

Fungos na atmosfera de Portugal

Airborne fungal spores in Portugal

Rev Port Imunoalergologia 2008; 16 (4): 377-394

Carlos Nunes¹, Irene Câmara², Manuel Branco Ferreira³, Mário Morais de Almeida⁴, Ângela Gaspar^{4,5}, Carlos Loureiro⁶, Helena Falcão⁷, Ana Todo-Bom⁶, Elsa Caeiro⁸, Rui Brandão⁸

¹ Centro de Imunoalergologia do Algarve / *Immunoallergy Center of Algarve*

² Centro de Estudos da Macaronésia / *Center for Macaronesian Studies*, Universidade da Madeira

³ Serviço de Imunoalergologia / *Immunoallergy Department*, Hospital Santa Maria – Centro Hospitalar Lisboa Norte

⁴ Unidade de Imunoalergologia / *Immunoallergy Unit*, Hospital CUF-Descobertas

⁵ Serviço de Imunoalergologia / *Immunoallergy Department*, Hospital de Dona Estefânia, Centro Hospitalar de Lisboa Central

⁶ Serviço de Imunoalergologia / *Immunoallergy Department*, Hospitais da Universidade de Coimbra

⁷ Serviço de Imunoalergologia / *Immunoallergy Department*, Hospital Maria Pia, Porto

⁸ Serviço Palinologia / *Palynology Department*, Universidade de Évora

RESUMO

Introdução: Os fungos do ambiente exterior podem provocar doenças no Homem, existindo um número pequeno de estudos caracterizando a sua distribuição atmosférica. **Objectivo:** Estudar o tipo e a concentração de esporos fúngicos na atmosfera, em estações localizadas no Porto, Coimbra, Lisboa, Évora e Portimão. **Métodos:** Amostragem efectuada diariamente em 2005 por polinómetros volumétricos, do tipo Hirst, integrados na Rede Portuguesa de Aerobiologia. **Resultados:** Contabilizou-se um total anual de 105084 esporos fúngicos/m³, tendo Portimão o total mais elevado: 29218 esporos/m³/ano. Globalmente, as concentrações fúngicas atmosféricas são maiores no Sul ($p \leq 0,05$), constatando-se que existem dois “picos”, um em Abril nas cinco estações, e um segundo “pico” em Agosto (Porto, Coimbra e Lisboa) e Novembro (Évora e Portimão). No Porto verificou-se adicionalmente outro “pico” em Janeiro, e em Évora em Junho. Verificaram-se diferenças na concentração fúngica atmosférica entre as estações, oscilando entre uma média semanal máxima de 853 esporos/m³ no Porto (Janeiro), 414 em Coimbra (Agosto), 1814 em Lisboa (Abril), 1327 em Évora (Junho) e 1600 esporos/m³ em Portimão (Abril). No entanto, em todo o país e durante todo o ano há registos de concentrações fúngicas atmosféricas frequentemente superiores a 100 ou mesmo a 200 esporos/m³. Relativamente à distribuição horária, verificaram-se também diferenças apreciáveis entre as estações de amostragem, observando-se geralmente concentrações mais baixas durante a madrugada e mais elevadas das 10.00-11.00 horas até às 21.00-22.00 horas. Foram identificados mais de 30 tipos de esporos fúngicos, alguns deles em concentrações residuais, sendo *Cladosporium* o género mais frequente. **Conclusão:** Este é o primeiro trabalho que avalia, ao longo de um ano, as concentrações fúngicas atmosféricas em cinco cidades de Portugal

continental. Existe significativa variabilidade da concentração e do tipo dos esporos fúngicos nos locais analisados, cujo conhecimento pode ser útil a técnicos de saúde e a doentes com patologia respiratória alérgica a fungos.

Palavras-chave: Aerobiologia, alergénios, ambiente exterior, fungos, Portugal.

ABSTRACT

Background: While it is known that outdoor airborne fungal spores can cause human respiratory diseases, there is a scarcity of studies on their atmospheric distribution. **Aim:** To study the atmospheric fungal spore types and concentration in Porto, Coimbra, Lisbon, Évora and Portimão. **Methods:** In 2005, we took daily readings, using Hirst-type volumetric air samplers integrated in the Portuguese Aerobiology Network. **Results:** An annual total of 105 084 spores/m³ was counted. Portimão had the highest total at 29 218 fungal spores/m³/year. In general, atmospheric fungal concentrations are more abundant in the south of Portugal ($p \leq 0.05$) and there were two main peaks; one in April in all five cities and a second in August (Porto, Coimbra and Lisbon) and in November (Évora and Portimão). Additionally, we observed another peak in January in Porto and in June in Évora. There were differences in the weekly mean atmospheric fungal spore count, with maximum 853 spores/m³ in Porto (January), 414 in Coimbra (August), 1814 in Lisbon (April), 1327 in Évora (June) and 1600 in Portimão (April). However, throughout the year airborne spore counts were frequently higher than 100 or even 200 spores/m³ in the whole country. We observed a wide band of hourly distribution in the different cities, with lower concentration generally seen at dawn and higher concentrations from 10.00-11.00 hours to 21.00-22.00 hours. We identified over 30 different types of fungal spores, some of them only in residual concentrations, with *Cladosporium* the most frequently observed. **Conclusions:** This is the first study to measure the airborne fungal concentrations in five cities of mainland Portugal over a period of one year. There is significant variability of spore concentration and type in the cities studied and this knowledge may be useful to health professionals and patients with respiratory disease and mould allergy. This study was supported by SPAIC (Portuguese Society of Allergy and Clinical Immunology)

Key-words: Aerobiology, allergens, moulds, outdoor air, Portugal

INTRODUÇÃO

Os fungos são eucariotas saprófitos primários, cosmopolitas e constituem um grupo complexo de organismos presente em praticamente qualquer latitude, clima e época do ano. Os esporos de fungos representam o maior componente dos bioaeros-

INTRODUCTION

Moulds are primary and cosmopolitan saprophytic eukaryotes and constitute a complex group of organisms which are found at practically any latitude, climate or time of year. The greater part of indoor and outdoor bioaerosols are fungal spores^{1,2}. The past few

sóis do ambiente interior (*indoor*) e exterior (*outdoor*)^{1,2}. Ao longo dos últimos anos têm-se observado progressos significativos no estudo do conteúdo aeromicológico, tanto em ambiente de interior como de exterior e no conhecimento da capacidade patogénica dos esporos fúngicos³.

Os *habitats* preferenciais dos fungos são húmidos e escuros, vivendo estes organismos à custa da digestão de material orgânico ou parasitando plantas e animais. São capazes de viver em ambientes com temperaturas amenas e não são sensíveis ao frio^{4,5}. No entanto, a humidade é um factor indispensável ao seu crescimento, preferencialmente com valores acima dos 60% de humidade relativa, tolerando mal os ambientes secos.

A dispersão dos fungos através do ar ocorre sob a forma de aerossóis e a sua agressividade para o homem depende em grande parte da sua dimensão, dado que as partículas com mais de 18 µm de diâmetro ficam retidas no tracto respiratório superior, enquanto as partículas inferiores a 5 µm podem atingir os bronquíolos⁶.

Os fungos dispersos através da atmosfera são susceptíveis de provocar doenças no Homem quando entram em contacto com a pele e mucosas, quer por contacto directo quer após a sua inalação.

O número de partículas inaladas está directamente relacionado com a sua concentração no ar e, também, com a actividade diária dos indivíduos expostos. O tipo e gravidade da doença dependem do tempo e da dose de exposição, da susceptibilidade individual, do conteúdo enzimático e da capacidade antigénica de cada fungo^{7,8}.

O objectivo do presente estudo foi descrever, no ano de 2005, a carga aeromicológica na atmosfera em estações em cinco cidades de norte a sul do país, tentando identificar diferenças temporais e regionais.

MATERIAL E MÉTODOS

Na análise da concentração de esporos fúngicos no ar exterior utilizámos os polinómetros volumétricos tipo Hirst

years have brought significant advances in the study of indoor and outdoor aeromycology and the knowledge of fungal spores' pathogenic capability³.

Moulds thrive in a damp and dark environment and live by digesting organic material or in a parasitic relationship with plants and animals. While they are able to live in warm temperatures and are not sensitive to cold^{4,5}, they need humidity to thrive, and do better with humidity 60% above relative humidity. They do poorly in dry environments.

