

Muestreo de aeroalérgenos polínicos. Análisis y comparativa de técnicas

Galán C, Plaza MP, Alcázar-Teno P

*Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, España
bv1gasoc@uco.es*

Durante las últimas décadas se viene observando un aumento en la prevalencia de asma y alergia en Europa, principalmente causada por partículas biológicas como el polen o esporas de hongos en el aire que respiramos, afectando a un 15-40 % de la población. Esta alergia llega a ser superior en niños, llegando a alcanzar porcentajes del 30-40 %, y actualmente se encuentra en aumento¹⁻².

Hoy en día se cuenta con redes de monitorización aerobiológica que permiten presentar el contenido de polen en el aire en cualquier lugar. A través del muestreo continuo del aire se están llegando a generar bases de datos históricas de las últimas décadas, con la posibilidad de generar previsiones, tanto a largo como a corto plazo, teniendo en cuenta variables meteorológicas que dependen del clima del lugar. Estas previsiones permiten a los pacientes de alergia planificar sus actividades diarias o estacionales y al mismo tiempo facilitan a los alergólogos planificar mejor sus tratamientos. Todos estos estudios son posibles gracias al uso de una metodología estandarizada por parte de las redes de monitorización de polen, como es el caso del Manual de Calidad de la Red Española de Aerobiología³ y los mínimos requerimientos propuestos en Europa por la European Aerobiology Society (EAS)⁴ para aquellas redes nacionales o regionales que forman parte de la European Aeroallergen Network (EAN). En la actualidad estamos implicados en tareas para la normalización del método de captura de polen a nivel europeo a través de AFNOR, CEN/TC 264/WG 39 "Ambient air - Sampling and analysis of airborne pollen grains and fungal spores for networks related to allergy - Volumetric Hirst method". El uso de un método estandarizado en Europa nos ha permitido el poder definir umbrales clínicos relevantes a la exposición de alérgenos polínicos, trabajo realizado a través de uno de los grupos de interés de la EAACI, IG Immunotherapy & Section Aerobiology and Pollution⁵.

El contenido de polen en el aire es un buen indicador del periodo de floración e intensidad de la floración en plantas anemófilas, de ahí su importancia en estudios sobre la fenología reproductora en plantas y su aplicación en ecología urbana, salud, agricultura y ciencias forestales. Sin embargo, en el caso de salud ambiental, desde hace tiempo existe la duda de si los recuentos de polen realmente representan la exposición a aeroalérgenos. El grano de polen representa el gametofito masculino en plantas superiores, con un

importante papel en la reproducción al transportar los gametos masculinos hasta los femeninos a través de la polinización. Las proteínas alérgicas de los granos de polen son en realidad proteínas de reconocimiento de las estructuras reproductoras femeninas con el objetivo de permitir el proceso de fecundación. Para ello, el grano de polen se expone a cierta hidratación al llegar al estigma, permitiendo su activación metabólica y emisión de alérgenos. Estos granos de polen tienen, por tanto, un comportamiento similar cuando se exponen a sustancias mucosas que permiten su hidratación, como es el caso de la mucosa nasal o conjuntival, provocando rinitis o conjuntivitis en pacientes de alergia, así como los casos de asma bronquial, al ser partículas de menor tamaño que pueden llegar a alcanzar las vías respiratorias inferiores.

Por este motivo, la emisión de alérgenos no siempre está asociada a la presencia de polen. En el proceso de emisión de polen desde la antera es necesario un tiempo suficientemente seco y soleado que permita la apertura de la antera y, una vez liberado, sea posible su dispersión y transporte. En el caso de los alérgenos, estos se liberan de cualquier parte de la planta, y especialmente del polen, en respuesta a distintos fenómenos externos que tienen que ver con una exposición a aumentos de humedad, por ejemplo el periodo previo a una tormenta⁶, a una exposición a ciertos elementos que le resulten extraños, como los contaminantes⁷, así como una mayor facilidad que el polen para ser transportados a larga distancia debido a su menor tamaño⁸⁻⁹. De ahí que, aunque las mayores concentraciones de alérgenos coinciden con altas concentraciones de polen durante su estación polínica, su comportamiento es más difícil de predecir al no depender tanto de la fenología de la planta. Algunos trabajos han realizado estudios en polen tomado directamente de la planta, como es el caso del abedul, así como a través de la detección de polen y alérgenos en el aire en diferentes áreas geográficas de Europa, poniendo de manifiesto una gran variación en el porcentaje de liberación de alérgenos del polen en diferentes árboles de un mismo lugar, en distintas regiones, años y días¹⁰⁻¹¹.

