierno	Interior	97	,634
		Exterior	100	
	Primavera	Interior	100	30
		Exterior	100	
	Verano	Interior	91,7	,464
		Exterior	100	
	Otoño	Interior	100	30
		Exterior	100	
<i>Aspergillus sp.</i>	Invierno	Interior	62,5	,326
		Exterior	83,3	
	Primavera	Interior	70,8	,170
		Exterior	100	
	Verano	Interior	87,5	,612
		Exterior	83,3	
	Otoño	Interior	83,3	,388
		Exterior	100	
<i>Cladosporium sp.</i>	Invierno	Interior	100	30
		Exterior	100	
	Primavera	Interior	100	30
		Exterior	100	
	Verano	Interior	100	30
		Exterior	100	
	Otoño	Interior	100	30
		Exterior	100	
<i>Levaduras</i>	Invierno	Interior	33,3	,153
		Exterior	66,3	
	Primavera	Interior	79,2	,298
		Exterior	100	
	Verano	Interior	79,2	,433
		Exterior	66,7	
	Otoño	Interior	45,8	,234
		Exterior	83,3	
<i>Fusarium sp.</i>	Invierno	Interior	12,5	,254
		Exterior	33,3	
	Primavera	Interior	66,7	,126
		Exterior	100	
	Verano	Interior	62,5	,326
		Exterior	83,3	
	Otoño	Interior	62,5	,620
		Exterior	66,7	
<i>Micelio estélices</i>	Invierno	Interior	58,3	,261
		Exterior	83,3	
	Primavera	Interior	41,7	,531
		Exterior	50	
	Verano	Interior	54,2	,469
		Exterior	66,7	

	Otoño	Interior	45,8	,326
		Exterior	66,7	
<i>Mucor/Rhizopus</i>	Invierno	Interior	20,8	,298
		Exterior	0	
	Primavera	Interior	29,2	,600
		Exterior	33,3	
	Verano	Interior	70,8	,600
		Exterior	66,7	
<i>Ochroconis sp.</i>	Otoño	Interior	50	,031
		Exterior	100	
	Invierno	Interior	100	30
		Exterior	100	
	Primavera	Interior	87,5	,499
		Exterior	100	
<i>Paecilomyces sp.</i>	Verano	Interior	79,2	,656
		Exterior	83,3	
	Otoño	Interior	79,2	,433
		Exterior	66,7	
	Invierno	Interior	4,2	,800
		Exterior	0	
<i>Penicillium sp.</i>	Primavera	Interior	12,5	,002
		Exterior	83,3	
	Verano	Interior	25	,520
		Exterior	33	
	Otoño	Interior	75	,237
		Exterior	50	
<i>Wallemiasp.</i>	Invierno	Interior	100	,611
		Exterior	100	
	Primavera	Interior	95,8	,800
		Exterior	100	
	Verano	Interior	109	,200
		Exterior	83,3	
<i>Acremonium sp.</i>	Otoño	Interior	91,7	,634
		Exterior	100	
	Invierno	Interior	100	,536
		Exterior	100	
	Primavera	Interior	70,8	,480
		Exterior	83,3	
<i>Wallemiasp.</i>	Verano	Interior	79,2	,656
		Exterior	83,3	
	Otoño	Interior	75	,227
		Exterior	100	
	Invierno	Interior	100	30
		Exterior	100	
<i>Acremonium sp.</i>	Primavera	Interior	29,2	,026
		Exterior	83,3	
	Verano	Interior	58,3	,545
		Exterior	66,7	
	Otoño	Interior	16,7	,120
		Exterior	50	

Tabla 33: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 31 R y 32 R.

	Zone	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
<i>Alternaria sp</i>	UDIMAS	224,000	524,000	-1,333	,182
<i>Aspergillus sp</i>	UDIMAS	124,000	424,000	-3,443	,001
<i>Cladosporium sp</i>	UDIMAS	71,000	371,000	-4,478	,000
<i>Levaduras</i>	UDIMAS	192,000	492,000	-2,293	,022
<i>Fusarium sp</i>	UDIMAS	216,500	516,500	-1,613	,107
Micélio estéril	UDIMAS	269,000	569,000	-,453	,651
<i>Mucor/ Rhizopus</i>	UDIMAS	234,500	534,500	-1,272	,203
<i>Ochroconis sp</i>	UDIMAS	206,500	506,500	-1,786	,074
<i>Paecilomices sp</i>	UDIMAS	223,500	523,500	-1,622	,105
<i>Penicillium sp</i>	UDIMAS	117,500	417,500	-3,532	,000
<i>Wallemia sp</i>	UDIMAS	192,000	492,000	-2,293	,022
<i>Acremonium sp</i>	UDIMAS	255,500	555,500	-,859	,391

Tabla 34: Valores de los percentiles 25, 50 y 75 referente a la Figura 31 R y 32 R.

Zona	Género	Momento	Mínimo	Máximo	Percentiles		
					25	50	75
UDIMAS	<i>Alternaria sp</i>	Antes	,00	1,20	,3000	,4500	,7500
		Durante	,00	2,10	,3000	,6750	,8625
	<i>Aspergillus sp</i>	Antes	,00	1,20	,0000	,1500	,5625
		Durante	,00	2,85	,4500	,8250	1,1625
	<i>Cladosporium sp</i>	Antes	1,80	6,30	2,7750	3,6750	4,4250
		Durante	1,80	11,55	5,4375	6,7500	8,2500
	Levaduras	Antes	,00	1,00	,0000	,0000	1,0000
		Durante	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
	<i>Fusarium sp</i>	Antes	,00	1,05	,0000	,0000	,1500
		Durante	,00	1,50	,0000	,1500	,7125
	Micélio estéril	Antes	,00	,45	,0000	,0000	,1500
		Durante	,00	,30	,0000	,0000	,1500
	<i>Mucor/ Rhizopus</i>	Antes	,00	1,20	,0000	,0000	,1500
		Durante	,00	,75	,0000	,0000	,3000
	<i>Ochroconis sp</i>	Antes	,00	,75	,0000	,0000	,4125
		Durante	,00	1,65	,0000	,3000	,7500
	<i>Paecilomices sp</i>	Antes	,00	,45	,0000	,0000	,0000
		Durante	,00	,60	,0000	,0000	,2625
	<i>Penicillium sp</i>	Antes	,00	1,80	,4500	,6000	1,3500
		Durante	,45	4,95	1,0500	1,4250	1,8000
	<i>Wallemia sp</i>	Antes	,00	1,00	,0000	,0000	1,0000
		Durante	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
	<i>Acremonium sp</i>	Antes	,00	,90	,0000	,0000	,0000
		Durante	,00	,90	,0000	,0000	,1500

Tabla 35: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 33 R y 36 R.

	Udimas Antes/Durante	Bellaterra Antes/Durante	Chi -square Udimas/Bellaterra
<i>Alternaria sp</i>	91,7%/91,7%	100%/100%	,696/48
<i>Aspergillus sp</i>	54,2%/83,3%	87,5%/79,2	,029/,701
<i>Cladosporium sp</i>	100%/100%	100%/100%	48/48
Levaduras	37,5%/70,8%	62,5%/66,7	,021/,500
<i>Fusarium sp</i>	41,5%/50%	58,3%/54,2	,386/,500
Micelio estéril	37,5%/41,7	54,2%/66,7	,500/,228
<i>Mucor/ Rhizopus</i>	29,2%/45,8%	54,2%/41,7%	,186/,282
<i>Ochroconis sp</i>	41,7%/62,5%	29,2%/29,2	,124/,624
<i>Paecilomices sp</i>	20,8%/41,7%	33,3%/20,8	,106/,259
<i>Penicillium sp</i>	87,5%/100%	100%/100%	,117/,48
<i>Wallemia sp</i>	37,5%/70,8%	54,2%/62,5	,021/,385
<i>Acremonium sp</i>	20,8%/33,3%	29,2%/29,2	,259/,624

Tabla 36: Valores de los percentiles 25, 50 y 75 referente a la Figura 34R y 35R:

	Zone	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
<i>Alternaria alternata</i>	Bellaterra	208,000	508,000	-1,654	,098
<i>Aspergillus sp.</i>	Bellaterra	216,500	516,500	-1,480	,139
<i>Cladosporium sp.</i>	Bellaterra	168,500	468,500	-2,465	,014
Levaduras	Bellaterra	276,000	576,000	-,299	,765
<i>Fusarium sp.</i>	Bellaterra	247,500	547,500	-,874	,382
Micelio estéril	Bellaterra	210,500	510,500	-1,664	,096
<i>Muco/Rhizopus</i>	Bellaterra	261,000	561,000	-,603	,546
<i>Ochroconis sp.</i>	Bellaterra	227,000	527,000	-1,275	,202
<i>Paecilomyces sp.</i>	Bellaterra	249,000	549,000	-1,028	,304
<i>Penicillium sp.</i>	Bellaterra	162,500	462,500	-2,591	,010
<i>Wallemia sp.</i>	Bellaterra	264,000	564,000	-,579	,562
<i>Acremonium sp.</i>	Bellaterra	285,500	585,500	-,068	,946

Tabla 37: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figuras 34 R y 35 R.