The airborne dispersal of fungal spores occurs in aerosol form and its impact on man depends greatly on the size of the spores; particulate matter larger than 18 µm in diameter lodges in the upper respiratory tract, while particles smaller than 5 µm can lodge in the bronchioles⁶.

Airborne fungi can cause disease in humans when they make contact with the skin and mucosae, either by direct contact or following inhalation.

The amount of particles inhaled is in direct proportion to their airborne concentration and it is also directly related to the everyday activities of exposed individuals. The type and severity of the disease depends on the length and degree of exposure, individual susceptibility, enzyme content and the antigenic potential of the fungus in question^{7,8}.

Our aim was to describe the aeromycological load in the atmosphere at five stations from the north to the south of Portugal, in 2005, attempting to identify temporal and regional differences.

MATERIAL AND METHODS

We used a Burkard™ (Burkard Manufacturing Co. Ltd, UK) volumetric pollen trap to analyse outdoor atmospheric spores. This equipment's reliability, sturdiness and low maintenance makes it used and recommended nowadays for airborne pollen and fungal spore sampling in both Europe and the USA (Figure 1). The Portuguese Aerobiology Network⁹ uses this pollen trap, which allows daily and hourly readings of the amount of pollen and fungal spores per cubic metre of air to be taken.

(Burkard Manufacturing Co. Ltd, Reino Unido), um dos equipamentos actualmente usados e recomendados para amostragem de pólenes e esporos fúngicos atmosféricos, quer na Europa quer nos Estados Unidos da América (EUA), devido à sua fiabilidade, robustez e escassa manutenção (Figura 1). Tem sido o polinómetro usado pela Rede Portuguesa de Aerobiologia⁹, permitindo leituras, por dia e por hora, da quantidade de pólenes e esporos de fungos por metro cúbico de ar.

A periodicidade da mudança do receptor (tambor) foi semanal, e na fita existente no tambor foi aplicada uma solução de silicone para melhor aderência dos pólenes e dos esporos de fungos. Sobre a preparação foi colocada uma tira de acetato contendo um retículo com 24 linhas longitudinais distas 2 mm, e 4 linhas horizontais, distas 3 mm dispostas a partir do centro. Efectuaram-se 4 varrimentos horizontais e contabilizou-se o número de esporos de fungos por hora.

O período de estudo decorreu durante todo o ano de 2005 em quatro cidades do país: Porto, Lisboa, Évora e Portimão. Na estação de Coimbra, por motivos técnicos, não existiram recolhas nos três primeiros meses do ano, o que limitou a análise de dados apenas aos meses de Abril a Dezembro, inclusive. Contudo, e porque esta estação está integrada na Rede Nacional de Aerobiologia, resolvemos incluí-la, uma vez que achamos útil divulgar os resultados relativos à quantidade e tipo de esporos de fungos desta zona do país, pois até agora não se conheciam quaisquer dados.

Localizações das estações: na estação do Porto, o coletor situa-se no Hospital de São João a 25 metros (m) de altura do solo (41° 08' N; 8° 36' W, altitude média de 80 m acima do nível do mar); na de Coimbra no Instituto de Geofísica da Universidade de Coimbra, a 10 m de altura do solo (40° 12' 25"N; 8° 25' 30"W, altitude média de 139,61 m acima do nível do mar); na de Lisboa no Hospital de Dona Estefânia, a 20 m de altura do solo (38° 43' N; 9° 08' W, altitude média de 55 m acima do nível do mar); na de Évora; na Estação de Meteorologia do Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica, a 17 m de altura do solo (38° 34' N; 7° 54' E, altitude média de 300 m acima do nível do mar); na estação de Portimão no Centro de Imunoalergologia do Algarve, a



Figura 1. Polinómetro Burkard
Figure 1. Burkard Pollen Trap

The trap's drum was changed on a weekly basis. The drum's adhesive strip was coated in a silicone solution for better pollen and fungal spore adherence. An acetate strip containing a receptacle with twenty-four 2 mm spaced longitudinal lines and four 3mm-spaced horizontal lines situated from the centre was placed on the preparation. Four horizontal sweeps were made and the number of fungal spores per hour was counted.

The study period spanned 2005 in the Portuguese cities of Porto, Lisbon, Évora and Portimão. Due to technical difficulties, the Coimbra station was unable to provide collections for the first trimester of 2005, limiting data analysis to April-December. That notwithstanding, the Coimbra station is a part of the national aerobiology network and we decided to include it in the study, since it is useful to publish the number and type of fungal spores in this region, and there are currently no data.

16 m de altura do solo (37° 08' N; 8° 32' W, altitude média de 34 m acima do nível do mar).

Nas figuras optou-se, para maior clareza na visualização dos dados, por apresentar os valores médios de concentração fúngica agrupados por meses e não semanais ou diários. No entanto, uma vez que a mudança de cada tambor foi feita semanalmente, optou-se, por uma questão de uniformização, por apresentar os resultados não pela concentração mensal total, mas pela respectiva média semanal da concentração atmosférica de esporos fúngicos.

Na contagem de esporos fúngicos por hora, foi considerada a média de concentração horária por m³, tendo sido contabilizado o período de uma hora, correspondente a todos os dias do ano e por cada uma das estações. Para cálculo da média intra-horária, não se considerou excepção o facto de ter chovido, quer nalguns períodos de horas ou de dias, ou em determinadas estações, de forma a poder haver um critério de uniformização.

A identificação dos esporos fúngicos realizou-se com a ajuda do material de referência da palinoteca PALE, depositada na Universidade da Madeira, montada para o efeito e usando metodologia internacionalmente aceite como referência¹⁰⁻¹³.

O critério de classificação taxionómica adoptado para os esporos de fungos foi o seguido por Tomaz¹⁴ e a posição sistemática foi determinada com segurança até ao nível do género fúngico. Os esporos de fungos identificados foram posteriormente observados no microscópio óptico Olympus BX50, com a objectiva de ampliação 40X, sendo fotografados com uma câmara digital Olympus DPI I, para melhor caracterização.

Na análise estatística foi usado o método de qui-quadrado para diferenças nos valores das médias observadas, considerando-se a existência de “picos” de concentração média de esporos fúngicos quando os valores médios encontrados foram significativamente superiores, na avaliação estatística pelo método de qui-quadrado.

Foi utilizada a correlação de Spearman para análise da correlação entre as variações das concentrações de

The stations are located as follows: the Porto station spore trap is located at the Hospital de S. João 25 metres (m) above ground, 41° 08' N; 8° 36' W, mean altitude 80m above sea level; the Coimbra spore trap is located at the university's Institute of Geophysics, 10m above ground, 40° 12' 25" N; 8° 25' 30' W, mean altitude 139.61m above sea level; the Lisbon spore trap is located at the Hospital de Dona Estefânia, 20m above ground, 38° 43' N; 9° 08' W, mean altitude 55m above sea level; the Évora spore trap is located at the National Institute of Meteorology and Geophysics Meteorology Station, 17m above ground, 38° 34' N; 7° 54' E, mean altitude 300m above sea level; and the Portimão station at the Algarve Allergology and Clinical Immunology Centre, 16m above ground, 37° 08' N; 8° 32' W, mean altitude 34m above sea level.

The mean fungal count values by months and not weeks or days, are shown in the figures aiming for the maximum clarity of data visualisation possible. Because the drum was changed weekly, however, we chose to present the mean total of the weekly atmospheric fungal spore count and not a total monthly count. The reason for this was for uniformity and to put the monthly differences into sharper relief.

We considered the mean hourly m³ count in the hourly spore count. This assessed an hourly period, corresponding to each day of the year and each station. Hourly, daily or seasonal rainfall was not taken into account in calculating the intra-hourly mean, to ensure uniform criteria.

Identification of the fungal spores was performed with the help of reference material (standard PALE technical pollen equipment) from the University of Madeira, and internationally recognised reference criteria were used¹⁰⁻¹³.

