J. Subiza

Centro de Asma y Alergia Subiza. Madrid.

Correspondencia: Dr. Javier Subiza Centro de Asma y Alergia Subiza General Pardiñas, 116 28006 Madrid.

Editorial

Cómo interpretar los recuentos de pólenes

COLECTORES DE PÓLENES

Blackley¹ fue el primer autor que describió en 1873 que la fiebre del heno era causada por la inhalación de pólenes de gramíneas. Este médico inglés, que fue un auténtico adelantado para su época, no sólo observó la utilidad de las pruebas cutáneas para el diagnóstico de esta enfermedad, sino que desarrolló también varios tipos de colectores de pólenes; uno de los más eficientes fue un simple porta untado con vaselina colocado verticalmente en una veleta (fig. 1). Cada 24 horas recogía el porta y observaba mediante microscopio óptico los diferentes tipos de pólenes que habían quedado impactados y observó que sus pacientes con fiebre de heno empeoraban sólo durante el período en que los recuentos de gramíneas en Manchester eran altos (junio y julio).

En 1946 el americano Durham² propuso su método estandarizado de muestreo gravimétrico, que fue aceptado en su día por la mayoría de los países (fig. 2). Este método se basaba en colocar un porta horizontal conun medio de impactación donde por deposición gravimétrica quedaban atrapados los pólenes. Sin embargo, su eficiencia de captación sólo era buena para partículas de más de 20 µm, y era mala para las esporas y pólenes pequeños (ej. *Castanea*, urticáceas) que solían sobrevolar el porta en lugar de quedar impactados. La velocidad del viento resultaba también un serio inconveniente ya que al aumentar ésta, la deposición resultaba empobrecida.

W.A. Perkins desarrolló el primer colector Rotorod que fue diseñado para su uso intermitente en 1957 por Metrónic y que sigue siendo muy utilizado en EE.UU. (fig 3)³. Consiste en dos varillas recubiertas con un medio de impactación y que rotan como si de un ventilador se tratara, pero de forma intermitente. La desventaja de este sistema es que su eficiencia de captación para partículas inferiores a 10 µm es pobre y, además, su capacidad de captación va disminuyendo con el paso del tiempo según se van almacenando las partículas en los brazos giratorios.

En 1952 JM Hirst⁴ desarrollo el primer colector de aspiración (fig. 4). Consistía en una cámara de admisión de aire con un débito de 10 l/min que hacía pasar el flujo a través de una hendidura de 14 x 2 mm que estaba siempre frente a la dirección del viento gracias a que el colector iba montado sobre una veleta. La fuente de aire aspirada se enfrentaba sobre un porta vertical vaselinado, que se desplazaba frente a la hendidura a una velocidad de 2 mm/h (48 mm/24 h de muestreo). Las ventajas de Hirst y de Rotorod (colectores volumétricos) sobre el colec-

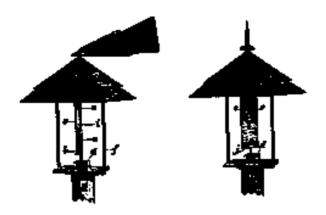


Fig. 1. Dibujo original de Blakley, donde representa en visión frontal y lateral el colector de pólenes que diseñó para sus investigaciones. Tomado de Blackley C.H. Experimental Researches on the Nature and Causes of Catarrhus Aestivus. London, Bailliere, Tindal & Cox, 1873.

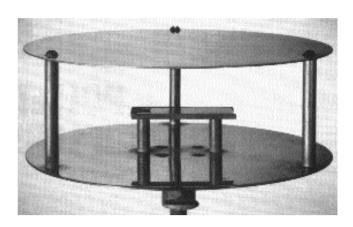


Fig. 2. Colector de Durham. Un porta untado con vaselina se coloca en el soporte horizontal que se encuentra entre dos placas protectoras

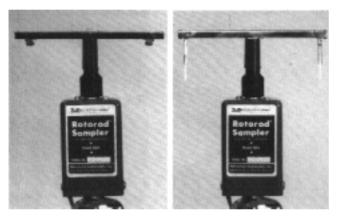


Fig. 3. Colector Rotorod® para muestreo intermitente. Los brazos se encuentran plegados sobre un soporte, una vez en que el aparato comienza a rotar los brazos se abren verticalmente hacia abajo, dejando expuestas las varillas de impactación.

