

Informe de resultados de los Contratos OTRI-UGR 5853 y UAB CF619058 / I073001

ESTUDIO DE LA EFICACIA DE UN PURIFICADOR DE AIRE SOBRE LA VIABILIDAD Y ALERGENICIDAD DE LOS GRANOS DE POLEN

Empresa solicitante: Corporación Empresarial Altra S.L.

Calle Marie Curie nº 21 29590 Campanillas (Málaga)

Informe realizado por:

Dra. Concepción De Linares Fernández

Profesora Titular de Universidad

Universidad de Granada

Dra. Jordina Belmonte Soler

Profesora Titular de Universidad

Universitat Autònoma de Barcelona

Granada

Bellaterra (Cerdanyola del Vallès, Barcelona)

04 de Octubre de 2023

I. INTRODUCCIÓN

En este informe se presentan los resultados obtenidos en los experimentos realizados de acuerdo a la memoria del contrato entre la empresa Corporación Empresarial Altra, S.L., la Universidad de Granada y la Universitat Autònoma de Barcelona para la realización de un trabajo de carácter científico técnico.

II. OBJETIVOS

El objetivo general del presente contrato es el de comprobar la eficacia higienizante de un aparato ionizador que posee la Corporación Empresarial Altra, S.L. frente a partículas biológicas como granos de polen y sus alérgenos.

Para ello se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar la viabilidad del grano de polen después de tratarse con el ionizador a diferentes tiempos de exposición y con diferentes tipos polínicos (en concreto con granos de polen de los géneros *Betula* y *Olea*).
- Estudiar la capacidad alérgica del grano de polen (de *Betula* y *Olea*) después de tratarse con el ionizador a diferentes tiempos de exposición (en concreto, estudiando la capacidad alérgica de los alérgenos Bet v 1 para *Betula* y Ole e 1 para *Olea* a 1 y 24 horas).
- Estudiar la viabilidad de una determinada carga alérgica después de tratarse con el ionizador a diferentes tiempos de exposición y con diferentes tipos de alérgenos y concentraciones (en concreto, estudiando la capacidad alérgica de los alérgenos Bet v 1 para *Betula* y Ole e 1 para *Olea* en concentraciones de 200, 50 y 15ng/mL).

III. DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS Y LAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS

Los ensayos realizados para comprobar el efecto de la ionización sobre la viabilidad de los granos de polen y alérgenos se han realizado a dos tiempos de exposición: 1 hora y 24 horas ininterrumpidas. Para ello se utilizaron dos urnas de metacrilato herméticamente selladas propiedad de la Corporación Empresarial Altra, S.L. dentro de las cuales se colocaron dos dispositivos con ventilación mecánica con el fin de crear corrientes de aire durante el ensayo. Una de las cámaras actuó como cámara *Control* (solo hubo ventilación mecánica) y otra cámara como cámara *Ionizante* (en la cual, junto al ventilador, se encontraba funcionando el aparato de ionización). En ambas cámaras se realizaron idénticos experimentos con el fin de comparar la evolución de los granos de polen y sus alérgenos en condiciones ionizante y neutral. A su vez, ambas cámaras estuvieron instaladas en el interior de una cámara de flujo laminar, la cual estuvo en funcionamiento durante todo el ensayo con el objetivo de evitar contaminaciones externas durante el periodo de funcionamiento de los ventiladores y aparato de ionización.

Para este estudio se han manejado dos tipos polínicos, *Betula* y *Olea*, de los cuales se estudiaron la viabilidad (o capacidad de fertilizar) de los mismos y la capacidad alérgica antes y después de los experimentos. Para ello, se utilizaron granos de polen naturales recolectados en 2023 en la provincia de Barcelona, en el caso de *Betula* y, en el caso de *Olea*, en la provincia de Granada. Cada muestra o réplica estaba formada por una cinta Melinex (0,5x1,5cm) sobre la cual se depositaron aproximadamente 1000 granos de polen. El ensayo de los granos de polen se realizó con dos objetivos: estudiar la viabilidad y la alergenidad del grano de polen después de la ionización. El número total de réplicas utilizadas para cada uno de estos dos ensayos fueron 32 (16 para la cámara *Control* y 16 para la cámara *Ionizante*). Las réplicas a su vez se agruparon de dos en dos para ser colocadas en las cámaras de manera controlada (Figura 1 y 2). En las posiciones donde se encontraba el ventilador (/ionizador) las muestras fueron reubicadas en aquellas posiciones inmediatamente anteriores y posteriores (ver en la Figura 1, por

ejemplo, H3-5, A11-12 y otros).

