

**EL AEROSOL ATMOSFÉRICO: REFLEXIONES
EN TORNO AL TAMAÑO DE PARTÍCULA
Y SUS EFECTOS EN LA SALUD HUMANA**

DISCURS

llegit a l'acte d'ingrés de l'Acadèmica Corresponent

Il·lustre Sra. Dra. Stella Moreno Grau

Celebrat el dia 27 de gener de 2020

PRESENTACIÓ

a càrrec de l'Acadèmic Numerari

Excel·lentíssim Sr. Dr. Jaume Casas Pla

Barcelona

2020

*L'Acadèmia no es fa solidària de
les opinions que s'exposen en les publicacions,
de les quals és responsable l'autor.*

PRESENTACIÓ

a càrrec de l'Acadèmic Numerari
Excel·lentíssim Sr. Dr. Jaume Casas Pla

**Excel·lentíssim Senyor President,
Excel·lentíssims i Il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics,
Distingides autoritats acadèmiques i professionals,
Estimats familiars, amics i companys,
Senyores i Senyors,**

En primer lloc voldria agrair a la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya que m'hagi designat per fer la presentació de la nova acadèmica corresponent electa, la Dra. Stella Moreno Grau. És per mi un doble honor. Un, pel fet en si, que representa tal distinció i a més de ser un dels signants de la seva proposta, i un altre, per la sincera amistat que li professo des de fa molts anys.

Presentar a la Dra. Moreno es a la vez fácil y difícil. Fácil porque su Currículum la avala suficientemente para ser digna de ingresar en esta Academia, pero difícil porque resumir 95 páginas de su trayectoria profesional en unos minutos no es tarea sencilla. Yo definiría a la Dra. Moreno como una farmacéutica poco corriente dentro de la profesión farmacéutica, porque es un referente en un tema sanitario, la ingeniería ambiental y más concretamente en las tecnologías del medio ambiente y la salud expresadas en una vertiente profesional en el Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de la Universidad Politécnica de Cartagena, de la que actualmente es catedrática, siendo, además la primera profesora de esta Escuela y también la primera mujer catedrática en el área en el año 2000.

La Dra. Moreno Grau nació un 17 de julio de 1959 en Alcoy (Alicante) siendo la segunda de cuatro hermanos. Su madre, Mati Grau, estuvo matriculada en Farmacia pero por razones familiares no pudo terminar la carrera, y su padre, Joaquín Moreno, fue licenciado en

Ciencias Químicas y catedrático de Química de la Escuela de Ingenieros Técnicos Industriales de Cartagena. Sus primeros estudios los realizó en Cartagena en el Colegio Santa Joaquina de Vedruna de las Hermanas Carmelitas de la Caridad, mientras, junto a su hermana, se matriculó en el Conservatorio de Murcia para estudiar solfeo y piano elemental, aunque ninguna de las dos llegó a terminar los estudios.

Pero es el momento de citar que no es farmacéutica por casualidad ya que sus dos abuelos eran farmacéuticos, uno establecido en Alcoy, y según he podido comprobar en su árbol genealógico la tradición boticaria se remonta a finales del siglo XVIII y principios del XIX, estando uno de sus antecesores, Juan Moreno López, muy implicado en el nacimiento del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Murcia, del que llegó a ser presidente. Así que, según sus propias palabras, nunca se planteó otra cosa que ser boticaria, por lo que se trasladó a la joven Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia formando parte de la tercera promoción de esta Facultad, donde se incorporó como alumna interna en el Departamento de Físico-Química, aun en mantillas, licenciándose en Farmacia en 1982 y doctorándose el año 1989 en la misma Universidad de Valencia.

En 1983, se casó con Antonio García Sánchez, químico, y tienen dos hijas, Stella, licenciada en Derecho y Sofía, que siguiendo los pasos de su madre está a punto de finalizar la carrera.

Se define y doy constancia de ser como una hormiguita, siempre activa, le resulta difícil estar sin hacer nada, en sus ratos de ocio hace ejercicio, lee, borda y muy especialmente cocina.

He dejado para el final una actividad humanística. Cuando le solicité un pequeño resumen de su curriculum personal para realizar esta presentación me comentó que otra de sus aficiones era hacer su árbol genealógico y puedo dar fe de ello, porque resumir también esta faceta para este acto ha sido muy interesante, formativo y agradable y he tenido la oportunidad, como historiador amateur, de conocer vertientes familiares muy curiosas, por lo que le animo a que siga investigando en sus familiares progenitores que a buen seguro este trabajo lo podrá utilizar y publicar con orgullo.

La Dra. Moreno es autora de más de 25 artículos publicados en revistas nacionales e internacionales de primer nivel, así como directora de 17 tesis Doctorales y 90 proyectos de fin de carrera, de innovación docente y de investigación para empresas o la Administración.

Ha presentado multitud de cursos, comunicaciones y ponencias a congresos, mesas redondas y conferencias.

Está en posesión del premio Sebastián Feringán 2019 por su colaboración a la proyección exterior de su Escuela y del Premio a la mujer 2017 por su excelente labor reivindicativa de igualdad bajo el lema “Mujeres farmacéuticas que han destacado a favor de la igualdad”.

Es académica numeraria de la Academia Veterinaria de la Región de Murcia, académica numeraria de la Academia de Santa María de España de la Región de Murcia de la que fue Secretaria General y, actualmente, es tesorera. Asimismo es presidenta de la Asociación Española de Aerobiología.

La Dra. Moreno nos presentará un tema de ardiente actualidad. Una parte de la preservación del medio ambiente, “el aerosol atmosférico”.

Cuando me presentaron el borrador de su discurso de ingreso, he de reconocer que me asombró, porque aunque presentaba un tema relativamente muy lejano de mi actividad profesional, está muy bien documentado en el texto y bibliográficamente, en el que se definen los conceptos teóricos y se desarrollan y estudian, en la parte expositiva, las acciones de los aerosoles en el ambiente y en el ser humano.

Presenta, como después comprobarán, una exposición inicial didáctica, donde describe los diferentes conceptos que se pueden incluir en este campo.

En primer lugar, la Dra. Moreno realiza un repaso histórico en el que describe como desde principios del siglo XIX ya se comprendió la nocividad de ciertas partículas en el organismo humano, para llegar a finales el siglo XX a unas definiciones que valoran entre otros el tamaño de las mismas.

Inicialmente, tenía la impresión que esta clase de partículas eran especialmente nocivas para el aparato respiratorio humano, pero, luego la Dra. Moreno ya expone que afecta también a otras partes del organismo como el digestivo. Luego podrán constatar y ampliar en la Memoria que podrán recoger al final de este acto.

No voy a extenderme más en lo que a continuación la Dra. Moreno expondrá más extensa y adecuadamente, y que no solo afecta a la meteorología, visibilidad, deterioro de edificios y otros bienes, así como la supervivencia de muchas especies vegetales y animales, para volver a recordar que la calidad del aire que respiramos sea lo mejor posible para nosotros y para el futuro de las nuevas generaciones.

Antes de finalizar esta presentación permítame felicitar a su familia, Antonio, su marido, a sus dos hijas, Stella y Sofía y nietos, Joaquín y Victoria, que está en camino. Sé, me consta y doy fe, como ella misma manifiesta, que son el centro de su vida.

Creo y estoy seguro de que su pertenencia a esta Academia será muy enriquecedora, no solamente por la incorporación de una académica de su prestigio sino por lo que puede aportar al engrandecimiento de la misma y es por eso, que, una vez haya leído el preceptivo discurso reglamentario, solicito se le imponga la medalla y la estola y se le haga entrega del título acreditativo como académica correspondiente de esta Real Corporación.

Moltes gràcies.

**Excel·lentíssim Senyor President,
Excel·lentíssims i Il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics,
Distingides autoritats acadèmiques i professionals,
Estimats familiars, amics i companys,
Senyores i Senyors,**

Agradecimientos

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a los Académicos de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya por el honor que me habéis concedido al aceptarme entre vosotros, muy especialmente quiero agradecer el cariño y el afecto que siempre me han mostrado Jaime Casas, José M^a Ventura, Miquel Ylla, Oriol Valls, Rosaura Farré y todos los que he tenido la ocasión de tratar tanto en los días del Encuentro de la Asociación Iberoamericana de Academias de Farmacia, celebrada en Barcelona en 2015, como en vuestra estancia en Cartagena en septiembre de 2016. Muchas gracias al Dr. Casas Pla por su presentación y sus amables palabras.

Este primer agradecimiento me lleva al de mis compañeros de la Academia de Farmacia Santa María de España de la Región de Murcia, al aceptarme entre ellos me dieron la oportunidad de entrar en un mundo nuevo, en el que he tenido el enorme privilegio de conocer a personas que han enriquecido mi vida tanto en el plano profesional como en el personal.

Sabéis que estudié farmacia por tradición familiar, parecía lo más normal del mundo y con cinco o seis años ya lo decía tan convencida. He de confesar que nunca me planteé otra cosa y al terminar el bachiller y COU me matriculé en la Universidad de Valencia, en la joven Facultad de Farmacia, en el tercer año de su andadura. Mis dos abuelos, a los que no conocí, farmacéuticos, y por la rama de mi padre, Boticarios desde finales del siglo XVIII, generación tras generación. Así que en casa tampoco nadie objetó nada a esa decisión, todo lo contrario, mi inquebrantable determinación era bien recibida, sobre todo por mi abuela Lolita.

Para mí, la vida no es una función de estado, así que el punto en el que me encuentro creo que sí depende del camino recorrido y en ese camino han sido esenciales mi familia y amigos, y las personas que han colaborado en mi formación. Si empezamos por estos últimos, han dejado especial huella en mí las hermanas Josefina Sabater y Dolores Aguado; Julia Urgel y José Antonio Cascales; José M^a Pla Delfina, Ángel Villar del Fresno y Francisco Bosch Serrat. Una presencia más tangible es la de José Luis Moreno Frigols, María Suárez Cervera y Juan Antonio Seoane Camba, que además de ser mis maestros me han honrado con su amistad. No puedo dejar de nombrar aquí a la persona que ha sido más trascendental en mi vida, mi padre. Siempre que lo digo me da un poco de risa, porque, evidentemente, por obvia resulta una perogrullada, pero todos sabéis bien a qué me refiero. Profesionalmente, desde 1981 hasta su muerte en el año 2014 fue el faro que guió mi actividad en el plano docente y en el investigador y siempre, un ejemplo a seguir.

Con el paso de los años cada vez soy más consciente de la importancia de la familia, del contacto y la convivencia con nuestros mayores, el conocer las historias de familia y compartir sueños, alegrías, preocupaciones, tristezas y enfermedades. Es ley de vida, unos vienen y otros se van. A los que se han ido los añoro enormemente, los que han llegado insuflan un aire nuevo, que refresca el ambiente. En los momentos fáciles todos sabemos estar, por eso quiero agradecer a mis hermanos su apoyo en los tiempos difíciles. Tengo mucho que agradecer al núcleo central de mi familia, Antonio, Stella, Sofía, Ricardo, el pequeño Quino y, muy pronto, Victoria, que nos alegran la vida, sin ellos la vida no tendría sentido.

En el trabajo hay un pequeño grupo de personas a las que considero amigas, casi como de la familia, Lorenzo Vergara Pagán, Lorenzo Vergara Juárez, Belén Elvira Rendueles, M^a Jose Martínez García, Sele Moreno, Paula García e Isabel Costa, cada uno de ellos aporta su grano de arena. Finalmente, tengo que dar las gracias al nutrido grupo de amigos, unos vinculados por relación de trabajo, otros a través de nuestros hijos, compañeros de carrera, amigas del Colegio Mayor, amigas de infancia y juventud, y... las de la madurez.

A todos mi agradecimiento y mi cariño, sin todos vosotros mi vida no sería lo que es, ni estaría aquí hoy a punto de comenzar este discurso.

Introducción

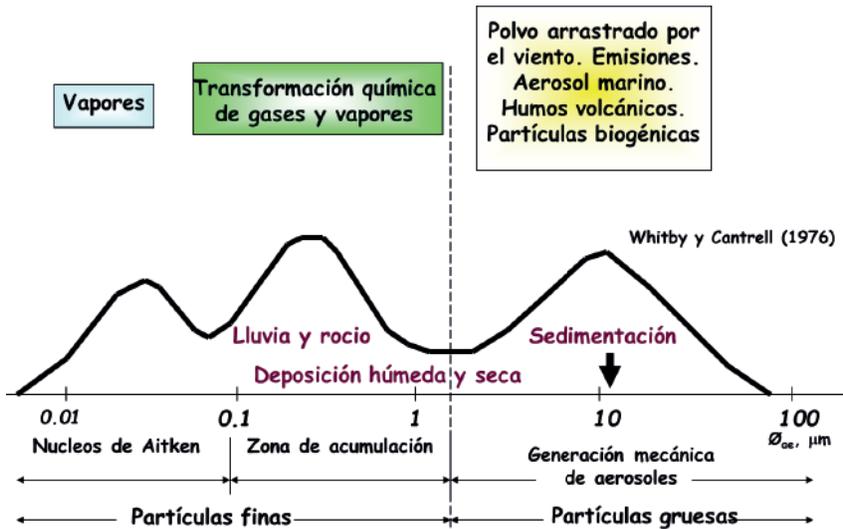
Se puede definir el aerosol atmosférico como el conjunto de partículas sólidas y líquidas suspendidas en un medio gaseoso, el aire, que pueden ser observadas y medidas, Vincent (1989), Wark y Wagner (1991), Baron y Willeke (2001). La primera característica destacable de los aerosoles atmosféricos es su heterogeneidad, en forma, tamaño, densidad y composición.

Whitby y Cantrell en 1976, Whitby (1978), propusieron una distribución trimodal para la concentración de partículas en el aerosol atmosférico en función del diámetro aerodinámico equivalente (figura 1). Las clases modales se denominan, núcleos de Aitken, acumulación y grueso. La separación entre el mundo de las partículas finas y las gruesas se establece en el entorno de las $2 \mu\text{m}$ de diámetro aerodinámico equivalente. Las partículas gruesas se ven atraídas hacia el suelo por la gravedad, de tal manera que se depositan sobre las superficies por sedimentación. Las partículas finas tienen elevados periodos de residencia en el aerosol atmosférico. Conforme las partículas finas van creciendo por diferentes mecanismos, coagulación y agregación, van aumentando su diámetro aerodinámico equivalente, hasta alcanzar tamaños que implican velocidades de sedimentación suficientemente altas para que no se produzca una mezcla entre las partículas de la clase modal acumulación y grueso, USEPA (1996). Por eso, el tamaño de partícula puede ayudar a distinguir el origen del aerosol. Las partículas en la clase modal núcleo, provienen de la condensación de

vapores; mientras que las de la clase modal acumulación lo hacen de la transformación química de gases y vapores. Entre estos dos grupos de partículas sí que hay mezcla, pues las partículas de la clase modal núcleo al crecer pueden agregarse sobre partículas de la clase modal acumulación, Hinds (2001), John (2001). Mientras que las partículas en la clase modal grueso provienen de procesos naturales, partículas biogénicas, polvo arrastrado por el viento, aerosol marino, emisiones de volcanes y partículas de origen antropogénico producidas en procesos mecánicos.