We used the Tomaz¹⁴ classification for the fungal spores' taxonomy and their systematic position was determined to fungal type degree. Identified fungal spores were subsequently subjected to microscopic observation using an Olympus BX50 optical microscope with a 40X amplification and then photographed using an Olympus DPI I digital camera for better characterisation.

esporos fúngicos e das condições climáticas (temperaturas mínimas e máxima e pluviosidade), por estação de captação.

RESULTADOS

Em Portugal Continental foram contabilizadas as amostras diárias de acordo com a metodologia acima descrita no período de 1 de Janeiro a 31 de Dezembro de 2005, em cada uma das estações de captação da Rede Portuguesa de Aerobiologia (RPA) do Porto, Lisboa, Évora e Portimão, num total de 1456 amostras. Na estação de Coimbra, foi efectuado um número total de 276 amostras, de forma semelhante ao das outras estações, referentes ao período de 1 de Abril a 31 de Dezembro de 2005.

No total das amostras recolhidas nas cinco cidades foram contabilizados um total de 105 084 esporos fúngicos. De uma forma geral, verifica-se que as regiões do Sul (incluindo Lisboa) têm uma maior concentração de esporos fúngicos no ar atmosférico do que as regiões de Porto e Coimbra (Figura 2). Em cada uma das estações observaram-se diferenças nas concentrações ao longo do ano (Figura 3). No entanto, a estação de Coimbra, embora sem contabilizar o primeiro trimestre do ano, teve a particularidade de apresentar uma concentração de esporos fún-

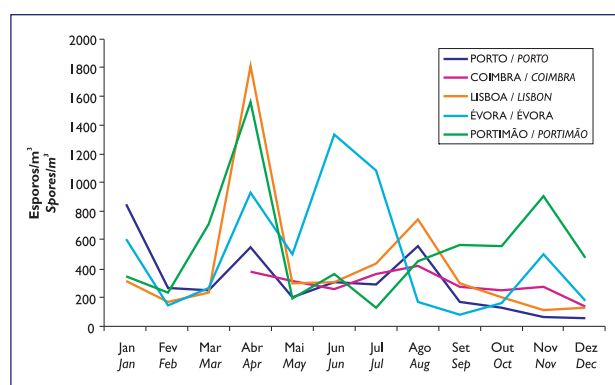


Figura 2. Concentração semanal média de esporos fúngicos/m³ no ano de 2005

Figure 2. Mean weekly fungal spore/m³ count 2005

To perform statistical analysis, we used the chi-squared method for differences in the means found, with peaks in the mean fungal spore counts considered when the mean values found were significantly higher in the chi-squared method statistical analysis.

We used the Spearman correlation to analyse variations in the fungal spore counts and climactic conditions (minimum and maximum temperatures and rainfall) per sampler station.

RESULTS

Daily samples from the mainland Portuguese Aerobiology Network (RPA) sampler stations in Porto, Lisbon, Évora and Portimão were counted as described above from the 1st January to the 31st December 2005. There were a total of 1456 samples. The Coimbra station yielded 276 samples, collected similarly to the other stations, from the 1st April to the 31st December 2005.

A total of 105084 fungal spores were counted from the five above named cities. Overall, the southern areas, Lisbon included, had a higher airborne fungal spore count than the Porto and Coimbra regions (Figure 2). There were differences in the count throughout the year at each station (Figure 3). While the first three months of the year were not counted at the Coimbra station, it stands out in having a relatively stable fungal spore count, with August having the highest count; weekly mean 414 spores/m³.

The Porto station had significant airborne fungal peaks in January (weekly mean 853 fungal spores/m³), April (weekly mean 546 fungal spores/m³) and August (weekly mean 560 fungal spores/m³).

The Lisbon station revealed a very high count in April (weekly mean 1814 spores/m³) and a lesser peak in August (weekly mean 746 spores/m³).

The Évora station showed significant peaks in April (926/spores/m³), June (1327 spores/m³) and July (1083 spores/m³) and lesser peaks in November and January.

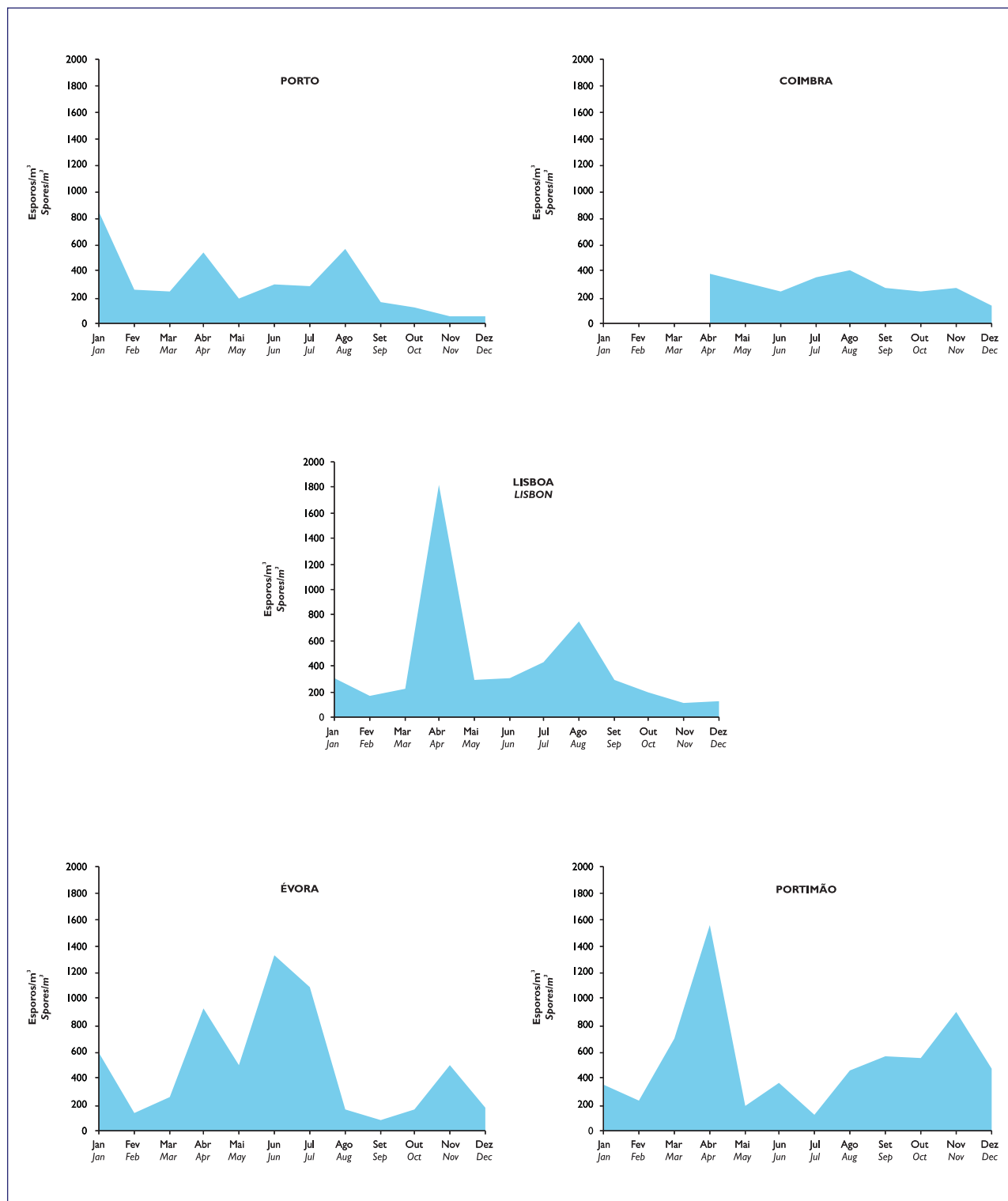


Figura 3. Concentração semanal média de esporos fúngicos/m³ em cada mês e por estação

Figure 3. Mean weekly fungal spore/m³ count per month and station

gicos relativamente uniforme, sendo o mês de Agosto o que apresentou mais elevada concentração de esporos, com uma média semanal de 414 esporos/m³.

Na estação do Porto verificaram-se “picos” elevados nos meses de Janeiro, Abril e Agosto, com as seguintes concentrações fúngicas atmosféricas: Janeiro com média semanal de 853 esporos/m³, Abril com média semanal de 546 esporos/m³ e Agosto com média semanal de 560 esporos fúngicos/m³.