Zona	Género	Momento	Mínimo	Máximo	Percentiles		
					25	50	75
Bellaterra	<i>Alternaria sp.</i>	Antes	,15	5,40	,4500	,7500	1,7250
		Durante	,15	9,60	,7875	1,2750	2,4000
	<i>Aspergillus sp.</i>	Antes	,00	6,00	,1875	,5250	1,5375
		Durante	,00	9,30	,3375	1,5000	2,9250
	<i>Cladosporium sp.</i>	Antes	1,95	21,75	4,4250	6,1500	12,1750
		Durante	4,05	29,85	6,7125	10,0500	18,7500
	Levaduras	Antes	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
		Durante	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
	<i>Fusarium sp.</i>	Antes	,00	1,80	,0000	,1500	,3000
		Durante	,00	1,80	,0000	,2250	,8625
	Micelio esteril	Antes	,00	,90	,0000	,1250	,1500
		Durante	,00	1,20	,0000	,2250	,4500
	<i>Muco/rRhzopusi</i>	Antes	,00	1,80	,0000	,1250	,4125
		Durante	,00	2,55	,0000	,0000	,2625
	<i>Paecilomyce sp.s</i>	Antes	,00	2,40	,0000	,0000	,3875
		Durante	,00	,75	,0000	,0000	,0000
	<i>Ochroconi sp.s</i>	Antes	,00	8,40	,0000	,5250	1,2000
		Durante	,00	6,00	,0000	1,4250	2,3625
	<i>Paecilomyce sp.s</i>	Antes	,00	2,40	,0000	,0000	,3875
		Durante	,00	,75	,0000	,0000	,0000
	<i>Penicillium sp.</i>	Antes	,30	6,60	,9375	1,3500	2,5500
		Durante	,60	9,60	1,5375	2,1750	4,0500
	<i>Wallemia sp.</i>	Antes	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
		Durante	,00	1,00	,0000	1,0000	1,0000
	<i>Acremonium sp</i>	Antes	,00	2,40	,0000	,0000	,1125
		Durante	,00	,75	,0000	,0000	,1125

Tabla 39: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 48 R.

EXTRACTO ALERGÉNICO	Bellaterra	Udimas	Chi-square
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (d1)	34%	45%	, 112
<i>Olea europaea</i> (t9)	16%	27%	, 058
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	5%	7%	, 552
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	2%	9%	, 030
<i>Gramíneas espontâneas</i> (g6)	21%	23%	, 733
<i>Platanus acerifolia</i> (pl)	7%	17%	, 030
<i>Aspergillus sp</i> (as)	1%	7%	, 030
<i>Cladosporium sp.</i> (cl)	1%	5%	, 097
<i>Penicillium sp.</i> (pn)	0%	7%	, 007

Tabla 40: Valores de la Prueba estadística correspondientes a la Figura 49 R.

EXTRACTO ALERGÉNICO	Bellaterra	Udimas	Chi-square
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	39%	57%	,011
<i>Olea europaea</i> (t9)	24%	37%	,046
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	8%	13%	,249
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	7%	12%	,228
<i>Gramíneas espontáneas</i> (g6)	26%	26%	1,00
<i>Platanus acerifolia</i> (pl)	11%	28%	,002
<i>Aspergillus sp</i> (as)	4%	10%	,096
<i>Cladosporium sp.</i> (cl)	4%	12%	,037
<i>Penicillium sp.</i> (pn)	1%	14%	,000

Tabla 41: Valores de los percentiles 25, 50 y 75 referente a la Figura 50 R.

Extracto Alergénico	Media	Mínimo	Máximo	Percentiles		
				25	50	75
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	33,73	9,00	130	12,00	25,00	47,25
<i>Olea europaea</i> (t9)	35,61	9,00	144	12,00	20,00	49,50
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	26,9048	9,00	200,00	9,0000	16,00	20,0000
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	26,2632	9,00	60,00	12,0000	24,00	35,0000
<i>Gramíneas espontáneas</i> (g6)	26,23	9,00	130	12,00	16,00	30,00
<i>Platanus acerifolia</i> (pl)	19,44	9,00	63	12,00	16,00	20,00
<i>Aspergillus sp</i> (as)	16,5000	9,00	28,00	9,0000	16,00	21,0000
<i>Cladosporium sp.</i> (cl)	13,19	9,00	30	9,00	10,50	15,00
<i>Penicillium sp.</i> (pn)	17,60	9,00	45	9,00	16,00	20,00

Tabla 42: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figura 51 R.

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Asymp. Sig. (2-tailed)
<i>Dermatophagoïdes pteronyssinus</i> (d1)	909,000	1689,000	,129
<i>Olea europaea</i> (t9)	308,000	608,000	,043
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	45,000	81,000	,601
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	15,000	43,000	,022
<i>Gramíneas espontáneas</i> (g6)	211,000	562,000	,019
<i>Platanus acerifolia</i> (pl)	146,000	212,000	,800
<i>Aspergillus sp</i> (as)	16,500	26,500	,614
<i>Cladosporium sp.</i> (cl)	14,000	24,000	,191
<i>Penicillium sp.</i> (pn)	2,500	3,500	,281

Tabla 43: Valores de los percentiles 25, 50 y 75 referente a la Figura 51 R.

	Centro de Estudio Udimas n=100; Bellaterra n=100)	N		Mean	Std. Deviation	Minimun	Maximum	Percentiles		
		Valid	Percent					25	50	75
d1	Bellaterra	39	39,0%	30,08	23,602	9	110	12,00	20,00	40,00
	UDIMAS	57	57,0%	36,23	26,913	9	130	15,50	30,00	49,00
t9	Bellaterra	24	24,0%	26,17	23,941	9	90	9,00	13,50	30,00
	UDIMAS	37	37,0%	41,73	39,442	9	144	12,00	20,00	64,50
w21	Bellaterra	8	8,0%	16,25	10,039	9,00	40,00	9,75	14,00	16,0
	UDIMAS	13	13,0%	33,46	52,307	9,00	200,00	9,00	16,00	29,5
m6	Bellaterra	7	7,0%	16,28	10,672	9,00	35,00	9,00	12,00	28,0
	UDIMAS	12	12,0%	32,08	16,973	12,00	60,00	16,25	27,50	49,75
g6	Bellaterra	26	26,0%	19,46	15,143	9	63	9,00	12,00	24,25
	UDIMAS	26	26,0%	33,00	30,236	9	130	12,00	20,00	37,50
pl	Bellaterra	11	11,0%	19,55	11,970	9	40	9,00	12,00	28,00
	UDIMAS	28	28,0%	19,39	13,464	9	63	12,00	16,00	20,00
as	Bellaterra	4	4,0%	15,000	4,5460	9,00	20,00	10,50	15,50	19,00
	UDIMAS	10	10,0%	17,100	6,9999	9,00	28,00	9,00	16,00	24,25
cl	Bellaterra	4	4,0%	9,75	1,500	9	12	9,00	9,00	11,25
	UDIMAS	12	12,0%	14,33	7,088	9	30	9,00	12,00	19,00
pn	Bellaterra	1	1,0%	9,00		9	9	9,00	9,00	9,00
	UDIMAS	14	14,0%	18,21	10,721	9	45	9,00	16,00	22,50

Tabla 47: Valores de la Prueba estadística correspondientes a las Figura 54 R.

	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2.sided)
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	,238	,257
<i>Olea europaea</i> (t9)	,0,60	,079
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	,072	,112
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	,418	,483
<i>Gramíneas espontáneas</i> (g6)	,668	,739
<i>Artemisia vulgaris</i> (w6)	,970	1,00
<i>Bétula verrucosa</i> (t3)	,328	1,00
Epitélio y caspa de gato (e1)	,500	,575
Casca de perro (e5)	,165	,496

Tabla 53: Datos complementares sobre la prueba de Concordancia:

Prueba de Discordancia:	Mc Nemar:
<i>D. pteronyssinus</i> (d1)	,016
<i>Olea europaea</i> (t9)	,000
<i>Parietaria judaica</i> (w21)	,125
<i>Alternaria alternata</i> (m6)	1,00
<i>Gramíneas espontáneas</i> (g6)	,000

Anexo 8: Consideraciones generales sobre los principales hongos:

Alternaria sp.:

El género *Alternaria*, por ejemplo, (Anamorfo de *Lewia*) incluye alrededor de 50 especies ubicuas, cosmopolitas, ampliamente distribuidas sobre todo en las regiones templadas. Las especies más comunes son *A. alternata*, *A. dendrítica* y *A. solani*. Los conidios son muy característicos, y se forman en el ápice de las células conidiógenas. El tamaño de 10-50 x 5-14µm, y frecuentemente presentan un apéndice apical simple o dividido, de forma, elíptica u ovoide, típicamente con septos transversales y longitudinales, frecuentemente también oblicuos (*Dictyospora*). Paredes gruesas con la superficie lisa o rugosa, de color marrón pálido u oscuro. A menudo con una pequeña cicatriz en la base.