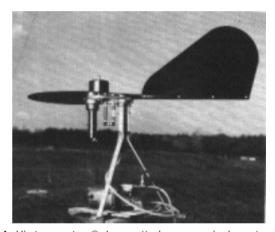


Fig. 4. Hirst spore trap®. Las partículas son aspiradas a través de una pequeña ranura (14x2 mm). El porta se encuentra en el interior del cilindro, muy pegado a la hendidura y éste se desplaza verticalmente a 2 mm/hora gracias a la acción de un mecanismo de relojería.

tor de Durham (método gravimétrico) son que conocemos exactamente el volumen de aire examinado. La ventaja de Hirst sobre Rotorod es que tiene mayor eficiencia para la captación de partículas inferiores a 10 Mm y que su capacidad de captación no disminuye con el tiempo de muestreo⁵.

A finales de los 70 la casa Burkard desarrolló el Burkard Seven Day Volumetric Spore-Trap® (fig. 5), colector basado íntegramente en el método de Hirst, pero con la ventaja adicional de que la impactación se produce en una cinta de 345 mm en lugar de un porta de 76 mm, lo que le permite un tiempo de muestreo ininterrumpido de 7 días en lugar de las sólo 24 horas del Hirst.

El colector Burkard es el más usado por la mayoría de las redes de colectores de todo el mundo y es el que viene utilizando la Red de Colectores de la SEAIC desde que ésta se iniciara en la década de los setenta⁶.

UTILIDAD CLÍNICA DE LOS RECUENTOS DE PÓLENES

Los recuentos de pólenes siguen siendo de una gran utilidad para el clínico. Son imprescindibles para identificar qué pólenes producen polinosis en cada ciudad o área geográfica⁷. Nos permiten saber con más precisión cuándo deben los pacientes comenzar y finalizar su tratamiento profiláctico. Sirven para poder planificar mejor los viajes de ocio y trabajo de los polínicos y también nos ayudan a entender mejor



Fig. 5. Burkard Seven Day Volumetric Spore-Trap®. Basado en el mismo principio del colector de Hirst, pero que permite un muestreo ininterrumpido de 7 días.

la variabilidad en la intensidad de los síntomas de unos años a otros y de unas áreas geográficas a otras; en este sentido, es necesario realizar una vigilancia polínica continua, debido a las grandes variaciones interanuales de un mismo tipo polínico⁸. Así, por ejemplo, las concentraciones de gramíneas en Madrid pueden tener variaciones de hasta el 400% de unos años a otros que se correlacionan significativamente con las amplias variaciones en las ventas de antihistamínicos y asistencias en urgencias por asma de una estación a otra^{9,10}.

La vigilancia polínica nos permite detectar incrementos de pólenes alergénicos en la atmósfera como consecuencia de cambios metereológicos y/o aumento y propagación de plantas (p. ej. *Ambrosia* en Europa) o árboles (p. ej. cipreses, *Platanus*, etc.) inductores de polinosis. Los recuentos son esenciales en los estudios clínicos sobre la eficacia de los fármacos y vacunas alergénicas para la rinitis y/o asma estacional. Los recuentos permiten explicar la mayor o menor prevalencia de sensibilización a un determinado tipo de polen en áreas relativamente próximas^{11,12}.

