

Distribución espaciotemporal de hongos de importancia clínica en el ambiente de dos estados del norte de México

Maritza Argelia Macias-Corral¹, Marisela del Rocío González-Martínez¹, Diana Alejandra González-García², Ignacio Sánchez-Cohen^{3*}

¹Facultad de Medicina Unidad Torreón, Universidad Autónoma de Coahuila, Torreón, Coahuila, México; ²Maestría en Investigación Multidisciplinaria de Salud, Facultad de Medicina Unidad Torreón, Universidad Autónoma de Coahuila, Torreón, Coahuila, México; ³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), CENID-RASPA, Gómez Palacio, Durango, México.

ABSTRACT

Spatiotemporal distribution of fungi of clinical importance in the environment of two states of northern Mexico

Introduction. Some fungi species present in the environment can have serious implications in human health, particularly in persons with a compromised immune system. It has been reported that invasive and endemic mycosis present temporal and geographic variations and are influenced by global climate changes.

Objective. To determine the spatiotemporal variability of fungi of importance in public health present in the environment of a region in northern Mexico.

Material and methods. Air sampling was conducted at 18 urban and rural sites located in Durango and Coahuila at three seasons. A single-stage impactor was used and Petri dishes with dextrose Sabouraud agar supplemented with antibiotics were used. Climate data was obtained from the NASA's Giovanni database.

Results. Predominant fungi in Durango were *Bipolaris*, *Cladosporium* and *Aspergillus fumigatus* which had a cumulative importance index of 50% while in Coahuila were *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Alternaria* and *Bipolaris*. Sites located in Coahuila recorded a larger precipitation amount in dates closer to sampling but compared to Durango's, the cumulative amount was less. Ambient temperature also influenced the type of fungi found.

Conclusion. Identifying fungi genera can be useful to health professionals for diagnosis and decision-making regarding mycotic diseases and respiratory allergies by having specific knowledge about those predominant in a specific area.

RESUMEN

Introducción. Algunas especies de hongos presentes en el ambiente pueden llegar a tener serias implicaciones en la salud, principalmente

Historial del artículo

Recibido: 3 ago 2021

Aceptado: 23 feb 2022

Disponible en línea: 1 may 2022

Palabras clave

Hongos patógenos, condiciones ambientales, micosis endémicas, salud pública, variabilidad espaciotemporal

Keywords

Pathogenic fungi, environmental conditions, endemic mycosis, public health, spatiotemporal variability

Copyright © 2022 por autores y Revista Biomédica.

Este trabajo está licenciado bajo las atribuciones de la *Creative Commons* (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

*Autor para correspondencia:

Ignacio Sánchez-Cohen, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relaciones Agua Suelo Planta Atmósfera. Km 6.5 Canal Sacramento Zona Industrial Gómez Palacio, Durango. C.P 35140.

E-mail: sanchez.ignacio@inifap.gob.mx

<https://revistabiomedica.mx>.

en la de personas con sistema inmunológico comprometido. Se ha reportado que las micosis invasoras y las endémicas presentan variaciones temporales y geográficas, y son influenciadas por cambios climáticos globales.

Objetivo. Determinar la variabilidad espaciotemporal de géneros de hongos de importancia en salud pública presentes en el medio ambiente en una región del norte de México.

Material y métodos. Se realizaron muestreos de aire en 18 sitios de Durango y Coahuila en tres estaciones del año utilizando un impactor de una etapa y cajas de Petri con agar dextrosa Sabouraud suplementadas con antibióticos. Los datos climatológicos se obtuvieron de la plataforma Giovanni de la NASA. Se empleó un modelo matemático para determinar los géneros predominantes y su importancia relativa.

Resultados. Los hongos predominantes en Durango fueron *Bipolaris*, *Cladosporium* y *Aspergillus fumigatus* con un índice de importancia acumulada de 50%, mientras que en Coahuila fueron *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Alternaria* y *Bipolaris*. Los sitios en Coahuila registraron precipitación pluvial más frecuente en fechas cercanas a los muestreos, aunque en comparación con los de Durango el acumulado fue menor. La temperatura ambiente también influyó en el tipo de hongo encontrado.

Conclusión. La identificación de géneros fúngicos puede ser de utilidad para los profesionales de la salud para el diagnóstico y toma de decisiones relacionadas con enfermedades micóticas o alergias respiratorias al tener conocimiento específico de aquellos que son predominantes en una región.