Na estação de Lisboa observou-se uma concentração muito elevada no mês de Abril (com uma média semanal de 1814 esporos/m³) e um outro “pico”, mas de menor intensidade, em Agosto (com uma média semanal de 746 esporos/m³).

Na estação de Évora ocorreram “picos” elevados nos meses de Abril (926 esporos/m³), Junho (1327 esporos/m³) e Julho (1083 esporos/m³) e outros de menor intensidade, em Novembro e Janeiro.

A cidade de Portimão foi a que registou maior concentração anual de esporos fúngicos, num total de 29218 esporos/m³, apresentando um “pico” nos meses de Abril (média semanal de 1600 esporos/m³) e Março (708 esporos/m³) seguida de novo “pico” no mês de Novembro; durante este mês foi a cidade com maior quantidade de esporos fúngicos na atmosfera (> 900 esporos/m³).

A metodologia utilizada permitiu, adicionalmente, estudar em cada estação as concentrações fúngicas ao longo do dia, possibilitando determinar a sua distribuição horária, verificando-se diferenças apreciáveis entre os locais de amostragem (Figura 4). No entanto, e de uma forma geral, pode-se verificar que as concentrações fúngicas atmosféricas são mais baixas durante a madrugada e até ao meio da manhã, sendo normalmente mais elevadas no período das 10.00-11.00 horas às 21.00-22.00 horas, embora a intensidade dos picos e as variações horárias sejam muito diferentes de estação para estação, como se pode ver na Figura 4.

Foram identificados mais de 30 tipos de esporos fúngicos (anexo I), contudo alguns deles apenas em concentrações residuais. Os dez tipos de esporos fúngicos mais frequentes no ar ambiente exterior são os constantes do

Portimão registou o greatest annual fungal spore count: 29 218 spores/m³, with a peak in April (weekly mean 1600 spores/m³) March (708 spores/m³) and another in November. This month Portimão was the city with the highest number of atmospheric fungal spores: > 900 spores/m³.

Our methodology allowed us also to study the fungal spore counts throughout the day at each station, making it possible to determine the hourly distribution and see palpable differences between sampler stations (Figure 4). Overall, while airborne fungal spore counts are lower during dawn until mid morning and normally higher from 10.00-11.00 hours until 21.00-22.00 hours. The intensity of the peaks and the hourly variation vary greatly from station to station (Figure 4).

Over 30 types of fungal spores were identified (appendix I) and some were only found in residual concentrations. Table I lists the ten most frequently found outdoor airborne fungal spore types, with *Cladosporium* the more commonly found type. There were relative differences in

Quadro 1. Os dez tipos de esporos fúngicos mais frequentes em Portugal

Table 1. The ten most frequently occurring fungal spore types

Espécie Species	% do total % of total
<i>Cladosporium herbarum</i>	50.8
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	11.2
<i>Ascosporos</i>	5.9
<i>Coprinus</i>	5.2
<i>Agaricus</i>	4.0
<i>Alternaria</i>	3.3
<i>Leptosphaeria</i>	2.7
<i>Arthrinium</i>	2.2
<i>Uredosporo</i>	2.1
<i>Botrytis</i>	2.0

Quadro I, sendo de salientar que o género mais frequente foi o *Cladosporium*. Contudo, há diferenças relativas em cada uma das duas espécies mais frequentes, *Cladosporium herbarum* e *Cladosporium cladosporioides*, nas diferentes estações. Nas estações de Porto e Coimbra, *Cladosporium cladosporioides* é o fungo mais prevalente (30 e 33%, respectivamente), enquanto nas de Lisboa, Évora e Portimão é *Cladosporium herbarum* o mais abundante (47, 40 e 51%, respectivamente). *Alternaria*, um outro fungo importante em patologia respiratória alérgica humana, é muito menos abundante no ar atmosférico, sendo relativamente menos frequente nas estações de Évora e Portimão (3%) do que nas de Lisboa, Porto e Coimbra (4, 6 e 7%, respectivamente).

each of the two most frequent species, *Cladosporium herbarum* and *Cladosporium cladosporioides* at different sampler stations. *Cladosporium cladosporioides* predominated at the Porto and Coimbra stations (30% and 33%, respectively), while *Cladosporium herbarum* was more abundant in Lisbon, Évora and Portimão (47%, 40% and 51%, respectively). *Alternaria*, another fungus that plays a significant part in human allergic respiratory conditions, is found less frequently in the atmosphere. It is less plentiful at the Évora and Portimão stations (3%) than at the Lisbon, Porto and Coimbra stations (4%, 6% and 7%, respectively). Appendix I shows the fungal spores found and their percentages at each sampler station.

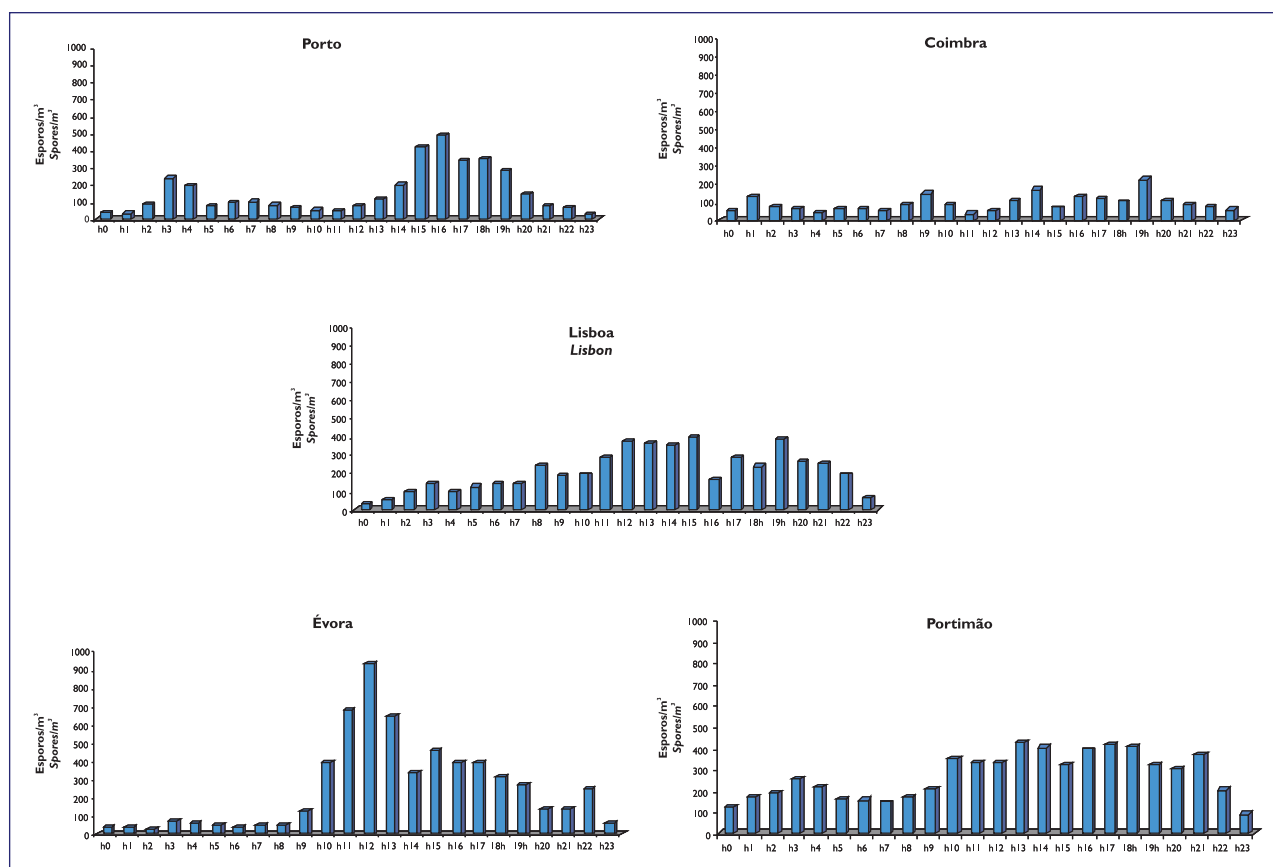


Figura 4. Média da concentração horária de esporos fúngicos por m^3 e por estação em 2005