PUBLICACIÓN EN LOS MEDIOS DE INFORMACIÓN (VENTAJAS Y DESVENTAJAS)

Sin embargo, a pesar de su gran utilidad para el clínico, no deja de resultar curioso que el uso más popular de los recuentos sea probablemente el menos eficaz de todos y que consiste en proveer información diaria a los pacientes a través de los medios de

comunicación (televisión, teletexto, Internet, prensa, radio). En un estudio reciente se pudo comprobar que al menos 49 millones de americanos siguen diariamente los recuentos de pólenes a través de la televisión¹³. El objetivo teórico de esta información es que los pacientes puedan predecir la intensidad de sus síntomas de polinosis y de esa forma extremar "ese día" las precauciones tanto en medidas de evitación como tratamiento medicamentoso. Los recuentos son dados habitualmente por periodistas y meteorólogos que, en su mayoría, ignoran la metodología utilizada para la captación de pólenes y, lo que es más importante, la interpretación de los mismos¹³. Es obvio que para que esta información pueda ser de utilidad es necesario que los alergólogos enseñen a los pacientes (e idealmente a los profesionales de los medios de comunicación) las ventajas pero también las limitaciones que presentan los recuentos, para evitar falsas expectativas que pudieran confundir más que orientar los pacientes en el control de su polinosis.

CURVA DOSIS RESPUESTA (LIMITACIONES)

Aunque globalmente se pueda encontrar una correlación significativa entre los recuentos de pólenes y la media de los síntomas de rinoconjuntivitis y/o asma, de grupos escogidos de pacientes polínicos que han ido apuntado sus síntomas diarios en cartillas específicas, es evidente que si se hace el estudio de forma individual (paciente por paciente), esta curva dosis respuesta puede estar ausente en un número variable de ellos¹⁴⁻¹⁶.

Por ejemplo, en Madrid, mediante estudios de correlación lineal, sólo se ha observado una asociación significativa entre la intensidad de los síntomas de rinoconjuntivitis y los recuentos de pólenes de gramíneas en el 56% de los pacientes y de sólo el 14% con el polen de *Olea*. La mayoría de los pacientes con polinosis de Madrid están polisensibilizados a gramíneas y *Olea* y probablemente la primera oculta la posible correlación que pudiera encontrarse con la segunda. Esta correlación, además, también puede verse afectada por el *Plantago*, que poliniza conjuntamente con los dos anteriores y que sensibiliza al 53% de los pacientes^{16,17}.

El rango de gravedad de polinosis es extrema-

damente variable de unos pacientes a otros, de tal forma que lo que es un recuento "alto" para unos puede ser "bajo" para otros.

A la aparición de síntomas también pueden contribuir alergenos polínicos que se encuentran fuera de los granos de polen, asociados a partículas inferiores a 10 µm y cuyas concentraciones atmosféricas pueden presentar serias divergencias con los recuentos¹⁸⁻²³.

Muchos factores pueden incrementar la exposición personal a los pólenes (uso de automóvil, trabajo al aire libre, etc.) y/o a sus antígenos (por ej. cortar el césped)²⁴⁻²⁶.

Un recuento diario se obtiene de la lectura hecha con el objetivo x 40 de cuatro barridos longitudinales de 48 mm realizados en el porta (lo que representa aproximadamente el 12% del área impactada en un día); el número de pólenes contados en esos cuatro barridos se multiplica por el factor de conversión 0,55, lo cual nos da el número medio de granos por m³ de aire. Esto significa que puede haber momentos del día en que las concentraciones fueron mucho más altas que las dadas como media diaria, media diaria que cuando se da en los medios de información corresponde a la del día anterior y que como suele darse con la temperatura actual (última hora) puede inducir a error sobre la presencia real de pólenes en ese momento.

Los resultados de los recuentos pueden verse alterados en función de la localización y altura del colector y pueden no representar exactamente la concentración de otro colector localizado en las proximidades^{27,28}. En ese sentido, Ogden et al³ realizaron diferentes estudios que permitieron desarrollar unas guías sobre la colocación de los colectores. Estos deben situarse a una altura entre 10-20 m. sobre el nivel del suelo, lejos de edificios altos colindantes u otros obstáculos, así como de árboles muy próximos u otras fuentes de pólenes local. Aún así, determinadas fuentes de polen pueden presentar considerables variaciones de unos colectores a otros dentro de la misma ciudad, ya que la carga de los pólenes atmosféricos puede resultar ser una mezcla poco homogénea, especialmente si la fuente emisora de pólenes se encuentra cerca del colector²⁷. En este sentido, ha podido evidenciarse una mayor homogeneidad atmosférica con los pólenes de gramíneas (donde la fuente emisora está fuera de la ciudad) que con los pólenes de árboles urbanos (por ej. *Platanus*) donde la fuente emisora suele encontrarse más cerca del colector.