Identificación muestras	Tipo muestra						
J1, ..., J16	Polen Olea viabilidad						
L1, ..., L16	Polen Olea alergenicidad						
N1, ..., N16	Ole e 1_200 ng/mL						
O1, ..., O16	Ole e 1_50 ng/mL						
P1, ..., P16	Ole e 1_15 ng/mL						
A1, ..., A16	Polen Betula viabilidad						
C1, ..., C16	Polen Betula alergenicidad						
F1, ..., F16	Bet v 1_200 ng/mL						
G1, ..., G16	Bet v 1_50 ng/mL						
H1, ..., H16	Bet v 1_15 ng/mL						

J1-2	H3-5	G6-8	Ventilador / Ionizador		A11-12	P13-14	O15-16
L1-2	J3-4	H6-8			C9-11	A13-14	P15-16
N1-2	L3-4	J5-6			F9-11	C12-14	A15-16
O1-2	N3-4	L5-6	J7-8	H9-10	G9-11	F12-14	C15-16
P1-2	O3-4	N5-6	L7-8	J9-10	H11-12	G12-14	F15-16
A1-2	P3-4	O5-6	N7-8	L9-10	J11-12	H13-14	G15-16
C1-2	A3-4	P5-6	O7-8	N9-10	L11-12	J13-14	H15-16
F1-2	C3-4	A5-6	P7-8	O9-10	N11-12	L13-14	J15-16
G1-2	F3-5	C5-6	A7-8	P9-10	O11-12	N13-14	L15-16
H1-2	G3-5	F6-8	C7-8	A9-10	P11-12	O13-14	N15-16

Figura 1: Códigos asignados a las muestras del experimento y diagrama de colocación de las mismas en las cámaras *Control* e *Ionizante*.

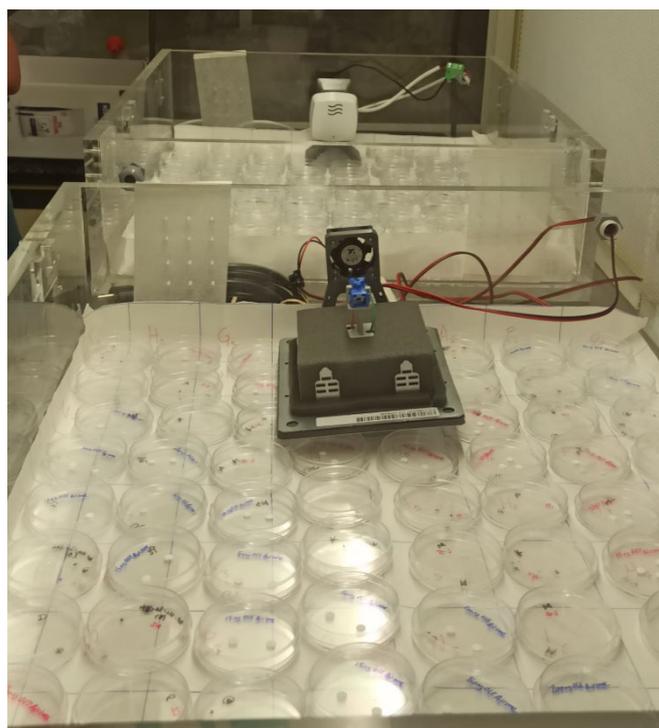


Figura 2: Colocación de las muestras en las cámaras *Control* (fondo de la imagen) e *Ionizante* (frente de la imagen).