INTRODUCCIÓN

Se conocen más de 600 diferentes tipos de hongos responsables de causar enfermedades en humanos, que pueden producir desde infecciones comunes hasta cuadros fatales (1). Debido a que las micosis invasoras no son consideradas enfermedades de declaración obligatoria, se desconocen las cifras reales de morbilidad causadas por estas infecciones en cada país (2). Por ello, la carga que representan las enfermedades fúngicas y su impacto médico son desconocidos y frecuentemente

subestimados, sobre todo para las infecciones micóticas endémicas (3). Los hongos patógenos para los humanos transmitidos por vía aérea han sido reconocidos como una causa que impacta el curso clínico de enfermedades pulmonares crónicas como el asma, la fibrosis quística o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (4). Las micosis pulmonares endémicas, entre ellas la histoplasmosis y la coccidioidomicosis, pueden afectar a pacientes inmunocompetentes y las micosis oportunistas, como las mucormicosis y las aspergilosis, entre otras, se presentan principalmente en pacientes con diabetes, con neoplasias, con VIH/SIDA y aquellos en tratamiento continuado de corticoides (5).

En cuanto a la epidemiología de las micosis invasoras, existen importantes variaciones temporales y geográficas (2) y para las micosis endémicas sistémicas, éstas parecen estar cambiando debido, entre otros factores, a los cambios ambientales globales, a nuevas prácticas agrícolas, al incremento en el uso de fungicidas, la migración humana y el turismo de aventura (3). Algunos hongos patógenos (e.g. histoplasma, coccidioides y blastomicetos) han existido en nichos ecológicos específicos, pero factores como el clima y otros cambios ambientales podrían estar alterando su distribución (6). Las condiciones meteorológicas pertenecen a los factores que afectan la concentración de esporas aerotransportadas, así como su liberación, presencia, movimiento y viabilidad en el ambiente (7). De hecho, la exposición ambiental se considera uno de los factores predisponentes para el desarrollo de infecciones fúngicas como la aspergilosis y las micosis endémicas (2). Entre los factores ambientales que tienen mayor influencia en el desarrollo de hongos se encuentran la humedad y la temperatura (8). En el ambiente externo, los géneros que se han encontrado incluyen *Cladosporium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium* (9); por lo que la ocurrencia de esporas aerotransportadas en ambientes exteriores, así como su abundancia, diversidad e impacto en la salud y bienestar de los seres vivos está cobrando importancia a nivel mundial (10). Por tanto, el objetivo de este estudio exploratorio fue determinar

la variabilidad espaciotemporal y predominancia de géneros de hongos de importancia en salud pública presentes en el medio ambiente en una región del norte de México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Se recolectaron muestras de aire en 18 sitios del norte semi-árido de México (Figura 1), incluyendo zonas rurales y urbanas de los estados de Durango y

Coahuila. Si bien estos son contiguos y la mayoría de los sitios muestreados se encuentran en la región conocida como Comarca Lagunera, que abarca porciones de ambos estados, el área de estudio presenta diferentes características topográficas y climatológicas.