A lo largo de la historia son varios los captadores de polen y esporas que se han venido utilizando, aunque en Europa el captador volumétrico tipo Hirst¹² es el utilizado en las redes de monitorización polínica, como se ha comentado anteriormente. Sin embargo, para la

captura de alérgenos son varios los captadores utilizados con ventajas e inconvenientes que suelen poner en duda la eficiencia del aparato. En numerosos casos se han llegado a adaptar algunos de los captadores de polen para la detección de alérgenos, con el objetivo de comparar resultados. En el caso de los alérgenos, los resultados se obtienen a partir de pruebas de inmunoensayo y moleculares a través de la técnica ELISA, basada en la detección de antígeno o anticuerpo (proteína alérgica) mediante dos componentes acoplados: el anticuerpo específico de un antígeno determinado, y la enzima que activa la función de unión al antígeno.

Entre los captadores de alérgenos de alto volumen, uno de los primeros captadores en uso ha sido de tipo Accu-Vol (CAV), donde las partículas impactan en un filtro¹³, otros captadores se han basado en el diseño de cascada, con el fin de fraccionar las partículas que quedan detectadas en filtros de distinto tamaño. El proyecto HIALINE, financiado dentro del 7PM de la Unión Europea, se enfocó en estudios sobre el contenido de alérgenos en el aire y comparación de alérgenos mayoritarios con el polen aerovagante. El captador en cascada ChemVol, con un volumen de aspiración de 800 L/min, consta de tres posibles capas de captura progresivamente más finas, el sustrato de impacto es una espuma de poliuretano que permite reducir el rebote de partículas, facilitando el muestreo durante períodos prolongados¹¹. Otro captador de polen y alérgenos de alto volumen en uso es el Coriolis, diseñado para aspirar un volumen de hasta 200-350 L/min. En este caso las partículas quedan suspendidas en un líquido¹⁴. El estudio realizado en el proyecto MONALISA (LIFE05 ENV/F/000068), puso de manifiesto que la ventaja de este aparato es que la toma de datos se realiza en un solo vial, permitiendo en la misma muestra de líquido estudios sobre el contenido de polen y esporas, así como la detección de alérgenos. Sin embargo, estudios en el Sur de Europa ponen de manifiesto importantes diferencias en la detección de polen en comparación con el captador Hirst durante periodos calurosos del año, como es el caso de la primavera, por una posible evaporación del líquido¹⁵.

Otros captadores se basan en el diseño de aspiración de bajo volumen. Entre ellos se encuentra el captador Cyclone, un captador de alérgenos que funciona por fuerzas centrífugas de origen ciclónico, aspirando un volumen de aire de 16 L/min. Los alérgenos se detectan en tubos Eppendorf secos para el posterior análisis de inmunoensayo¹⁶. Estudios recientes ponen de manifiesto que aún cuando existe correlación significativa entre el contenido de polen y alérgenos en el aire, la relación alérgenos/polen varía entre años y no siempre coinciden, observándose que los años de menor

intensidad de la floración coinciden con una mayor producción de alérgenos, probablemente para asegurar la polinización^{9,17-20}. Por otro lado, el captador de cascada Andersen²¹ aspira una cantidad de 30 L/min con la posibilidad de muestrear con filtros hasta 7 estadios diferentes para la detección de partículas de diferente tamaño, con una importante detección de alérgenos en partículas submicrónicas, siendo estas frecuentes durante, antes y después de la floración²²⁻²³. Estos estudios se presentaron durante el proyecto ALERGEN, financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología CGL2006-12648-C03-01/BOS.

Aunque los resultados obtenidos con diferentes captadores son a menudo difíciles de comparar, debido a las diferencias en el diseño del captador, el tiempo de recolección, el flujo de aire y el método de análisis, estudios realizados con dos captadores en la misma localidad: Cyclone y ChemVol, de bajo y alto volumen de aspiración, respectivamente, han mostrado una similar distribución diaria de alérgenos durante la temporada de polen, aunque llegando a detectar mayores concentraciones con Cyclone, lo que reafirma la importancia en la captación de alérgenos de la veleta que posee este captador²⁴. Un comportamiento similar de aeroalérgenos mayoritarios y polen aerovagante durante la estación polínica pone de manifiesto que estudios sobre el contenido de polen en el aire representan una exposición de alérgenos, excepto en días con condiciones extremas en cuanto a variables meteorológicas o exposición a contaminantes.