Para el primer ensayo, una vez expuestos los granos de polen a ventilación-ionización y solo ventilación, se realizó un estudio de viabilidad utilizando una solución azul tripán (Fluka, Switzerland) en PBS (phosphate buffered saline) mediante dilución 1:1. Cada una de las cintas de Melinex correspondientes al polen de *Betula* (Código A1-A16) y polen de *Olea* (Código J1-J16) se colocó sobre un portaobjetos y se añadieron 40 μ l de solución tripán y un cubreobjetos. Transcurridos 10 minutos se procedió a su observación al microscopio óptico realizando un conteo de granos de polen, hasta alcanzar un mínimo de 100 granos de polen viable. La tinción con azul tripán (o método de exclusión del azul tripán) se basa en que el colorante no puede pasar dentro de la célula si tiene la membrana plasmática intacta. De esta

manera, aquellos granos que no se tiñan corresponden a granos de polen viables mientras que, cuando el grano de polen esté dañado (no es viable), el colorante penetrará, se unirá a las proteínas presentes dentro de la célula y dará lugar a un color azul intenso. Al ser ésta una técnica aceptada y utilizada en estudios de viabilidad de células cultivadas (Rejón-García et al. 2010; Ramírez-Aliaga et al. 2022), se ha considerado utilizarla para el presente estudio de viabilidad después de la exposición al ionizador.

En el caso del estudio de la alergenicidad del grano de polen, tras la exposición de los granos de polen se realizó un ensayo inmunológico tipo ELISA doble sándwich (Arilla et al. 2002; InBio Biotechnologies). Bet v 1 fue cuantificado utilizando anticuerpos monoclonales adquiridos a la empresa farmacéutica InBio (Cardiff, United Kingdom), mientras que para Ole e 1, se utilizaron anticuerpos monoclonales procedentes de la empresa farmacéutica Roxall Group (Bilbao, España).

Por otro lado, se realizó un estudio de variación de la capacidad alergénica utilizando dos alérgenos mayoritarios: Bet v 1 y Ole e 1 a diferentes concentraciones (200 ng/mL, 50 ng/mL y 15 ng/mL). Para este estudio de nuevo se realizaron 32 réplicas para cada concentración. El alérgeno purificado Bet v 1 se adquirió en la empresa farmacéutica InBio (Cardiff, United Kingdom) y Ole e 1, en la empresa farmacéutica Roxall Group (Bilbao, España). Cada réplica de alérgeno se realizó depositando en un disco de 0.5cm de diámetro de filtro de fibra de vidrio, 20µL de solución alergénica (Bet v 1, Ole e 1) a diferentes concentraciones (200, 50, 15 ng/mL). Las muestras se agruparon de dos en dos para ser colocadas en la cámara de manera controlada (Figuras 1 y 2). El análisis de alergenicidad de las muestras se realizó mediante un ensayo inmunológico tipo ELISA doble sándwich (Arilla et al. 2002; InBio Biotechnologies). Para ello, posterior a la exposición y previo al análisis ELISA, los filtros fueron hidratados con PBS (phosphate buffered saline) durante seis horas para facilitar la liberación del alérgeno del filtro.

Los resultados de los ensayos fueron sometidos a un análisis estadístico para conocer si el efecto ionizante sobre la viabilidad de los granos de polen y la alergenicidad de Bet v 1 y Ole e 1 mostraba diferencias significativas. Para ello se ha seleccionado el análisis no paramétrico Test de Mann-Whitney que nos permite medir la varianza por rangos del conjunto de datos. Esta prueba compara los promedios o medianas de K muestras independientes y decide si éstas proceden de poblaciones idénticas con respecto a los promedios. Las hipótesis que se trata de contrastar son: H0= Las medianas de las poblaciones consideradas son iguales; H1= Al menos una de las poblaciones tiene mediana distinta a las otras. A la hora de interpretar los resultados, se debe tener en cuenta el valor de P o “p valor”, de tal forma que, si éste es menor de 0,05, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se concluye que las muestras son diferentes, o al menos una de ellas tiene mediana distinta a las otras, por lo que existe un efecto ionizante sobre los granos de polen o alérgenos. Por el contrario, si “p valor” es mayor de 0,05 se acepta la hipótesis nula (H0), concluyéndose que las poblaciones consideradas son todas iguales y, por tanto, la ionización no ha provocado cambios en el grano de polen o alérgenos.