En la gran mayoría de las publicaciones se considera que *A. alternata* es el principal hongo alergénico, habiéndose demostrado que es responsable de asma y rinitis en pacientes atópicos. El aumento de las alergias respiratorias observado en algunos países durante el verano se ha relacionado con el incremento en el número de esporas extra e intramurales. Los antígenos de *A. alternata* se encuentran en el micelio y en las esporas, y también en el medio de cultivo donde se desarrollan. Aunque ambas fuentes sean productoras de antígenos, el alergeno mayor se halla con más frecuencia en el micelio y en el medio de cultivo que en las esporas. Se han descrito unos quince alergenos. Entre ellas se destacan Alt-1 (o Alta1), una glicoproteína de 30 kD, la cual reacciona con la IgE de la mayoría de las personas sensibilizadas a *A. alternata*. Su composición química demuestra que contiene un 20% de carbohidrato que también parecen fijar IgE. Otro antígeno, el Alt a 5, es una enolasa (enzima esencial en el proceso de glicólisis, por lo cual se encuentra en diversos microorganismos). El Alt a 2 y Alt a 3, ambas con proteínas de 70kD aunque esa última es reconocida por un número reducido de personas sensibilizadas.

El género *Aspergillus* (anamorfo de *Eurotium*, *Neosartorya*, *Emericella*) consta de unas 170 especies ubicuas y cosmopolitas. Las más frecuentes en las muestras aéreas, entre otras, son: *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *A. wentii* (Infante, 1992)

Aspergillus sp.:

Aspergillus es uno de los hongos más frecuentes en la aeromicoflora de espacios interiores y exteriores, durante todo el año y en todo el mundo. Cuando es cultivado, las colonias son verde oscuro, marrón, marrón dorado, amarillo o blancas. Al analizarse al microscopio, los conidióforos son no septados, erectos sobre el micelio, de paredes engrosadas

y alargadas y terminando en un engrosamiento o vesicula, que puede ser globosa, subglobosa, en forma de bastón, o hemisférica. Las esporas se producen en cadenas basípetas, en los extremos de las células conidiógenas, que tienen forma de botella. Las esporas tienen de 3-7 μ m de diámetro, unicelular, esférico, hialino o coloreado, liso o equinado.

Los antígenos de *Aspergillus*, y especialmente de *Aspergillus fumigatus*, han sido muy estudiados por sus aplicaciones en el diagnóstico de las patologías infecciosas y de las alergias respiratorias (Vanden, et.al, 1988)

La Aspergilosis Broncopulmonar Alérgica (ABPA), se produce en enfermos atópicos en los que los aspergilos se desarrollan de forma no invasiva en la mucosa bronquial, por lo que el estímulo alergénico es persistente.

Existen diferentes metodologías para la producción de antígenos de *Aspergillus*, utilizándose los extractos de la masa micelial y del medio de cultivo o extractos metabólicos. Existen muchos alergenos individualizados y descritos en *Aspergillus fumigatus*, como Aspf1, Aspf2, Aspf3, Aspf4, Aspf5, Aspf6, Aspf7, Aspf8, Aspf9, Aspf 10, Aspf11, Aspf12, Aspf13, Aspf14, Aspf15, Aspf16, Aspf17, Aspf18, con distintos peso molecular, propiedades y grados de reactividad con la IgE.

***Cladosporium* sp.:**

Las especies del género *Cladosporium* (anamorfo de *Mycosphaerella*) son ubíquistas y cosmopolitas, sus esporas son las más frecuentes en la atmósfera del medio exterior. Por la morfología de los conídios se puede diferenciar las dos especies más comunes: *C. herbarum* y *C. cladosporioides*.

Los conídios se originan sobre las células conidiogéneas en cadenas acrópetas, a menudo ramificadas, que se separan fácilmente y que suelen presentarse cicatrices claramente protuberantes.

Los conídios son uni o bicelulares, de forma elipsoidal, alargada, cilíndrica u oblonga. La pared es gruesa con la superficie claramente verrugosa o equinulada, de color marrón claro o verde oliva. *C. herbarum* varia en tamaño entre 8.25 x 4-10 μ m y *C. cladosporioides* entre 15 x 2-6 μ m., las esporas son uni o bicelulares, de forma globosa, subglobosa, ovoide, o cilíndrica, con la pared con superficie lisa o muy débilmente rugosa, de color hialino o marrón-oliváceo claro.

La especie *C. herbarum*, juntamente con *A. alternata*, constituyen los principales hongos alergénicos. La mejora en la forma de preparar y extraer los alergenos y la estandarización de los mismos, unido a la disponibilidad de técnicas inmunológicas de laboratorio de elevada sensibilidad, han permitido conocer que existen numerosos alergenos fijadores de IgE, algunos de los cuales han sido clonados. El Cla h1, un alergeno que ocasiona el mayor número de sensibilizaciones puesto que más de 60% de los pacientes alérgicos a *C. herbarum* reaccionan con él. Es una proteína de 30kD. El Clah 6, es la enolasa que se encuentra en esta especie y se ha demostrado que tiene una similitud de más del 80% con la enolasa de Alt a 5 de *A. alternata*. Esto significa que, estas enolatas pueden considerarse como un panalergeno fúngico responsable de reacciones cruzadas en un considerable número de casos.

***Penicillium* sp.:**

El *Penicillium* (anamorfo *Eupenicillium*, *Talaromyces*), es un género con unas 200 especies ubicuas, cosmopolitas, muy comunes. Sus esporas son un componente habitual en la aeromicoflora de interiores y exteriores.

En los cultivos sus colonias presentan color verde, gris o blanco. Los Conidióforos son más o menos largos, erguidos, septados, hialinos, lisos o de pared rugosa, simples o ramificados en su parte superior en forma de pincel. La ramificación múltiple del conidióforo termina en un grupo de células conidiógenas de las que surgen largas cadenas de esporas.

Los conidios miden de 2-5 μm de diámetro, son unicelulares, esféricas o subesféricas, elípticas o cilíndricas, hialinas, azul verdoso o amarillentas en masa, de superficie lisa o equinulada.

Las especies más frecuentes descritas en las muestras aéreas son: *P. chrysogenum*, *P. decumbens*, *P. expansum*, *P. glabrum*, *P. italicum*, *P. rugulosum* (Infante, 1992)

Los antígenos de *Penicillium* no son muy conocidos. Gander et.al., describieron la presencia de componentes secretados con poder alergénico; posteriormente, Shen et.al, han analizado *P. oxalicum*, encontrando un componente de 34kD que reacciona con IgE. (Gander JE, et.al., 1980; Shen H.D, et. al, 1992).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

A

- AAAAI, Milwaukee, Wisconsin, January 1996. In: Livro: Indoor Air quality: Sampling Methodologies, Kathleen Hess-Kosa/ Lweis Publishers, 2002, pg 58)
- Alberse RC. Structure biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106(2) 228-238.
- Aas K, Belin L. Standardization of diagnostic work in allergy. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1973; 45: 57-60.
- Aguinaga OI, Arnedo PA, Bellido J, Guillen GF, Suarez Varela MM. The prevalence of asthma-related symptoms in 13-14-years-old children from 9 Spanish populations. The Spanish Group of the ISAAC Study (International Study of Asthma and allergies in Childhood). *Med Clin (Barc)*. 1999; 112:171-175.
- Ainsworth Aan Bisby's Dictionary of Fungi (Hardcover) P:M. Kirk, Cannon PF, David JC, Stalpers JA. Cabi publishing, 9th edition. 2004.
- Al Doory Y. Airborne fungi. In: AlDoory Y, Domson JF, eds. Mould allergy. Philadelphia: Lea & Febiger 1984; 27-40.
- Albright DM. Human health effects of airborne mycotoxins exposure in fungi- contaminated indoor environment. *Professional Safety*. 2001; 26-28.
- Alderman PM, Sloan JP, Barsan GS. Asthma and thunderstorms. *Arch Emerg Med*. 1986; 3:260-262.
- Alergología. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005.
- Alegológica 2005. Factores epidemiológicos, clínicos y socio-económicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005. Madrid: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Schering-Plough.
- Alexopoulos CJ, Mins CW. Introducción a la Micología. Ed. Omega. Barcelona (España). 1985.

- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGJH), 1989. Guidelines for the assessment of bioaerosols in the indoor environment, Cincinnati, Ohio.
 - American Lung Association. Trends in Asthma Morbidity and Mortality. American Lung Association Epidemiology and Statistics. Unit Research and Scientific Affairs. New York. USA. 2004.
 - Andersen AA. New sampler for the collection, setting and enumeration of viable airborne particles. *Jour Bacteriol* 1958; 76:471-484.
 - Arduoso L.R.F. Alergenos. Características que deben presentar para pruebas cutáneas de lectura inmediata. *Arch Alergia Inmunol Clin* 2002; 33(2): S43-S50.
 - Arduoso LRF, Strass M, Grippo S, Crisci CD, Massara A, Bertoya NHI. House dust mite fauna in Rosario, Argentina. *Allergy*. 1999; 54(suppl 52):119
 - Arnedo-Pena A, García-Marcos L, Blanco-Quirós A, Martínez A, Aguinaga I, González C et al. [Time trends in prevalence of symptoms of allergic rhinitis in 13-14 year-old schoolchildren in 8 areas of Spain between 1993-1994 and 2001-2002 according to the International Study of asthma and Allergies in childhood (ISAAC)]. *Med Clin*. 2004; 123: 490-5.
 - Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martinez F et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J* 1995;8:483–491.
 - Assael M, Pfeifer Y, Sulman FG. Influence of artificial air ionisation on the human electroencephalogram. *Int J Biomet* 1984; 18(4): 306-312.
 - Asthma News. Asthma Statistics (available at: <http://www.asthma.uk.co.uk/asthma4.htm>).
- Asthma UK. Facts and Statistics. (<http://www.asthma.org.uk/journalists/facts.php>). 2003.

B

- Baena-Cagnani C, Fernández Caldas E, Patiño C, Swanson MC, Trudeau WL, Cuello M, Lockey RF. Comparison of mite allergen levels in pillows and mattresses. *J Allergy Clin Immunol*. 1993; 91(1):352-356

- Baena-Cagnani CE. Desloratadine activity in concurrent seasonal allergic rhinitis and asthma. *Allergy* 2001; 56(65):21-27.
- Ball MV. Esencial of Bacteriology. Ed. 4, Philadelphioa, Saunders, 1900. In. Book fungal allergy and pathogenicity, Chemical Immunology. Editors. L.Andorini K, Arai C, Berek A, Schmitt M. Verhulst v. 81. (M.Breitenbach (Karger)
- Bardana EJ, Jr. Sick building syndrome-a wolf in sheep's clothing. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; **79**:283-293.
- Barber D, Polo F, Lomardero OM. Técnicas de estandarización I. Alergenos mayoritarios y minoritarios. En "Estandarizaciones de alergenos en España". Cuarta ponencia de la Reunión 2005 de la Sociedad Aragonesa de Alergia. Alergo Aragón 2005 (<http://www.alergoaragon.org/>).
- Barkai-Golan R., Frank M., Kantor D., Karadavid R., Toshner D. Atmospheric fungi in the desert town of Arad and in the coastal plain of Israel. *Ann Allergy* 1977; 38:270-274
- Barkova T, Comtois P, Chad Z, Weisnagel J, Caron A., Del Carpio J, Dorval G, Shulz J, Umemoto L, Charbonneau Y, Copeland D. Indoor airborne fungi as risk factors in IgE-mediated respiratory allergy. *Aerobiologia* 11 (1995) 119-128.
- Beaumont F, Kauffman HF, Sluitter HJ, De Vries K. Sequential sampling of fungal air spores inside and outside the homes of mould-sensitive, asthmatic patients: a search for a relationship to obstructive reactions. *Ann Allergy* 1985; 55:740-746.
- Bellomo R, Gigliotti P, Treloar A, Holmes P, Suphioglu C, Singh MB, et al. Two consecutive thunderstorm associated epidemics of asthma in the city of Melbourne. The possible role of rye grass pollen. *Med Jaust* 1992; 156:834-7.
- Belmonte i Soler, J; Gómez de Ana, S; Torres-Rodríguez, J.M. Métodos de toma de muestras y procedimientos para estudiar los hongos ambientales de interés Alergológico. Módulos on-line (3). Micología y Alergia. Curso de formación continuada on-line. 2005.
- Berggren B, Kallersjo M, Su'phiooglu C. A method to quantify of mRNA coding for *Lol p 1* in pollen from *Lolium Perenne*. *S Aerobiología* 2000; 16: 177-185

- Bernstein IL, Storms WW. Practice parameters for allergy diagnostic testing. Joint U. The American academy of allergy, asthma and immunology and the American College of allergy, asthma and immunology. Ann Allergy Asthma Immunol 1995;75:543–625.
- Beuchat L.R. Selective media for detecting and enumerating foodborne yeasts. Int J Food Microbiol 1993; 19 (1):1-14.
- Bjorksten B, Kiellman NIM, Zeiger RS. Development and prevention of allergic disease in childhood. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, editors. Allergy: principles and practice. St Louis: Mosby, 1998. p. 816–37. 5th ed.
- Blackley CH. Experimental researches on the cause and nature of *Catarrhus Aestivus* (hay fever or hay asthma). Balliere, Tindal & Cox. 1873; (Revised edition, London, Dowson Pall Mall, 1959)
- Bleimehl, L. Issues concerning the National Allergy Bureau. (Oral Communication). 1996.
- Bock SA, Buckley J, Holst A, May CD. Proper use of skin tests with food extracts in diagnosis of hypersensitivity to food in children. Clin Allergy 1977; 7: 375–83.
- Bock SA, Sampson HA, Atkins FM, et al. Doubleblind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual. J Allergy Clin Immunol. 1988; 82: 986–97.
- Bostock S. Case of periodcial affectionof the eyes and chest. Ed Chir Trans 1919; 10:161.
- Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N, in colaborations with the World Health Organization. Allergic Rhinitis and its impact on Asthma (ARIA) J Aller Clin Immunol 2001; 108 part 2:147S-334S.
- Bovallius A., Bucht, B., Roffy, R, Añas, P. 1978. three-year investigation of the natural airborne bacterial flora of four localities in Sweden. Applied and Envirn Microb. 35, 847-852
- Burney PGJ, Luczynska C, Chinn S, Jarvis D, for the European Community. Respiratory Health Survey. The European Community Respiratory health Survey. Respir J 1994; 7:954-960.
- Burge HA. Airborne allergenic fungi: classification, nomenclature, and distribution. Immunol. Allergy Clin. North Am 1989; 9: 307-319.

- Burge HA. Bioaerosols: prevalence and health effects in the indoor environment. *J. Allergy Clin. Immunol* 1990; 86: 867-701
- Burge HA. Fungus allergens. *Clin Rev Allergy* 1985; 3:319-329
- Burge HA, Solomon WR, Muillenerg ML. Evaluation of indoor plantings as allergen exposure sources. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70:101–108.
- Burge PS, Finnegan M, Horsdield N, *et.al.* Occupational asthma in factory with a contaminated humidifier. *Thorax* 1985; 40:248-254
- Burglund B, Lindvall T, Manson L. Healthy building '88, Swedish council of building research. Stockholm. 1988; pp.445.
- Burr M. (2001) A Community Based Trial of the Effects Upon Asthmatics of Remediating Moulds Within Their Homes. *Asthma UK Current Grants*, Asthma UK, London.
- Burr ML, Matthews IP, Arthur RA, Watson HL, Gregory CJ, Dunstan FD et al. Effects on patients with asthma of eradicating visible indoor mould: a randomised controlled trial. *Thorax*. 2007; **62**:767-72.
- Bush RK, Portnoy, JM, Saxon A, Terr AI, Wood RA. The medical effects of molds exposure. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117: 326-333.

C

- Cadman, FT. Asthma due to grain dusts. *Jama* 1924; 83:27.
- Carvajal-Uruena I, Garcia-Marcos L, Busquets-Monge R, Morales Suarez-Varela M, Garcia DA, Batlles-Garrido J *et.al.* Variaciones geográficas en la prevalencia de síntomas de asma en los niños y adolescente españoles. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) fase III España. *Arch Bronconeumol* 2005; 41:659-660.
- Chapman JA, Terr AI, Jacobs RL, Charlesworth EW, Bardaba EI. Toxic mould: phantom risk vs science *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 91:222-232.
- Chardn H, Peltre G. Allergome: the caracterization of allergens base don a 2d gel eletrophoresis approach. *Expert Rev Proteomics* 2005;2(5):757-65.

- Chaumont J.P, Berrand N., Simeray J., Leger D., Les spores fungiques Dans l'atmosphère de Besançon, France: variations saisonnières et annuelles au cours de années 1988 et 1989. *ann Pharm Fr* 1990; 48:136-144.
- Cohen J. J. The immune system: an overview, p. 3–11. *In* E. Middleton, C. C. Reed, E. F. Ellis, N. D. Adkinson, and J. W. Yunginger (ed.), *Allergy: principles and practice*. The C.V. Mosby Co., St. Louis, 1988.
- Colimon, Khal-Martín. *Fundamentos de epidemiología* Madrid, Espana Diaz Santos. 1990; 339.
- Constantino, S. Fadda, M.E, M y Palmas, F. Pollen and mould allergy in southern Sardinia (Italia) comparison of skin-test frequencies and air sampling data. *Grana*. 1995; 34:338-344.
- Coombs RRA GP. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. *In: Guell PGH CR, Lackman PJ eds. 11, ed. Clinical aspects of immunology, 3rd Ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication 1975; 761-782.*
- Corsico R, Cinti B, Feliziani V, Galesio MT, Liccardi G, Loret A, Lugo G, Marcucci F, Marcer G, et.al. Prevalence of sensitization to *Alternaria* in allergic patients in Italy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 80(1):71-76.
- Costongs GM, Bas BM. The first fully automated allergy analyser. UniCAP: comparison with Immulite for allergy panel testing. *Eur. J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35:885–8.
- Custovic A, Simpson A, Woodcock A. Importance of indoor allergens in the induction of allergy and elicitation of allergic disease. *Allergy* 1998;53:115-20.
- Custovic A. & Woodcock A. (2000) Clinical effects of allergen avoidance. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 18, 397– 419.