El uso de diferentes protocolos para el muestreo, complica la comparación de resultados en diferentes estudios. Existe una clara necesidad de estandarización de los procedimientos de muestreo y analíticos que permitan estimar la exposición a los aeroalérgenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Laatikainen T, von Hertzen L, Koskinen JP, et al. Allergy gap between Finnish and Russian Karelia on increase. *Allergy*. 2011; 66:886-92.
2. Rönmark E, Bjerg A, Perzanowski M, et al. Major increase in allergic sensitization in schoolchildren from 1996 to 2006 in northern Sweden. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009; 124:357-63.
3. Galán C, Cariñanos P, Alcazar P, et al. Manual de Gestión y Calidad de la Red Española de Aerobiología (REA). Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba, España. 2007.
4. Galán C, Smith M, Thibaudon M, et al. EAS QC Working Group. Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiología*. 2014; 30:385-95.
5. Pfaar O, Bastl K, Berger U, et al. Defining pollen exposure times

- for clinical trials of allergen immunotherapy for pollen-induced rhinoconjunctivitis – an EAACI Position Paper. *Allergy*. 2107. DOI:10.1111/all.13092.
6. D'Amato, Liccardi G, Frenguelli G. Thunderstorm-asthma and pollen Allergy. *Allergy*. 2007; 62:11-6.
 7. D'Amato G. Urban air pollution and respiratory allergy. *Monaldi Archives Chest Disease*. 2002; 57:136-40.
 8. Galán C, Antunes C, Brandao R, et al. Airborne olive pollen counts are not representative of exposure to the major olive allergen Ole e 1. *Allergy*. 2013; 68:809–12.
 9. Moreno-Grau S, Aira MJ, Elvira-Rendueles B, et al. Assessment of the Olea pollen and its major allergen Ole e 1 concentrations in the bioaerosol of two biogeographical areas. *Atmospheric Environment*. 2016; 145:264–71.
 10. Buters JT, Weichenmeier I, Ochs S, et al. The allergen Bet v 1 in fractions of ambient air deviates from birch pollen counts. *Allergy*. 2010; 65: 850–8.
 11. Buters JT, Thibaudon M, Smith M, et al. Release of Bet v 1 from birch pollen from 5 European countries. Results from the HIALINE study. *Atmospheric Environment*. 2012; 55:496-505.
 12. Hirst J. An automatic volumetric spore-trap. *Annals Applied Biology*. 1952; 39:257-65.
 13. Johnsen CR, Weeke, ER, Nielsen J, et al. Aeroallergen analyses and their clinical relevance. *Allergy*. 1992; 47: 510-6.
 14. Carvalho E, Sindt C, Verdier A, Galan C, et al. Performance of the Coriolis air sampler, a high-volume aerosol-collection system for quantification of airborne spores and pollen grains. *Aerobiologia*. 2008; 24:191–201.
 15. Gómez-Domenech M, García-Mozo H, Alcázar P, et al. Evaluation of Coriolis air sampler efficiency for pollen detection. *Aerobiologia*. 2009; 26:149–55.
 16. Emberlin J. Plant allergens on pauci-micronic airborne particles. *Clinical & Experimental Allergy*. 1995; 25:202-5.
 17. Fernández-González D, González-Parrado Z, Vega-Maray AM, et al. Platanus pollen allergen, Pla a 1: quantification in the atmosphere and influence on a sensitizing population. *Clinical Experimental Allergy*. 2010; 40:1701-8.
 18. Fernández-González D, Rodríguez Rajo F, González Parrado Z, et al. Differences in atmospheric emissions of Poaceae pollen and Lol p 1 allergen. *Aerobiologia*. 2011; 27:301-9.
 19. Plaza MP, Alcázar P, Galán C. Correlation between airborne Olea europaea pollen concentrations and levels of the major allergen Ole e 1 in Córdoba, Spain, 2012-2014. *International Journal of Biometeorology*. 2016a; 60:1841-7.
 20. Plaza MP, Alcázar P, Hernández-Ceballos MA, et al. Mismatch in aeroallergens and airborne grass pollen concentrations. *Atmospheric Environment*. 2016b; 144:361-9.
 21. Andersen AA. New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. *Journal of Bacteriology*. 1958; 76: 471.
 22. De Linares CD, Nieto-Lugilde F, Alba C, et al. Detection of airborne allergen (Ole e 1) in relation to Olea Europaea pollen in S Spain. *Clinical and Experimental Allergy*. 2007; 37:125-32.
 23. De Linares C, Díaz de la Guardia C, Nieto Lugilde D et al. Airborne study of grass allergen (Lol p 1) in different-sized particles. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2010; 152:49-57.
 24. Plaza MP, Alcázar P, Velasco-Jiménez MJ, et al. Aeroallergens: a comparative study of two monitoring methods. *Aerobiologia*. 2017. DOI 10.1007/s10453-017-9475-5.