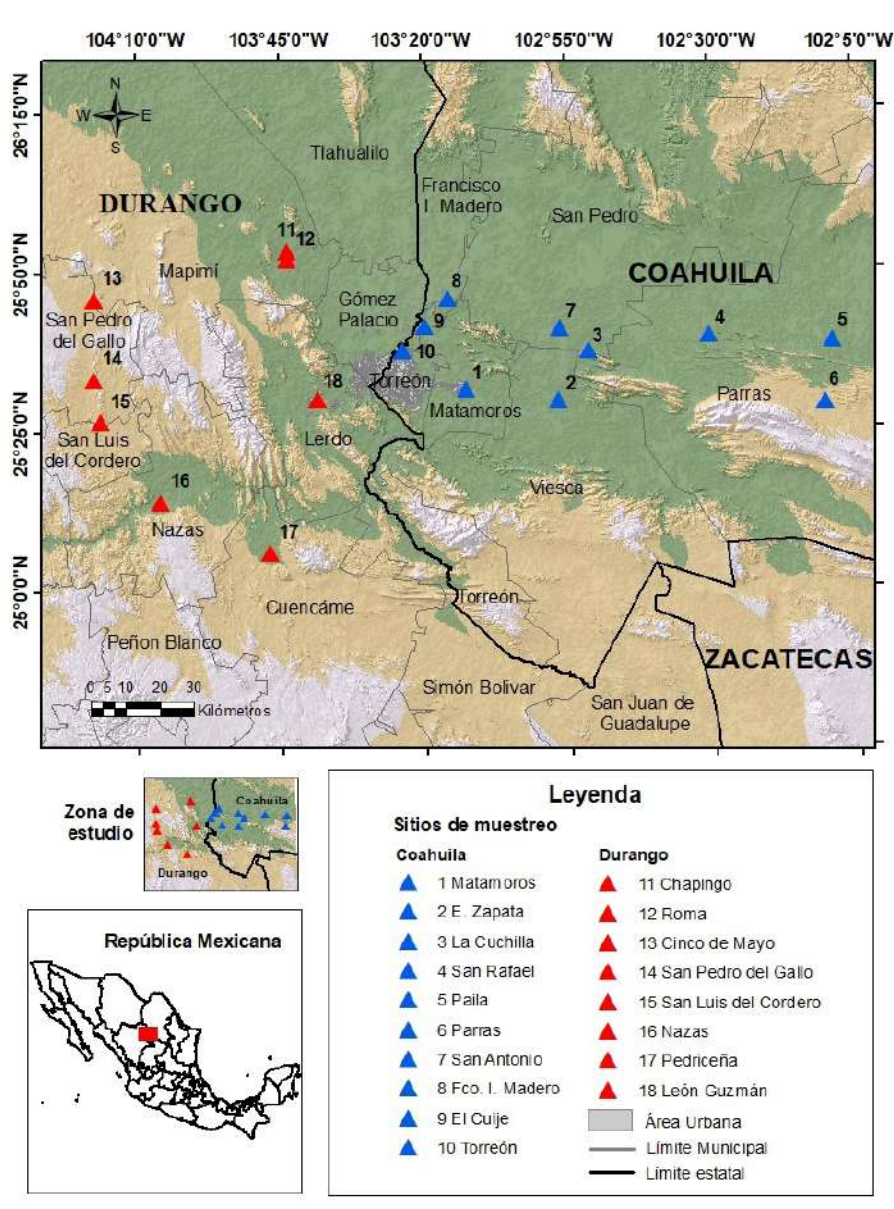


Figura 1. Área de estudio y sitios de muestreo en Durango y Coahuila, México

Muestreo y análisis

Los muestreos de aire se realizaron en tres ocasiones en diferentes estaciones del año 2019. En Durango fueron: invierno (febrero 20), primavera (mayo 29) y verano (septiembre 13); en tanto que en Coahuila se realizaron en invierno (marzo 06), verano (junio 21) y otoño (octubre 04). Las muestras de aire se tomaron por duplicado en cada sitio a dos metros de la superficie utilizando el método de impactación con un equipo de una sola etapa (QuickTake 30 Sample Pump, Mod. 228-9530), a un flujo de 28 l/min durante cinco min por muestra. Las cajas de Petri previamente preparadas con agar dextrosa Sabouraud como medio de cultivo y adicionadas con antibióticos (cloranfenicol y estreptomycin) para inhibir crecimiento bacteriano se colocaron en el impactador. Las cajas fueron temporalmente almacenadas en hielo y trasladadas al laboratorio para incubación a 25 ± 2 °C (Ecoshel, Mod. 9025E). Se vigiló el crecimiento a diario y luego de cinco días de incubación se procedió a la observación microscópica (Carl Zeiss, Mod. Axiostar Plus) aplicando la tinción de azul de lactofenol. Para la clasificación de los hongos se utilizaron los criterios de identificación de la guía *Medically Important Fungi* (11).

Cuantificación de hongos

Para la cuantificación de hongos se empleó un método que se ha utilizado para especies de flora, basado no sólo en determinar el número, sino su importancia relativa dentro del ecosistema (12-15) y aunque el método está orientado a obtener indicadores ecológicos de especies de plantas, consideramos que éste también puede ser aplicable a otros estudios de naturaleza ecológica-ambiental, como el que se describe en este estudio. Se calcularon los siguientes indicadores: abundancia y frecuencia de cada hongo. El valor de importancia fue determinado con base en la siguiente fórmula (15):

Abundancia absoluta (A_a):

$$A_{a,i} = \frac{N_i}{S} \quad [1]$$

Donde N_i es el número de colonias de un hongo determinado, “i”, y “S” es la superficie de la caja de Petri.

Abundancia relativa (R_a):

$$R_a = \frac{A_{a,i}}{\sum A_{a,i}} \quad [2]$$

En la ecuación [2], el denominador es la sumatoria de las abundancias absolutas de los hongos encontrados en el muestreo.

Para el cálculo del índice de importancia, se adoptó el método simplificado propuesto por Whittaker (16) en el cual se utilizan los valores de R_a y frecuencia relativa R_f , según la ecuación [3].

Índice de importancia (I_i):

$$I_i = \frac{R_a + R_f}{2} \quad [3].$$

Donde “ R_f ” es la frecuencia relativa que corresponde al número de colonias de un hongo en específico con relación al número total de colonias de todos los hongos.

Correlación con factores ambientales

Se establecieron correlaciones estadísticas de la R_a con la precipitación (P, mm) y con la temperatura ambiente (T, °C) para los diferentes hongos y sitios de muestreos. Para cada sitio, se consideró la precipitación acumulada de los 30 días previos; la información se obtuvo de la plataforma de datos históricos en línea del sistema Giovanni de la NASA *Goddard Earth Sciences Data and Information Services Center* (17) disponible en <https://giovanni.gsfc.nasa.gov/giovanni/>. Los datos de temperatura corresponden a la temperatura media a dos metros

de la superficie del suelo del día de muestreo y se obtuvieron de la plataforma antes mencionada.