Cuando se estudian los aerosoles atmosféricos no se estudian en base a su diámetro real, se utilizan diámetros equivalentes. Me voy a centrar en el diámetro aerodinámico equivalente (d_{ac}), que es el diámetro que tendría la partícula esférica de densidad 1 g/cm^3 que tuviera la misma velocidad de sedimentación que la partícula que estamos estudiando. El tamaño de la partícula es esencial, pues va a determinar su comportamiento en el seno del gas. Las partículas grandes, ya hemos visto que sedimentan, velocidades de sedimentación significativas presentan las partículas a partir de las $10 \mu\text{m}$ de d_{ac} . Las partículas muy pequeñas, de menos de $1 \mu\text{m}$ de d_{ac} , se comportan como gases, para su estudio se aplica la teoría cinético molecular de los gases. A las partículas con d_{ac} entre 1 y $10 \mu\text{m}$ se les aplica un flujo continuo, aunque para partículas relativamente pequeñas, los datos experimentales no concuerdan con los teóricos, debido a que estas partículas la fuerza de fricción es menor de la dada por la ecuación de la fuerza de arrastre, por lo que su velocidad de sedimentación es mayor que la teórica y hay que introducir un factor de modificación en la ecuación de la fuerza de arrastre, conocido como Coeficiente de corrección de Cunningham, Figueruelo y Marino Dávila (2004). En la tabla 1 se recogen para diferentes diámetros aerodinámicos equivalentes (partículas esféricas de densidad 1 g/cm^3) las velocidades de sedimentación, el coeficiente de difusión y la distancia recorrida en 10 s debida al movimiento Browniano.

Figura 1.-Distribución trimodal de las partículas en función del diámetro aerodinámico equivalente, adaptado de Whitby (1978)



Los aerosoles atmosféricos son pues polidispersos, inestables y multi-componente, su concentración y propiedades cambian con el tiempo. Es decir, son heterogéneos y variables en el espacio y en el tiempo. Todo ello hace que antes de abordar un estudio de aerosol atmosférico se tenga que definir con claridad cuál es el objetivo del estudio, y, muy particularmente, el rango de tamaño que se quiere estudiar, pues esto determina el tipo de muestreador que hay que seleccionar.

Criterios de muestreo de aerosoles en relación con la salud humana

Si lo que queremos abordar es un estudio que evalúe los efectos del aerosol sobre la salud humana pensando en que la vía de entrada es la respiratoria, lo primero que tenemos que conocer es cómo se comportan las partículas en el aparato respiratorio. La preocupación por este problema surge en Higiene Industrial, ante las enfermedades que desarrollan los trabajadores expuestos a polvos, como los mineros (silicosis, saturnismo, hidrargirismo, etc.). Estas enfermedades han sido reconocidas desde la antigüedad, Hipócrates, Galeno, Plinio el

Viejo, Agrícola, Paracelso, Bernardo Ramazzini, que es considerado el padre de la medicina del trabajo, Rose (2003). Es a lo largo del siglo XX cuando se van a ir asentando una serie de conceptos, que han dado lugar a la definición de las diversas fracciones del aerosol atmosférico, consensuadas internacionalmente.

Tabla 1.- Velocidades de sedimentación, coeficiente de difusión y distancia recorrida en 10 s debido al movimiento Browniano para partículas con diferentes diámetros aerodinámicos equivalentes Baron y Willeke (2001)

$\phi_{ae}, \mu\text{m}$	$v_{sed}, \text{cm/s}$	$D, \text{cm}^2/\text{s}$	Movimiento Browniano en 10 s, cm
0,00037		0,18	2,8
0,01	$6,95 \cdot 10^{-6}$	$5,5 \cdot 10^{-4}$	0,1
0,1	$8,65 \cdot 10^{-5}$	$6,8 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-2}$
1	$3,48 \cdot 10^{-3}$	$2,7 \cdot 10^{-7}$	$2,3 \cdot 10^{-3}$
10	$3,06 \cdot 10^{-1}$	$2,4 \cdot 10^{-9}$	$7,0 \cdot 10^{-4}$
100	26,1	$2,4 \cdot 10^{-9}$	$2,2 \cdot 10^{-4}$

La figura 2 recoge un esquema de las vías respiratorias humanas, con sus diferentes zonas y la representación gráfica de los convenios de aerosol inhalable, torácico y respirable como porcentaje del aerosol total. Las definiciones que corresponden a cada uno de estos convenios son:

- La fracción inhalable, fracción de la masa de las partículas del aerosol total que se inhala a través de la nariz y la boca.
- La fracción torácica, fracción de la masa de las partículas inhaladas que penetran más allá de la laringe.
- La fracción respirable, fracción de la masa de las partículas inhaladas que penetran en las vías respiratorias no ciliadas.

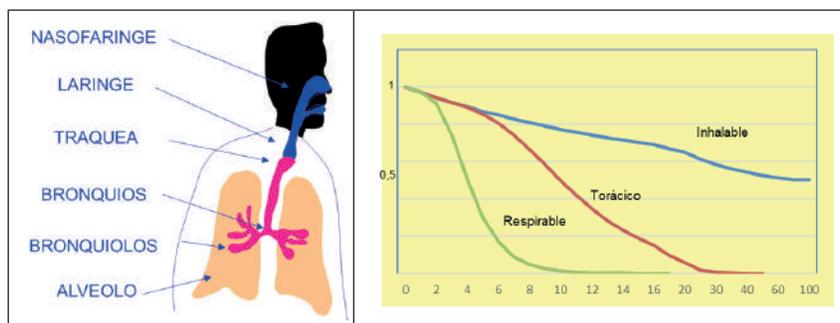
Pudiendo definir también, la fracción extratorácica como fracción de la masa de las partículas inhaladas que no penetran más allá de la laringe y la fracción traqueobronquial, fracción de la masa de las partículas inhaladas que penetran más allá de la laringe pero que no

alcanzan las vías respiratorias no ciliadas, INSHT (2006). En cuanto a la terminología, el término inhalable es el que se ha aceptado internacionalmente, aunque se considera sinónimo de inspirable, se aconseja no utilizar esta denominación, NTP 800 (2009).

Un poco de historia

En el año 1913 se publica un estudio de McCrea, en el que presentan los resultados de las partículas encontradas en los alveolos pulmonares de mineros muertos en Sudáfrica. Cuando se consulta este dato en muchas referencias bibliográficas se indica que en este estudio McCrea afirma que las partículas resultaron inferiores a las $7 \mu\text{m}$, INSHT (2006), Vincent (2007). Sin embargo, gracias a internet, he podido tener acceso al documento, McCrea (1913). Lo que dice es que la mayor parte de las partículas, el 70 %, tenían un tamaño inferior a $1 \mu\text{m}$. Que el diámetro del resto estaba en el rango $1 - 8,5 \mu\text{m}$, y que en un estudio detallado de muchas preparaciones encontró que solo una parte despreciable de partículas tenían diámetros mayores de $8,5 \mu\text{m}$ y que el diámetro mayor encontrado era de $10,5 \mu\text{m}$. Cita el trabajo de otro investigador (Watkins-Pitchford) que encuentra en los pulmones de mineros muertos de silicosis que las partículas tienen como diámetro máximo $10 \mu\text{m}$, y muy pocas alcanzan las $12 \mu\text{m}$.

Figura 2.- a) Esquema del tórax humano con el aparato respiratorio y sus partes. b) Representación de las fracciones inhalable, torácica y respirable descritas en los Convenios internacionales ISO, CEN y ACGIH



La figura 3 recoge las curvas de la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), realizada en 1968, y la depo-

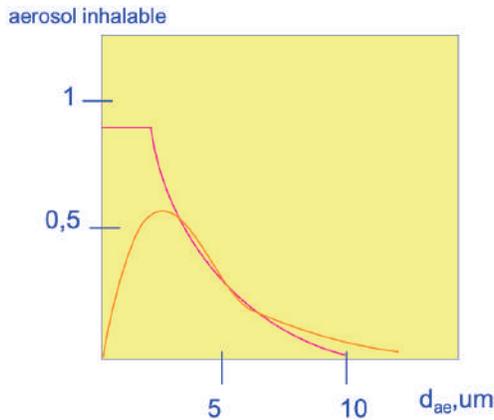
sición alveolar del aerosol inhalable, que corresponde a un trabajo publicado en 1973. En esta figura lo que se muestra son las partículas que penetran en las vías respiratorias superiores con la inhalación (rosa) y las partículas que quedan retenidas a nivel del alveolo pulmonar (naranja), como se observa las partículas más pequeñas, que sí que penetran hasta esa región, no quedan allí retenidas, sino que vuelven a salir con la exhalación, Vincent (1989).

Además, en las décadas de 1970-1980 se hicieron diferentes ensayos en túneles de viento para definir la eficiencia de aspiración de la cabeza humana (figura 4). En estos estudios se puede apreciar la fuerte influencia que tiene la velocidad del viento sobre la eficiencia de aspiración, incrementándose de modo notable la inhalación de partículas grandes, mayores de $30 \mu\text{m}$ cuando aumenta la velocidad del viento. También se observa cómo para velocidades de viento pequeñas, los resultados de los diferentes estudios realizados son similares. Esto llevó a pensar en la posibilidad de encontrar un algoritmo que permitiera calcular la inhalabilidad en función del diámetro aerodinámico equivalente de las partículas, Vincent (1989):

$$I = 1 - 0.15[\log(1+d_{ae})]^2 - 0.10 \log(1+d_{ae}) \quad \text{ISO 1981,1983}$$

$$I = 0.5 [1 + e^{-0.06d_{ae}}] \quad \text{para } 0 < d_{ae} < 100 \mu\text{m}, \text{ ACGIH 1985}$$

Figura 3.-Curvas ACGIH y Alveolar del aerosol inhalable



La primera definición de polvo respirable la hace el British Medical Research Council, BMRC, en el año 1952, como “fracción de partículas sólidas de un aerosol industrial capaz de alcanzar los alveolos pulmonares y de causar neumoconiosis”¹, recomendando que la medida de la concentración se realizara en masa. La BMRC estableció una curva para el aerosol respirable que tendía a 1 para diámetros aerodinámicos equivalentes de 0 μm , y a 0 para diámetros aerodinámicos equivalentes en torno a las 7,1 μm , con la mediana de la distribución en las 5 μm . Valor que fue asumido en el año 1959 como criterio de muestreo para el aerosol respirable en la Conferencia Internacional sobre Neumoconiosis, celebrada en Johannesburgo.

En el año 1961 la Comisión de energía atómica, AEC, definió la fracción respirable como “la proporción de polvo inhalado que penetra en las regiones o zonas no ciliadas de los pulmones”, INSHT (2006), fijando la mediana de esta distribución en un diámetro aerodinámico equivalente de 3,5 μm , Walton (1991).

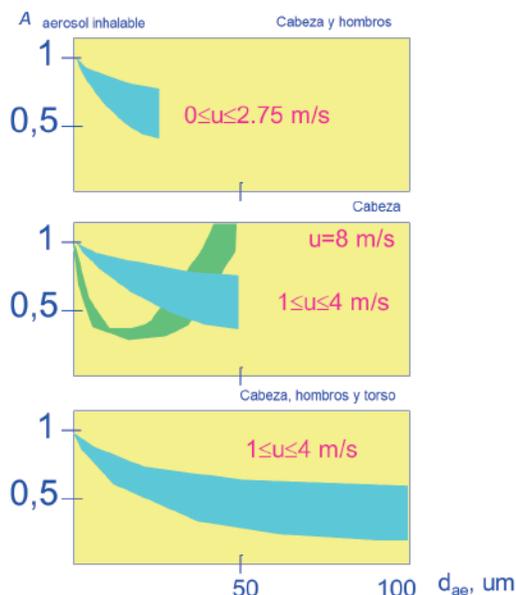
La Comisión Internacional de Protección Radiológica, ICRP, propone en el año 1965 el modelo de retención y deposición de aerosoles, proponiendo las tres zonas que corresponden con la región nasofaríngea; la traqueobronquial y la alveolar. Posteriormente, esta división fue modificada, para definir 5 regiones: La parte frontal de la nariz; la parte posterior de la nariz, la orofaringe y la laringe; la región torácica, dividida en tres regiones, la bronquial, la bronquiolar y la alveolar, Bailey et al. (2007). Estos estudios dosimétricos demostraron que las partículas pueden depositarse en diversas zonas del aparato respiratorio, causando enfermedades, mientras que hasta ese momento todos los estudios se habían centrado en el riesgo de contraer neumoconiosis, es decir, aquellas partículas que podían llegar a la zona no ciliada del aparato respiratorio, INSHT (2006).

A finales de la década de los años 70 del siglo pasado y en la siguiente, se fueron adoptando los convenios para la toma de muestra de las fracciones inhalable, torácica y respirable, dando lugar a una segunda armonización internacional, que en Europa fue recogida en la norma EN-UNE-481 (1995), (tabla 2). Para el aerosol torácico la mediana

1 Neumoconiosis, según la RAE, “género de enfermedades crónicas producidas por la infiltración en el aparato respiratorio del polvo de diversas sustancias minerales...”

de la distribución se sitúa en $10 \mu\text{m}$, mientras que, para el criterio respirable, se sitúa en $4 \mu\text{m}$ (figura 5b). A nivel internacional se publicó la norma ISO 7708:1995 (figura 5a) y la ACGIH lo incorporó en la edición de los TLV del año 1995, INSHT (2006).

Figura 4.- Eficiencia de aspiración de la cabeza humana, adaptado de Vincent (1989)



ACGIH en 1985 revisa su definición anterior de aerosol respirable y propone una curva en la que la mediana se encuentra en $3,5 \mu\text{m}$. ISO considera la fracción alveolar como de especial riesgo, en base a ello, ISO propuso una definición de esta fracción tomando como base la definición de la ACGIH, pero escalada por un factor de 0,714, por lo que la mediana de la distribución la sitúa en $2,5 \mu\text{m}$, Vincent (1989).