IV. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Determinación de la viabilidad del polen y del alérgeno Bet v 1 de *Betula*

El abedul (*Betula* spp.) es un árbol caducifolio de la familia Betulaceae considerado como un género pionero en la naturaleza y utilizado como ornamental en entornos urbanos. Su presencia está muy extendida en el hemisferio norte siendo su distribución principal las regiones del norte y centro de Europa. Sus flores son unisexuales y están agrupadas en inflorescencias colgantes denominadas amentos. La polinización de este género es anemófila (el polen se transporta por el viento) siendo su periodo de máxima concentración en el aire en los meses de marzo-mayo (Biedermann et al., 2019).

El polen de *Betula* es un aeroalérgeno importante, común en el aire de muchas ciudades europeas. Se calcula que el polen de abedul provoca síntomas alérgicos en el 10-20 % de los pacientes sensibilizados

en los países del norte de Europa (Bousquet et al. 2007) variando del 13% en Austria hasta el 54% en la República Checa (Biedermann et al., 2019). El principal alérgeno del polen de abedul es Bet v1. Se trata de una proteína de 17,4 kDa identificada como profilina la cual facilita, entre otras cosas, la germinación del tubo polínico, estando presente, e incluso almacenada, en el citoplasma del grano de polen (Asam et al. 2015). Estudios realizados sobre la presencia de este alérgeno en la atmósfera han determinado que éste no solo se encuentra presente en el grano de polen, sino que esta proteína puede permanecer libre en la atmósfera y provocar síntomas alérgicos en momentos en los que no hay presencia de polen (Schäppi et al. 1997; Buters et al. 2012; Maya-Manzano et al. 2022). El estudio del efecto higienizante del ionizador sobre partículas biológicas que provocan alergia respiratoria debe, por todo lo explicado anteriormente, abarcar tanto el estudio de la viabilidad del grano de polen de *Betula* como la capacidad alergénica del propio grano de polen, así como del alérgeno propiamente dicho.

Los ensayos realizados sobre la viabilidad de los granos de polen de *Betula* tras 1 hora y 24 horas de exposición se muestran en la tabla 1 y la figura 3. Los resultados han sido obtenidos analizando un total de 16 réplicas de 1000 granos de polen ubicadas en la cámara *Control* y 16 réplicas de 1000 granos de polen procedentes de la cámara *Ionizante* para 1 y 24 horas. Habiendo contabilizado el total de granos de polen hasta alcanzar un mínimo de 100 granos de polen viables en cada réplica, se realizó el cálculo del porcentaje de polen no viable frente a viable en *Control* e *Ionizante* obteniéndose que en ambos ensayos (1h y 24h) se producía una reducción de la viabilidad del grano de polen de abedul. Sin embargo, se observa que la exposición más prolongada a la ionización resulta más eficaz (del 2,99% en el caso de una ionización de 1 hora, y del 12,9% para 24 horas) estando incluso estadísticamente contrastado confirmando, por tanto, que se produce una reducción de la viabilidad del grano de polen del 12.9% tras 24 horas de ionización.

BETULA

		Reducción alergenidad	p valor Test Mann-Whitney
1h	Polen viabilidad (n=32)	2,99%	0,168
24h	Polen viabilidad (n=32)	12,90%	0,001*

Tabla 1. Viabilidad de los granos de polen de *Betula* sometidos a 1 hora y 24 horas de ionización.

La Figura 3 presenta un ejemplo de la reducción de viabilidad observada en polen de abedul tras la tinción con azul tripán.