RESULTADOS

Las figuras 2 y 3 muestran todos los hongos que fueron identificados para cada grupo de sitios muestreados en Durango (n= 8) y Coahuila (n= 10), respectivamente. Los diagramas de Pareto ilustran el índice de importancia de cada uno para Durango y Coahuila respectivamente, en orden descendente. La línea roja representa el índice de importancia acumulada el cual indica que, del total de 17 géneros encontrados en los sitios de Durango (Figura 2),

el 50% de las colonias identificadas (dado por la intersección del valor en el eje y de la derecha con la línea roja de Pareto) pertenecen a *Bipolaris*, *Cladosporium* y *Aspergillus fumigatus*, mientras que el 80% de las colonias está representado por los géneros ya mencionados, más *Alternaria*, *A. niger*, *Mucor* y *Penicillium*. En el caso de los sitios pertenecientes a Coahuila (Figura 3) en donde se identificaron 25 géneros, el 50% fueron *A. niger*, *A. fumigatus*, *Alternaria* y *Bipolaris* y para el 80 %, además éstos se agregan *Penicillium*, *T. terrestre*, *levaduras*, *A. flavus* y *Mucor*.

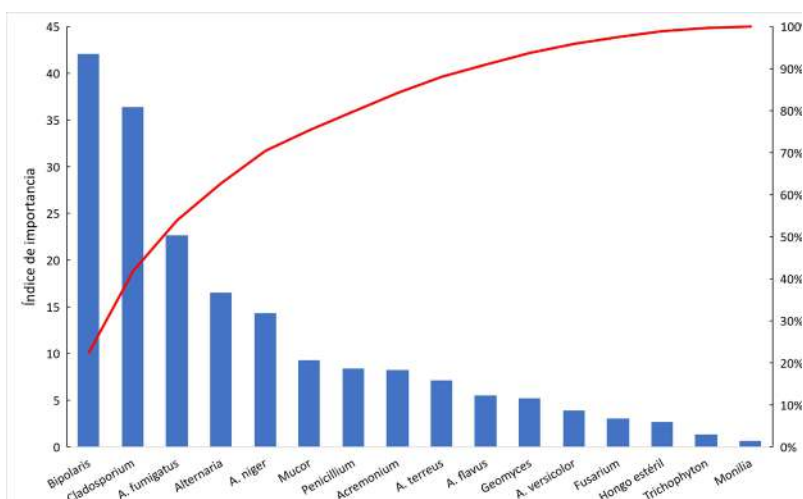


Figura 2. Diagrama de Pareto de la variabilidad de hongos encontrados en muestras de aire de sitios de muestreo en Durango. La línea roja corresponde al índice de importancia acumulada.

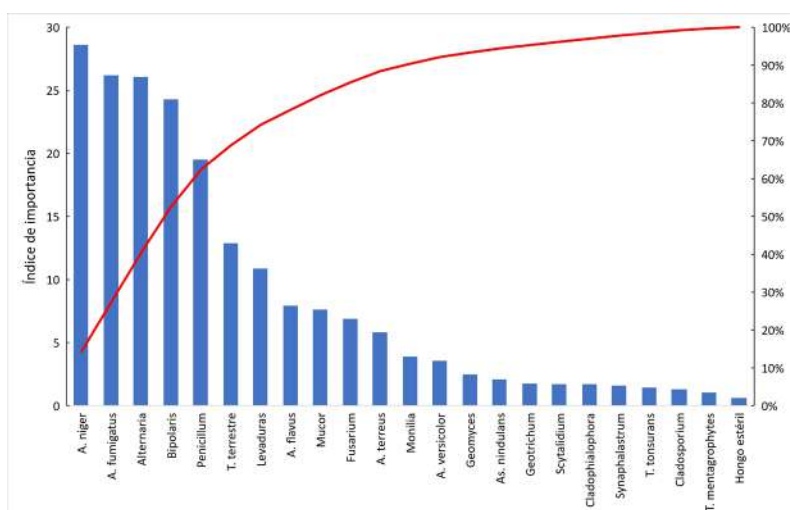


Figura 3. Diagrama de Pareto de la variabilidad de hongos encontrados en muestras de aire de sitios de muestreo en Coahuila. La línea roja corresponde al índice de importancia acumulada.

En la figura 4 se presenta la variabilidad espaciotemporal de hongos en los sitios de Durango, así como las condiciones climatológicas prevalecientes durante cada ciclo de muestreo. Como se indica, únicamente durante el muestreo realizado a finales del verano (septiembre) hubo registro de precipitación en el mes previo (29 a 69

mm). En cuanto a la temperatura media registrada en los días de muestreo, ésta fluctuó entre 14.7 y 26.5 °C, correspondiente a los eventos de invierno (febrero) y primavera (mayo), respectivamente. Como se ilustra en las figuras 2 y 4, los hongos predominantes fueron *Bipolaris*, *Cladosporium* y *A. fumigatus*.