Por otro lado, la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (USEPA) basándose en un examen de los datos de calidad del aire, la deposición en el tracto respiratorio y los efectos en la salud recomendó en el año 1982 la adopción de un indicador con una selección específica de tamaño (PM10), que fue propuesto en el año 1984, USEPA (1986). En el año 1986, consideró que no era necesario mantener otros indicadores alternativos para partículas de mayor tamaño,

eliminando de los estándares de calidad del aire las partículas totales en suspensión en el año 1987, considerando que la fracción PM10 es conservadora en relación con el rango de deposición de las partículas en la región traqueobronquial, USEPA (1986), (1987).

En el año 1997 se introdujo por parte de la USEPA el valor límite para las partículas PM2,5. La fracción PM2,5 del aerosol atmosférico se basa en el origen del aerosol atmosférico, en concreto en la composición, INSHT (2006). Hay que señalar que PM2,5 y fracción fina no es exactamente equivalente, USEPA (1999), ya que en las partículas PM2,5 hay una proporción de partículas pertenecientes a la clase modal grueso (partículas mayores de 2 μm).

Tabla 2.- Valores numéricos de los convenios inhalable, torácico y respirable como porcentaje del inhalable y del total, recogidos en la norma EN-UNE 481: 1993

D _{aeq} , μm	Inhalable	Torácico	Respirable	Inhalable	Torácico	Respirable
	%	%	%	%	%	%
	Como porcentaje del inhalable			Como porcentaje del total		
0	100	100	100	100	100	100
1	100	100	100	97,1	97,1	97,1
2	100	100	96,8	94,3	94,3	91,4
3	100	100	80,5	91,7	91,7	73,9
4	100	96,8	55,9	89,3	89,0	50,0
5	100	98,1	34,4	87,0	85,4	30,0
6	100	94,9	19,8	84,9	80,5	16,8
7	100	89,5	10,9	82,9	74,2	9,0
8	100	82,2	5,9	80,9	66,6	4,8
9	100	73,7	3,2	79,1	58,3	2,5
10	100	64,6	7,7	77,4	50,0	1,3
11	100	55,5	0,9	75,8	42,1	0,7
12	100	47,0	0,5	74,3	34,9	0,4
13	100	39,3	0,3	72,9	28,6	0,2
14	100	32,4	0,2	71,6	23,2	0,2
15	100	26,6	0,1	70,3	18,7	0,1
16	100	21,6	0,1	69,1	15,0	0
18	100	14,1	0	67,0	9,5	
20	100	9,1		65,1	5,9	
25	100	3,0		61,2	1,8	
30	100	1,0		58,3	0,6	
35	100	1,3		56,1	0,2	
40	100	0,1		54,5	0,1	
50	100	0		52,5	0	
60	100	--		51,4	--	
80	100	--		50,4	--	
100	100	--		50,1	--	

En Europa, la Directiva 96/62, UE (1996), establece las partículas en suspensión y las partículas finas, como los hollines (incluido PM10) como contaminantes que deben tenerse en cuenta en la evaluación y gestión de la calidad del aire. Es en el año 1999 cuando la Directiva 1999/30, UE (1999), establece valores límite para el PM10 y la medida por parte de los estados miembros de los niveles de PM2,5 y en 2008, la Directiva 2008/50, UE (2008), establece además de los valores límite para PM10, un valor objetivo y valor límite para los niveles de PM2,5 (tabla 3).

Figura 5.- a) ISO 7708 convenio de la fracción torácica. b) convenio de la fracción respirable

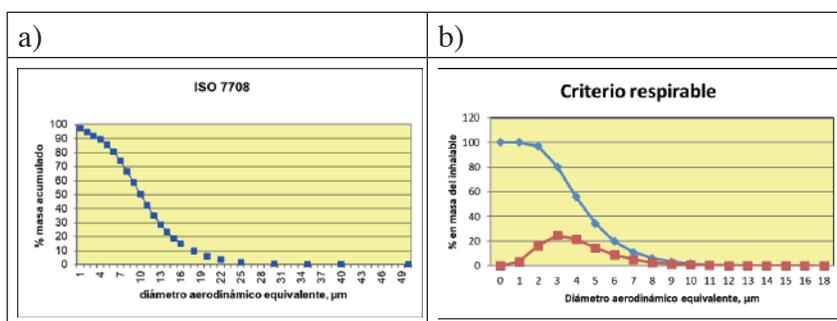


Tabla 3.- Valores normativos para la materia particulada en la Unión Europea en las directivas 1993/30 (F1, fase 1 a partir del 1 de enero de 2005; F2, fase 2 a partir del 1 de enero de 2010) y 2008/50 (F1, fase 1 a partir del 1 de enero de 2015; F2, fase 2 a partir del 1 de enero de 2020). d/a días que se puede superar el límite diario al año. a) PM10. b) PM2,5

a)

	PM10, $\mu\text{g}/\text{m}^3$		
Directiva	1993/30		2008/50
	F1	F2	
Límite diario	50 (35d/a)	50 (7 d/a)	50 (35d/a)
Límite anual	40	20	40

b)

	PM2.5, $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
Directiva	2008/50	
Valor objetivo, año civil	25	
Valor límite, año civil	F1	F2
	25	20

¿Es correcto hablar en relación con las partículas PM10 y PM2,5 de partículas menores de 10 μm o 2,5 μm ?

Para contestar a esta pregunta no solo es necesario conocer el contenido de los criterios para las fracciones torácica y alveolar del aerosol atmosférico. Es también necesario conocer cómo se definen en la legislación las partículas PM10 y PM2,5, ya que se hace en relación con la eficiencia del muestreo del cabezal para el punto de corte concreto. Así el Real Decreto 102/2001 define:

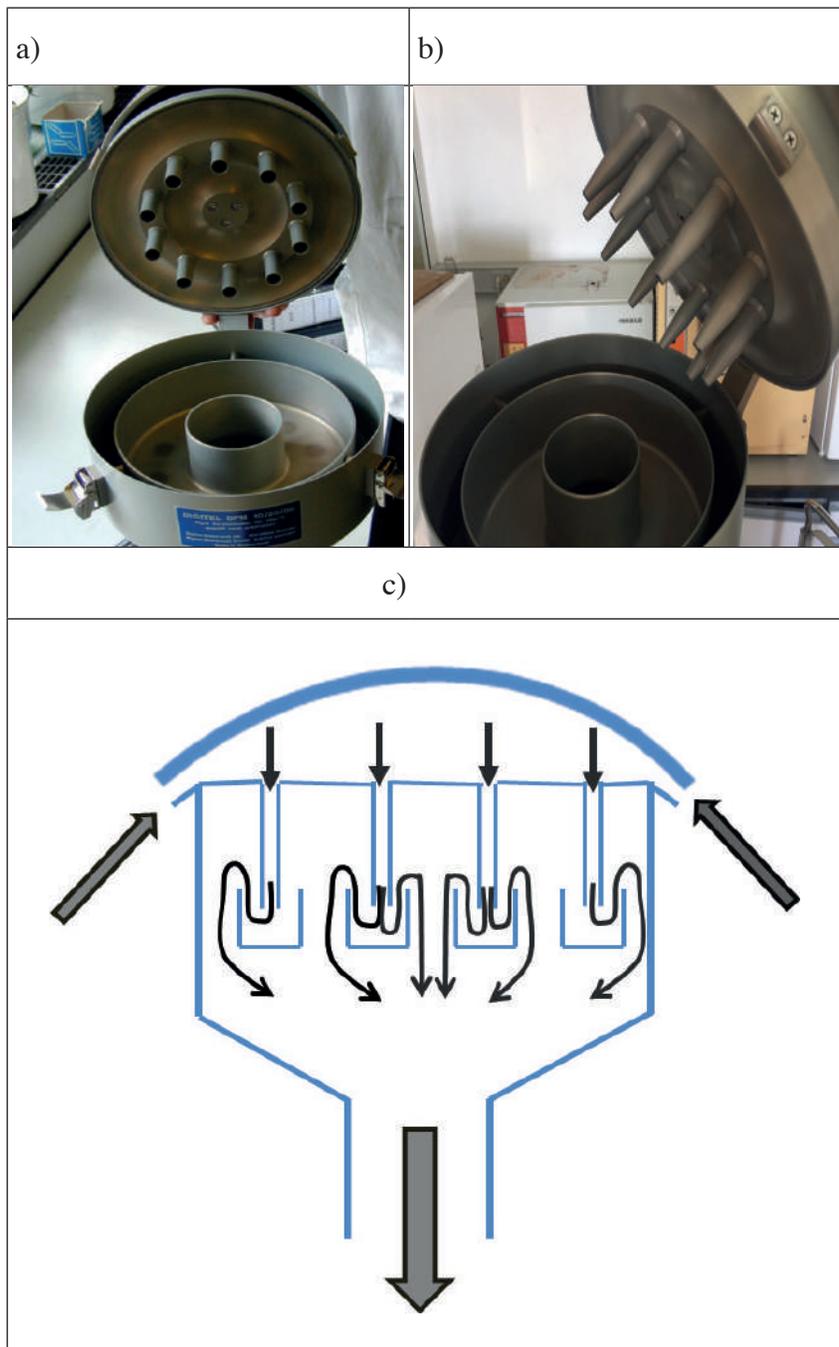
PM10: partículas que pasan a través del cabezal de tamaño selectivo definido en el método de referencia para el muestreo y la medición de PM10 de la norma EN 12341, para un diámetro aerodinámico de 10 μm con una eficiencia de corte del 50 % (figura 6a)

PM2.5: partículas que pasan a través del cabezal de tamaño selectivo definido en el método de referencia para el muestreo y la medición de PM2,5 de la norma EN 14907, para un diámetro aerodinámico de 2,5 μm con una eficiencia de corte del 50 % (figura 6b).

En la norma EN UNE 12341:2015 se indica que para las medidas de PM10 y PM2,5 no existen patrones de referencia trazables. Por lo tanto, el método normalizado define la magnitud medida por convenio, específicamente por el diseño del cabezal de muestreo y por los parámetros operacionales asociados que cubren el proceso completo de la medición.

De tal manera que PM x es la materia particulada en suspensión en el aire que es suficientemente pequeña para pasar a través de un cabezal de tamaño selectivo con una eficiencia de corte del 50 % para un diámetro aerodinámico de $x \mu\text{m}$.

Figura 6.-Cabezales de corte selectivo a) PM10, b) PM2,5, c) Esquema del cabezal inercial con punto de corte a $x \mu\text{m}$. Cabezal normalizado para el muestreo PM10 y PM2,5 EN12341:2015



Hemos visto cómo la clasificación de las partículas por tamaño está basada en tres aproximaciones:

- 1.-Las clases modales, basada en los mecanismos de formación y la estructura de modas encontrada en la atmósfera.
- 2.-Dosimetría, es decir, la capacidad de las partículas de llegar a ciertas regiones del tracto respiratorio.
- 3.-Punto de corte, la selección del 50 % de las partículas de un determinado tamaño.

¿Cómo funciona un cabezal inercial con un punto de corte?

La figura 6c muestra un esquema del cabezal inercial con punto de corte a un d_{ae} determinado. En estos equipos se fuerza al aire a entrar por una ranura exterior, y a describir un movimiento en el que se producen cambios tanto en la velocidad del aire como en la dirección del flujo. Habrá un determinado tamaño de partícula que no será capaz de adaptarse al cambio en la dirección del gas que la transporta, por lo que se saldrá de la línea de flujo, impactando contra las paredes del cabezal, y quedando retenida.

Para valorar la capacidad de una partícula de adaptarse o no a las líneas de flujo del fluido en la que se transporta, se utiliza el número de Stokes, que es la relación entre la distancia de parada y una dimensión característica del cabezal de muestreo, en este caso, el diámetro del inyector. Es por tanto un número adimensional. Su expresión matemática se recoge en la fórmula (1), Baron y Willeke (2001).

$$Stk = \frac{P_p d_{aep}^2 v C_c}{9 \eta d_j} \quad (1)$$

Dónde:

P_p , densidad de la partícula

d_{aep} , diámetro aerodinámico equivalente de la partícula

v , velocidad de la partícula en el flujo del gas (se asume que es igual a la velocidad del gas)

C_c , factor de corrección de Cunningham

η , viscosidad del gas

d_j , diámetro del inyector

El número de Stokes da idea de la facilidad o dificultad que tendrá una partícula para continuar en el flujo del gas, bajos números de Stokes indican que la partícula se mantiene en el flujo del gas, mientras que altos números de Stokes, indican que la partícula se desvía con facilidad del flujo del gas. A mayor es el diámetro de la partícula, mayor será el número de Stokes, si se disminuye el diámetro del inyector, se consigue incrementar la velocidad del flujo del gas, por lo que partículas más pequeñas, pasarán a tener número de Stokes mayor, no pudiendo mantenerse en el flujo de gas cuando cambia de dirección.

Estos cabezales excluyen mayoritariamente las partículas mayores de determinado diámetro aerodinámico equivalente, pero no todas, Reponen et al. (2001). Dicho de otra manera, algunas partículas de $d_{ac} > x \mu m$ se recolectan y no todas las de $d_{ac} < x \mu m$ se recolectan, USEPA (1999).

¿Por qué reflexionar sobre el tamaño de las partículas y su relación con la salud?

A lo largo de las últimas décadas se va asentando la idea de que lo realmente perjudicial para la salud son las fracciones pequeñas del

aerosol atmosférico, la fracción PM_{2,5} o incluso menores, y que lo grande, “como no puede” penetrar profundamente en la vía respiratoria, tiene “menos interés”.

La USEPA (1996) afirmaba: “Un creciente cuerpo de evidencia sugiere que las partículas finas (PM_{2,5}) están más fuertemente relacionadas con el exceso de mortalidad en los estudios agudos y crónicos. Sin embargo, mientras que las partículas inhalables gruesas están menos fuertemente implicadas en el exceso de mortalidad, parece haber algunas situaciones en las que también pueden predecir el exceso de mortalidad”.

El interés en los estudios de aerosol atmosférico se puede centrar en tres aspectos, Vincent (1989): el tecnológico, el ecológico y el relacionado con la salud. En el tecnológico es importante qué queremos estudiar y cómo lo tenemos que estudiar. Es necesario precisar el tamaño del aerosol que queremos estudiar para poder definir adecuadamente el tipo de muestreo que hay que realizar, el equipo adecuado, la metodología de trabajo, etc. Desde un punto de vista ecológico, la salud humana no es el único problema relacionado con la presencia de aerosoles atmosféricos, sino que afecta a otros muchos aspectos, como puede ser la meteorología, visibilidad, supervivencia de muchas especies vegetales, daño a vegetales y animales, entrada de contaminantes al suelo, deterioro de edificios y otros bienes. El tercer aspecto, concierne a la salud humana, implica no solo a la vía respiratoria, sino también a la vía digestiva, bien directamente, o indirectamente, a través de la cadena trófica, que estaría dentro del interés ecológico de los estudios del aerosol.