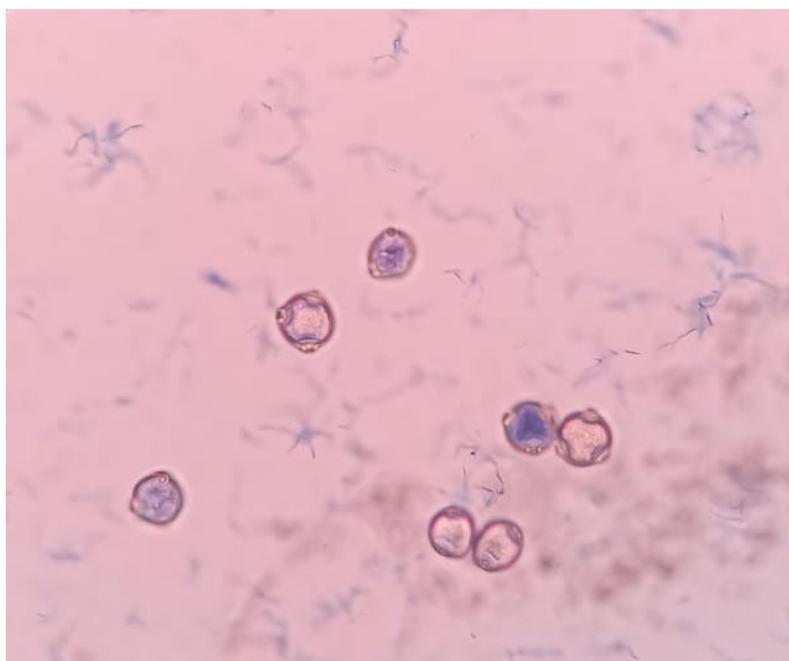


Figura 3: Ejemplo ilustrativo de la viabilidad (granos de polen de color amarillento) y no viabilidad (granos de polen de color azul) observada tras los ensayos de ionización. Se identifican 4 granos de polen viables frente a 3 no viables.

Los datos obtenidos relativos a la capacidad alergénica del grano de polen de abedul y del alérgeno Bet v 1 tras el efecto de la ionización se muestran en la tabla 2. De acuerdo con estos experimentos, la reducción de alérgenos en una muestra de granos de polen naturales con y sin ionización a 1 o 24 horas no arroja resultados concluyentes. El hecho de utilizar granos de polen naturales y dejarlos en las cámaras el tiempo establecido con un mecanismo de ventilación constante puede haber influido la pérdida de granos de polen en las muestras. Tal vez por ello los resultados no muestran una concentración de alérgeno constante en cada uno de los experimentos (cámara *Control* vs. cámara *Ionizante* / 1h vs. 24h), por lo que se debe descartar el experimento al no conocer la concentración polínica existente en cada una de las réplicas. Este hecho se contrasta además porque los resultados de concentración de alérgenos han mostrado ser bajos y altos en cualquiera de los 4 experimentos realizados sin presentar en ninguno de los ensayos un patrón coherente.

Por otro lado, los resultados del estudio de la alergenicidad partiendo de concentraciones conocidas de alérgenos indican que, tanto en ensayos de 1 hora como 24 horas, la reducción de alergenicidad está íntimamente ligada a la concentración de alérgenos de la muestra. De esta forma, a bajas concentraciones (15 ng/mL) no existe ningún efecto ionizante, a concentraciones medias (50 ng/mL) se produce una reducción de la capacidad alergénica, y a concentraciones elevadas la reducción es marcadamente superior siendo, sólo en este caso, estadísticamente significativa. De la misma manera, se observa que la reducción de la alergenicidad es mayor cuanto más tiempo se realiza la ionización, resultado que, a 24 horas de exposición, en muestras con 200 ng/mL de Bet v 1, se produce una reducción del 58,6%, frente al 22,3% para el ensayo de 1 hora.

BET V 1

		Reducción alergenicidad	p valor Test Mann-Whitney
1h	Polen	NA	NA
	200 ng/mL (n=32)	23,22%	0,004*
	50 ng/mL (n=32)	1,38%	0,865
	15 ng/mL (n=32)	0,00%	0,838
24h	Polen	NA	NA
	200 ng/mL (n=32)	58,62%	0,000*
	50 ng/mL (n=32)	7,14%	0,062
	15 ng/mL (n=32)	0,00%	0,067

Tabla 2. Reducción de la alergenicidad del polen de *Betula* y alérgeno Bet v 1 sometidos a ionización 1h y 24h. NA: no aplica.

En relación a este experimento se determina que la ionización durante 1 y 24 horas en polen de *Betula* causa una reducción de su viabilidad, siendo el tratamiento de 24 horas el que muestra resultados estadísticamente significativos. En cuanto a la alergenicidad, la ionización produce una reducción de la alergenicidad en función de su concentración, donde a una mayor concentración de Bet v 1, mayor capacidad de desnaturalización, sin embargo, estos resultados son contrastados estadísticamente solo para concentraciones de 200 ng/mL.