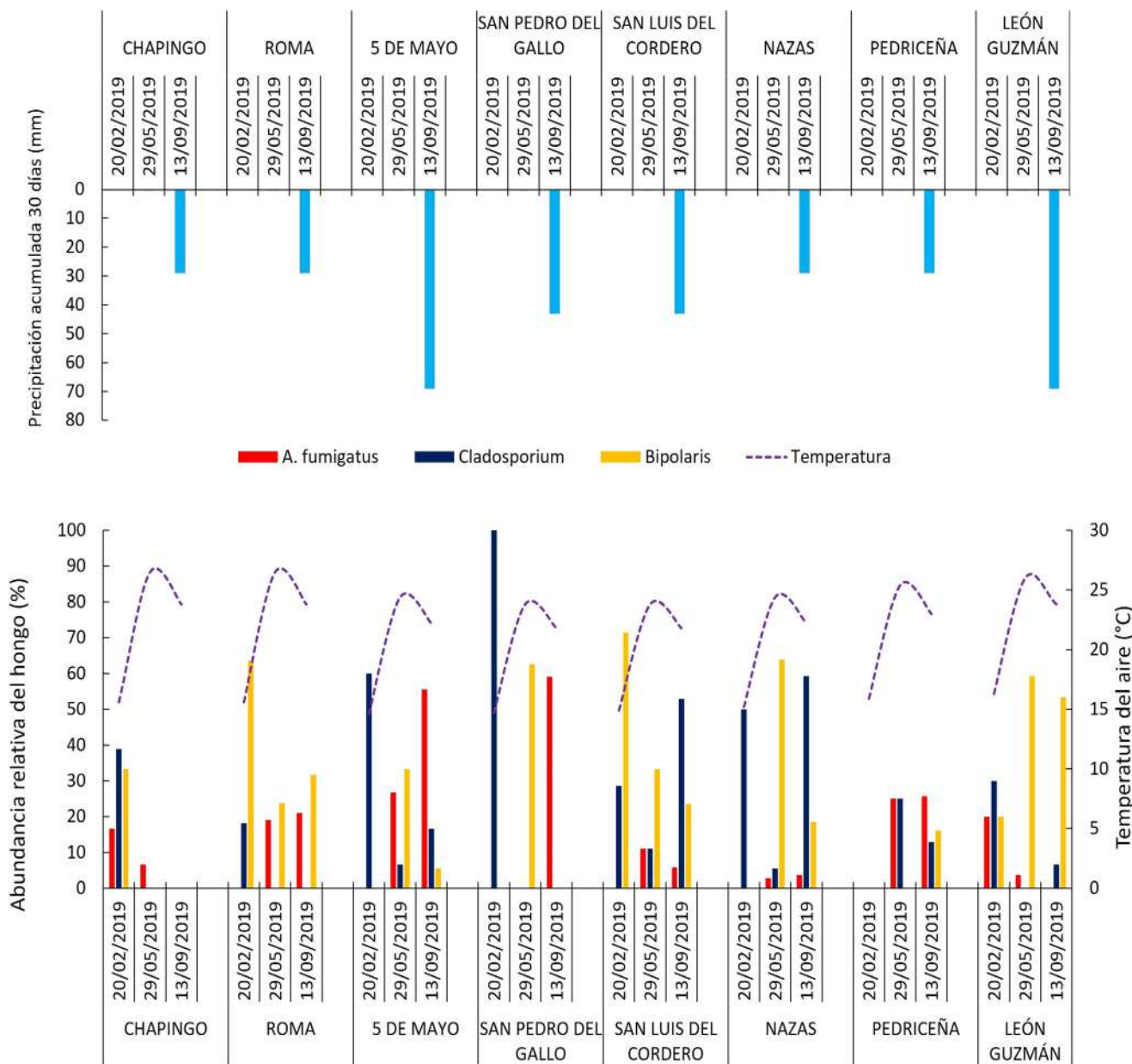


Figura 4. Variabilidad espaciotemporal de hongos y condiciones ambientales en sitios de muestreo en Durango.

La figura 5 muestra la variabilidad espaciotemporal de hongos en los sitios de Coahuila. Durante los tres muestreos hubo registro de precipitación en los 30 días previos al mismo, aunque ésta fue mínima, fluctuando entre 1.4 y 9 mm. En cuanto a la temperatura en los días en que se realizaron los

muestreos, ésta estuvo en el rango de 17.6 a 29.9 °C, correspondiente a los muestreos de invierno (febrero) y verano (junio). Como se ilustra en las figuras 3 y 5, los hongos predominantes fueron *A. niger*, *A. fumigatus*, *Alternaria* y *Bipolaris*.

