

## JOINT MODELS OF ASSOCIATION BETWEEN COMMUNITY-AVERAGE POLLUTANT CONCENTRATIONS AND LUNG-FUNCTION II. THE PROINFLAMMATORY EFFECTS OF FINE PARTICLE

CULEA CĂTĂLINA MIHAELA<sup>1</sup>, CULEA GEORGE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> "Vasile Alecsandri" University of Bacău, Calea Mărășești 156, Bacău, 600115, Romania

**Abstract:** These studies continue to evaluate the prevalence of allergies and the severity of asthma and to identify the risk factors associated with the proximity of traffic in Bacău's region. Our results sustained a very recent hypothesis that changes in allergies prevalence observed last decade might be related to the interactions between allergens and traffic-related pollution. It was employed an semi-individual design to report individual data on allergy and asthma - 318 school children ( $10,4 \pm 0,5$  years), attending 8 randomly chosen schools in Bacău region - the concentrations of NO<sub>2</sub> and PM<sub>2,5</sub> assessed in proximity of their homes. The protocol includes medical tests for skin examination like skin prick test (SPT) to common allergens, test for flexural dermatitis, exercise-induced bronchial (EIB) reactivity and a standardised health questionnaire. Further longitudinal investigations are needed to corroborate our findings.

**Keywords:** fine particles, PM<sub>2,5</sub>, SPTs, EIB reactivity, NO<sub>2</sub>

### 1. INTRODUCTION

L'effort de recherche épidémiologique, considérable au cours de la dernière décennie, a bien montré que les conséquences sanitaires les plus préoccupantes concernent les effets à long terme, alors que l'accent avait été initialement mis sur les effets aigus des fluctuations des concentrations de polluants. La diminution de l'espérance de vie après exposition prolongée à la pollution urbaine, d'origine cardiorespiratoire, est maintenant admise et l'on essaye de la chiffrer au mieux [1]. Ces dernières années, l'accent a été mis sur les effets extrarespiratoires des polluants atmosphériques. Les études épidémiologiques ont montré que l'impact cardiovasculaire des polluants est plus important que leur impact respiratoire. On a notamment mis en évidence un risque d'insuffisance cardiaque congestive et de récurrence d'infarctus du myocarde chez des patients vivant dans des zones géographiques dans lesquelles la pollution particulaire est plus élevée [2].

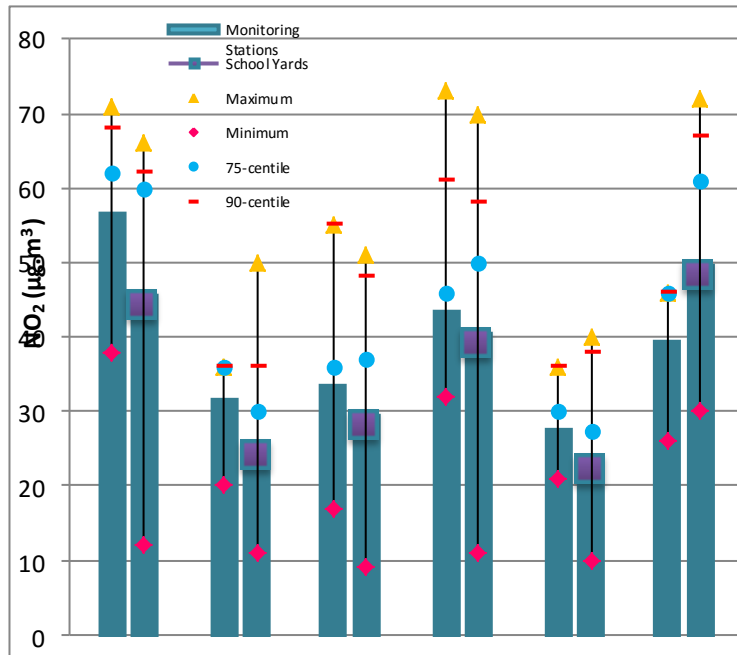
Les particules fines ont été liées à des allergies par des données expérimentales et épidémiologiques ayant des données agrégées utilisées ou concentrations fournies par les stations de surveillance sur site fixe, qui peuvent avoir conduit à une classification erronée de l'exposition individuelle à la pollution.