Determinación de la viabilidad del polen y del alérgeno Ole e 1 de *Olea*

El Olivo (*Olea europaea*) es un árbol que puede alcanzar hasta 5 metros de altura, que presenta hojas opuestas y perennes, con envés blanquecino. Es abundante en entornos mediterráneos, donde se cultiva y se usa como ornamental. Sus flores, agrupadas en inflorescencias en racimos axilares, son hermafroditas, con 4 pétalos blanco-amarillentos y dos prominentes estambres. El tipo de polinización es principalmente anemófila (polen transportado por el viento) presentando su periodo de máxima dispersión en los meses de abril-junio (Díaz de la Guardia et al. 2003). Su fruto es una drupa conocida comúnmente como aceituna.

El polen de *O. europaea* es la principal causa de alergia en el área mediterránea (D'Amato et al. 2007), segunda en España tras el polen de Gramíneas (Ojeda et al., 2018) y primera causa en Andalucía (SEAIC, 2017). Se han identificado y caracterizado 13 alérgenos en el polen de *Olea*. El principal y más estudiado es Ole e 1, una proteína reconocida como alérgeno mayoritario, con un peso molecular de 20 kDa que representa el 20% del contenido proteico en el polen (Rodríguez et al., 2002). Ole e 1 es un alérgeno específico que se detecta solo en el tejido del polen y no en tejidos de hojas, frutos o tallos (Villalba et al., 1994). Los ensayos de inmunolocalización determinan que se almacena principalmente en el retículo endoplásmico (Alché et al., 1999), mientras que en las etapas maduras de los granos de polen esta proteína también se puede encontrar en la exina, donde podría participar en el reconocimiento entre el polen y el estigma o entre el tubo polínico y las células del estigma (Alché et al., 2004). Números estudios han determinado que la sintomatología alérgica a Ole e 1 no solo viene determinada por la presencia del grano de polen en el aire, sino que este alérgeno también está presente en la atmósfera de forma libre pudiendo generar sintomatologías alérgicas más graves como el asma (De Linares et al, 2007; Plaza et al. 2016; García-Sánchez et al. 2019). Por todo ello, en el presente estudio del efecto higienizante de un ionizador, se hace necesario analizar tanto la viabilidad y capacidad alergénica del propio grano de polen como la capacidad alergénica de estas proteínas de forma independiente. Así se abarcarían todas las formas en las que la persona alérgica puede entrar en contacto con Ole e 1 y se podría considerar si el ionizador cumple o no su función.

Los resultados del ensayo de viabilidad del grano de polen de olivo tras el tratamiento de ionización a 1 hora y 24 horas se muestran en la Tabla 3. En dicha tabla se muestran los resultados calculados a partir de la comparación de la viabilidad de los granos en la cámara *Control* (16 réplicas) frente a la viabilidad de los granos en la cámara *Ionizante* (16 réplicas). Como puede observarse, pese a que en los dos ensayos existe una reducción de la viabilidad del polen de olivo (5,4% en tratamiento de 1h de ionización; 11,5% en tratamiento de 24h), el análisis estadístico determina que únicamente el tratamiento a 24 horas provoca una reducción significativa en la viabilidad de este tipo polínico.

OLEA		Reducción viabilidad	p valor Test Mann-Whitney
1h	Polen viabilidad	5,8%	0,177
24h	Polen viabilidad	11,5%	0,013*

Tabla 3. Viabilidad de los granos de polen de *Olea* sometidos a 1 hora y 24 horas de ionización.

Al igual que en la figura 3, la figura 4 presenta un ejemplo de la reducción de viabilidad para el grano de polen de olivo observada mediante la tinción con azul tripán.



Figura 4: Ejemplo ilustrativo de la viabilidad (granos de polen color amarillento) y no viabilidad (granos de polen de color azul) observada tras los ensayos de ionización. Se identifican 6 granos de polen viables frente a 9 no viables.

Los resultados obtenidos en el estudio de la capacidad alergénica del polen de *Olea* y su alérgeno mayoritario Ole e 1 tras el efecto de la ionización se muestran en la tabla 4. Tal y como ocurrió con la alergenicidad del polen de *Betula*, los resultados para *Olea* no son concluyentes. De nuevo se aprecian concentraciones alergénicas elevadas y bajas sin relación al tipo de experimento (1 hora- 24 horas) o cámara de muestreo (*Control- Ionizante*). Por ello se descarta el experimento apareciendo como No Aplicable (NA) en la tabla de resultados.