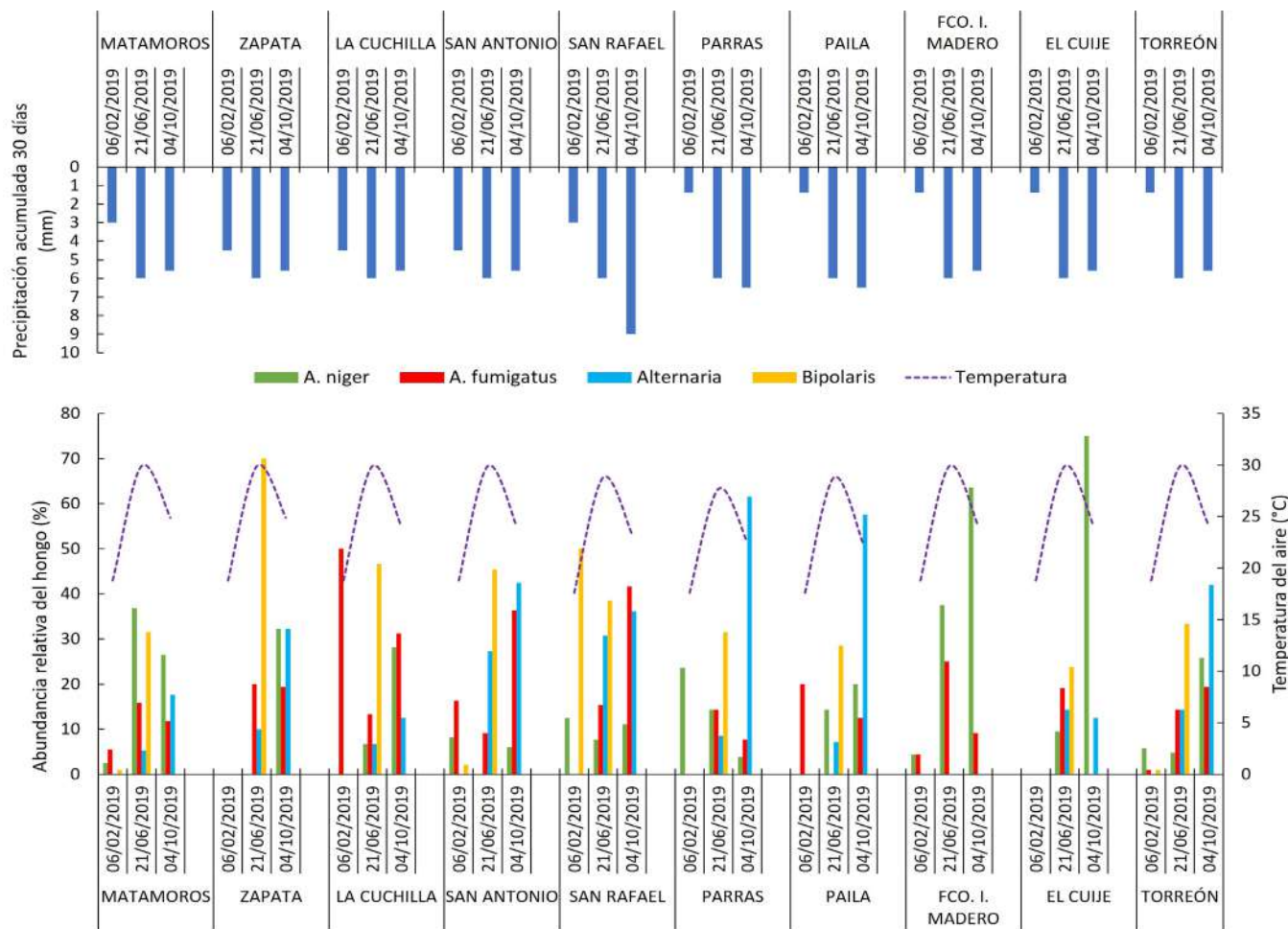


Figura 5. Variabilidad espaciotemporal de hongos y condiciones ambientales en sitios de muestreo en Coahuila.

DISCUSIÓN

El estudio detallado de las partículas aerotransportadas es necesario debido a la importancia que tienen las esporas fúngicas en medicina, ya que son un componente de los bioaerosoles y un indicador de bio-contaminación del aire (18). Ponce-Caballero *et al* (8) reportaron el hallazgo de 19 géneros fúngicos durante tres periodos de muestreo en un estudio realizado en Mérida, Yucatán siendo los principales *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* y

Acremonium spp. En la presente investigación, los sitios de Durango y Coahuila tuvieron en común una alta presencia de *Bipolaris*, *A. fumigatus*, *Alternaria* y *A. niger*, representando el 80 % de todos los géneros encontrados (Figuras 2 y 3). Se ha reportado que las condiciones meteorológicas influyen en la concentración, dispersión, presencia, movimiento y viabilidad de las esporas (7), lo cual se observó en Durango y Coahuila (Figuras 4 y 5). En un estudio reciente realizado en China, se tomaron muestras mensuales durante el invierno