Otro elemento que puede afectar a la interpretación de los pólenes incluye el problema de la similitud morfológica al microscopio óptico de diferentes especies, géneros e incluso familias de pólenes. El mejor ejemplo lo podemos encontrar entre las quenopodiáceas y amarantáceas, imposibles de diferenciar mediante el microscopio óptico y por tanto, los recuentos de ambas familias se tienen que expresar como un único tipo polínico (Chenopo-Amaranthaceae). Más problemático resulta cuando no podemos diferenciar en un tipo polínico géneros de alergenicidad muy diferente, por ejemplo la *Urtica*, muy poco alergénica, de la Parietaria, muy alergénica. Aunque hay ligeras diferencias en el tamaño de estos géneros, tales diferencias no son útiles debido al gran rango de variabilidad intraespecie; por tanto, los recuentes se tienen que expresar conjuntamente como urticáceas³⁰. Pero, incluso, la imposibilidad de diferenciar especies aparentemente con una importante reactividad cruzada también puede plantear problemas. Este es el caso del Plantago lanceolata, polen muy utilizado para diagnóstico e inmunoterapia en Madrid en lugar del *Plantago lagopus*, que es el más abundante y con el cuál se observa hasta el 21% más de positividades en las pruebas cutáneas¹⁷. O como el Phleum pratense, especie prácticamente inexistente en esta ciudad, pero por el contrario muy utilizada en la misma para inmunoterapia, en lugar del Trisetum paniceum, la gramínea verdaderamente prevalente y con la cual la identidad de alergenos no es completa^{17,31,32}.

Un factor a tener en cuenta en la interpretación de los recuentos es que el umbral de respuesta tanto nasal como bronquial va disminuyendo a lo largo de la estación (priming). El primer autor en describir este efecto fue Connell³³, quién encontró que las provocaciones nasales en días sucesivos con polen Ambrosia iban disminuyendo el número mínimo necesario de granos para producir síntomas. Además, observó que la concentración de granos para producir congestión nasal era significativamente menor a mitad y final de la estación que al inicio de ésta. Este efecto priming también se ha descrito con el polen de Betula; se ha observado que el 90% de los pacientes con sensibilización clínica a la Betula presenta síntomas con recuentos superiores a 80 granos/m³

al inicio de la estación, que disminuyen a 30 granos/m³ al final de la misma. Además, los pacientes alérgicos a la Betula pueden disminuir su umbral de reactivación por la presencia atmosférica, unas semanas antes, de pólenes con los cuales la Betula comparte antígenos (Alnus y Corylus). A su vez, la Betula disminuye el umbral de reactivación de los pacientes también sensibilizados a gramíneas que polinizan en la península Escandinava casi simultáneamente8. Es evidente que los síntomas son el reflejo de la exposición a numerosos alergenos y que el umbral de respuesta se ve afectado por la interacción entre ellos, lo que explica la dificultad de establecer precisos umbrales de reactivación. Aun así, se han establecido qué concentraciones de gramíneas entre 10 a 50 granos/m³ de aire16,34-36 y de Olea entre 153-400 granos/m³ son capaces de reactivar a la mayoría de los pacientes clínicamente sensibilizados^{37,38}.

Diversos factores genéticos de las plantas y árboles pueden tener un efecto en la alergenicidad del polen. Por ejemplo, el nivel medio de alergenos presentes en el polen de una *Betula* puede ser heredado; como ésta tiende a diseminar las semillas localmente, podríamos encontrar diferencias regionales en la alergenicidad polínica de grupos de árboles de una misma especie³⁹.

La polución atmosférica y el incremento de la temperatura también afectan a los árboles y pueden ocasionar un incremento en la cantidad de alergenos de sus pólenes. Se han encontrado diferencias en la alergenicidad de los pólenes de grupos de árboles de una misma especie, que aunque vegeten relativamente próximos, se encuentren en zonas con diferentes grado de polución (ciudad/campo) o temperatura (valle/montaña)³⁹.