### 2. DESCRIPTION DE L'APPLICATION

On a utilisé une conception semi-individuelle de rapporter les données individuelles sur l'asthme et l'allergie de 318 enfants d'âge scolaire ( $10,4 \pm 0,5$ ans) fréquentant 8 écoles choisies au hasard dans Bacău les concentrations de PM<sub>2,5</sub> (particules fines d'un diamètre aérodynamique  $\leq 2,5 \mu\text{m}$ ) évalué à proximité de leurs maisons. Les facteurs de confusion potentiels et NO<sub>2</sub>, un autre polluant majeur lié à la circulation, en tant qu'agent modifiant potentiel étaient, pris en considération dans l'étude de la relation. Les enfants ont été invités à soumettre des preuves objectives de flexion dermatite visible, des tests cutanés (skin prick tests (SPTs) aux aéroallergènes communs (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Alternaria tenuis*, *Blatta germanica*, cat fur, *betulaceae* pollens, graminées mixtes, et des contrôles positifs et négatifs) et aussi, la réactivité bronchique

induite par l'exercice (exercise-induced bronchial (EIB)), à condition que le consentement parental a été obtenu. SPT positivité a été définie comme une papule au moins 3 mm plus grand que celui du témoin négatif pour l'un des allergènes de 15 min après l'aiguillon. BEI a été définie en utilisant un débit de pointe (PF) selon le protocole normalisé de l'appareil de test de fonctionnement comme suit [3]:  $\frac{PEF_{in} - PEF_{fin}}{PEF_{in}} \geq 10\%$

On a également demandé aux parents de remplir le questionnaire utilisé dans la phase II du protocole ISAAC (International Study for Asthma and Allergies in Childhood). [4]. NO<sub>2</sub> les valeurs de concentration obtenues avec



(OR) de chaque résultat de la santé pour une grande vs faible exposition de polluants ajusté les facteurs de confusion potentiels et NO<sub>2</sub> comme modificateur potentiel. Un modèle marginale des aides était appliqué afin de tenir compte de la non-indépendance de données chez les enfants vivant dans la même ville, car ils partagent le même environnement en termes de climat, les pollens, les produits alimentaires, l'alimentation et les facteurs

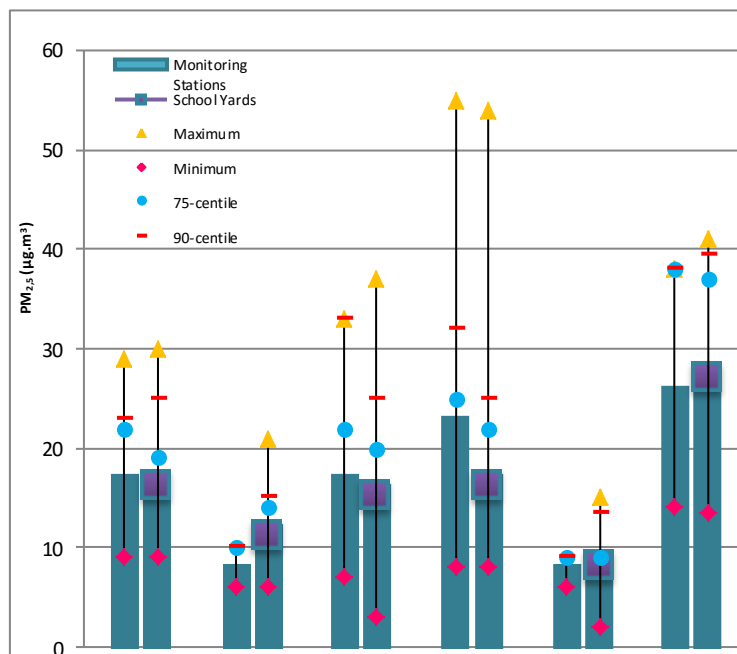


Figure 1. Répartition par 5 jours, les concentrations moyennes de PM<sub>2.5</sub> NO<sub>2</sub>, respectivement, au stations de surveillance, les cours d'école et les classes à Bacau, en Roumanie.