Para valorar los efectos sobre la salud, además del tamaño de partícula hemos de tener en cuenta otros factores, como la naturaleza del agente desde el punto de vista físico, químico y toxicológico. Los criterios de muestreo que hemos visto tienen en cuenta la naturaleza física de las partículas y la capacidad asociada de penetrar más o menos profundamente en el aparato respiratorio humano. Ignorando otras propiedades que también son físicas, como por ejemplo su hidrofilia o hidrofobia. Así partículas muy hidrofílicas, en contacto con las mucosas, tenderán a quedar retenidas y a solubilizarse, por lo que pueden ser absorbidas en las vías respiratorias superiores. Aunque no se solubilicen, las partículas retenidas en las vías respiratorias superiores serán en su mayor parte

deglutidas, lo que implica la vía digestiva.

Además del riesgo de las partículas como tales (neumoconiosis), la composición química del aerosol es muy importante, pues la toxicidad de cada agente será una propiedad particular de ese agente, por lo que no será lo mismo estar expuesto a un aerosol con sustancias no peligrosas, que a uno con determinado agente tóxico, independientemente de la ruta de entrada al organismo.

Además, la eficiencia en la deposición de partículas en el tracto respiratorio del ser humano difiere de modo importante entre individuos, esta diferencia entre individuos se denomina variabilidad interpersonal. Esta variabilidad está relacionada con parámetros morfológicos y fisiológicos, Hofmann et al. (2002), Valero y Picado (2002), incluyendo la estructura y geometría de la vía respiratoria, así como la profundidad, velocidad y el modo de respirar. Como hemos visto, muchas partículas inhaladas son exhaladas sin que se depositen en el tracto respiratorio, el diámetro aerodinámico teórico mínimo para la deposición es de alrededor de $0,5 \mu\text{m}$. En general, para partículas con diámetros mayores de $0,5$ y menores de $10 \mu\text{m}$, el incremento de la talla se asocia con una mayor deposición total en los pulmones, mientras que para partículas menores de $0,5 \mu\text{m}$ la deposición disminuye conforme aumenta el tamaño de la partícula, OEHHA (2001).

Para que partículas ya depositadas sean exhaladas se requiere su resuspensión en el flujo de aire. Esta resuspensión es de hecho usada en la administración de formas farmacéuticas en el tratamiento del asma bronquial, que suministran el principio activo en presentaciones inhalables. Las partículas del principio activo se resuspenden en la corriente de aire durante la inhalación, pudiendo alcanzar los pulmones, mientras que las partículas del excipiente transportador son, normalmente, deglutidas, Podczec (1999).

Otro aspecto que señalar, es la influencia de la velocidad del aire circundante al muestreador en la eficiencia de muestreo, Vincent (1989). Además, de no confundir el tamaño observado de una partícula con el diámetro aerodinámico equivalente. Como se desprende de la ecuación (2), Vincent (1989), es función de la densidad de la partícula, por lo que para una partícula de $10 \mu\text{m}$ de diámetro real, si la densidad es

0,5 g/cm³, tendrá un diámetro aerodinámico equivalente de 7,07 μm. Mientras que, si su densidad es 1,5 g/cm³, el diámetro aerodinámico equivalente sería de 12,3 μm.

$$d_{ae} = d_p \sqrt{P_p} \quad (2)$$

¿Qué pasa con los granos de polen y las esporas de los hongos?

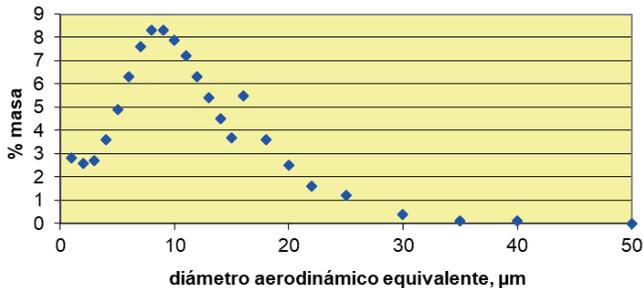
Los granos de polen tienen tamaños que oscilan entre las aproximadamente 5 μm de *Myosotis*, Willmer (2011), hasta tamaños muy grandes, por encima de las 100-150 μm, como *Cucurbita* que alcanza los 180-200 μm, Nepi y Pacini (1993). En cuanto a las esporas de los hongos, muchas de ellas presentan tamaños menores que la mayor parte de los granos de polen, < 10 μm, como por ejemplo *Penicillium*, *Cladosporium* y *Aspergillus*, pocas especies presentan esporas con tamaños por debajo de 2,5 μm, Reponen et al. (2001). Por lo tanto, nos movemos en rangos de tamaño que van, por lo general, entre las 3 μm y las 80-100 μm.

Por lo tanto, los muestreos con punto de corte PM10 dan una mala representación de este tipo de contaminante. Para ilustrar el hecho de que en un muestreo PM10 no solo se recogen partículas de ese tamaño, se ha indicado que en muestras de aerosol atmosférico PM10 se detecta al menos un 15 % de granos de polen, incluso de tipos polínicos de 20 μm, Buters et al. (2018). Partículas de este tamaño, aunque tuvieran una densidad de 0,5 g/cm³, tendrían un diámetro aerodinámico equivalente de 14 μm.

En cuanto a la curva del aerosol torácico (figura 5a), si desagregamos los datos de masa acumulados, obtenemos la curva recogida en la figura 7, con lo que se aprecia que, para los datos experimentales, la masa de partículas de diámetro aerodinámico equivalente de 20 μm que penetran en la región torácica es la misma que las de diámetro aerodinámico equivalente de 2 μm. Por supuesto, entrarán muchas más de las pequeñas que de las grandes, pero recordemos que, la relación en toxicología se da entre la dosis y el efecto, problema distinto sería el de la neumoconiosis.

Figura 7.-Fracción torácica según el criterio ISO 7708 como % de masa vs. diámetro aerodinámico equivalente

ISO 7708



En definitiva, los granos de polen no tienen por qué quedar totalmente retenidos en la región extratorácica y, aun en el caso de que sean demasiado grandes para alcanzar en cantidad importante las vías respiratorias inferiores, es posible que las proteínas liberadas durante su germinación abortiva sean resuspendidas en el flujo de aire. Estas proteínas con tamaños micrónicos y submicrónicos, podrían penetrar profundamente hasta los alveolos pulmonares. Por otro lado, al ser muy solubles pueden ser transportadas por disolución en los fluidos extracelulares que recubren las vías respiratorias, con el consiguiente transporte a los epitelios o a otras células del tracto respiratorio, OEHHA (2001).

Además, para la correcta caracterización de los granos de polen y las esporas de hongos en el bioaerosol se requiere una metodología de muestreo específica centrada en el rango de tamaño de los granos de polen y las esporas de los hongos. No son útiles las metodologías con las que se caracterizan las fracciones PM10 y PM2,5 en las redes de vigilancia de la calidad del aire.

Estudiando el aerosol atmosférico, redes de vigilancia y aeropalinología

En relación con la calidad del aire, la Ley 34/2007 de calidad del aire y protección de la atmósfera señala en el artículo 1 como su objetivo “establecer las bases en materia de prevención, vigilancia y reducción

de la contaminación atmosférica con el fin de evitar y, cuando esto no sea posible, aminorar los daños que de ésta puedan derivarse para las personas, el medio ambiente y demás bienes de cualquier naturaleza”, y en el artículo 2, define su campo de aplicación, excluyendo en el punto 2, “ya que se regirán por su normativa específica: a) Los ruidos y vibraciones. b) Las radiaciones ionizantes y no ionizantes. c) Los contaminantes biológicos”. Normativa que para los contaminantes de origen biológico no se ha desarrollado.

Para las partículas muy grandes ($> 10 \mu\text{m}$) se utilizan métodos pasivos de deposición, sería el aerosol sedimentable, como hemos dicho compuesto por partículas de diversos orígenes naturales y las antropogénicas resultantes de procesos mecánicos. El límite de tamaño ($10 \mu\text{m}$) es muy difuso, pues va a depender de otros muchos factores, como la presencia de niebla y lluvia, que produce un efecto de lavado de la atmósfera, Seinfeld y Pandis, (1998). También va a ser variable el tamaño de las partículas mayores recogidas, pues en función de la velocidad del viento se podrán poner en suspensión partículas de mayor o menor tamaño, y su permanencia en el aire también va a depender de esta circunstancia. Así, Dueker et al. (2017) indican que el viento produce un incremento en las concentraciones de aerosoles microbianos en el entorno cercano a la costa, mediante el transporte en tierra a velocidades del viento bajas ($< 4 \text{ m/s}$), y un aumento de la producción local y el transporte de nuevos aerosoles microbianos desde las superficies de agua adyacentes a velocidades del viento más altas ($> 4 \text{ m/s}$).

La definición legal de depósito la encontramos en el Real Decreto 102/2011, que recoge que depósito total es la masa total de un contaminante transferida de la atmósfera a las superficies como, por ejemplo, suelos, vegetación, agua, edificios, etc., en un área determinada y durante un periodo determinado.

Para las partículas de menor tamaño, las que se consideran partículas en suspensión ($< 10 \mu\text{m}$) se utilizan diferentes equipos de muestreo, en los que se aplica una fuerza externa para la captación de las partículas: fuerzas eléctricas, gradientes térmicos, aspiración, etc.

Los primeros estudios aerobiológicos se realizaron con métodos de

muestreo pasivo. Blackley (1880), en su libro, muestra un dibujo del captador que utilizó para su estudio, con un mecanismo de impacto pasivo (figura 8a). El primer equipo de muestreo volumétrico fue desarrollado por Pierre Miquel, que puso de manifiesto cómo el número de microbios en el aire variaba enormemente en el mismo emplazamiento a diferentes horas, estaciones o altitud, Comtois (1997). Otro método pionero fue el desarrollado por Durham, que consistía en un portaobjetos recubierto con un aceite adhesivo, colocado entre dos láminas de acero inoxidable, que se mantienen en su posición mediante tres soportes, Durham (1946), (figura 8b), señalando entre sus ventajas que no era necesario que fuera atendido durante las 24 horas el día.

Uno de los métodos más extendidos de estudio aeropalínológico se basa en el muestreo con una modificación del aparato desarrollado por Hirst (1952), es un muestreador volumétrico de impacto activo que inicialmente recogía la muestra sobre un portaobjetos que se movía a una velocidad de 2 mm/h. Este muestreador tiene un punto de corte a 5 μm , lo que le permite recoger la mayor parte del polen atmosférico, Pawliszyn (2002). Burkard realizó modificaciones sobre este equipo, incorporando un cabezal rotatorio en el que se sujeta una cinta de polipropileno, cubierta con una silicona adhesiva, Mullinns y Emberlin (1997), manteniendo la velocidad de movimiento. La boca de entrada al captador es un rectángulo de 14 x 2 mm, y funciona a un flujo de 10 l/min. Se eligió este valor ya que da lugar a menos cambios en la eficiencia de muestreo en función de las cambiantes velocidades del viento en el aire ambiente, que otros flujos de aspiración (17,5 l/min), Scheifinger et al. (2013). Se puede modificar el tamaño de la entrada (disminuyéndolo hasta los 0,5 mm) para aumentar la eficiencia en la recolección de partículas pequeñas, Mullinns y Emberlin (1997). Debido a su gran difusión el método de muestreo ha sido objeto de normalización en la norma CEN/TS 16868:2015, que ha sido modificada en 2019, Norma CEN/TS16868:2019.

La vigilancia de la calidad del aire se basa en el mantenimiento de unos valores o niveles de inmisión para una serie de contaminantes para los que hay establecidos valores límite ambientales. Estos contaminantes pueden estar como gases o como materia particulada (aerosol atmosférico), todo lo relacionado con los objetivos de calidad del aire, los métodos de evaluación (vigilancia de la calidad del aire),

criterios de calidad, diseño, etc. vienen recogidos en el Real Decreto 102/2011 relativo a la mejora de la calidad del aire, parcialmente modificado por el Real Decreto 39/2017. La figura 9 recoge un esquema de la vigilancia de la calidad del aire, que comprende tanto a los gases contaminantes como al aerosol atmosférico.

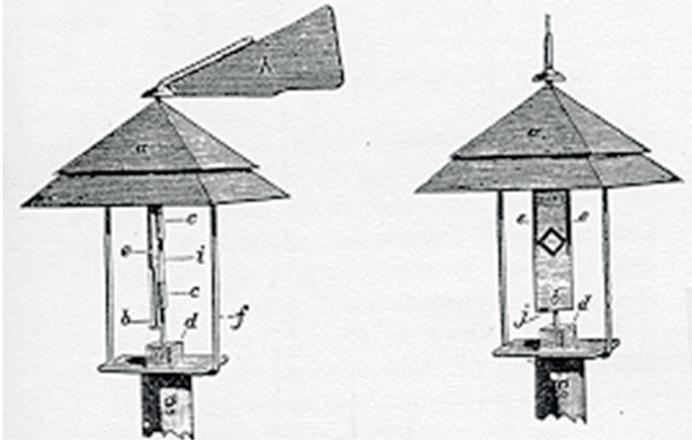
Las redes de vigilancia de la calidad del aire determinan, bien por medida o por modelización, las concentraciones de los diferentes contaminantes para valorar el cumplimiento de los requisitos legales y la puesta en marcha de planes de actuación tendentes, en primer lugar, al cumplimiento de esos requisitos, y, en segundo lugar, a la mejora progresiva de la calidad del aire. Estas redes se financian con fondos públicos y los datos que producen están disponibles para el público y accesibles a través de las páginas web de las respectivas administraciones.

Para los contaminantes de origen biológico la situación es totalmente distinta, ya que, al no haberse desarrollado la legislación específica para ellos, no hay una financiación pública concreta para su cuantificación y seguimiento. Sin embargo, está claramente establecido la relevancia en salud pública de la contaminación de origen biológico. Centrándonos en la aeropalinología, el estudio de la presencia de granos de polen y esporas de hongos en el bioaerosol atmosférico, está bien definida su incidencia en la salud ya que causan enfermedades alérgicas como la rinitis y la conjuntivitis y el asma alérgico, Sofiev y Bergmann (2013), que puede llegar a causar la muerte, Buters et al. (2018).