La polución también puede aumentar la alergenicidad del polen por un efecto directo sobre el propio grano. Ha podido evidenciarse que las partículas procedentes de la combustión del diésel recubren los pólenes recogidos cerca de la autopista⁴⁰. Estas partículas pueden tener un efecto adyuvante, tal como lo demostró el grupo de Miyamoto de la Universidad de Tokio hace más de 15 años, que mediante estudios experimentales en ratones, observó que la respuesta IgE frente a los alergenos del polen del cedro del Japón se incrementaba de una forma significativa cuando éstos estaban mezclados con partículas procedentes de la combustión del diésel⁴¹. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que la preva-

lencia de fiebre del heno en el medio urbano es el doble con respecto al medio rural, a pesar de que en este último las concentraciones de pólenes son mayores^{42,43}. Pero, incluso, dentro del campo también existen diferencias, tal como describen Ishizaki et al⁴², que pudieron observar que la prevalencia de fiebre del heno por *Cryptomeria* entre los campesinos japoneses que residían cerca de la autopista, era prácticamente el triple con respecto a los que vivían más lejos de la misma (el 13% frente al 5%).

También existen diferencias dentro del medio urbano, como publicó Luczynska; este autor observó que la prevalencia de sensibilización a pólenes de gramíneas entre los escolares de 10 a 11 años del muy contaminado centro urbano de Londres era del 34% contra el 20% entre los escolares de la misma edad de una zona residencial mucho menos contaminada del sur de Londres. Más recientemente, Díaz Sánchez et al pudieron comprobar en trece pacientes alérgicos a la Ambrosia, que el incremento de IgE específica, presente en la secreción nasal a los cuatro días de realizarles una provocación nasal con Amb al (alergeno mayoritario de la Ambrosia) mezclado con partículas procedentes de la combustión del diésel, era 16 veces mayor con respecto el incremento producido tras la provocación nasal con el Amb a1 sin partículas de diésel.

Se ha evidenciado que las partículas del diésel son capaces de absorber aeroalergenos (por ejemplo, *Lol p1*), actúan como transportadores atmosféricos y prolongan la retención de los mismos. Al ser fagocitadas por los macrófagos y células de la mucosa respiratoria, dan lugar a un incremento en la producción de importantes citocinas inflamatorias y acumulación de eosinófilos en la mucosa respiratoria.

Un efecto proinflamatorio también pueden producirlo en pacientes no alérgicos y agudizan el asma tanto intrínseco como extrínseco. Son capaces de disminuir el aclaramiento mucociliar y de incrementar la permeabilidad de las células de la mucosa de las vías aéreas a los alergenos^{43,44}.

Tomando en conjunto todos estos datos, parece lógico sospechar que el umbral de reactivación a los pólenes esté también supeditado a los niveles de polución, principalmente la materia particulada procedente de la combustión del diésel, otra variable muy importante a tener en cuenta a la hora de interpretar los recuentos.