Figure 4. Mean weekly fungal spore/ m^3 count per month and station 2005

te). No anexo I estão referidos os esporos fúngicos encontrados e respectivas percentagens em cada uma das estações de amostragem

Os dados meteorológicos, segundo o Instituto de Meteorologia, no ano de 2005 (Figura 5) revelam um ano com baixa pluviosidade em todo o território continental¹⁵. Como é habitual ao

Weather data for 2005 (Fig. 5), supplied by the National Meteorology Institute, show it to have been a year with little rainfall throughout mainland Portugal¹⁵. As is usually seen in Portugal, the southern regions have less rainfall throughout the year than the regions north of the Tagus River. For comparison purposes we

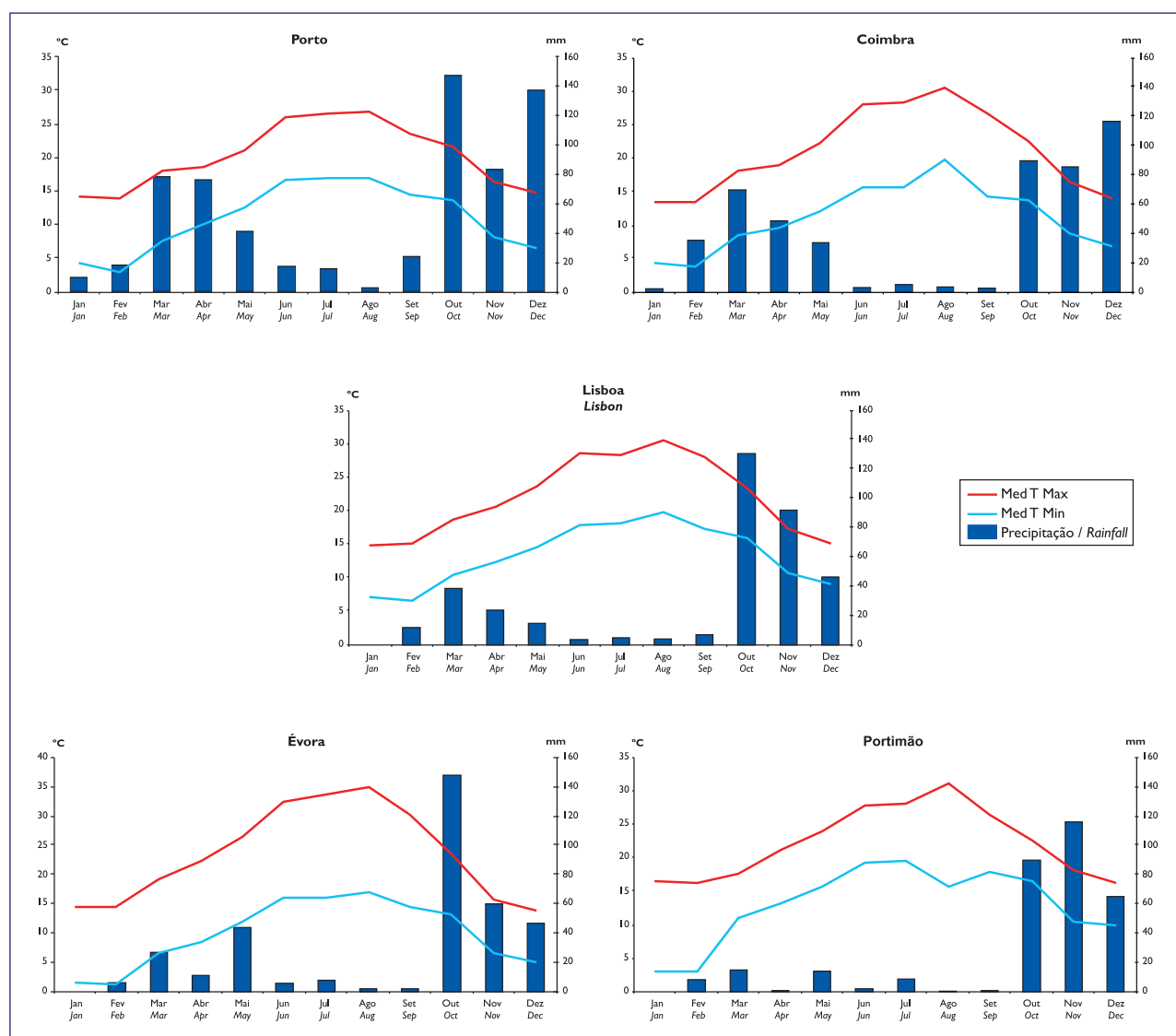


Figura 5. Média da temperatura máxima (Med T Max) e média da temperatura mínima (Med T Min), no eixo y principal e da precipitação no eixo y secundário em mm, por mês e por estação em 2005

Figure 5. Mean maximum (Med T Max) and minimum (Med T Min) temperature on principal y axis and rainfall in mm on secondary y axis per month and station 2005

longo da história climática em Portugal, as regiões do Sul têm menor precipitação ao longo do ano, comparativamente às regiões a norte do Tejo. Apresentam-se, também, para melhor comparação, os valores médios mensais relativos às temperaturas máximas e mínimas. Não se verificou, no entanto, correlação estatisticamente significativa entre os valores das temperaturas e o número de esporos fúngicos ($r = -0,19$). Porém, houve correlação negativa e significativa ($r = -0,37$; $p \leq 0,01$) entre a pluviosidade e o número de esporos fúngicos ao longo do período do estudo.

DISCUSSÃO

A existência de fungos e de pólenes no ambiente exterior tem sido estudada desde o início do século passado em vários países na Europa, na América do Norte e também na Austrália. Numa fase inicial, e antes da era antibiótica, a existência de microrganismos na atmosfera foi muitas vezes ligada a patologias infecciosas, mas alguns alergologistas pioneiros, como Jimenez-Diaz e Sánchez, já correlacionavam alergia, asma e fungos¹⁶. A Medicina foi evoluindo e o estudo dos fungos na atmosfera foi diminuindo de interesse, porque outras prioridades na investigação médica foram surgindo. Contudo, é de salientar que, desde há mais de 60 anos, vários trabalhos científicos sobre pólenes e fungos foram publicados nas principais revistas científicas dedicadas ao estudo das doenças alérgicas, tendo como objectivo estudar eventuais correlações sobre a presença de elevadas concentrações de fungos e/ou pólenes e respectiva sensibilização alérgica, tendo em atenção o aumento da prevalência de doenças respiratórias alérgicas nas últimas décadas.

Saliente-se, no entanto, que a maioria dos estudos sobre fungos é relativa à agricultura e não à ciência médica. Temos, em consequência, poucos estudos da concentração fúngica atmosférica que interessem à patologia humana.

Após um período de menor investigação dos fungos na atmosfera, a situação tem vindo a sofrer alterações e, nas últimas duas décadas, de novo têm surgido em várias regiões do Mundo algumas publicações que relacionam

give the monthly mean maximum and minimum temperatures. While there is no statistically significant correlation between the temperature measurements and the number of fungal spores ($r = -0,19$), there is a significant negative correlation ($r = -0,37$; $p \leq 0,01$) between rainfall and number of fungal spores over the year of the study.

DISCUSSION

Outdoor airborne pollen and fungus has been the subject of study since the beginning of the last century in Europe, the USA and Australia. In the early years, and before the advent of antibiotics, atmospheric microorganisms were very often connected to infectious pathologies, with some pioneer allergologists such as Jimenez-Diaz and Sánchez already correlating allergy, asthma and fungi¹⁶. Medicine evolved and interest in studying atmospheric fungi waned as other research priorities emerged. It is worth highlighting, however, that for over 60 years there have been several studies published on pollen and fungi in the leading scientific journals devoted to the study of allergic diseases. These have aimed to study possible links between high fungal and/or pollen levels and respective allergic sensitisation, in the face of the increasing rate of allergic respiratory disease over the past few decades.

The main body of studies of fungi were related to agriculture, however, and not medical science, and as a result there are only a few studies on airborne fungal concentration and human pathology.

After a slump in research of atmospheric fungi, the situation is picking up and the last two decades have seen a world-wide increase in literature relating respiratory conditions as being caused or triggered by airborne fungal concentrations.