(diciembre a marzo) en ocho sitios, encontrando como géneros dominantes *Alternaria*, 22 %; seguido de *Cladosporium* 18.4 %; *Naganishia* 14.1 %; *Fusarium* 5.9 %; *Phoma* 4.11 % y *Didymella* 4.8 % (19). En Italia en ambiente interior, se reportó que durante el verano los géneros predominantes fueron *Cladosporium* 85.7 %; *Alternaria* 9.8 %; mientras que para el invierno fue *Cladosporium* con 98.3% (20). Por otro lado, *Cladosporium*, *Leptosphaeria spp.*, *Alternaria* y *Aspergillus/Penicillium* fueron las principales esporas fúngicas encontradas en Turquía (34.4–72.8 %, 4.3–11.7 %, 2.1–5.7 % y 2.6–29.0 %, respectivamente) en una investigación realizada en cinco sitios con diferentes características geográficas, topográficas y climáticas (7). La literatura previamente mencionada (7,8,19,20), reportan como hongos predominantes los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus spp.* y *Alternaria*, todos ellos reportados también en esta investigación en sitios de Durango y Coahuila por lo que, aunque con algunas variaciones temporales, se confirma su distribución de manera global.

En cuanto al efecto de la precipitación, en Nigeria se reportó que la cantidad de hongos fue más alta durante la temporada de lluvia (mayo-octubre) comparada con la del periodo seco (noviembre-marzo) (10). Sin embargo, como se observa en las figuras 4 y 5, en el área de estudio de esta investigación la precipitación pluvial fue escasa debido a que se trata de una de las regiones más áridas de México, por lo que la información existente es insuficiente para obtener una conclusión con relación al efecto de este factor en la predominancia de géneros fúngicos específicos. Por otra parte, Grifinn-Gofrón y Bosiack (18) encontraron que el factor principal que explica la variación en la composición de esporas en el aire en su investigación realizada en Polonia fue la temperatura media del aire, observando una correlación positiva con la ocurrencia de *Alternaria*, *Drechslera spp.* y *Cladosporium*. A este respecto, se ha reportado que el rango óptimo de temperatura para el crecimiento de los hongos es de 20-40 °C, aunque especies como *Cladosporium* son psicrófilos con temperatura óptima de 18-28 °C (e incluso hasta -6 °C) y en el extremo están los termotolerantes como

A. fumigatus, que crecen incluso a temperaturas superiores a 40 °C (21). En esta investigación, en los sitios de Durango se registraron temperaturas de entre 14.7 y 26.5°C y en Coahuila de 17.6 a 29.9 °C, las cuales están dentro del rango para desarrollo óptimo de especies fúngicas. *Cladosporium* fue el segundo género predominante en Durango, en donde se reportan temperaturas cercanas o menores a 20 °C (Figura 4), mientras que *A. fumigatus*, que es termotolerante, tuvo una alta presencia en ambos estados (Figuras 2-5), coincidiendo con lo reportado por Gravensen (21).

CONCLUSIÓN

La identificación de los principales géneros fúngicos presentes en el ambiente de la Comarca Lagunera puede ser de utilidad para los profesionales de la salud para el diagnóstico y toma de decisiones relacionadas con enfermedades micóticas o alergias respiratorias al tener conocimiento específico de aquellos que son predominantes en la región. *A. fumigatus* y *Bipolaris* tienen una alta predominancia y dispersión espaciotemporal en Durango y Coahuila. Debido a que *A. fumigatus* puede tener consecuencias graves en la salud de personas con sistema inmune comprometido, en investigaciones posteriores se debería considerar el muestreo específico y aislamiento de este género para un estudio más detallado. Finalmente, los resultados del estudio sugieren considerar ampliamente el vínculo entre las condiciones climáticas regionales y la presencia de algunos géneros de hongos dado que se pudiera inferir la presencia del segundo conociendo el primero.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Coahuila (DIP-UADEC C01-2020-24) y al Programa para el Desarrollo Profesional Docente (PRODEP) de la Secretaría de Educación Pública (SEP).

REFERENCIAS

1. Brown GD, Denning DW, Levitz SM. Tackling Human Fungal Infections. *Science*. 2012 May 11;336(6082):647. doi: 10.1126/science.1222236.