D

- D'Amato, G., Chatzigeorgiou, G., Corsico, R., Gioulekas D., Jager S., Kontou-Fili K., Kouridakis S., Liccardi S., Liccardi G., et.al. Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to *Alternaria* and *Cladosporium* inpatients with suspected respiratory allergy, a European multicenter study promoted by the subcommittee on aerobiology and environmental

aspects of inhalant allergens of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1997; 52:711-716 .

- D'Amato, G; Liccardi, G. Russo, M. Y D'amato.M. On the relationship between outdoor air pollution and respiratory allergy. *Aerobiologia* 2000; 16. 1-6.
- D'Amato G, Spieksma FT: Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy* 1995; 50: 870–877.
- De Ana SG, Torres-Rodríguez JM, Ramírez EA, García SM, Belmonte-Soler J. seasonal distribution of Alternaria, Cladosporium and Penicillium species isolated in homes of fungal allergic patients. *J. Investig Allergol Clin Immunol*, 2006; 16(6):357-363.
- Dagmar, SE. Biocontaminants in Indoor Environments. Cutter Informatio Corp. USA, Arlington, 1994.
- Dales R.E; Miller D, White J, Gulberg C, Lazarovits AL. Influence of residential fungal contamination on peripheral blood lymphocyte populations in children. *Arch Environ. Health* 1998, 53:190-6.
- Dales R.E, Cakmak S, Burnett R.T, Judek S, Coates F & Brook J.R. Influence of ambient fungal spores on emergency visits for asthma to a regional children's hospital. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2000, 162(6), 2087–2090.
- Dales RE, Cakmak S, Judek S, Dann T, Coates F, Brook JR, et al. The role of fungal spores in thunderstorm asthma. *Chest* 2003; 123:745-50.
- Dankaart, W. F. J. M., L. O. M. J. Smithuis, P. J. Blaauw, and F. T. M. Spieksma. 1991. The appearance of pollen in the lower airways. *Grana* 1991; 30:113–114.
- De Hoog, Guarro J, Gene J, Figueras MJ: *Atlas of Clinical Fungi*, ed 2. Utrecht, Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000.
- Dharmage S, Bailey M, Raven J, Mitakakis T, Thien F, Forbes A, Guest D, Abramson M, Walters EH: Prevalence and residential determinants of fungi within homes in Melbourne. Australia. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1481–1489.
- Dolen, WK. It is not yet time to stop skin testing, but...*J.Allergy Clin. Immunol* 2000; 105:1074-1076.

- Dominguez E, Galan C, Villamondos F, Infantes F, Handling and evaluation of the data from the aerobiological sampling. *Monografías REA/EAN* 1992; 1:1-18.
- Dreborg S. The skin prick test in the diagnosis of atopic allergy. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21:820-821.
- Dreborg S. Skin test in diagnosis of food allergy. *Allergy Proc* 1991; 12: 251-4.
- Dreborg S., Bousquet J, Lowenstein H, Frew AJ. Response to what is a major allergen. *Clin Exp Allergy*. 1994; 24(7):610-611.
- Dreborg S, Holgersson N, Zetterstro MO. Dose response relationship of allergen, histamine, and histamine releasers in skin prick test and precision of the skin prick test method. *Allergy* 1987; 42: 117-25.

E

- EAACI. Skin tests used in type I allergy testing position paper. Sub-committee on skin tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1989;44:1-59.
- ECHRS. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECHRS). *Eur Respir J*. 1996; 9: 687-95.
- Eigenmann PA. Sampson, HA. Interpreting skin prick tests in the evaluation of food allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol* 1998;9:186-91.
- Emanuel, M. B. Hay fever, a post industrial revolution epidemic: A history of its growth during the 19th century. *Clin Allergy* 1998; 18:295-304.
- EPA. Environmental Protection Agency. An office building occupants guide to indoor air quality. Office of air and radiation (OAR). Indoor Environments Division Washington, DC, EPA, October, 1997.
- Escamilla B & Haines, J. Twelve most common spores. A workshop manual for sampling and identifying Airborne Fungus Spores. *Mycol of Air* 2000.

- Ezeamuzie CI, AL-Ali S, Khan M, Hijazi Z, Dowaisan A, Thomson MS, Georgi J. IgE-mediated sensitization to mould allergens among patients with allergic respiratory diseases in a desert environment. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121(4):300-7.

F

- Feinberg SM. Mould allergy; its importance in asthma and hay fever. *Wis Med J*; 1953; 34: 254-257
- Feo Brito F, Mur Gimeno P, Martínez C, Tobías A, Guerra F, Borja JM, Alonso AM. Air pollution and seasonal asthma during the pollen season. A cohort study in Puertoallano and Ciudad Real (Spain). *Allergy* 2007; 62(10): 1152-7.
- Fernandez Pinto, V.E., Vaamonde. G. Hongos productores de micotoxinas. *Rev. Arg. Microbiol*;1996; 28:147-162.
- Fireman P. Therapeutic approaches to allergic rhinitis. Treating the child. *J allergy and Clin Immunol* 2000; 105:616-621.
- Finnegan, MS; Pickering, CAC; Burge, PS. The sick building syndrome: prevalence studies. *Br Med J* 1984; 289:1573-1575.
- Floyer, J. Violent asthma after visiting a wine cellar. A treatise on asthma. London, Innys and Parker, 1745.
- Franck, C. Eye symptoms and signs in buildings with indoor climate problems (“Office eye syndrome”). *Acta Ophthalmologica*. 1986; 64:306-311.
- Fung F & Hughson WG. Adverse human health effects associated with moulds in the indoor environment. *J Occup Environme Med* 2003; 45:470-478.
- Fung F & Hughson W.G. (2002) Health effects of indoor fungal bioaerosol exposure. In Proceedings of Indoor Air 2002, 30 June to 5 July 2002, Monterey, CA, USA (Levin H., ed.), ISAQ, Finland.

G

- Gander JE, et.al. Toward understanding the structure, biosynthesis and function of a membrane-bound fungal glycopeptides. In Sandford PA; Matsuda K eds. *Fungal Polysaccharides*. Washington CV. Amer Chem Soc 1980.
- García JC, Matheu V, Sánchez I, Seoane J. Técnicas diagnósticas *in vivo*. Em: A.Peláez, IJ Dávila, eds. *Tratado de Alergológica*. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, Madrid, Editorial Ergon 2007: 425-447.
- Garcia- Marcos L, Quiros AB, Hernandez GG, Guillen-Grima F, Urena IC et.al. Stabilization of asthma prevalence among adolescents and increase hmong schoolchildren (ISAAC phases I and III in Spain. *Allergy* 2004; 59:1301-1307.
- GINA 2005.
- Girgis ST, Marks GB, Downs SH, Kolbe A, Car GN, Paton R. Thunderstorm-associated asthma in an inland town in south-eastern Australia. Who is at risk? *Eur Respir J* 2000; 16:3-8.
- Gravesen. S; Larsen, L.; Gyntelberg, F.; Skov, P. Demonstration of microorganisms and dust in schools and offices. *Allergy* 1986; 41:520-525.
- Green, GH. The health implications of the level of indoor. air humidity. *Indoor Air*; Vol II, Swedish Council for building research. 1984.
- Gregory, P. H. *The Microbiology of the atmosphere*. Ed. Leonard Hill. Plymounth. 2 edition, New York, 1973.
- Griffith, WA; Wilkinson, DS. *Essential of industrial dermatology*. Blackwell scientific publications Ltd, 1985.
- Grupo ISAAC Español. Objetivos y métodos del estudio ISAAC (International Study of Asthma and Allergy in Childhood). *Anales Sis San Navarra* 1997; 20: 57-66.
- Guidotti, TL; Alexander, RW; Fedoruk, MJ. Epidemiological features that may distinguish between buildings associated illness outbreaks due to chemical exposure or psychogenic origin. *JOM* 1987; 29(2):148-150.