La capacidad alergénica de Ole e 1 a concentraciones conocidas (200, 50, 15 ng/mL) tras la ionización durante 1 hora y 24 horas se muestra en la tabla 4. Ambos ensayos (1 hora y 24 horas) muestran una reducción de la capacidad alergénica en función de las concentraciones de alérgenos iniciales (más alérgeno-más reducción; menos alérgeno-menos reducción). En el ensayo de 1 hora, el análisis estadístico muestra que este hecho es lo suficientemente significativo como para establecer el patrón de reducción de la capacidad alergénica, confirmándose que, a mayor concentración de alérgeno, mayor es la capacidad de reducción de la alergenicidad. Sin embargo, los datos obtenidos a las 24 horas de ionización no arrojan las mismas conclusiones de forma tan categórica. Aunque parece existir un descenso de capacidad alergénica, el análisis Man-Whitney no muestra diferencias estadísticamente significativas a pesar de que los p valores en 200ng/mL y 50ng/mL estén cercanos a 0,05.

OLE E 1		Reducción alergenicidad	p valor Test Mann-Whitney
1h	Polen	NA	NA
	200 ng/mL (n=32)	53,34%	0,001*
	50 ng/mL (n=32)	38,22%	0,001*
	15 ng/mL (n=32)	15,17%	0,065
24h	Polen	NA	NA
	200 ng/mL (n=32)	21,43%	0,073
	50 ng/mL (n=32)	13,82%	0,055
	15 ng/mL (n=32)	5,27%	0,346

Tabla 4. Reducción de la alergenicidad del polen de *Olea* y del alérgeno Ole e 1 sometidos a ionización 1h y 24h. NA: no aplica.

Por todo ello se concluye que la ionización durante 1 y 24 horas para el polen de *Olea* muestra afectación de la viabilidad en el grano de polen resultando ser estadísticamente significativo a las 24 horas de tratamiento. En el caso de la alergenicidad, la ionización produce una reducción del alérgeno en función de su concentración.

VI. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el estudio de la eficacia de un purificador de aire sobre la viabilidad y alergenicidad de los granos de polen de *Betula* y *Olea* se puede concluir:

- El purificador de aire mediante proceso de ionización utilizado en este ensayo ha mostrado tener un efecto reductor sobre la viabilidad del grano de polen y sobre la actividad alérgica de los alérgenos polínicos testados.
- La ionización en presencia de una corriente de aire durante 24 horas ininterrumpidas provoca una reducción entorno al 11-13% de la viabilidad del grano de polen de *Betula* (12,9%) y *Olea* (11,5%).
- La capacidad alérgica de los granos de polen de *Betula* y *Olea* después de un proceso de ionización en presencia de una corriente de aire no ha podido determinarse. Se estima que el movimiento generado por el ventilador ha desplazado granos de polen, provocado una disminución en las concentraciones iniciales de polen en cada una de las réplicas que no se han podido cuantificar. Por ello, el experimento basado en el uso de una cinta Melinex para la exposición de polen y posterior estudio de alergenicidad no es válido.
- La ionización en presencia de una corriente de aire durante 1 hora y 24 horas ininterrumpidas ha mostrado tener un efecto reductor sobre la capacidad alérgica de Ole e 1 a diferentes concentraciones. Sin embargo, únicamente en concentraciones de 200 ng/mL ha demostrado ser estadísticamente eficaz, no habiéndose encontrado significación a 50 y 15 ng/mL.
- La ionización en presencia de una corriente de aire durante 1 hora y 24 horas ininterrumpidas ha tenido un efecto reductor estadísticamente significativo sobre la capacidad alérgica de Ole e 1 a 1 hora, pero no a 24 horas ya que no se ha encontrado una significación lo suficientemente robusta como para aceptar esa capacidad de reducción.