Unos pocos países, como Suiza y Francia, tienen redes aerobiológicas estatales (Buters et al., 2018). En España, algunas Comunidades Autónomas, como la Comunidad de Madrid tiene su propia red de vigilancia aeropalinológica (Red PALINOCAM, <http://www.comunidad.madrid/servicios/salud/polen>), en otros casos, Castilla y León (<https://www.saludcastillayleon.es/es/polen>) y Comunidad Gallega (<https://www.sergas.es/Saude-publica/Informacion-polinica?idioma=es>), financian los estudios que son realizados por Departamentos Universitarios.

Figura 8.- a) Captador de impacto pasivo utilizado por Blakley (1880).
b) Muestreador por gravedad de Durham

a)



b)



Hace unos meses se ha puesto en marcha una iniciativa para inventariar las estaciones de monitoreo de polen activas en el mundo, y se ha implementado en la web un mapa interactivo con los puntos de muestreo (figura 10), Buters et al. (2018).

Figura 9.- Esquema de los parámetros que se estudian en las redes de vigilancia.
El aerosol atmosférico biótico no ha sido objeto de regulación



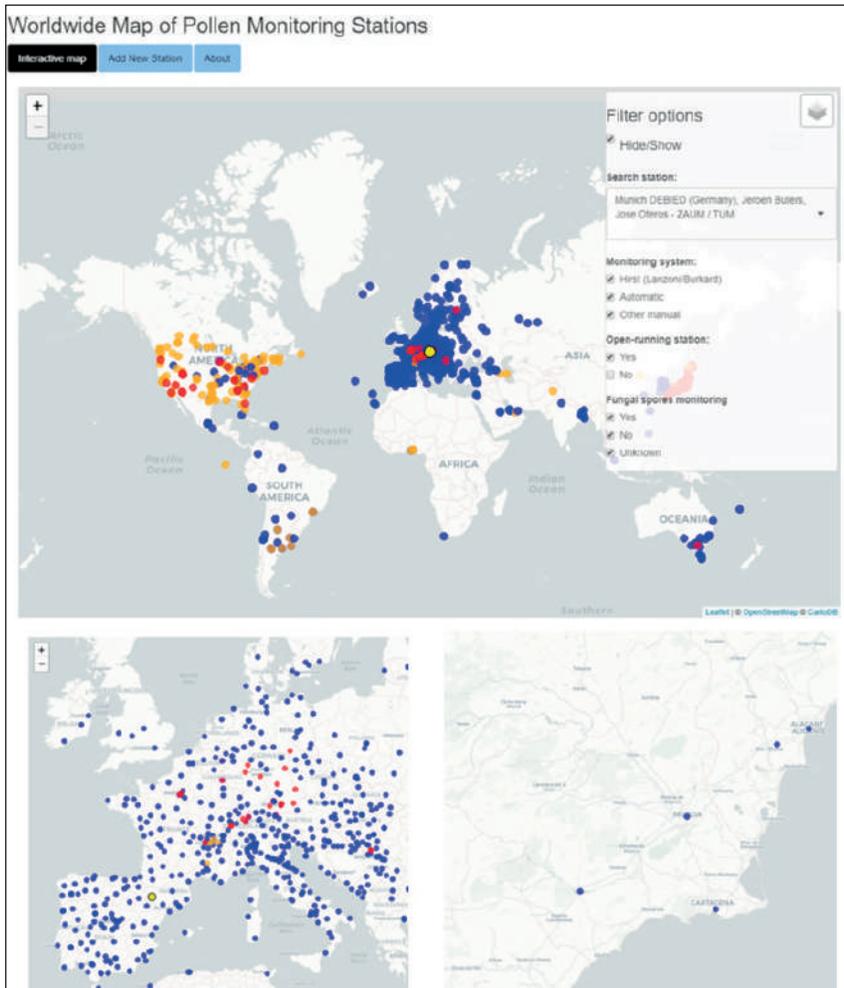
Los granos de polen aerovagantes son una de las primeras causas de alergia respiratoria en Europa, Kruczek et al. (2017). En los países industrializados, la prevalencia de las alergias superaba el 25 % en 1996, European Community Respiratory Health Survey (1996). Según la European Academy of Allergy and Clinical Immunology el 30 % de la población en Europa padece una enfermedad alérgica crónica, estimado que para 2025 más del 50 % de la población europea sufrirá al menos un tipo de alergia, sin distinción de edad, grupo social o área geográfica, AEECI (2015).

Según el informe multicéntrico Alergológica 2015, SEAIC (2017), en España, en el 70,8 % de los pacientes con rinoconjuntivitis uno de los alérgenos causantes es el polen, un poco por debajo de la indicada para la Región de Murcia (74,3 %), encontrando para España que el 42,2 % de los enfermos están sensibilizados únicamente a granos de polen. En cuanto al asma alérgico, los granos de polen son los responsables del 65,6 %, valor que se ha incrementado en un 50 % desde el año 2005. Según este informe, los tipos polínicos con mayor prevalencia tanto para la rinoconjuntivitis como para el asma son Poaceae,

Olea, Cupressaceae, Amaranthaceae (*Salsola*), *Platanus*, *Plantago*, *Parietaria* y *Artemisia*. La vigilancia aerobiológica de la atmósfera es una herramienta de primer orden para la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades alérgicas, Thibaudon et al. (2013), aportando datos sobre los diferentes tipos polínicos, sus concentraciones y su estacionalidad.

Además, las observaciones aeropalinológicas permiten conocer la evolución de las concentraciones de los diferentes palinomorfos aerovagantes a lo largo del año. Estos recuentos aerobiológicos se consideran un buen indicador fenológico, García-Mozo (2011) para las especies de polinización anemófila. Cuando se dispone de datos plurianuales se realizan calendarios polínicos, representación gráfica que resume la dinámica anual de los principales tipos polínicos de una localidad, ordenados en función de su período de polinización. Este tipo de representación compendia en una sola figura toda la información aerobiológica de una localidad, facilita la comprensión de la composición polínica de la atmósfera, informa de los tipos polínicos que pueden resultar de interés en cada momento del año y destaca la importancia relativa de unos respecto a otros. Se considera que datos entre 3 a 5 años, serie corta, permiten una primera aproximación a la dinámica aerobiológica en una zona, Myszkowska et al. (2011). Series temporales más largas permiten identificar mejor las épocas de presencia de los diferentes tipos polínicos y calcular tendencias de variación o cambios debidos a factores climáticos o antropogénicos, Voltolini et al. (2000). En este sentido, Rodríguez-Rajo et al. (2004) indicaban que 7 años era el tiempo mínimo requerido para obtener una estimación representativa del comportamiento del polen aerovagante en una zona.

Figura 10.- Mapa interactivo de las estaciones de muestreo aeropalínológico en el mundo.
Ampliaciones para Europa y la Región de Murcia



Estudios aeropalínológicos: el grupo de investigación aerobiología y toxicología ambiental

En Cartagena iniciamos los estudios aerobiológicos en el año 1990, como consecuencia de los brotes de asma epidémico que se padecieron en la ciudad en los años 1987 y 1988, en los que hubo incluso que lamentar una víctima mortal. Fue la Dra. Suárez-Cervera, de la Universidad de Barcelona, la que aconsejó al Ayuntamiento de Cartagena

que se realizaran estudios aeropalinológicos con el fin de obtener una información relevante en relación con la salud de la población, y que permitiera, de modo paralelo, advertir la presencia de partículas biológicas que pudieran ser indicadoras de otros efectos adversos para la salud, Suárez-Cervera y Seoane-Camba (1988).

Los estudios se inician en el año 1990 con el captador desarrollado, a partir de un McLeod, por los Dres. Suárez-Cervera y Seoane-Camba, con una metodología de filtración volumétrica. La puesta en marcha de la Red Española de Aerobiología nos llevó a incorporar al sistema de muestreo un captador tipo Hirst, con una metodología de impacto activo. Muestreos en paralelo que mantuvimos hasta completar la caracterización fúngica del bioaerosol de Cartagena, complementando los recuentos no viables del método de Hirst con la metodología viable que se puede hacer con el método de Suárez-Cervera, Elvira Rendueles et al. (2013). Un Convenio de Colaboración con el Ayuntamiento de Cartagena y diversos proyectos financiados, permiten operar el punto de muestreo de Cartagena. En el año 2008 conseguimos la financiación por la Fundación Séneca (la Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia) de un Proyecto de Investigación cuya finalidad era la Creación de la Red Aerobiológica de la Región de Murcia (REAREMUR), en el que participaban junto con nuestro grupo de investigación de la Universidad Politécnica de Cartagena, el Colegio Oficial de Farmacéuticos de la Región de Murcia, los Servicios de Alergia e Inmunología Clínica de los Hospitales Universitarios Reina Sofía de Murcia y Rafael Méndez de Lorca y, como ente promotor-observador, la empresa Bial-Arístegui. Así se instaló un captador en Murcia en el año 2009 y otro en Lorca en 2010, manteniendo el punto de muestreo de Cartagena. En el año 2019 el Ayuntamiento de Murcia ha iniciado una colaboración para financiar el punto de muestreo de la ciudad de Murcia y se ha obtenido financiación por parte del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Dentro del estudio del bioaerosol atmosférico, hemos estudiado dos metodologías de cuantificación:

1. La clásica en aeropalinología, es decir, el recuento de los granos de polen y esporas de hongos en las muestras recogidas, primero, por filtración volumétrica, y, posteriormente, por impacto activo.

2. Métodos de cuantificación de aeroalérgenos el bioaerosol, recogido con muestreador ciclónico.

Algunos resultados de nuestros estudios aerobiológicos

El método de Suárez-Cervera (figura 11a), nos permitió realizar una primera aproximación al contenido en tipos polínicos en la atmósfera de Cartagena y a realizar un profundo estudio de la riqueza en esporas fúngicas en el bioaerosol. Los tipos polínicos más representativos pertenecían a las familias Amaranthaceae, Apiaceae, Asteraceae (*Artemisia*, *Senecio*, *Taraxacum*), Casuarinaceae, Cupressaceae, Cyperaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Fagaceae (*Quercus*), Myrtaceae, Oleaceae (*Syringa*, *Olea*, *Ligustrum*), Pinaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Polygonaceae, Tamaricaceae, Urticaceae (figura 12). Los años de estudio con esta metodología, 1990-1993, mostraron presencia de granos de polen a lo largo de todo el año, incluidos los meses de julio y agosto, y nos permitieron poner de manifiesto la presencia en los meses de enero y febrero de granos de polen de *Artemisia*, Suárez-Cervera et al. (1991).

En cuanto a la riqueza de esporas fúngicas en el bioaerosol de Cartagena, la combinación del método cultural (Suárez-Cervera) y el no cultural (Hirst), en un exhaustivo estudio realizado en el año 1997, nos permitió identificar o aislar un total de 96 tipos diferentes de esporas fúngicas y un líquen. Por medio de la observación macroscópica y microscópica de las características de cultivos en la metodología viable, se han identificado 65 especies de hongos, pertenecientes a 20 taxa. De las esporas identificadas, 42 pertenecían al grupo de los Deuteromicetos, 10 se observaban por las dos metodologías; 14 únicamente en la no viable y 8 únicamente por el método viable. El método no viable permitió la identificación de 18 Basiciomicetos; 23 Ascomicetos; 4 Oomicetos y 5 Mixomicetos. De los 4 Zigomicetos identificados, 2 lo fueron por ambas metodologías. Solo se identificó 1 líquen, por la metodología no viable. Con la metodología no viable, las esporas fúngicas más abundantes fueron *Cladosporium*, *Ustilago* y *Alternaria*. Por la metodología viable fueron: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Alternaria*. La figura 13 recoge las esporas fúngicas identificadas en el bioaerosol de Cartagena, por el método

no viable. En primer lugar, clasificados como Deuteromicetos, Basidiomicetos, Ascomicetos, Oomicetos, Zigomicetos y Myxomicetos, y los tipos fúngicos identificados dentro de cada grupo, Elvira-Rendueles et al. (2013).

La figura 14 recoge las concentraciones medias semanales de los tipos fúngicos identificados en el bioaerosol de Cartagena por el método no viable. Las especies más frecuentes y abundantes definen el bioaerosol fúngico de Cartagena como típico del aire seco. La caracterización de la riqueza en tipos fúngicos en el bioaerosol es más completa si se combinan metodologías viables y no viables. En general, la primavera y el otoño registran la mayor cantidad de esporas de hongos, así como la mayor variabilidad en los tipos identificados. El invierno es la estación con los conteos más bajos y la menor variedad de tipos de hongos. En verano, los recuentos totales son bajos y los tipos fúngicos presentes son *Cladosporium*, *Alternaria*, *Ustilago*, *Chaetomium* y *Puccinia*.

Como hemos indicado, la puesta en marcha de la Red Española de Aerobiología nos hizo incorporar el muestreo con el método desarrollado por Hirst (1952), un captador volumétrico de impacto activo (figura 11b). Con esta metodología hemos generado la base de datos aerobiológicos de Cartagena que se inicia el 21 de marzo de 1993 hasta la actualidad. Las bases de datos aerobiológicos de Murcia, que se inicia en 2009, y la de Lorca, desde 2010.

En el conjunto de las ciudades hemos identificado 63 tipos polínicos, 14 de ellos, al tener un índice anual por encima de 100 granos/m³, los hemos clasificado como mayoritarios en Cartagena y 15 en Lorca y Murcia. *Rumex* es mayoritario únicamente en Cartagena; Myrtaceae (*Eucalyptus*) en Lorca; *Casuarina* en Murcia y Brassicaceae en Lorca y Murcia. Menos del 6 % de los granos de polen recogidos pertenecen a los tipos polínicos minoritarios, que corresponden a un total de 45 tipos polínicos.

Figura 11.-a) Captador desarrollado por Suárez-Cervera y Seoane-Camba. b) Captador VPPS 2000 Lanzoni basado en el aparato desarrollado por Hirst



Con la serie temporal 2010-2017 hemos realizado el calendario polínico de las tres ciudades, que da una buena representación del momento e intensidad en que se presentan los diferentes taxones. Podemos destacar la presencia de *Artemisia* en los meses de enero y febrero, con una gran abundancia sobre todo en la ciudad de Lorca. El pico estival de *Amaranthaceae*, y su gran importancia cuantitativa en la ciudad de Cartagena. El tipo polínico *Casuarina* solo es mayoritario en la ciudad de Murcia, con un pico autumnal de gran intensidad.

En Cartagena el tipo polínico más abundante es *Amaranthaceae*, seguido de *Cupressaceae*, *Olea* y *Urticaceae*. En Lorca el más abundante es *Olea*, seguido de *Cupressaceae*, *Amaranthaceae* y *Artemisia*. En Murcia el más abundante es *Cupressaceae*, seguido de *Casuarina*, *Olea* y *Platanus* (figura 16), Elvira-Rendueles et al. (2019).