The literature reveals that no European country has region-wide recent data on atmospheric concentration

patologia respiratória provocada ou desencadeada por elevadas concentrações atmosféricas de fungos.

Também na literatura consultada foi possível constatar que nenhum país na Europa possui, em todas as suas regiões, dados recentes sobre concentração e tipo de fungos na atmosfera. Nos EUA, a rede de aerobiologia ligada à Academia Americana de Alergia, Asma e Imunologia (AAAAI)^{17,18}, que possui 60 estações ligadas à aerobiologia, utiliza 40% para captação e identificação regular de fungos. No entanto, há dificuldades na comparação de dados, porquanto os métodos de captação e identificação nem sempre são iguais.

Para a identificação dos fungos tem sido usado a captação em lâmina colocada em polinómetro com material adesivo (silicone ou vaselina) ou captação em placas de Petri com agar e extracto de malte. Existem vantagens e desvantagens num e noutro método, contudo o método de lâmina tem sido o mais utilizado nas várias estações de captação, se bem que muitos fungos com menor predominância atmosférica possam não ser identificados por este processo. Também na cultura em placa, os fungos com menor capacidade de crescimento ou menor concentração podem ser envolvidos pelo crescimento das culturas dos adjacentes.

Embora não sendo muito abundantes, encontram-se na literatura alguns estudos que avaliaram a concentração fúngica na atmosfera durante pelo menos um ano. Assim, na Suécia, Nilsson¹⁹ verificou que, em Estocolmo e em Gotemburgo, o *Cladosporium* era o fungo mais frequente, com maior concentração atmosférica no período do Verão e Outono. Na Dinamarca, Flensburg *et al.*²⁰ também descreveram o *Cladosporium* como o esporo fúngico mais frequente na atmosfera de Copenhaga, cujo período de maior concentração atmosférica ocorria do final de Junho até Outubro.

Na Inglaterra, Adams²¹ e Davies²², respectivamente em Cardiff e em Londres, novamente documentaram *Cladosporium* como o fungo mais frequente na atmosfera, com período de maior concentração de Junho a Setembro, seguindo-se *Pullularia* de Março a Novembro, *Penicillium* durante todo o ano, e *Epicoccum* de Junho a Setembro. Em Itália, Cosentino²³ constatou também que *Cladosporium* era

and types. The USA's National Allergy Bureau, a section of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI)^{17,18}, has over 60 aerobiology linked stations and uses 40% for regular fungi sampling and identification. There is, however, difficulty in data comparison as the sampling and identification methods are not always the same.

Fungi have always been identified using a slide placed in the pollen trap with either silicone or vaseline adhesive or by using Petri dishes prepared with agar and malt extract. Both methods have advantages and disadvantages, with the slide method more favoured at a greater number of sampling stations, even if less abundant airborne fungi might not be identified using this process. Less potent or less plentiful fungal spores may be involved in growth on the neighbouring cultures in Petri dish methods.

There are a few studies in the literature evaluating airborne fungal spore levels over at least a year.

Nilsson¹⁹ (Sweden) saw that *Cladosporium* was the most frequent fungus in Stockholm and Gothenburg, with a heavier atmospheric concentration in summer and autumn. Flensburg *et al.*²⁰ (Denmark) noted that *Cladosporium* was the most frequently seen airborne fungal spore in Copenhagen, heavier from the end of June to October.

In England, Adams²¹ (Cardiff) and Davies²² (London) also verified that *Cladosporium* was the most commonly found airborne spore, heavier from June - September, and that it was followed by *Pullularia* (March - November), *Penicillium* (year round) and *Epicoccum* (June - September). Cosentino²³ (Italy) also described *Cladosporium* as the most frequent atmospheric fungal spore, followed by *Basidiomycetes*, *Alternaria* and *Fusarium*.

In the USA, Durham²⁴ (Rocky Mountains) and Schonwald²⁵ (north west) studied various fungal spore annual concentration and distribution. While there were some overall differences in airborne concentration between the various types of fungi in the USA, *Alternaria* was the

o fungo atmosférico mais frequente, seguido de *Basidiomycetes*, *Alternaria* e *Fusarium*.

Nos EUA, Durham²⁴, nas Montanhas Rochosas, e Schonwald²⁵ no Noroeste, estudaram as várias concentrações e distribuição anual dos esporos fúngicos. Apesar de haver algumas diferenças na concentração atmosférica entre os vários tipos de fungos, *Alternaria* é o mais prevalente, seguido numa zona por *Cladosporium* e noutras por *Penicillium* ou *Rhizopus* ou mesmo por *Pullularia*.

Na Austrália, Durie e Frey²⁶, em Sidney, e Derrick e Maclemman²⁷, em Melbourne, verificaram também diferenças no tipo e concentração de esporos fúngicos. Enquanto em Sidney a prevalência era, por ordem decrescente, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Rhotorud* e *Penicillium*, em Melbourne a maior prevalência era a de *Penicillium*, seguida de *Cladosporium*, *Epicoccus* e *Alternaria*.

Segundo D'Amato e Spiesksma²⁸, o *Cladosporium* corresponde a cerca de 60 a 80% dos fungos encontrados no exterior, em várias estações e em diferentes países europeus. Os dez fungos de exterior com maior concentração são, por frequência decrescente: *Cladosporium* com uma média de 60 a 80% do total; basidiósporos de 5 a 30%; ascósporos de 5 a 25%; *Sporobolomyces* de 2 a 15%; *Botrytis* de 2 a 15%; *Aspergillus* e *Penicillium* de 2 a 20%; *Alternaria* de 1 a 10%; *Didymella* de 1 a 10%; *Fusarium* de 1 a 10% e *Ustilago* de 1 a 10%, dados estes que apresentam algumas semelhanças com os que encontramos e que estão referidos no Quadro 1, principalmente no que diz respeito à preponderância de *Cladosporium* e às percentagens relativas de *Cladosporium*, Ascósporos e *Alternaria*.

Na região da Catalunha, em Espanha, no ano de 2003, onde foram usados cinco captadores volumétricos, Tomás²⁹ verificou a existência de esporos fúngicos na atmosfera durante todo o ano, com maior predominância no Verão e Outono. Nesta região, uma vez mais o fungo *Cladosporium* ocorreu em maior concentração, com oscilações entre 1 000 e 8 000 esporos/m³ por mês.

Os dados relativos às flutuações sazonais dos esporos fúngicos são relativamente escassos³¹. No Norte da Europa, os períodos de maior concentração fúngica são mais

most prevalent, followed by *Cladosporium* in some areas and by *Penicillium* or *Rhizopus* or even by *Pullularia* in others.

In Australia, Durie and Frey²⁶ (Sydney) and Derrick and Maclemman²⁷ (Melbourne) also found differences in fungal spore type and concentration. The frequency of fungal spores in Sydney was, in decreasing order, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Rhotorud* and *Penicillium*, while in Melbourne *Penicillium* prevailed, followed by *Cladosporium*, *Epicoccus* and *Alternaria*.

According to D'Amato and Spiesksma²⁸, *Cladosporium* corresponds to approximately 60% - 80% of outdoor spores at various stations and in different European countries. The 10 most frequently occurring outdoor fungi are, in decreasing order, *Cladosporium* (mean 60%-80% of the total); *Basidiosporos* (5%-30%); *Ascosporos* (5%-25%); *Sporobolomyces* (2%-15%), *Botrytis* (2%-15%); *Aspergillus* and *Penicillium* (2% - 20%); *Alternaria* (1%-10%); *Didymella* (1%-10%), *Fusarium* (1%-10%) and *Ustilago* (1% - 10%). These data are similar to those we found and which are given in Table I, mainly in terms of the preponderance of *Cladosporium* and the relative percentages of *Cladosporium*, *Ascosporos* and *Alternaria*.

Tomás²⁹ described year round airborne fungal spores in Catalonia, Spain, in 2003, using 5 volumetric traps, and saw a greater amount of airborne spores in summer and autumn. *Cladosporium* was once again the most prevalent here, varying from 1 000 - 8 000 spores/m³ per month.

There are very few data on seasonal fluctuations of fungal spores³¹. There are shorter periods of heavier fungal spore concentration in northern Europe than in the Mediterranean area. The south of Europe has four months (June, July, August and September) with a heavy spore count²⁸, while the north usually has only two heavy months, June and July²⁸. A similar airborne pollen picture is seen in these two regions.