H

- Handal, G; Leiner M.A; Cabrera M; Straus D.C. Children symptoms before and after knowing about an indoor fungal contamination. *Indoor air.* 2004; 14:87-91.
- Hansen, T.B.; Andersen, B. Ozone and other air pollutants from photocopying machines. *Am Ind Hyg Assoc* 1986; 47(10):659-665.
- Hargreaves, M. et.al. A pilot investigation into associations between indoor airborne fungal and non-biological particle concentrations in residential houses in Brisbane, Australia. *Science of the Total Environment* 312, 89-101. 2003
- Harris LH. Experimental reproduction of respiratory mould allergy. *J Allergy* 1941, 12:279-289.
- Hawkins, LH. Air ions and office health. *Occup Health.* 1982; 3:116-124.
- Hedge A; Collis MD. Do negative ions affect human mood and performance. *Aa Occup Hyg* 1987; 31 (3): 285-290.
- Heinzerling, L, et.al, standard skin prick testing and sensitization to inhalant allergens across Europe – a survey from the GA²LEN network. *Allergy* 2005, 60:1287-1300.
- Hill DJ, Heine R.G, Hosking CS. The diagnostic value of skin prick testing in children with food allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2004, 15: 435-441.
- Hirst JM. An automatic volumetric spore trap. *Ann Appl Biol* 1952; 39:257-265.
- Hocking AP, Pitt JI. Dichloran glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. *Appl Environ Microbiol* 1980; 39: 488-492.
- Horner WE, Helbling A, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal Allergens. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8(2): 161-179. <http://cmr.asm.org/cgi/reprint/8/2/161?view=reprint&pmid=7621398>

I

- Infante F, Galán C, Domínguez E, Ángulo, J., Mediavilla A. Air spore microfungi in dwellings of south of Spain. *Aerobiología.* 1992; 8:245-253.

- International Consensus Report On Diagnosis And Management of Rhinitis. International Rhinitis Management Working Group Allergy. 1994; 49 (19):1-34
- INSHT (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo). Notas Técnicas de Prevención. 1998; 299, 335, 351. Barcelona. Acorde al Proyecto de Norma Europea CEN/TC243/WG2.
- ISAAC Steering Committee. worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Lancet. 1998; 51:1225-32.
- ISAAC Steering Committee . Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhino conjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The Lancet. 1998; 351, 1225–1232.
- Ishizakka, K., Ishaizakaa, T. Hornbrook, M.M. Physicochimical properties of human antibody. IV presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. Journal of Immun. 1966; 97: 75-85.
- Iversen M, Dahal R. Characteristics of mold allergy. J Investig Allergol Clin Immunol. 1995; 5:205-208.

J

- J.M Torres-Rodríguez. Métodos de diagnóstico inmunoalergológico. Curso de Formación Médica Continuada On-line. Módulo 6. Micología y Alergia. Leti Alergia, Mayo, formación continuada. 2005; 1-6.
- Johansson SG, Bieber T, Dahl R, friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, Motala C, Ortega Martell JA, Platts-Mills TA, Ring J, Thien F, Van Cauwenberge P, Williams HC. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. J Allergy Clin Immunol 2004; May 113(5):832-836.
- Jones NC, Thornton CA, Mark D, Harrison RM. Indoor /outdoor relationships of particular matter in domestic homes with roadside, urban and rural locations. Atms Environ. 2000, 34: 2063-2612.

K

- Katzy; Verleger, H; Barr, J., Rachmiel, M.; kivito S.; Kuttin E.S. Indoor survey of moulds and prevalence of mould atopy in Israel. *clin. experim. allergy*, 1999, (29) 186-192.
- Kelso JM, Sodhi N., Gosseling VA, Yunginger JW. Diagnostic performance characteristics of the standart Phadebas RAST, modified RAST, and Pharmacia CAP system versus skin testing. *Ann. Allergy* 1991; 67:511-514.
- Kencrick, B. Fungal allergens. In *Sampling and identifying allergenic pollens and moulds* (ed. E.G. Smith). Blewstone Press, San Antonio, USA. 1990, pp. 41-49.
- Khalili B, Montanaro MT, Bardana EJ, Jr. Inhalational mold toxicity: fact or fiction? A clinical review of 50 cases. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; **95**:239-246.
- Kim JL, Elfman L, Norback D. Respiratory symptoms, asthma and allergen levels in schools—comparison between Korea and Sweden. *Indoor Air*. 2007; 17(2):122–129.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C. y Stalpers, J.P. *Ainsworth & Bisbys Dictionary of the Fungi*. 9^a edn, CABI, Wallingford, U.K. 2001.
- Koch A, Heilemann KJ, Bischof W, Heinrich J, Wichmann HE. Indoor viable mold spores ± a comparison between two cities, Erfurt (eastern Germany) and Hamburg (western Germany). *Allergy* 2000; (55): 176-180.
- Koneman E. & G. Roberts.. *Micología. Práctica de Laboratorio*. 3a ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana. 1987; 74162.
- Korsgaard J. House-dust mite and asthma. An review on housedust mite as a domestic risk factor for asthma: benefits of avoidance. *Allergy* 1998;53:77-83.
- Krouse JH, Mabry RL. Skin testing for inhalant allergy 2003: Current Strategies. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129:S33–49.

L

- Lacey J. The aerobiology of conidial fungi: in Cole T, Kendrick WB (eds): *The Biology of Conidial Fungi*. New Yor, Academic Press, 1981. pp 373-416.

- Larsen LS. A three-year-survey of microfungi in the air of Copenhagen 1977-1979. *Allergy* 1981; 36:15-22.
- Lasley MV, Shapiro GG. Testing for allergy. *Pediatr rev* 2000; 21:39-43.
- Lee T, et.al. Relationship between indoor and outdoor bioaerosols collected with a button inhalable aerosol sampler in urban homes. *Indoor air*. 2006, 16: 37-47.
- Lee T; Grinshpun S.A; Martuzevicius D; Adhkari A; Crawfor C.M; Luo J; Reponen T. Relationship between indoor and outdoor bioaerosols collected with a button inhalable aerosol sampler in urban homes. *Indoor air* 2006;16:37-47.
- Lehrer SB, Aukrust L, Salvaggio JE. Respiratory allergy induced by fungi. *Clin. Chest Med.* 1983. 4:23-41.
- Leher SB, Hughes JM, Altman LC, Bousquet J, Davies RJ, Gell L, Li J, Lopez M, Malling HJ, Mathison DA, et al. Prevalence of basidiomycete allergy in the USA and Europe and its relationship to allergic respiratory symptoms. *Allergy*. 1994. 49(6):460-5.
- Leventin Estelle. PhD University of Tulsa. Airborne fungi in indoor Environments (1 a 4).
- Leventin, E. "Fungi", Bioaerosols.Burg. H Editor. CRC Press, Boca Raton Florida. 1995.
- Li DW, Kendrick B. A year-round study functional relationships of airborne fungi with meteorological factors. *Int J Biometereol* 1995. 39(2):74-80.
- Li DW; Kendrick B. Indoor aeromycota in relation to residential characteristics and allergic symptoms. *Mycophatology*. 1995; 131, 149-151.
- Li JT. Allergy testing. *Am. Fam. Physician* 2002; 66:221-224.
- Licorish K. Novey HS. Kozak P. et.al. Role of *Alternaria* and *Penicillium* spores in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1985. 76:819-825.
- Lilja G, Kusoffsky E, Johansson SG, Oman H. Screening of atopic allergy in 5-year-old children: a comparison of the diagnostic properties of Phadiatop Paediatric and Phadiatop. *Allergy* 1995; 50:316- 21.

- Lippalainen S, Lindoors O, Reijula K. Bioaerosols, Fungi and Micotoxins: Health effects assessment, prevention and control, Eastern New York Occupational and Environmental Health Center, in: Johanning E. (Ed.), Albany, New York, 1999. 616-619.
- Lorenzoni-Chiesura F, Giorato, Marce, G. Allergy to pollen of urban cultivated plants. Aerobiologia, 2000. 16:313-316.
- Löwenstein H. Report on behalf of the International Union of Immunological Societies (I.U.I.S). Allergen standardization Subcommitte. Arb Paul Ehrlich Inst 1983. 78:41-48.

M

- Malling HJ. Proponed guidelines for quantitative skin prick test procedure to determine the biological activity of allergenic extracts usibng parallel assay. Allergy 1987; 42: 391-399.
- Manual de Instrucciones Microflow®: www.laboratoriosmicrokit.com/pdf/manual/kits/m.pdf
- Mari A. Multiple pollen sensitization: a molecular approach to the diagnosis. Int Arch Allergy Immunol. 2001; 125:57-65.
- Mari A, Schneider P, Wall V y Cols. Sesitization to fungi: epidemiología skin test, and IgE reactivity of fungal Extracts. Cli Exp Allergy 2003; 33: 1429-1438.
- Mari A, Scheideir P, Wally V, Breitenbach M, Simon-Nobbe B. Sensitization to fungi: epidemiology, comparative skin tests, and IgE reactivity of fungal extracts. Clin Exp Allergy. 2003. 33(10):1429-38.
- Marks GB, Colquhoun JR, Grgis ST, Koski MH, Treloar AB, Hansen P, *et al.* Thunderstorm outflows preceding epidemics of asthma during spring and summer. Thorax 2001. 56:468-71.
- Matheson MC, Abramson MJ, Dharmage SC, Forbes AB, Raven JM, Thien FC, *et al.* Changes in indoor allergen and fungal levels predict changes in asthma activity among young adults. Clin Exp Allergy. 2005;35:907-13.
- Matricardi PM, Fattorossi A, Nisini R, Le Moli S, Castagliuolo PP, D'Amelio R. A new test for specific IgE to inhalant allergens (Phadiatop) in the screening of immediate respiratory hypersensitivity states. Ann Allergy 1989; 63:532-5.