échantillonneurs passifs aux stations de surveillance ont été comparés à ceux obtenus par Air Quality Monitoring Réseaux par chimiluminescence. Modèle de relation de PM<sub>2.5</sub> les résultats de santé: Moyens de de la 5-jour de les niveaux de PM<sub>2.5</sub> et NO<sub>2</sub> ont été utilisés dans les analyses. En cas de deux stations de surveillance sur site fixe la moyenne des concentrations a été calculée pour évaluer le niveau de la ville. Grâce à inter et intra-villes hétérogénéité (Fig. 1), une variable à deux classes d'exposition (haute vs basse) pour les PM<sub>2.5</sub> et le NO<sub>2</sub> a été défini par rapport à la valeur médiane de la distribution des concentrations dans les cours d'école et sur les stations de surveillance, respectivement, indépendamment de la ville. Analyse de régression logistique a été utilisée pour obtenir le rapport de cotes odds-ratio

Les paramètres du modèle marginal ont été estimées par l'équation d'estimation généralisée (generalised estimating equation (GEE)) approche utilisant SPSS GENMOD avec la structure de corrélation de fonctionnement indépendant, en utilisant la ville comme strate. Version 17.2 de SPSS System de AIX a été utilisé pour les analyses statistiques. La signification statistique a été fournie par un  $\leq 0,05$  p-value. Afin de limiter l'exposition mauvaise classification, une analyse de sensibilité a été répété dans les enfants pour lesquels l'exposition à la qualité de l'air était susceptible d'avoir été relativement stable au cours de la vie comme ils l'avaient passé les dernières huit années à la même adresse (enfants de résidents de longue durée).

### 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le taux de l'enquête par questionnaire de réponse était de 81% (771/952). 667 enfants (69%) dans 40 salles de classe de 8 écoles ciblées ont complété le protocole d'enquête (tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques des enfants ayant participé à cette étude (n = 667).

Facteurs	Enfant	Mère	Père
Âge (ans) (m±SD)	10,4±0,7	38,4±5,1	41,5±6,3
Sexe (masculin) (%)	49,2		
Poids (kg) (m±SD)	36,21±8,14		
Taille (m) (m±SD)	1,42±0,08		
Indice de masse corporelle (m/kg <sup>2</sup> ) (m±SD)	17,88±2,88		
Débit expiratoire de pointe (ml/min)(m±SD)	330,1±49,0		
Education (%)			
Primaire		11,7	12,5
Secondaire		45,3	42,9
Haute école et université		37,8	39,3
Autre		5,2	5,4
(m±SD): Moyenne ± déviation standard; Body mass index: Poids / Taille <sup>2</sup> .			

Tableau 2. Les taux de prévalence (%) des prick positivité du test et la morbidité allergique et respiratoire dans Bacau, Roumanie (n = 667).