2. Quindós G. Epidemiology of invasive mycoses: A landscape in continuous change. *Rev Iberoam Micol.* 2018; 35(4): 171–8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2018.07.002>
3. Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falci DR, Caceres DH, Chiller T, Pasqualotto AC. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17(11): e367–77. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30306-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30306-7)
4. Aliouat-Denis CM, Chabé M, Delhaes L, Dei-Cas E. Aerially transmitted human fungal pathogens: What can we learn from metagenomics and comparative genomics? *Rev Iberoam Micol.* 2014 Jan-Mar;31(1):54-61. doi: 10.1016/j.riam.2013.10.006.
5. Hernández-Solís A, Camerino Guerrero A, Colín Muñoz Y, Bazán Cuervo S, Cícero Sabido R, Reding-Bernal A. Pulmonary mycosis in patients with diabetes mellitus. Clinical characteristics and risk factors. *Rev Iberoam Micol.* 2020 Apr-Jun;37(2):53-57. Spanish. doi: 10.1016/j.riam.2020.04.002.
6. Benedict K, Richardson M, Vallabhaneni S, Jackson BR, Chiller T. Emerging issues, challenges, and changing epidemiology of fungal disease outbreaks. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17(12): e403–11. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30443-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30443-7)
7. Grinn-Gofroñ A, Çeter T, Pinar NM, Bosiacka B, Çeter S, Keçeli T, et al. Airborne fungal spore load and season timing in the Central and Eastern Black Sea region of Turkey explained by climate conditions and land use. *Agric For Meteorol.* 2020; 295: 108191. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2020.108191>
8. Ponce-Caballero C, Gamboa-Marrufo M, López-Pacheco M, Cerón-Palma I, Quintal-Franco C, Giacomán-Vallejos G, et al. Seasonal variation of airborne fungal propagules indoor and outdoor of domestic environments in Mérida, Mexico. *Atmósfera.* 2013; 26(3): 369–77. [http://dx.doi.org/10.1016/S0187-6236\(13\)71083-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0187-6236(13)71083-X)
9. Zukiewicz-Sobczak WA. The role of fungi in allergic diseases. *Adv Dermatology Allergol.* 2013; 30(1): 42–5. <https://www.doi.org/10.5114/pdia.2013.33377>
10. Odebode A, Adekunle A, Stajich J, Adeonipekun P. Airborne fungi spores distribution in various locations in Lagos, Nigeria. *Environ Monit Assess.* 2020 Jan 3;192(2):87. doi: 10.1007/s10661-019-8038-3.
11. Larone D. Medically important fungi: A guide to identification. Washington, DC: ASM Press; 2011. <https://doi.org/10.1309/LMW8AT6W4EUIXYBP>
12. Alvis-Gordo JF. Análisis estructural de un bosque natural localizado en zona rural del municipio de Popayán. *Fac Ciencias Agropecu.* 2009; 7(1): 115–22. <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/bioteecnologia/articulo/view/710>
13. Soler PE, Berroterán JL, Gil JL, Acosta RA. Índice valor de importancia, diversidad y similaridad florística de especies leñosas en tres ecosistemas de los llanos centrales de Venezuela. *Agron Trop.* 2012; 62(1–4): 23–37. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2012000100003&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0002-192X.
14. Zarco-Espinosa VM, Valdez-Hernández J, Ángeles-Pérez G, Castillo-Acosta O. Estructura y diversidad de la vegetación arbórea del Parque Estatal Agua Blanca, Macuspana, Tabasco. *Univ y Cienc - Trópico Húmedo.* 2010; 26(1): 1–17. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792010000100001&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0186-2979
15. Marroquín-Castillo JJ, Alanís-Rodríguez E, Jiménez-Pérez J, Aguirre-Calderón OA, Mata-Balderas JM, Collantes Chávez-Costa A. Composición florística y diversidad de un área restaurada post-minería en el matorral espinoso Tamaulipeco. *Polibotánica.* 2016; (42): 1–17.
16. Whittaker R. Evolution and Measurement of Species Diversity. *Taxon.* 1972; 21(2/3): 213–51. <https://doi.org/10.2307/1218190>
17. Acker JG, Leptoukh G. Online analysis enhances use of NASA Earth Science Data. *Eos Trans AGU.* 2007; 88(2): <https://doi.org/10.1029/2007EO020003>.
18. Grinn-Gofroñ A, Bosiacka B. Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia (Bologna).* 2015;31(1):63-72. doi: 10.1007/s10453-014-9347-1.
19. Nageen Y, Asemoloye MD, Pölme S, Wang X, Xu S, Ramteke PW, et al. Analysis of culturable airborne fungi in outdoor environments in Tianjin, China. *BMC Microbiol.* 2021 May 2;21(1):134. doi: 10.1186/s12866-021-02205-2.
20. D’Ovidio MC, Di Renzi S, Capone P, Pelliccioni A. Pollen and fungal spores evaluation in relation to occupants and microclimate in indoor workplaces. *Sustainability.* 2021; 13(6): 3154. <https://doi.org/10.3390/su13063154>
21. Gravesen S. Fungi as a cause of allergic disease. *Allergy.* 1979 Jun;34(3):135-54. doi: 10.1111/j.1398-9995.1979.tb061562.x.