BIBLIOGRAFIA

- Alché J.D., Castro A.J., Olmedilla A. et al. The major olive pollen allergen (Ole e 1) shows both gametophytic and sporophytic expression during anter development, and its synthesis and storage takes place in the RER. *J Cell Sci* 1999; 112:2501-9.
- Alché J.D., Mrani-Alaoui M., Castro A.J., Rodríguez-García M.I. Ole e 1, the major allergen from olive (*Olea europaea* L.) Pollen, increases its expression and is released to the culture medium during in vitro germination. *Plant Cell Physiol* 2004; 45:1149-57.
- Arilla M.C., Eraso E., Ibarrola I., Algorta J., Martínez A., & Asturias, J. A. Monoclonal antibody-based method for measuring olive pollen major allergen Ole e 1. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2002, 89(1), 83-89.
- Asam C., Hofer H., Wolf M., Aglas L., Wallner M. Tree pollen allergens—an update from a molecular perspective. *Allergy* 2015, 70(10), 1201-1211.
- Biedermann T., Winther L., Till S.J., Panzner P., Knulst A., Valovirta E. Birch pollen allergy in Europe. *Allergy* 2019, 74(7), 1237-1248.

- Bousquet J., Clark T.J.H., Hurd S., Khaltaev N., Lenfant C., O'byrne P., Sheffer A. GINA guidelines on asthma and beyond. *Allergy* 2007, 62, 102–112.
- Buters J. T., Thibaudon M., Smith M., Kennedy R., Rantio-Lehtimäki A., Albertini R., ... HIALINE Working Group. Release of Bet v 1 from birch pollen from 5 European countries. Results from the HIALINE study. *Atmospheric Environment* 2012, 55, 496-505.
- D'Amato G., Liccardi G., Frengueli G. Thunderstorm-asthma and pollen allergy. *Allergy* 2007, 62, 11–6. doi: 10.1111/j.1398-9995.2006.01271.x
- De Linares C., Nieto-Lugilde D., Alba F., Díaz De La Guardia C., Galán C., Trigo M. M. Detection of airborne allergen (Ole e 1) in relation to *Olea europaea* pollen in S Spain. *Clinical & Experimental Allergy* 2007, 37(1), 125-132.
- Díaz de la Guardia C., Alba F., Trigo, M.M., Galán C., Ruíz L., Sabariego S. Aerobiological analysis of *Olea europaea* L. pollen in different localities of southern Spain: Forecasting models. *Grana* 2003, 42(4), 234-243.
- García-Sánchez J., Trigo M.M., Recio M. Extraction and quantification of Ole e 1 from atmospheric air samples: An optimized protocol. *Chemosphere* 2019, 225, 490-496.
- InBio Biotechnologies. Available online: <https://inbio.com/elisa-kits/> (accessed on 18 July 2023).
- Maya-Manzano J. M., Oteros J., Rojo J., Traidl-Hoffmann C., Schmidt-Weber C., Buters J. Drivers of the release of the allergens Bet v 1 and Phl p 5 from birch and grass pollen. *Environmental Research* 2022, 214, 113987.
- Ojeda P., Sastre J., Olaguibel J.M., Chivato T. Alergológica 2015: A National Survey on Allergic Diseases in the Adult Spanish Population. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology* 2018, 28(3), 151-164.
- Plaza M.P., 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* 2016, 60, 1841-1847.
- Ramírez-Aliaga P., Foyo-Moreno I., Cariñanos P. Effects of Environmental Stress on the Pollen Viability of Ornamental Tree-Species in the City of Granada (South-Eastern Spain). *Forests* 2022, 13(12), 2131.
- Rejón-García J. D., Suárez C., Alché Ramírez J.D.D., Castro A.J., Rodríguez García M.I. Evaluación de diferentes métodos para estimar la calidad del polen en distintos cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). *Polen* 2010, 20: 61-72.
- Rodríguez R., Villalba M., Batanero E. et al. Allergenic diversity of the olive pollen. *Allergy* 2002; 57:6–16.
- Schäppi G.F., Suphioglu C., Taylor P.E., Knox, R.B. Concentrations of the major birch tree allergen Bet v 1 in pollen and respirable fine particles in the atmosphere. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1997, 100(5), 656-661.
- SEaic (2017). Alergológica 2015. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Alergológica 2015. Madrid: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Edit. Draft Grupo de Comunicación Healthcare. Madrid.
- Villalba M, Batanero E, Monsalve RI, González de la Peña MA, Lahoz C, Rodríguez R. Cloning and expression of Ole e 1, the major allergen from olive tree pollen. *J Biol Chem* 1994; 269:15217–22.
-