La media del periodo estudiado muestra la mayor concentración de granos de polen en Lorca, seguido de Murcia, siendo Cartagena la ciudad con menores concentraciones (figura 16). La proximidad al mar, más que la aridez de la zona, justifica este comportamiento. El tipo polínico *Amaranthaceae* es más abundante en Cartagena que en las

otras dos ciudades. Lorca presenta los mayores valores para *Artemisia*, *Olea*, Poaceae y *Quercus*. Murcia para *Casuarina*, Cupressaceae, *Morus*, Palmae y *Platanus*. Como hemos indicado *Rumex* solo puede ser considerado un taxón mayoritario en Cartagena; Myrtaceae en Lorca y Brassicaceae en Murcia y Lorca. Las concentraciones de *Pinus* son similares en Lorca y Murcia, mayores que en Cartagena; los menores niveles de *Plantago* se registran en Murcia, mientras que los de Urticaceae lo hacen en Lorca. En el bioaerosol de las tres ciudades encontramos *Zygophyllum*, corresponde a la especie *Zygophyllum fabago*, tipo polínico cuya presencia en el aire fue puesta de manifiesto por primera vez por nuestro grupo de investigación, en colaboración con la Dra. Suárez-Cervera, Belchí-Hernández et al. (1997), (1998), (2001). En colaboración con el Dr. Belchí-Hernández pudimos poner de manifiesto su carácter alergénico, habiendo realizado un estudio aerobiológico, clínico e inmunológico. Además, el grupo de la Dra. Suárez-Cervera realizó un profundo estudio ontogénico del grano de polen de esta especie y se pudo demostrar que tenía un mecanismo de polinización de carácter anfifilo, con la presencia en la antera de granos de polen deshidratados, mejor adaptados al transporte por el viento, y otros granos de polen hidratados y con mayor presencia de pollen-kitt o cemento polínico, responsables de la polinización entomófila, Castells et al. (2002).

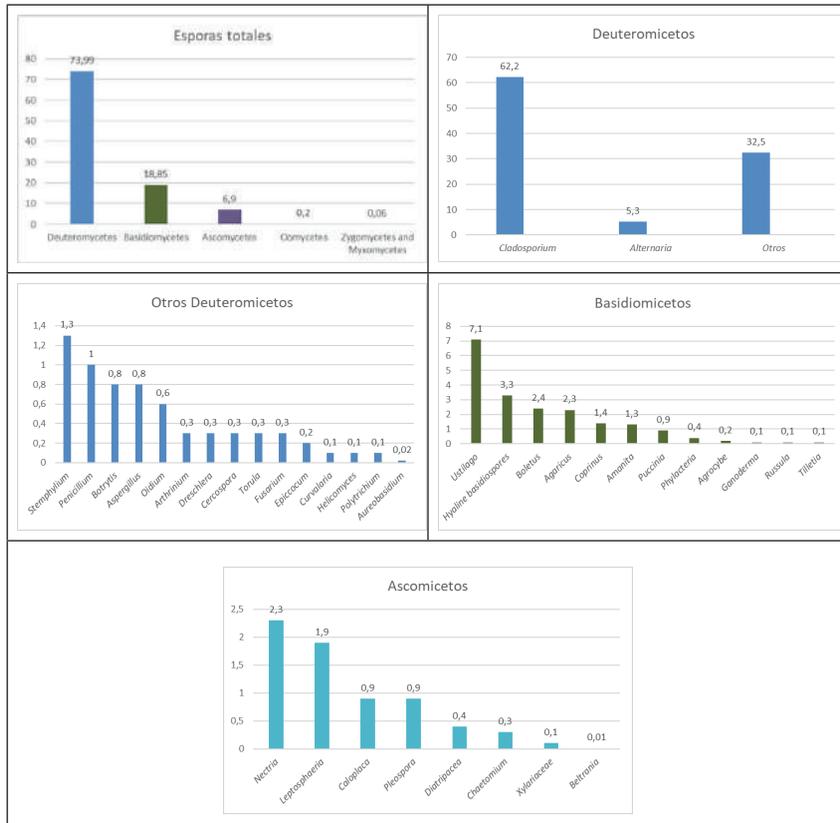
Figura 12.-Distribución mensual cualitativa de los tipos polínicos identificados en el bioaerosol de Cartagena por el método de Suárez-Cervera



Por acuerdo de la Red Española de Aerobiología, realizamos la cuantificación diaria de las esporas de los tipos fúngicos *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium cladosporioides* y *Alternaria*. Aunque las concentraciones en el aire de las mitosporas de *Cladosporium* en el bioaerosol de las tres ciudades son muy superiores a las de *Alternaria*, Elvira-Rendueles et al. (2019), la incidencia de rinoconjuntivitis y asma alérgico es mucho menor. Según el informe multicéntrico alergológica 2015, *Alternaria alternata* es causa principal de alergia a hongos con el 10% de los casos de rinoconjuntivitis alérgica y del 13,1% de asma alérgico, no habiendo en este estudio ningún caso de alergia a *Cladosporium*, mientras que en alergológica 2005 se indicaba un 0,7% para rinitis y un 1,9 % para asma, SEAIC (2017).

En la bibliografía publicada a lo largo del último tercio del siglo XX aparecían numerosas referencias sobre el tamaño del grano de polen y la imposibilidad de que penetrara profundamente en las vías respiratorias, D'Amato (2001), Süring et al. (2016). Afirmación que ha sido la base para el desarrollo de este discurso. Además, se puso de manifiesto la falta de correlación entre los recuentos de granos de polen y el asma, Beggs (1998), D'Amato (2001), la actividad antigénica y la presencia de alérgenos polínicos en otras partes de las plantas, Fernández-Caldas et al. (1989), D'Amato et al. (1991) y la presencia en el bioaerosol de fracciones alergénicas menores que el grano de polen, partículas que han recibido el nombre de paucimicrónicas, y que han sido encontradas en el aire antes, durante y después de las estaciones polínicas, Busse et al. (1972), Knox (1993), Süring et al. (2016).

Figura 13.-Esporas fúngicas identificadas en el bioaerosol de Cartagena por el método de Hirst



Conjunto de evidencias que llevaron, por un lado, al concepto de carga alérgica, Wickman (2005) y a que investigadores como Ranthio-Lehtimäki et al. (1994) indicaran la necesidad de cuantificar los aeroalérgenos en el bioaerosol. El grupo de la Dra. Suárez-Cervera, que realizaba estudios sobre la ontogenia del grano de polen, incluyendo la aparición de las proteínas alérgicas, introdujo en su línea de trabajo la cuantificación de aeroalérgenos en el aire, inicialmente obtuvimos financiación en el proyecto CICYT PB 96 0393 de la Universidad de Barcelona, en las siguientes convocatoria concursamos como dos subproyectos coordinados (BOS 2000 0563 y BOS 2003 06329), incorporándose las Universidades de Orense y de León en el año 2006 (CGL2006 15103). En estos proyectos pusimos en marcha la cuantificación de aeroalérgenos polínicos en muestras de bioaero-

sol tomadas con un muestreador ciclónico que recoge la muestra en tubos Eppendorf (figura 17). Mediante un proceso de extracción se recuperan las proteínas solubles del grano de polen y los alérgenos son cuantificados por ELISA doble sándwich, y cuantificados frente a patrones obtenidos a partir de alérgenos purificados extraídos de granos de polen.

Se han realizado avances importantes en la cuantificación de aeroalérgenos por métodos inmunoanalíticos con anticuerpos mono o policlonales. Aun así, los alérgenos cuantificados son una pequeña fracción de los tipos polínicos que podemos identificar y cuantificar en el bioaerosol: Ole e 1, Moreno-Grau et al. (2006), (2016), De Linares et al. (2007), Rodríguez-Rajo et al. (2011), Galán et al. (2013), Plaza et al. (2016a); Par j1 y Par j 2, Moreno-Grau et al. (2006), Jato et al. (2010), Rodríguez-Rajo et al. (2011); Phl p 5, De Linares et al. (2014), Buters et al. (2015), Plaza et al. (2016b); Bet v 1, Ramírez et al. (1997), Thibaudon and Sindt (2008), Buters et al. (2010), (2012); Pla a 1, Fernández-González et al. (2010), (2013), Rodríguez-Rajo et al. (2011), Alcázar et al. (2015); Pla l 1, Fernández-González et al. (2013), González-Parrado et al. (2014); Lol p 1, De Linares et al. (2010), Fernández-González et al. (2011), Rodríguez-Rajo et al. (2011); Fra e 1, Vara et al. (2016). Solo hemos encontrado un trabajo de esporas, para Asp f 1, Prester y Macan (2014). Nuestra conclusión en relación con esta metodología es que todavía no se pueden sustituir los recuentos aeropalínológicos tradicionales por los métodos inmunoquímicos y se requiere seguir investigando en este campo para poder desarrollar una metodología de toma de muestras y cuantificación de aeroalérgenos que pueda ser implementada en las redes de vigilancia aerobiológica de la atmósfera, Moreno-Grau et al. (2017).

Difusión de los datos

En relación con los enfermos polínicos, la mejor medida preventiva es la evitación de la exposición, Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social (2019), eso hace que sea imprescindible para ellos conocer las concentraciones de polen y esporas en el área en la que viven. Así como, tener acceso a esta información cuando planifican actividades de ocio, viajes, etc. Por otro lado, el correcto diagnóstico

etiológico de la polinosis requiere conocer la aeropalinología del área de vida de la persona alérgica, Geller-Bernstein et al. (1991), Martínez-Cócerca y Villalón-García (2003) por lo que es un dato esencial para los especialistas en alergia e inmunología clínica.

Conscientes de esta necesidad, nuestro grupo de trabajo difunde los resultados de los recuentos aerobiológicos de varias formas diferentes. En primer lugar, a través de la Red Española de Aerobiología, de la que somos miembros, aquí los datos son utilizados para realizar los mapas de concentración actual y predicciones en el territorio nacional y gestiona la cesión de la información a distribuidores de información, grupos de interés o investigación. La Asociación Española de Aerobiología, de la que la REA es su rama técnica, mantiene una app de información aeropalinológica con avisos y previsiones.

Además, la REA vuelca estos datos en la base de datos de la Red Europea de Aeroalérgenos (EAN), que es la base de datos de polen no comercial más grande del mundo, con series temporales ya largas de muchos de los puntos, que pueden ser utilizados para estudios científicos.

La EAN ha desarrollado la web polleninfo.org en la que se pueden encontrar las predicciones polínicas de los países participantes y los mapas de concentración para un conjunto de tipos polínicos, que representan para cada área geográfica las concentraciones medias de los registros de 10-15 años de 300 estaciones de muestreo en Europa. En cada mes del año aparecen tres mapas, con un código de color que indica la potencial severidad de los síntomas, en relación con las concentraciones del tipo polínico en la zona, una información de gran interés a la hora de viajar por Europa.

Figura 14.- Media semanal de los tipos fúngicos en el bioaerosol de Cartagena, 1997

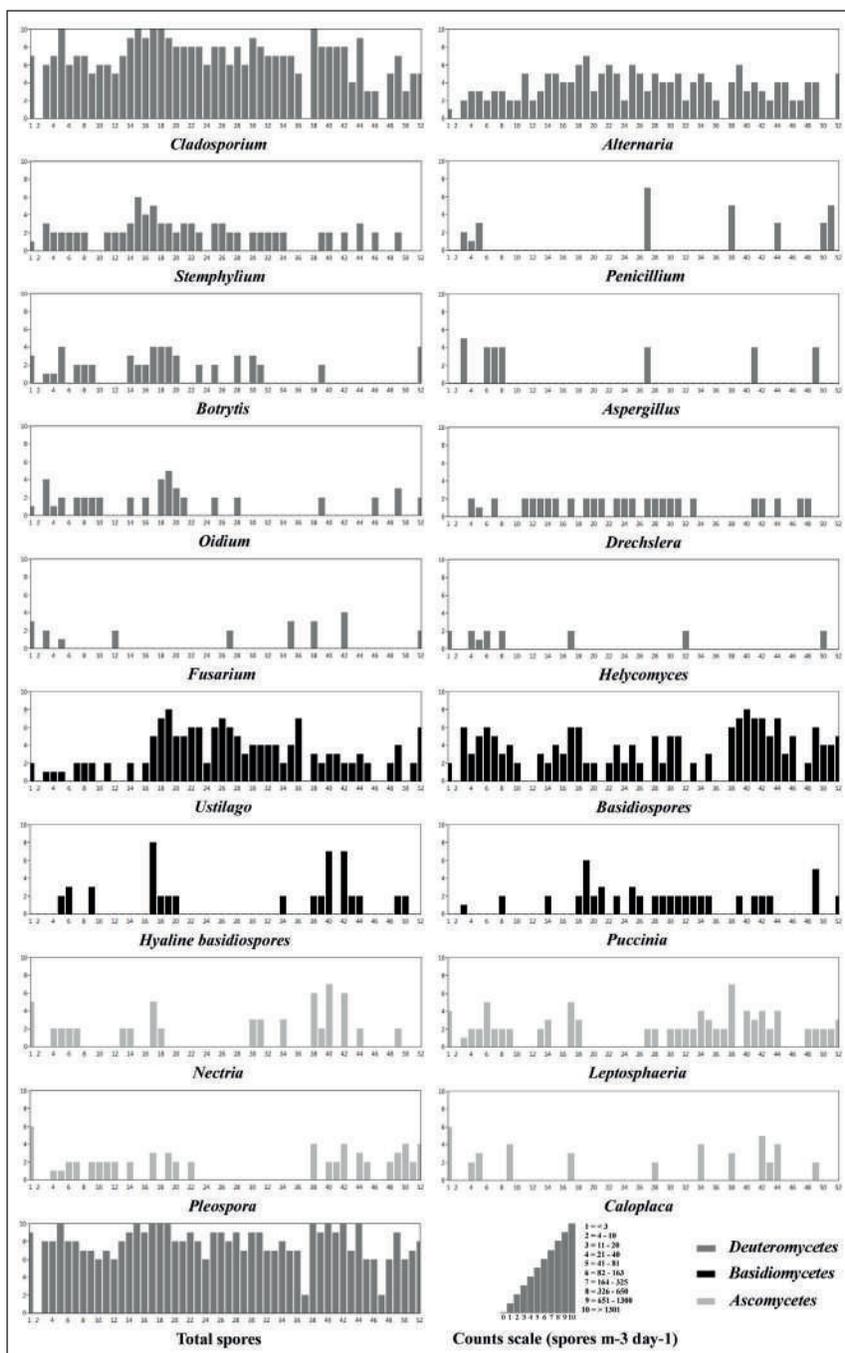


Figura 15.- Porcentaje de contribución de los tipos polínicos mayoritarios al contenido polínico del bioaerosol de las ciudades de a) Cartagena, b) Lorca y c) Murcia 2010-2017