Some recent epidemiological studies have seen a link between fungal spore levels and respiratory al-

curtos do que na área mediterrânica. No Sul da Europa, há quatro meses de elevada concentração fúngica (Junho, Julho, Agosto e Setembro)²⁸, enquanto no Norte da Europa geralmente existem apenas dois meses de elevada concentração fúngica (Junho e Julho)²⁸. Também se tem verificado situação semelhante quando se compara a concentração polínica atmosférica entre estas duas regiões.

Alguns estudos epidemiológicos recentes têm demonstrado alguma relação entre os níveis de esporos de fungos e sintomas da alergia respiratória, particularmente de asma, sendo esses sintomas correlacionados com a exposição *outdoor* aos esporos de fungos³². No entanto, tem-se verificado a existência de valores muito variáveis de prevalência de sensibilização fúngica na população geral³³, com valores que oscilam entre 3 a 20%; contudo, nos doentes com patologia alérgica (rinite ou asma), a prevalência da sensibilização a fungos é, em geral, mais elevada, mesmo em crianças (15 a 20%)³⁴, sendo as sensibilizações mais frequentemente referidas *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Aspergillus*. Num estudo recente efectuado em Portugal e Espanha³⁵ em doentes com idades entre 10 e 50 anos e com rinite alérgica diagnosticada por alergologista, encontraram-se também percentagens significativas de indivíduos sensibilizados a *Alternaria*, 11% em Espanha e 15% em Portugal, com uma maior percentagem no Centro (23%) do que no Norte (12%) ou Sul (11%) do nosso país, dados que apresentam algum paralelismo com a distribuição geográfica relativa de *Alternaria* que documentamos no presente estudo (7% do total de esporos fúngicos em Coimbra, 6% no Porto, 4% em Lisboa e 3% em Évora e Portimão).

CONCLUSÃO

Este trabalho pioneiro no estudo da concentração e identificação dos esporos fúngicos na atmosfera de Portugal continental, ao longo de um ano e em várias estações distribuídas de norte a sul do país, permitiu demonstrar a existência de grande quantidade de esporos fúngicos na atmosfera portuguesa, com flutuações sazonais e horárias significativas e com

lergy symptoms, particularly asthma, with these symptoms correlating to outdoor exposure to fungal spores³². Varying levels of fungal sensitisation have been seen in the population at large, however³³, with values of between 3% and 20%, while in patients with allergic pathology (rhinitis or asthma), the rate of sensitisation to fungus is generally much greater, even in children, (15%-20%)³⁴. The sensitisations most often cited are to *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* and *Aspergillus*. A recent study undertaken in Portugal and Spain³⁵ in patients aged 10-50 years old with allergic rhinitis diagnosed by an allergologist also showed significant percentages of individuals sensitised to *Alternaria* (11% in Spain and 15% in Portugal), with a greater percentage in the midlands (23%) than the north (12%) or south (11%) of Portugal. These data show some similarities with the geographical distribution of *Alternaria* which we describe in this study (7% of the total of fungal spores in Coimbra, 6% in Porto, 4% in Lisbon and 3% in Évora and Portimão).

CONCLUSION

This was a pioneer study of the year round airborne fungal spore concentration and identification in mainland Portugal, taken from several stations throughout the country. It showed the existence of a great number of fungal spores in the atmosphere of Portugal, their significant seasonal and hourly fluctuations and differences between the north, south and midlands. *Cladosporium* was the predominant type, similar to several other European studies.

We hope these data will be of use to those working in aerobiology and respiratory medicine and to patients with known sensitisation to fungal spores. A near-future daily and serial study of fungal spore counts, over several years and at various Portuguese Aerobiology Network stations is important to give us a more accurate picture

algumas diferenças entre o Norte, o Centro e o Sul do País. O género predominante foi *Cladosporium*, à semelhança do identificado em vários outros estudos europeus.

Esperamos que o conhecimento destes dados seja útil a todos os que se dedicam à aerobiologia e à medicina respiratória, bem como aos doentes cuja sensibilidade a fungos é conhecida. Será importante em futuro próximo o estudo diário e seriado da concentração de esporos fúngicos, ao longo dos anos e nas várias estações da Rede Portuguesa de Aerobiologia, para podermos vir a ter uma noção mais correcta das variações ao longo do ano e suas alterações com as diferentes condições climáticas nas várias regiões do país. Considera-se ainda a necessidade de haver mais e melhor investigação nesta área da aerobiologia, em particular na concentração fúngica atmosférica e sua eventual agressividade nos doentes com patologia alérgica e/ou respiratória.

of the variations seen over the year and changes with the different climatic conditions seen in the country's different regions.

We feel there is also a need for more and deeper research in this area of aerobiology, particularly airborne fungal spore concentration and the possible impact this may have, especially on patients with an allergic and/or respiratory diseases.

Contacto / Correspondence:

Carlos Nunes
R José António Marques, 3 C – 4.º
8500-700 Portimão
cn@imunoalergologia.com

REFERÊNCIAS / REFERENCES

- Gonzalo MA, Martínez JF, Tormo R, Muñoz AF, Paredes MM, Silva I. Estudio aeromicológico de la ciudad de Badajoz: periodos de mayo a agosto de 1993 y 1994. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1996;11:188-94.
- Torres JM. Hongos y alergia o un binomio polémico. *Allergy Clin Immunol* 2002;17:139-40.
- Picco AM, Rodolfi M. Airborne fungi as biocontaminants at two Milan underground stations. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2000;45: 43-7.
- Krouse JH, Chadwick SJ, Gordon BR, Derebery MJ. Allergy and Immunology. An Otolaryngic Approach. 1st ed. Philadelphia: Lippincott, 2002: 87-98.
- Rosado Pinto JR, Morais de Almeida M. A criança asmática no mundo da alergia. 1st ed. Alges: Euromédice, Edições Médicas, Lda; 2003.
- Trabulsi A. Microbiologia. 2nd ed. São Paulo: Atheneu; 2001.
- Bush RK, Portnoy JM. The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:430-40.
- Platt-Mills TAE, Solomon W. Aerobiology and Inhalant Allergens. In Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, Busse WW (eds). *Allergy Principles and Practice* vol. II, 5th ed. CV Mosby. Co; 1998:367-403.
- Caeiro E, Brandão R, Carmo S, Lopes L, Morais de Almeida M, Gaspar A et al. Rede Portuguesa de Aerobiologia: Resultados da monitorização do pólen atmosférico (2002-2006). *Rev Port Imunoalergologia* 2007;15:235-50.
- Faegri K, Iversen J. Textbook of Pollen Analysis. 4th ed. New York: John and Wiley & Sons Ltd; 1998.
- Sara Otero MP, Suárez-Cervera M, Gracia VR. Atlas de Polen de Galicia I. Deputación de Ourense; 1996.
- Smith EG. Sampling and identifying allergenic pollen and molds. Vol. I. San Antonio, Texas: Blewstone Press; 1986.
- Smith EG. Sampling and identifying allergenic pollen and molds. Vol. II. San Antonio, Texas: Blewstone Press; 1986.
- Tomaz I. Classificação de plantas e fungos. Lisboa: Publicações Europa-América. 2001:48-64.
- Instituto de Meteorologia <http://www.meteo.pt/pt> acedido a 20 Junho de 2007.
- Jimenez-Diaz C, Sanchez C. Climatic asthma. *J Allergy* 1932;3:396-402.
- National Allergy Bureau (NAB) acedido a 20 de Junho de 2007 <http://www.aaaai.org/nab/>
- Aeroallergen network of the AAAAI. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1235-7.
- Nilsson, S. Atlas of Airborne Fungal Spores in Europe. Berlin: Springer; 1983.
- Flensburg WE, Samsoe-Jensen T. Studies in mold allergy. Mold spore counts in Copenhagen. *Acta Allergologica* 1950;3:49-65.
- Adams KF. Year to year variation in the fungus spore content of the atmosphere. *Acta Allergol* 1961;19:11-50.