CONCLUSIONES

Los recuentos de pólenes son una herramienta imprescindible para los alergólogos tanto para la investigación, el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes con polinosis. Su utilidad como información diaria para los pacientes durante el período de polinosis es menor y ésta depende en gran medida de la correcta interpretación de los recuentos que los pacientes hagan de ellos, correcta interpretación que debería ser enseñada por sus médicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Blackely CH. Experimental Researches on the Nature and Causes of Catarrhus Aestivus. Londrés; Bailliere, Tindal & Cox, 1873.
- 2. Durham OC. The volumetric incidence of airborne allergens. IV. A proposed standard method of gravity sampling, counting and volumetric interpolation of results. J Allergy 1946;17:79-86.
- 3. Ogden EC, Raynor GS, Hayes JV. Manual for sampling airborne pollen. Nueva York; Hafenr press, 1974.
- 4. Hirst JM. An automatic volumetric spore trap. Ann Appl Biol 1952; 39:257-265.
- 5. Bush RK. Aerobiology of pollen and fungal allergens. J Allergy Clin Immunol 1989;84:1120-1124.
- 6. Subiza E, Subiza J, Jerez M. Palinología. En: Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Vol IV. Madrid: Luzán, 1986; 211-254.
- 7. Solomon WR, Mathews KP. Aerobiology and inhalant allergens. En: Middleton E, Reed Ch, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW, ed. Allergy: principles and practice, Vol 1, 3rd ed. San Luis; CV Mosby, 1988;312-313.
- 8. D'Amato G, Spieksma FThM, Bonini S. (eds). Allergenic pollen and pollinosis in Europe. Londrés: Blackwell Scientific Publications, 1991.
- 9. Subiza J, Jerez M, Gavilán MJ, Varela S, Rodríguez R, Narganes MJ, et al. ¿Cuáles son los pólenes que producen polinosis epidémica en el medio urbano de Madrid? Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13:107-109.
- 10. Red de médicos centinela. Bol Epidemiol Comun Madrid. Mayo-Junio 2000 (supl.); 6:37.
- 11. Zwick H, Popp W, Jäger S, Wagner C, Reiser K, Mora KF. Pollen sensitization and allergy in children depend on the pollen load. Allergy 1991;46:362-366.
- 12. Subiza J, Feo Brito F, Pola J, Moral A, Fernández J, Jerez M, et al. Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13:45-48.
- 13. Frenz DA, Goswami AM, Murray LW, Lince NL. A survey of television meteorologist about their sources for and understanding of pollen counts. Ann Allergy 1998;81:439-442.
- 14. Subiza J, Cabrera M, Valdivieso R, Subiza JL, Jerez M, Jiménez JA, et al. Seasonal asthma caused by airborne *Platanus* pollen. Clin Exp Allergy 1994;24:1123-1129.

- 15. Varela S, Subiza J, Subiza JL, Rodríguez R, García B, Jerez M, et al. Platanus pollen an important unrecognized cause of pollinosis. J Allergy Clin Immunol 1997;100:748-754.
- 16. Muñoz M, Subiza J, Gavilán MJ, Barjau C. ¿Es posible establecer una curva dosis-respuesta entre los recuentos de pólenes de gramíneas y síntomas de rinitis? Rev Esp Alergol Inmunol Clin 2000; 15:17.
- 17. Subiza J, Jerez M, Jiménez JA, Marganes MJ, Cabrera M, Varela S, et al. Allergenic Pollen and pollinosis in Madrid. J Allergy Clin Immunol 1995;96:15-23.
- 18. Solomon WR, Burge HA, Muilenberg ML. Allergen carriage by atmospheric aerosol. I. Ragweed pollen determinants in smaller micronic fractions. J Allergy Clin Immunol 1983;72:443-447.
- 19. Agarwal MK, Swanson MC, Reed CE, Yunginger JW. Airbone ragweed allerllens: association with various particle sizes and short ragweed plant parts. J Allergy Clin Immunol 1984;74:687-693.
- 20. Fernández-Caldas E, Swanson MC, Pravda J, Welsh P, Yunginger JW, Reed CE. Immunochemical demonstration of red oak pollen aeroallergens outside the oak pollination season. Grana 1889; 28: 205-209
- 21. Knox RB. Grass pollen, thunderstorms and asthma. Clin Exp Allergy 1993;23:354-359.
- 22. Spieksma FThM, Nikkels AH, Kijkman JG. Seasonal appearance of grass pollen allergen in natural pauci-micronic aerosol of various size fractions. Relationship with airborne grass pollen concentration. Clin Exp Allergy 1995;25:234-239.
- 23. Cabrera M, Martínez Cócera, Boluda L, Tejada J, Subiza JL, Subiza J, et al. Presencia de aeroalergenos de gramíneas en la atmósfera de Madrid. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 2000;15:16.
- 24. Muilenberg ML, Skellenger WS, Burge HA, Solomon WR. Particle penetration into the automotive interior. I. Influence of vehicle speed and ventilatory mode. J Allergy Clin Immunol 1991;87:581-585.
- 25. D'Amato G, Russo M, Liccardi G, Saggese M, Gentili M, Mistrello G, et al. Comparison between outdoor and indoor airborne allergenic activity. Ann Allergy Asthma Immunol 1996;77:147-152.
- 26. Subiza J, Subiza JL, Hinojosa M, Varela S, Cabrera M, Marco F. Occupational asthma caused by grass juice. J Allergy Clin Immunol 1995;96:693-695.
- 27. Frenz DA. Interpreting atmospheric pollen counts for use in clinical allergy: spatial variability. Ann Allergy Asthma Immunol 2000; 84:481-491.
- 28. Hart ML, Wenworth JE, Bayley JP. The effect of trap height and wether variables on recorded pollen concentration at Leicester. Grana 1994;33:100-103.
- 29. Bryant RH, Emberlin JC, Norris-Hill J. Vertical variation in pollen abundance in North-Central London. Aerobiologia 1989;5:123-137.
- 30. Jelks ML. Interpretation of pollen counts. Ann Allergy 1991; 67:1-2.
- 31. Subiza E, Subiza J, Jerez M. Árboles, hierbas y plantas de interés alergológico en España. En: Tratado de Alergología e Inmunología Clínica, Tomo IV. Madrid: Ed. Luzan, 1986; 257-365.
- 32. Montero MT, López C, Jiménez JA, Subiza J. Characterization of allergens from *Trisetum paniceum* pollen: an important aeroallergen in Mediterranean continental climatic areas. Clin Exp Allergy 1997; 12:1442-1448.