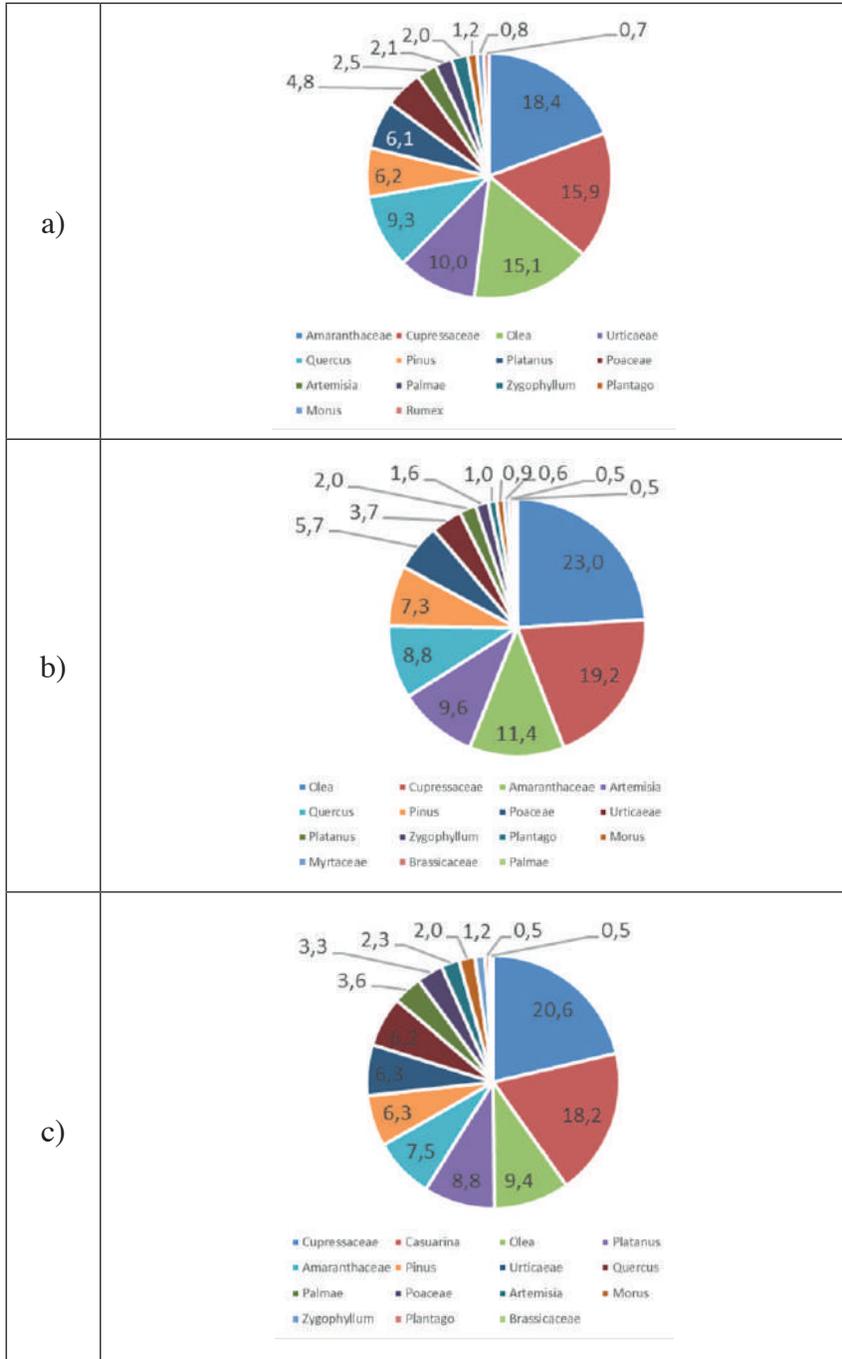
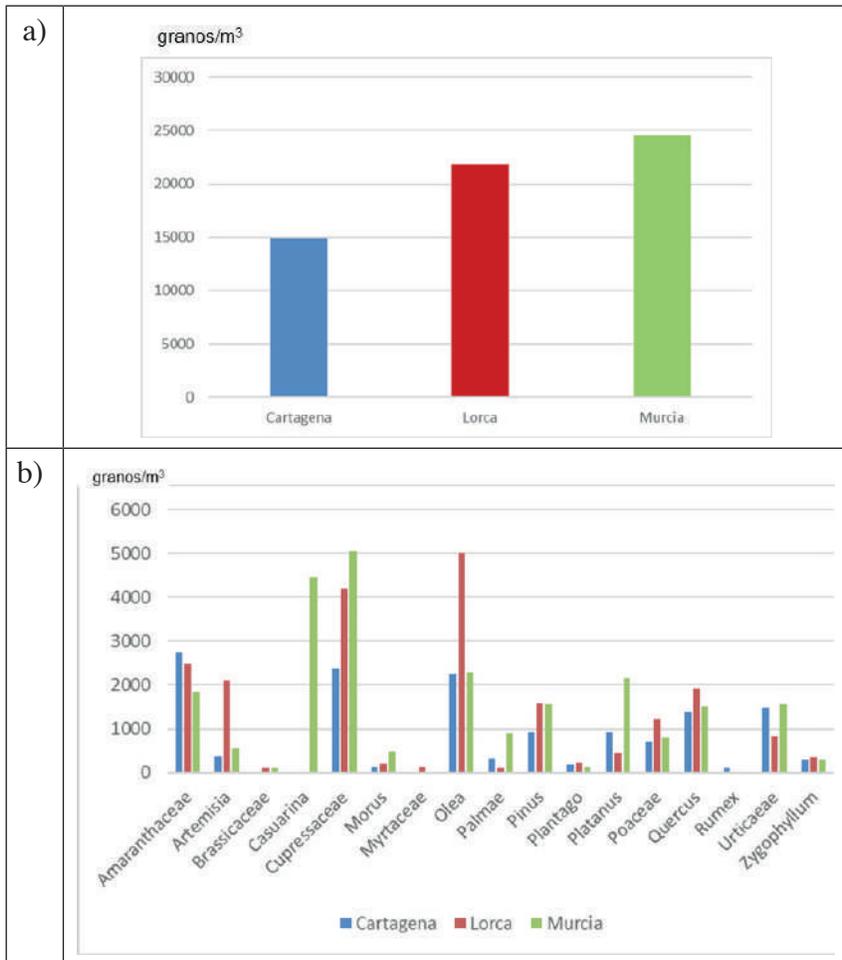


Figura 16.- Valor medio para el periodo 2010-2017 de los índices polínicos anuales a) del polen total y b) de los tipos polínicos mayoritarios en las ciudades de Cartagena, Murcia y Lorca



A nivel nacional, también damos los datos de Cartagena y Murcia al Comité de Alergia de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica, estando accesibles al público en la web polenes.com. En la Región de Murcia, los datos numéricos le son suministrados a la Asociación AlergoMurcia y a los Servicios de Alergia e Inmunología Clínica de los Hospitales Universitarios Santa Lucía de Cartagena, Rafael Méndez de Lorca y Reina Sofía de Murcia. Como información dirigida al ciudadano, en la web del Colegio Oficial de Farmacéuticos de la Región de Murcia aparecen los datos de Cartagena, Murcia y Lorca, en un formato claro y conciso enfocado al paciente alérgico.

Figura 17.- Captador ciclónico Burkard



A modo de conclusión

Las partículas de origen biológico presentes en el aerosol atmosférico deben ser objeto de una regulación específica por razones tanto ecológicas como de salud pública. Para la adecuada obtención de los datos de los aerosoles atmosféricos es necesario comprender la importancia del tamaño de la partícula tanto en el contexto de la selección de los métodos de muestreo y medida, como a la hora de entender e interpretar los posibles efectos sobre la salud humana y la implicación en relación con los datos que se publican en las redes calidad del aire.

Bibliografía

- AEECI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology). (2015). Advocacy Manifesto. Tackling the Allergy Crisis in Europe- Concerted Policy Action Needed. Bruselas: EAACI. 6 pp.
- Alcázar P., Galán C., Torres C., Domínguez-Vilches E. (2015). Detection of airborne allergen (Pla a 1) in relation to *Platanus* pollen in Córdoba, South Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22:96-101.
- Bailey, M. R., Ansoborlo, E., Guilmette, R. A., & Paquet, F. (2007). Updating the ICRP human respiratory tract model. *Radiation Protection Dosimetry*, 127(1-4), 31-34. doi:10.1093/rpd/ncm249
- Baron, P.A., Willeke, K. (2001). Aerosols Fundamentals. In: Aerosol Measurement. Principles, Techniques and Applications. Edited by Klaus Willeke and Paul B. Baron. Van Nostrand Reinhold. New York. 45-60.
- Beggs, P. J. (1998). Pollen and pollen antigen as triggers of asthma-What to measure? *Atmospheric Environment*, 32:1777-83
- Belchi-Hernandez, J., Moreno-Grau, S., Bayo, J., Rosique, C., Bartolome, B., Moreno, J. (1997). *Zygophyllum fabago* L. A new source of allergenic pollen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 99(4), 493-496. doi:10.1016/S0091-6749(97)70075-7
- Belchí-Hernández, J., Moreno-Grau, S., Sánchez-Gascón, F., Bayo, J., Elvira Rendueles, B., Bartolomé, B., et al. (1998). Sensitization to *Zygophyllum fabago* pollen. A clinical and immunologic study. *Allergy*, 53(3), 241-248.
- Belchí-Hernández, J., Moreno-Grau, S., Bayo, J., Rendueles, B. E., Moreno, J., Angosto, J. M., et al. (2001). Pollinosis related to *Zygophyllum fabago* in a Mediterranean area. *Aerobiologia*, 17(3), 241-246. doi:10.1023/A:1011818814840

- Blackley, Ch. H. 1880. Hay Fever: Its causes, treatment, and effective prevntion, experimental researches. Bailliere, Tindall y Cox. Londres. Accesible on line en: <https://archive.org/details/b20394391>. [29042018].
- Buters J.T.M., Weichenmeier I., Ochs S., Pusch G., Kreyling W., Boere A.J.F., et al. (2010). *Allergy* 65:850-858.
- Butters J.T.M., Thibaudon M., Smith M., Kennedy R., Rantio-Lehtimäki A., Albertini R., et al. (2012). Release of Bet v 1 from birch pollen from 5 European countries. Results from Hialine study. *Atmospjeric Environment*, 55:496-505.
- Butters J.T.M. Prank M., Sofiev M., Pusch G., Albertini R., Annessi-Maesano I., et al. (2015). Variation of the groupu 5 grass pollen allergen content of airborne pollen in relation to geographic location and time in season. *J Allergy Clin Immunol*, 136:87-95.
- Buters, J. T. M., Antunes, C., Galveias, A., Bergmann, K. C., Thibaudon, M., Galán, C., et al. (2018). Pollen and spore monitoring in the world. *Clinical and Translational Allergy*, 8(1), 9. doi:10.1186/s13601-018-0197-8
- Castells, T., Arcalís, E., Moreno-Grau, S., Bayo, J., Elvira-Rendueles, B., Belchí, J., et al. (2002). Immunocytochemical localization of allergenic proteins from mature to activated *Zygophyllum fabago* L. (*Zygophyllaceae*) pollen grains. *European Journal of Cell Biology*, 81(2), 107–115. doi:10.1078/0171-9335-00223
- Comtois, P. 1997. Pierre Miquel: The first professional aerobiologist. *Aerobiología*. 134: 75-82.
- D'Amato, G., De Palma, R., Verga, A. (1991). Antigen activity of non-pollen parts (leaves and stems) of allergenic plants. *Annals of Allergy*, 67: 421-4.
- D'Amato, G. (2001). Airborne paucimicronic allergen-carrying particles and seasonal respiratory allergy. *Allergy*, 56: 1109-11.
- De Linares C., Nieto-Lugilde D., Alba F., Díaz de la Guardia C.,

Galán C., Trigo M.M. (2007). Detection of airborne allergen (Ole e 1) in relation to *Olea europea* pollen in S Spain. *Clinical and Experimental Allergy* 37:125-132.

- De Linares, C., Díaz de la Guardia, C., Nieto Lugilde, D., & Alba, F. (2010). Airborne study of grass allergen (Lol p 1) in different-sized particles. *International Archives of Allergy and Immunology*, 152(1), 49–57. doi:10.1159/000260083
- De Linares C, Postigo I, Belmonte J, Martínez J. (2013). Airborne allergen measurement with microarrays technology. *Allergy*, 65:32.
- De Linares, C., Postigo, I., Belmonte, J., Canela, M., Martínez, J. (2014). Optimization of the measurement of outdoor airborne allergens using a protein microarrays platform. *Aerobiologia*, 30:217-27.
- Dueker, M.E., O’Mullan, G., Martínez, J. M., Juhl, A., & Weathers, K. (2017). Onshore Wind Speed Modulates Microbial Aerosols along an urban Waterfront. *Atmosphere*, 8(12), 215. doi:10.3390/atmos8110215.
- Durham, O.C. (1946). The volumetric incidence of atmospheric allergens. *The journal of allergy*: 17:79-86.
- European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). (1996). Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey. *European Respiratory Journal*, 9: 687-695.
- Elvira-Rendueles B, Moreno J M, Garcia-Sanchez A, Vergara N, Martinez-Garcia M J, Moreno-Grau S. 2013. Air-spore in Cartagena, Spain. Viable and non-viable sampling methods. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 20 (4): 774–781.
- Elvira-Rendueles, B., Moreno, J. M., Costa, I., Bañón, D., Martínez-García, M. J., & Moreno-Grau, S. (2019). Pollen calendars

of Cartagena, Lorca, and Murcia (Region of Murcia), southeastern Iberian Peninsula: 2010–2017. *Aerobiologia*. doi:10.1007/s10453-019-09578-y.