- Mendell mj, health ga. Do indoor pollutants and termal condicions in schools influence students perfomance? A critical review of the literatura. Indo air 2005, 15:27-52.
- Merrett J, Merrett TG. Phadiatop- a novel IgE antibody creening test. Clin Allergy 1987; 17:409–16.
- Mi YH, Norback d. tao, mi tl, ferm m. current asthma and respiratory symptoms among pupils in shanghai, china: influence of building ventilation, nitrogen, dioxide, ozone, and formaldehyde in classroom Indoor air 2006:16:454-64.
- Miller JD. Fungi as contaminants in indoor air. Atmosph Environ 26A, 1992. 2163-2172.
- Miller JD, Laflamme AM, Sobol Y, Lafontaine P, Greenhalgh R, 1988. Fungi and fungal products in some Canadian houses. Int Biodeter 24: 103-120
- Morey RP, Odgson MJ, Sorenson WG, Kullman GJ, Rhodes WW, Isvesvara GS. 1984, Environmental studies in mouldy office buildings biological agents, sources, abnd preventive measures. Ann ACGJH 10:21:35.
- Morin O. Airborne molds in Nantes, effect of climatic factors. Allergy Immunology. 2001;33 (2):100-101.
- Mosby Co, St Louis, Kurup VP. Fungal allergens. Curr Allergy Asthma Rep 2003;3(5):416-423.
- Mur Gimeno p, Feo Brito F, Martinez C, Tobías A, Suárez l, Guerra F, Galindo PA, Gómez E Decompenstation of pollen-induced asthma in two towns with different pollution levels in La Mancha, Spain. Clin Exp Allergy 2007;37(4):558-63.

N

- Nac Australia . Report on the cost of asthma in Australia. Boston Consulting Group, National Asthma Campaign. Journal of Medicine, 1992;328(23): 1665–1669.
- Navarro M., Pérez G, Romero M.M. Asma ectiopatogenia, clasificación y diagnostico. An pediatr Contin. 2005;3(3):127-139.

- Nevalainen A, Rautiala S, Hyvarinen A, Reponen T, Husman T, Kalliokoski P. Exposure to fungal spores in mouldy houses: effect of remedial work; in Agashe SN (ed): Recent Trends in Aerobiology, Allergy and Immunology. New Delhi, Oxford & IBH, 1994; 99–107.
- Newson R, Strachan D, Corden J, Millington W. Fungal and other spore counts as predictors of admissions for asthma in the Trent region. *Occup Environ Med* 2000; 57:786-92.
- Nielsen NH, Svendsen UG, Madsen F, Dirksen A. Allergen skin test reactivity in an unselected Danish population: the Glostrup Allergy Study, Denmark. *Allergy* 1994;49:86–91.
- Nolles G, Hoekstra MO, Schouten JP, Gerritsen J, Kauffman HF. Prevalence of immunoglobulin E for fungi in atopic children. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31(10):1564-70.
- Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911; 1:1572-1573.
- Northern Society of Allergology. Nordic Standard. *Acta Allergol* 1972;27:439– 468.
- NRC. Indoor Pollutants. Washington, DC: National Academy Press, 1981.

O

- Oghke H, Beckert J. Fungal load of indoor air in historical and newly constructed buildings used by public services. proceedings of the 4th international conference on indoor air quality and climate, 1987; 681-684.
- OMS. Organización Mundial de la Salud (OMS). Who Issues Organic Chemical Report. Indoor Air Quality Update, 1990; 3(1):9-14.

Oslen M, Andersson K, Akerstrand K. Quality control of two rose bengal and modified DRBC and DG18 media. *Int J Food Microbiol* 1997; 35 (2):163-168.

P

- Packe GE, Ayres JG. Aeroallergen skin sensitivity in patients with severe asthma during a thunderstorm. *Lancet* 1986; 1:850-1.
- Peat JK, Dickenson J, Li J. Effects of damp and mould in the home and respiratory health: a review of the literature. *Allergy* 1998; 53:120-128.

- Pei-Chih Wu, Huey-Jen Jenny Su, Hsiao-Man HO. A Comparison of Sampling Media for Environmental Viable Fungi Collected in a Hospital Environment Environm. Resea. Sec. A 2000; (82) 253-257.
- Pena A, García- Marcos L, García Hernandez G, Aguinagua I, Ontoso. Tendencia temporal y variaciones geográficas de la prevalencia de síntomas de rinitis alérgica en escolares de 6-7 años de ocho áreas españolas, según ISAAC. Anual Pediatric (Barcelona) 2005; 62(3):229-236
- Pepys J. Hypersensitivity disease of the lung due to fungi and organic dusts. S. Karger AG, Basel. 1965.
- Peyton A. Eggleston MD, Robert KB. Environmental allergen avoidance: an overview. Supplement to the J Allergy and Clinical Immunol 2001; n3 v.107, S 403- S 405.
- Platts-Mills TAE. Indoor allergens. En: Allergy: principles an practice. Middleton EJ, Reed CE (eds), 5° ed, Mosby, St Louis-Missouri, 1998.
- Plebani M. Clinical values and measurement of specific IgE. Clin Bioche 2003; 36 453-469.
- Pomés A. Villelba M, Alérgenos. En: A.Peláez, I. Dávila, eds. Tratado de Alergología. Sociedad Española de Alergología. Madrid, Ergon editorial 2007; 3-26.
- Poonai N, Antony MM, Binkley KE, Stenn P, Swinson RP, Corey P, et al. Psychological features of subjects with idiopathic environmental intolerance. J Psychosom Res 2001;51:537-541.
- Prince HE, Selle WA, Morrow MB. Moulds in the etiology of asthma and hay fever. Text State J Med 1934; 30:340-344.

R

- Reed CE, Yungiger JW, Evans R. Quality assurance and standarization of allergey extracts in allergy practice. J. Allergy Clin Immunol 1989; 84:4-8.
- Reijula K, Leino M, Mussalo-Rauhamaa H, Nikulin M, Alenius H, Mikkola J, Elg P, Kari O, Mäkinen-Kiljunen S, Haahtela T. IgE-mediated allergy to fungal allergens in Finland with special reference to *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum*. Ann Allergy Asthma Immunol. 2003. 91(3):280-7. Comment in: Ann Allergy Asthma Immunol 2004; Jan;92(1):92.

- Remes ST, Korppi M. Asthma and atopy in schoolchildren in a defined population. *Acta Paediatr* 1996;85:965–70.
- Ren P, Jankun TM, Belanger K, Bracken MB, Leaderer BP. The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics. *Allergy*. 2001; 56, 419– 424.
- Ren, P.; et.al., the relation between fangal propagules in Indro air and home characteristics. *Allergy* 56, 419-424.
- Richards m. Atmospheric mold spores in and out of Doors. *J. allergy* 1954; 25:429-39.
- Robertson, AS. Burge PS. Building sickness. *Practitioner* 1985; 229:531-534.
- Robertson AS. Burge PS, Hedge A, *et.al.* Comparison of health problems related to work and environmental measurements in two office buildings with different ventilation systems. *Br. J. Ind. Med.* 1985; 291: 373-376.
- Robertson AS, McInnes M, Glass D, Dalton G, Burge PS. Building sickness , are symptoms related to the office lighting. *Ann Occup Hyg* 1989; 33 (1):47-59.
- Rojido M.G. Cien años de anafilaxia. *Alergol Inmunol Clin* 2001; 16:364-368.
- Ross M.A., Curtis L., Scheff P.A., Hryhorczuk D.O., Ramakrishnan V., Wadden R.A. & Persky VW. (2000) Association of asthma symptoms and severity with indoor bioaerosols. *Allerg* 55(8), 705–711
- Rothman, Kenneth J. *Epidemiologia moderna*. Kenneth J. Rothman. Madrid, Espana Diaz Santos. 1987; 312 pgs.
- Russell C, Mitchell J, Godish T. Apparent viability of airborne mold spore/particles determined from culturable/viable and total mold spore sampling methods. In: Indoor air '99, vol. 4. Proceedings of the 8th International Conference on Indoor Air Quality and Climate. Edinburgh, Scotland 1999; 934–938.

S

- Sabbatini S. Historical Insights into tuberculosis. Girolamo Fracastoro's intuition on the transmisión of tuberculosis and his opponents. *History of an idea* *Infez Med* 2004; 12(4):284-291.