- 33. Connell JT. Quantitative intranasal pollen challenges. III. The priming effect in allergic rhinitis. J Allergy 1969;43:33-44.
- 34. Davies RR, Smith IP. Forecasting the start and severity of the hay fever season. Clin Allergy 1973;3:263-267.
- 35. Ickovic MR. The French aerobiological monitoring network: Two years of clinical experience (1986-1987). Aerobiologia 1988;4:12-5
- 36. Antépara I, Fernández JC, Gamboa P, et al. Pollen allergy in the Bilbao area (European Atlantic seaboard climate): pollination forecasting methods. Clin Exp Allergy 1995;25:133-140.
- 37. Florido JF, Delgado PG, de San Pedro BS, Quiralte J, de Saavedra JM, Peralta V, et al. High levels of *Olea europaea* pollen and relation with clinical findings. Int Arch Allergy Immunol 1999; 119(2):133-137.
- 38. Feo Brito F, Cárdaba B, Lahoz C, Subiza J, Jerez M, López G. *Oleaceae*. En: Atlas de Aerobiología y polinosis. Madrid: Lab. Shering-Plough SA, 2000.
- 39. Ahlholm JU, Helander ML, Savolainen J. Genetic and environ-

- mental factors affecting the llergenicity of birch (*Betula pubescens* ssp. czerepanovii [Orl.] Hamet-ahti) pollen. Clin Exp Allergy 1998; 28:1384-1388.
- 40. Behrendt H, Becker WM, Friedrisch KH, et al. Interaction between aeroallergens and airborne particulate matter. Int Arch Allergy Immunol 1992;99:425-428.
- 41. Muranaka M, Suzuki S, Koizumi K, Takafuji S, Miyamoto T, Ikemori R, et al. Adjuvant activity of diesel-exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. J Allergy Clin Immunol 1986; 77(4):616-623.
- 42. Ishizaki T, Koizumi K, Ikemori R, Ishiyama Y, Kushibiki E. Studies of prevalence of Japanese cedar pollinosis among the residents in a densely cultivated area. Ann Allergy 1987;58:265-270.
- 43. D'Amato G. Urban air pollution and plant-derived respiratory allergy. Clin Exp Allergy 2000;30:628-636.
- 44. Knox RB, Suphioglu C, Taylor P, Desai R, Watson HC, Peng JL, et al. Major grass pollen allergen Lol p 1 binds to diesel exhaust particles: implications for asthma and air pollution. Clin Exp Allergy 1997;27:246-251.s