- EN-UNE-481 (1995) *Atmósferas en los puestos de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles. (Versión oficial EN 481:1993)*. AENOR. Madrid.
- EN-UNE-12341 (2015). *Aire ambiente. Método de medición gravimétrico normalizado para la determinación de la concentración másica PM10 y PM2,5 de la materia particulada en suspensión*. Aenor. Madrid.
- Fernández-González, D., González-Parrado, Z., Vega-Maray, A. M., Valencia-Barrera, R. M., Camazón-Izquierdo, B., De Nuntii, P., Mandrioli, P. (2010). *Platanus pollen allergen, Pla a 1: quantification in the atmosphere and influence on a sensitizing population. Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 40(11), 1701–1708. doi:10.1111/j.1365-2222.2010.03595.x
- Fernández-González D, F. Rodríguez-Rajo, J., González-Parrado, Z., Valencia-Barrera, R. M., Jato, V., Moreno-Grau, S. (2011). *Differences in atmospheric emissions of Poaceae pollen and Lol p 1 allergen. Aerobiologia* 27(4):301-309.
- Fernández-González M., Guedes A., Abreu I., Rodríguez-Rajo F.J. (2013). *Pla a 1 aeroallergen immunodetection related to the airborne Platanus pollen content. Science of the Total Environment* 463-464:855-860.
- Figueruelo, J.E. & Marino Dávila, M. (2004). *Química física del ambiente y de los procesos medioambientales*. Ed. Reverte. Barcelona.
- Galán C., Antunes C., Brandao R., Torres C., García-Mozo h., Caeiro E., Ferro R., Prank M., Sofiev M. et al. (2013). *Airbirne olive pollen counts are not representative of exposure ti the major*

alive allergen Ole e 1. *Allergy*, 68:809-812.

- García-Mozo, H. (2011). The use of aerobiological data on agricultural studies. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 18: 159-164.
- Geller-Bernstein, C., Keynan, N., Kenett, A., Shomer-Ilan, A., Waisel, Y. (1991). Aerobiology as a tool for prevention of hay fever. *Grana* 30: 76-78.
- González-Parrado Z., Fernández-González D., Camazón B., Valencia-Barrera R., Vega-Maray A.M., Asturias J.A., Monsalve R., Mandrioli P. (2014). Molecular Aerobiology- *Plantago* allergen Pla I 1 in the atmosphere. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21:282-289.
- Hinds, W.C. (2001). Physical and chemical changes in the particulate phase. En: Baron, P.A. y Willeke, K. Eds. *Aerosol Measurement: Principles, Techniques and Applications*. 2 Ed. Wiley Interscience. New York. pp. 83-98.
- Hirst, J. M. (1952). AN AUTOMATIC VOLUMETRIC SPORE TRAP. *Annals of Applied Biology*, 39(2), 257-265. doi:10.1111/j.1744-7348.1952.tb00904.x
- Hofmann, W., Asgharian, B., & Winkler-Heil, R. (2002). Modeling intersubject variability of particle deposition in human lungs. *Journal of Aerosol Science*, 33(2), 219-235. doi:10.1016/S0021-8502(01)00167-7.
- INSHT. (2006) Criterios y recomendaciones. Toma de muestra de aerosoles. Muestreadores de la fracción inhalable de materia particulada. CR-03/2006. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo. Madrid. Accesible on line en: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/MetodosAnalisis/Ficheros/CR/CR_003_A06.pdf. [29042018].
- Jato V., Rodríguez-Rajo F.J., González-Parrado Z., Elvira-Rendueles B., Moreno-Grau S., Vega-Maray A., Fernández-González

- D., Asturias J.A., Suárez-Cervera M. (2010). Detection of airborne Par j1-Par j 2 allergens in relation to Urticaceae pollen counts in different bioclimatic areas. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 105(1): 50-56.
- John, W. (2001). Size distribution characteristics of aerosols. En: Baron P.A. y Willeke K. Eds. *Aerosol Measurement: Principles, Techniques and Applications*. 2 Ed. Wiley Interscience. New York. pp. 99-116.
 - Kruczek, A., Puc, M., & Wolski, T. (2017). Poaceae, Secale spp. and Artemisia spp. pollen in the air at two sites of different degrees of urbanisation. *Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM*, 24(1), 70–74. doi:10.5604/12321966.1233895.
 - Ley 34/2007 de calidad del aire y protección de la atmósfera. Boletín Oficial del Estado nº 275, de 16/11/2007.
 - Martínez-Cócera, C., Villalón García, A. L. (2003). Pasado, presente y futuro de los recuentos de pólenes de la SEAIC. *Alergología e inmunología clínica* 18(3): 1-4.
 - McCrea, J. (1913). The ash of silicotic lungs. The South African Institute for medical research. 8 pp. Accesible on line en: <https://archive.org/details/b22463586>. [29042018].
 - Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. (2019). Alergias. Accesible on line en: <https://www.msbs.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfNoTransmisibles/alergias.htm>. [29042018].
 - Moreno-Grau, S., Elvira-Rendueles, B., Moreno, J., García-Sánchez, A., Vergara, N., Asturias, J. A., et al. (2006). Correlation between *Olea europaea* and *Parietaria judaica* pollen counts and quantification of their major allergens Ole e 1 and Par j 1-Par j 2. *Annals of Allergy Asthma and Immunology* 2006; 96: 858-64.
 - Moreno-Grau, S., Elvira-Rendueles, B., Moreno, J. M. (2017) ¿Cuantificación de aeroalérgenos polínicos o recuentos de granos de polen? *Rev salud ambient*, 17(2):165-175.

- Myszkowska, D., Jenner, B., Stępańska, D., Czarnobilska, E. (2011). The pollen season dynamics and the relationship among some season parameters (start, end, annual total, season phases) in Kraków, Poland, 1991–2008. *Aerobiologia*, 27: 229–238.
- Mullins, J., Emberlin, J. (1997). Sampling pollens. *Journal of Aerosol Science*, 28(3), 365–370. doi:10.1016/S0021-8502(96)00439-9.
- Nepi, M., Pacini, E. (1993). Pollination, Pollen Viability and Pistil Receptivity in Cucurbita pepo. *Annals of Botany*, 72(6), 527–536. doi:10.1006/anbo.1993.1141.
- NTP 800. (2008). Evaluación de la exposición laboral a aerosoles (V): recomendaciones para la toma de muestra de aerosoles. Zugasti Macazaga A. y Quintan San José M.J. INSHT. Madrid. Accesible on line en: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/786a820/800%20web.pdf>. [29042018].
- Norma CEN/TS 16868:2019 Ambient air. Sampling and analysis of airborne pollen grains and fungal spores for networks related to allergy-Volumetric Hirst Method. European Standard. ICS 13.040.20.
- OEHHA (Air Resources Board and Office of Environmental Health Hazard Assessment). (2001). Report to the Air Quality Advisory Committee on the Review of the California Ambient Air Quality Standards for Particulate Matter and Sulfates: Chapter 7: Critical review of the health effects of particulate matter. 107-227.
- Pawliszyn, J. (Ed.). (2002). *Sampling and sample preparation for field and laboratory: fundamentals and new directions in sample preparation* (1st ed.). Amsterdam; Boston: Elsevier Science.
- Plaza, M. P., Alcázar, P., Hernández-Ceballos, M.A., Galán C. (2016a). Mismatch in allergens and airborne grass pollen concentrations. *Atmospheric Environment*, 144: 361-369.
- Plaza, M. P., Alcázar, P., Galán, C. (2016b). Correlation between

airborne *Olea europaea* pollen concentrations and levels of the major allergen Ole e 1 in Córdoba, Spain, 2012-2014. *Int J Biometeorol*, 60:1841-7.

- Podczeczek, F. (1999). The influence of particles size distribution and surface roughness of carrier particles on the in vitro properties of dry powder inhalations. *Aerosol Science and Technology* 31: 301-321.
- Prester, L., Macan, J. (2014). Levels of the fungal allergen *Asp f 1* in dust from two sawmills in Croatia: a pilot study. *Aerobiologia*, 30:189-96.
- Ramirez J, Carpizo JA, Ipsen H, Carreira, J., Lombardero, M. (1997). Quantification in mass units of *Bet v 1*, the main allergen of *Betula verrucosa* pollen, by a monoclonal antibody based-ELISA. *Clinical and Experimental Allergy*, 27:926-31.
- Rantio-Lehtimäki, A., Viander, M., Koivikko, A. (1994) Airborne birch pollen antigens in different particles sizes. *Clinical and Experimental Allergy*, 24: 23-8.
- Real Decreto 102/2001 relativo a la mejora de la calidad del aire. Boletín Oficial del Estado nº 25 de 25 de enero de 2011.
- Real Decreto 39/2017 por el que se modifica el Real Decreto 102/2011, de 28 de enero, relativo a la mejora de la calidad del aire. Boletín Oficial del Estado nº 24, de 28 de enero de 2017.
- Reponen, T., Willeke, K., Grinshpun, S., Nevalainen, A. (2001). Biological particle sampling. . En: Baron P.A. y Willeke K. Eds. *Aerosol Measurement: Principles, Techniques and Applications*. 2 Ed. Wiley Interscience. New York. pp. 99-116.
- Rodríguez-Rajo, F. Javier; Jato, Victoria; González-Parrado, Zulima; Elvira-Rendueles, Belén; Moreno-Grau, Stella; Vega-Marray, Ana; Fernández-González, Delia; Asturias Juan A.; Suárez-Cervera, María. (2011). The combination of airborne pollen and allergen quantification to reliably assess the real pollinosis risk in

different bioclimatic areas. *Aerobiologia*, 27(1): 1-12.

- Rose, V.E. History and philosophy of industrial hygiene. En: Walton, W.H. (1991). *Airborne Dust*. In *Mineral Fibers and Health* (Lidell, D. and Miller, K., pp. 55–78). Boca Raton: CRC Press.
- SEAIC (Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica). (2017). *Alergológica 2015*. Madrid: SEAIC. 350 pp.
- Seinfeld, J. H., Pandis, S. N. (1998). *Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change*. New York: Wiley.
- Scheifinger, H, Belmonte, J, Buters, J., Celenk, S., Damialis, A, Dechamp, Ch., et al. (2013). Monitoring, Modelling and Forecasting of the Pollen Season. In *Allergenic Pollen: A review of the Production, Release, Distribution and Health Impacts* (Sofiev, M and Bergmann K.Ch., pp. 71–126). Dordrecht: Springer.
- Sofiev, M, Bergmann, K.Ch. (2014). *Allergenic Pollen: a Review of the Production, Release, Distribution and Health Impacts*. Erscheinungsort nicht ermittelbar: Springer.
- Suárez-Cervera M y Seoane-Camba J. (1988). Informe aerobiológico en relación con el asma epidémico de Barcelona. En: Brots d'Asama produïts per la inhalació de pols de soja. Ed. Grp. Col. laboratiu per l'estudi de l'asma a Barcelona: 1.57-1.60.
- Suárez-Cervera, M., Moreno-Grau S., Márquez Pereira, J., Rosique, C. (1991). Caracterización aerobiológica de la atmósfera de Cartagena. In: *Contaminación Atmosférica y Salud en Cartagena*. Monografías Sanitarias 10. Dirección General de salud. Consejería de Sanidad. Murcia. pp. 45-50.
- Thibaudon, M., Caillaud, D., Besancenot J. P. (2013). Methods of studying airborne pollen and pollen calendars. *Revue des Maladies Respiratoires*, 30:463-479.
- Thibaudon M., Sindt C. (2008). Mesure des allergènes de pollens d'arbre dans l'air (bouleau, olivier). *Revue française d'allergologie*

et d'immunologie clinique, 48:179-186.

- UE (1996). Directiva 96/62/CE sobre evaluación y gestión de la calidad del aire ambiente. Diario Oficial nº L 296 de 21/11/1996 p. 0055 – 0063.
- UE (2008). Directiva 2008/50/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de mayo de 2008 relativa a la calidad del aire ambiente y a una atmósfera más limpia en Europa. Diario Oficial nº L 152 de 11/5/2008. 44 pp.
- UE (1999). Directiva 1999/30/CE relativa a los valores límite de dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno y óxidos de nitrógeno, partículas y plomo en el aire ambiente. Diario Oficial nº L 163 de 29/06/1999 p. 0041 – 0060.
- USEPA (1986). Review of the National Ambient Air Quality Standards for Particulate Matter, Updated Assessment of Scientific and Technical Information, Addendum to the 1982 OAQPS Staff Paper, Report Number EPA 450/05 86-012, Strategies and Air Standards Div., Ofc. of Air Quality Planning and Standards, US EPA, Research Triangle Park, NC. Accesible on line en: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/910113UH.TXT?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1986+Thru+1990&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5Czyfiles%5CIndex%20Data%5C86thru90%5CTxt%5C00000026%5C910113UH.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C-&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=hpfr&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=1&SeekPage=x&ZyPURL#>. [29042018].
- USEPA. (1987). Revisions to the National Ambient Air Quality Standards for Particulate Matter. 40 CFR Part 5. Fed. Regist. 52: 24634–24669.

- USEPA. (1996). Air Quality Criteria for Particulate Matter. EPA/600/P-95/001aF. United States Environmental Protection Agency. Washington DC. Vols. I a III. Accesible on line en: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=2832>. [29042018].
- USEPA. (1999). Air Quality Criteria for Particulate Matter. EPA/600/P-99/002a. United States Environmental Protection Agency. Washington DC. Accesible on line en: <https://cfpub.epa.gov/ncea/isa/recordisplay.cfm?deid=12485>. [29042018].
- Valero, A.L., Picado, C. (2002). Polinosis. En: Valero, A.L., Cadahía, A. Eds. Polinosis: Polen y Alergia. Menarini. Barcelona. pp. 17-21. Accesible on line en: <https://www.menarini-ca.com/profesionales-de-la-salud/biblioteca/alergia/polinosis-polen-y-alergia.html>. [12012016]
- Vara A., Fernández-González M., Aira M.J., Rodríguez-Rajo F.J. (2016). *Fraxinus* pollen allergen concentration in Ourense (South-western Europe). Environmental Research, 147:241-248.
- Vincent, J.H. (1989). Aerosol sampling: science and practice. Ed. Wiley. Chichester.
- Vincent, J.H. (2007). Aerosol sampling: science, standards, instrumentation and applications. John Wiley & Sons. Chichester.
- Voltolini, S., Minale, P., Troise, C., Bignardi, D., Modena, P., Arroba, D., Negrini, A.C. (2000). Trend of herbaceous pollen diffusion and allergic sensitisation in Genoa, Italy. Aerobiologia, 16, 245–249.
- Walton, W.H. (1991). Airborne Dust. In *Mineral Fibers and Health* (Lidell, D. and Miller, K., pp. 55–78). Boca Raton: CRC Press.
- Wark, K., Warner, C.F. (1991). Contaminación del Aire: Origen y Control. Limusa Noriega. México. 193-202.
- Wickman, M. (2005). When allergies complicate allergies. Aller-

gy, 60Suppl 79: 14-8.

- Whitby K.T. (1978). The physical characteristics of sulfur aerosols. *Atmospheric Environment* 12:135-159.
- Willmer, P. (2011). *Pollination and floral ecology*. Princeton: Princeton Univ. Press.