- Saénz Laín C, Gutiérrez Bustillo M. Introducción a la aerobiología. In: Polen atmosférico en la Comunidad de Madrid. Documentos técnicos de Salud Pública 2001; 70: 37-48. Publ Com. De Madrid.
- Solomon WR, Mathews KP. Aerobiology and Inhalant Allergens. In Ed. E Middleton, C E Reed, E F Ellis, N F Adkinson, J W Yunginger, Busse WW (Eds). Allergy: principles and practice (5th ed.). Mosby Co, St Lui. 1998; 295:352..
- Sangirardi Júnior. O índio e as plantas alucinógenas: tribos das 3 Américas e civilizações pré-colombianas. Editorial Alhambra, 1983; 207 pgs.
- Savilahti r., uitte j., laippala p., husman t., roto p. respiratory and morbidity among children following renovation of a water-damaged school. Health 2000, 55:406-11.
- Schmechel D, McCartney HA, Halsey K. The development of immunological techniques for the detection and evaluation of fungal disease inoculum in oilseed rape crops; in Schots A., Dewey FM, Oliver R (eds): Modern assays for plant Pathogenis Fungi: identification, detection and Quantification. Oxford, CAB, 1994; 247-253.
- Sección de pediatría extrahospitalaria de la AEP. estudio del contenido de las consultas en pediatría extrahospitalaria. an ESp Pediatr. 1990;32:241-5.
- Shen HD, *et.al.* Characterization of a monoclonal antibody (P40) against the 68kD major allergen of *Penicillium notatum* Clin Exp Allergy 1992; 22:485-490.
- Simon-Nobbe B, Denk U, Pöll V, Rid R, Breitenbach M. The spectrum of fungal allergy. Int Arch Allergy Immunol 2008; 145 (1):58-86 (Epub, 2007; Aug 20).
- Skov P, Valbjorn O. Danish indoor climate study group. The sick building syndrome in the office environment: the Danish town hall study. Environment Int 1987; 13:339-349.
- Smid T, Schokkin E, Boleij JS, Heederik D. Enumeration of viable fungi in occupational environments: a comparison of samplers and media. Am Ind Hyg Assoc J 1989; 50 (5): 235-239.
- Smith MJ, Colligman MJ, Hurrell JJ. Three incidents of industrial mass psychogenic illness. JOM 1978; 20 June.

- Stark PC, Burge HA, Ryan LM, Milton DK, Gold DR. Fungal levels in the home and lower respiratory tract illnesses in the first year of life. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; **168**:232-7.
- Sterling, E, Sterling T. The impact of different ventilation levels and fluorescent lighting on building illness: an experiment study. *Can Journal Health* 1983; **74**:385-392.
- Suárez-Cervera M, Marquez PJ. El polen y las esporas en el ambiente. En Manual de Aerobiología del País Vasco. Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal y Sanitaria y Edafología. Universidad de Barcelona 1990.
- Suphioglu C. Thunderstorm asthma due to grass pollen. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; **116**:253-60.

T

- Takahashi T. Airborne Fungal Colony-Forming Units in Outdoor and Indoor Environments in Yokohama, Japan. *Mycopatho*. 1997; **139**:23-33.
- Targonski PV, Persky VW, Ramekrishnan V. Effect of environmental molds on risk of death from asthma during the pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 1995; **95**:955-61.
- Tarlo SM, Fradkin A, Tobin RS. Skin testing with extracts of fungal species derived from the homes of allergy clinic patients in Toronto, Canada. *Clin Allergy* 1988; **18**:45- 52.
- Taskinen T; Hyvarinen A, Meklin T, Husman T., Nevalainen A, Korpi M. Asthma and respiratory infections in school children with spezial reference to moisture and mold problems in the school. *Acta paediat*. 1999; **88**: 1373-9.
- Taylor McKernan L., Burge H, Kenneth M. Wallingford, MISTY J. Hein, Herrick R. valuating fungal populations by genera/species on wide body commercial passengfer aircraft and in airport terminals. *Ann. Occup. Hyg.*, vol 51 nº 3. pp 281-291, 2007
- Thatcher, tl, Lunden MM, Revzan KL., Sextro RG., Brown NJ. A concentration rebound method for measuring particle penetration and deposition in the indoor environment. *Aerosol Sci Technol* 2003. **37**: 847-864.
- Thomas B et.al. Epidemic asthma and the role of the fungal mold Alternaria alternata. *Jour Allergy and Clinic Immunology*. 2007; **120** (3), 610-617.

- Torregosa-Bertet, Maria Jose, *et.al.* Evaluation of InmunoCAPTM Rapid Wheeze-Rhinitis Child in the identification of allergy in Children with recurrent episodes of wheezing. European Academy of Allergy and clinic Immunology 2007; 586210.
- Travis DR, Field L, Brumback CL. Outbreak of illness due to volatilized asphalt coming from a malfunctioning fluorescent lighting fixture. Am Journal Public Health 1984; 74:614-615.
- Tschopp JM, Sistek D; Schindler C; Leuenberger P., Perruchoud AP; Wuthrich B, *et.al.* Current alllergic asthma and riniris: diagnostic efficiency of three commnly used atopic markers (IgE, skin prick test and Phadiatop). results from 8329 randomized adults from the SAPALDIA Study. Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults. *allergy*, 1998; 53(6):608-13.
- Turiel I, Hollowell CD, Milsch RR, *et.al.* The effects of reduced ventilation on indoor air quality in an office building. *Atoms Environ* 1983; 17:51-64.

V

- Van Leeuwen WS. Bronchial asthma in relation to climate. *Proc R Soc Med*. 1924; 17:19-26.
- Vanden BH, Mackenzie DWR, Cauwnbergh G. *Aspergillus* and Aspergillosis. New York Plenum Press 1988.
- Venables KM, Allitt U, Collier CG, Emberlin J, Greig JB, Hardaker PJ, *et al.* Thunderstorm-related asthma—the epidemic of 24/25 June 1994. *Clin Exp Allergy* 1997; 27:725-36.
- Verhoeff AP, Burge HA. Health risk assessment of fungi in home environment. *Ann. Allergy AsthMA Immunol* 1997; 78:544-556.
- Verhoeff AP, Van Wijnen JH, Boleij JS, Brunekreef B, Van Reenen-Hoekstra ES, Samsom RA. Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses. A field comparison of selected techniques. *Allergy*. 1990; 45 (4):275-284.
- Vette AF. Rea AW., Lawless PA., Rodes CE, Evans G, Hihsmith VR, Sheldon L. characterization of indoor-outdoor aerosol concentration relationship during the Fresno PM exposure studies. *Aerosol Sci Technol*. 2001 34: 118-126.

- Voltorini S, Minale P, Troise C, Bigmardi D, Modena P, Arroba D, Negrini AC. Trend of herbaceous pollen diffusion and allergic sensitization in Genoa. *Agrobiologia* 2000; 16: 245-249.
- Von Pirquet C. Die Allergieprobe. Zur Diagnose der Tuberkulose im Kindesalter. *Med. Wochenschr.* 1907. 57:1369–1379. In.: W. E. Horner A, Helbling JE, Salvaggio, Lehrer SB. *Clinical Microbiology. Reviews Clinical Microbiol Reviews* 1995; p. 161–179.

W

- Wainwright M. An introduction to fungal biotechnology. *J. Wiley & Sons* 1992; 242.
- Wallner M, Gruber P, Radauer C, Maderegger B, Susani M, Hoffmann-Sommergruber K, Ferreria F. Lab scale and medium scale production of recombinant allergens in *Escherichia coli*. *Methods* 2004; 32(3): 219-226.
- Wan-Kuen Jo; Young-Jun Seo. Indoor and outdoor bioaerosols levels at recreation facilities elementary schools, and homes *Chemosphere* 61 (2005) 1570-1579
- Warner JO, Naspitz CK. Third international pediatric consensus statement on the management of childhood asthma. International pediatric asthma consensus group. *Pediatr Pulmonol.* 1998; 25:1-17
- Whorton MD, Larson SR, Gordon NJ, Morgan RW. Investigation and work-up of tight building syndrome. *JOM* 1987; 29:142-147.
- William PB, Siegel C, Portonoy J. Efficacy of a single diagnostic test for sensitization to common inhalant allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 86:196-2002.
- Wilsons, Hedge H. The office environment survey: A study of building sickness. *Building use studies Ltd.*, 14/16. Stephenson Way, Euston, London NW1 2hd 1987.
- Woodcock A. Moulds and asthma: time for indoor climate change? *Thorax*. 2007; **62**:745-6.

Y

- Yang CS, Hung IL, Lewis FA, Zampiello FA. Airborne fungal populations in non-residential buildings in the United States. *Proceedings of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate.* 1993; 219-224.

Z

- Zhao zh, Elfman l, wang zh, zhang z, norbäck d. a comparative study of asthma, pollen, cat and dog allergy amnong pupils and allergen levels in schools in Taiyuan city, China and Uppsala, Sweden. Indo air2006:16:404-413.
- Zureik M, Neukirch C, Leynaert B, Liard R, Bousquet J, Neukirch F. Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional. Study from European Community Respiratory Health Survey. BMJ 2002; 325:411-414.