22. Davies RR. Atmospheric pollen and spores in London. *Proc. Br. Assoc Allergists. Int Arch Allergy & App Immunology*. 1962;20:372-7.
23. Cosentino S, Pisano PL, Fadda ME, Palmas F. Pollen and mold allergy: aerobiologic survey in the atmosphere of Cagliari, Italy (1986-1988). *Ann Allergy* 1990;65:393-400.
24. Durham OC. Incidence of airborne fungus spores I. *Alternaria*. *J Allergy* 1937;8:480-98.
25. Schonwald P. Allergenic molds in Pacific Northwest. *J Allergy* 1938;9:175-179.
26. Durie EB, Frey D. Incidence of airborne fungi in Sydney. *Mycopathologia* 1960; 13:93-9.
27. Derrick E, McLennan EI. Fungus spores found in the air in Melbourne (Victoria), Australia. *Acta Allergol* 1963;18:26-43.
28. D'Amato G, Spieskma FT. Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy* 1995;50:870-7.
29. Tomàs J. Estado actual de alergia a hongos. *Allergol Inmunol Clinica* 2003;31:106-12.
30. Wilken Jensen K, Gravesen S. Atlas of moulds in Europe causing respiratory allergy. Copenhagen: ASK Publishing, 1984.
31. Nikkels AH, Terstegge P, Spieskma F. Ten types of microscopically identifiable airborne fungal spores. *Aerobiologia* 1996;12:107-12.
32. Câmara IG. Estudo aerobiológico da cidade do Funchal. Detecção bioquímica dos principais aeroalergénios polínicos. Tese de Doutoramento, Universidade da Madeira – 2007.
33. D'Amato G, Chatzigeorgiou G, Corsico R, Gioulekas D, Jäger L, Jäger S *et al*. Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with suspected respiratory allergy. *Allergy* 1997;52:711-6.
34. Andersson M, Downs S, Mitakakis T, Leupp M. Natural exposure to *Alternaria* spores induces allergic rhinitis symptoms in sensitized children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2003;14:100-5.
35. Pereira C, Valero A, Loureiro C, Dávila I, Martínez-Cócerca C, Murio C *et al*. Iberian study of aeroallergens sensitisation in allergic rhinitis. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2006;38:186-94.

ANEXO I – Esporos de fungos encontrados e sua respectiva percentagem por estação

APPENDIX I – Fungal spores found and their percentage per station

PORTO		COIMBRA	
Esporos fúngicos / Fungal spores	%	Esporos fúngicos / Fungal spores	%
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	30.0	<i>Cladosporium cladosporoides</i>	32.8
<i>Cladosporium herbarum</i>	27.0	<i>Cladosporium herbarum</i>	26.1
<i>Agaricus</i>	8.7	<i>Alternaria</i>	6.9
<i>Alternaria</i>	5.9	<i>Arthrinium</i>	5.6
<i>Coprinus</i>	4.0	<i>Ascosporos</i>	5.5
<i>Botrytis</i>	3.4	<i>Leptosphaeria</i>	4.3
<i>Epicoccum</i>	3.1	<i>Coprinus</i>	3.6
<i>Ascosporos</i>	2.6	<i>Epicoccum</i>	2.4
<i>Leptosphaeria</i>	1.9	<i>Ganoderma</i>	2.2
<i>Geotrichium</i>	1.6	<i>Botrytis</i>	1.7
<i>Gliomatix</i>	1.6	<i>Drechslera</i>	1.5
<i>Arthrinium</i>	1.6	<i>Fusarium</i>	1.1
<i>Stemphylium</i>	1.4	<i>Venturia</i>	1.0
<i>Ganoderma</i>	1.3	<i>Algas (microalgas)</i>	0.9
<i>Ustilago</i>	0.9	<i>Pleospora</i>	0.7
<i>Torula</i>	0.8	<i>Entomophthora</i>	0.7

PORTO		COIMBRA	
Esporos fúngicos / Fungal spores	%	Esporos fúngicos / Fungal spores	%
Fusarium	0.6	Ustilago	0.6
Gliomastix	0.6	Periconia	0.4
Drechslera	0.6	Agrocybe	0.3
Venturia	0.4	Nigrospora	0.2
Nigrospora	0.3	Torula	0.2
Pleospora	0.3	Geotrichum	0.2
Peronospora	0.3	Gliomatix	0.2
Periconia	0.3	Peronospora	0.2
Entomophthora	0.2	Stemphylium	0.2
Sordaria	0.2	Helicomycetes	0.1
Algas (microalgas) / Algae (microalgae)	0.1	Sordaria	0.1
Puccinia	0.1	Spegazzinia	0.1
		Puccinia	0.1
		Tilletiopsis	0.1
		Curvularia	0.1
		Helicomycetes	0.1
		Mytilidion	0.1
		Sporormiella	0.1

LISBOA / LISBON		ÉVORA		PORTIMÃO	
Esporos fúngicos / Fungal spores	%	Esporos fúngicos / Fungal spores	%	Esporos fúngicos / Fungal spores	%
Cladosporium herbarum	46.9	Cladosporium herbarum	39.7	Cladosporium herbarum	50.8
Cladosporium cladosporoides	27.7	Cladosporium cladosporoides	35.1	Cladosporium cladosporoides	11.2
Alternaria	4.4	Coprinus	3.3	Ascospores	5.9
Ascospores	2.9	Alternaria	2.9	Coprinus	5.2
Coprinus	2.6	Ascospores	2.9	Agaricus	4.0
Leptosphaeria	1.5	Arthrimum	2.6	Alternaria	3.3
Botrytis	1.5	Peronospora	1.6	Leptosphaeria	2.7
Stemphylium	1.4	Agaricus	1.6	Arthrimum	2.2
Agaricus	1.2	Leptosphaeria	1.5	Uredospore	2.1
Geotrichum	0.9	Stemphylium	1.5	Botrytis	2.0
Gliomastix	0.9	Drechslera	1.2	Pleospora	1.7
Ganoderma	0.8	Botrytis	0.8	Ganoderma	0.9

LISBOA / LISBON		ÉVORA		PORTIMÃO	
Esporos fúngicos / Fungal spores	%	Esporos fúngicos / Fungal spores	%	Esporos fúngicos / Fungal spores	%
Epicoccum	0.7	Algae (microalgae)	0.8	Penicillium	0.8
Fusarium	0.6	Epicoccum	0.8	Stemphylium	0.8
Entomophthora	0.6	Geotrichum	0.5	Chaetomium	0.7
Arthrinium	0.6	Gliomastix	0.5	Geotrichum	0.7
Ustilago	0.5	Ustilago	0.4	Gliomastix	0.7
Não Identificado / Non-identified	0.5	Entomophthora	0.4	Nigrospora	0.6
Algas (microalgas) / Algae (microalgae)	0.4	Torula	0.3	Venturia	0.6
Torula	0.4	Cerebella	0.3	Entomophthora	0.5
Drechslera	0.4	Fusarium	0.2	Epicoccum	0.5
Nigrospora	0.4	Chaetomium	0.2	Drechslera	0.4
Pleospora	0.4	Pleospora	0.2	Agrocybe	0.4
Venturia	0.3	Uredospore	0.2	Ustilago	0.3
Peronospora	0.3	Ganoderma	0.1	Fusarium	0.2
Cerebella	0.2	Non-identified	0.1	Periconia	0.1
Periconia	0.2	Venturia	0.1	Peronospora	0.1
Uredospore	0.2	Aureobasidium	0.1	Torula	0.1
Chaetomium	0.1	Nigrospora	0.1	Algas (microalgas) / Algae (microalgae)	0.1
Lophiostoma	0.1	Puccinia	0.1	Gliomastix	0.1
Sordaria	0.1	Tilletiopsis	0.1	Sordaria	0.1
Puccinia	0.1	Curvularia	0.1	Cerebella	0.1
Tilletiopsis	0.1	Helicomyces	0.1	Não Identificado / Non-identified	0.1
Curvularia	0.1	Mytilidion	0.1	Polythrincium	0.1
Helicomyces	0.1	Sporomiella	0.1	Spegazzinia	0.1
Mytilidion	0.1			Coprinus comatus	0.1
Sporomiella	0.1			Lophiostoma	0.1
				Myxomycetes	0.1
				Puccinia	0.1
				Tilletiopsis	0.1
				Curvularia	0.1
				Helicomyces	0.1
				Mytilidion	0.1
				Sporomiella	0.1