Résultat de de santé	garçons	filles	tous
<b>Lors de l'évaluation de la pollution de l'air</b>			
N	3246	3357	6603
EIB	9,1	8,3	8,7
flexion dermatite	9,0	12,2*	10,6
<b>Dernière année</b>			
N	3141	3166	6307
Asthme	9,7	6,6*	8,1
Rhinoconjonctivite	13,1	10,7**	11,9
Dermatite atopique	10,8	14,1*	12,5
<b>Durée de vie</b>			
N	3213	3336	6549
Asthme	12,7	7,1*	9,9
Asthme atopique	5,9	3,5*	4,6
Asthme Non- atopique	2,8	2,5	2,6
Rhinite allergique	22,3	17,9*	20,0
Dermatite atopique	24,6	26,5	25,6
Positivité de SPT	32,4	23,7*	28,0
Monosensibilisation	12,0	10,5	11,2
Polysensibilisation	20,4	13,3*	16,8
EIB: Exercise-induced bronchial hyperresponsiveness (l'hyperréactivité bronchique induite par l'exercice) tel qu'évalué par PEF <sub>in</sub> -PEF <sub>fin</sub> /PEF <sub>in</sub> ≥10% (PEF = peak expiratory Flow= débit expiratoire de pointe (DEP); SPT: skin prick tests (les tests cutanés); Monosensibilisation : Positivité de SPT au moins l'une des allergènes; Polysensibilisation: Positivité de SPT à au moins de 2 allergènes. *p<0,001. **p<0,01.			

Les analyses sur la pollution de l'air ont été limitées à 538 (80%) enfants ayant subi l'examen la semaine de l'évaluation de la qualité de l'air afin de prendre des effets potentiels à court terme de la pollution de l'air en compte. Les enfants exclus de l'analyse ne diffèrent pas significativement des autres en termes de caractéristiques enregistrées.

La dermatite atopique avait la prévalence à vie cumulatif le plus élevé, suivie par une rhinite allergique et l'asthme (25,6%, 20,0% et 9,9%, respectivement) (tableau 2). Cette tendance a été confirmée pour les symptômes de l'année écoulée.

A l'époque de l'enquête, 10,6% des enfants souffraient de dermatite flexion comme évalué par un médecin et 8,7% avaient EIB. Vingt-huit pour cent des enfants avaient au moins un test cutané positif; 12,3% des enfants étaient positifs aux allergènes extérieurs, 20,9% aux allergènes intérieurs, et de 2,8% à *Alternaria tenuis*. Monosensibilisation a été observée chez 11,2% des enfants et polysensibilisation à 16,8%.

Les estimations de CV pour déterminer le intervariabilité des évaluations de PM<sub>2,5</sub> par l'enquête comme décrit dans les méthodes étaient toujours <10%. Valeurs de concentration de NO<sub>2</sub> mesurées avec échantillonneurs passifs aux stations de surveillance étaient très liées à celles prévues par la même semaine de Air Quality Monitoring Networks (Coefficient de régression: 0,82; p<0,0001). De plus, les valeurs de concentration évaluées en utilisant des pompes et des échantillonneurs passifs dans les cours d'école corrélés de manière satisfaisante avec ceux obtenus au niveau de la ville de la même semaine (coefficient de corrélation Spearman: 0,88; p<0,0001 and 0,69; p<0,0001 pour PM<sub>2,5</sub> et respectivement NO<sub>2</sub>). Il n'y avait pas de différence significative dans les concentrations de PM<sub>2,5</sub> et NO<sub>2</sub> dans les cours d'école et niveau de la ville (tableau 3).

Après l'ajustement pour les facteurs confondants éprouvées (notamment de sexe, le tabagisme passif et des antécédents familiaux de maladies allergiques) avec le modèle de régression logistique, les chances de souffrir de la BEI et de la dermatite flexion à la période de l'enquête, l'an passé, l'asthme atopique et SPT positivité de aux allergènes intérieurs étaient significativement supérieur à 1 dans les milieux résidentiels avec des concentrations de PM<sub>2,5</sub> supérieures à la valeur médiane, respectivement (tableaux 4 et 5). Une signification limite existait dans le cas de la durée de vie de rhinite allergique. Un OR supérieure à 1 a été observée pour les moules, mais pas de signification statistique a été atteint probablement en raison de la petite taille de l'échantillon.

Les résultats observés au niveau de la ville ont confirmé ces résultats (tableaux 4 et 5). Un pourcentage plus élevé de polysensibilisation allergiques que des monosensibilisation a été observée chez les enfants fortement exposés aux  $PM_{2.5}$  (Fig. 2).

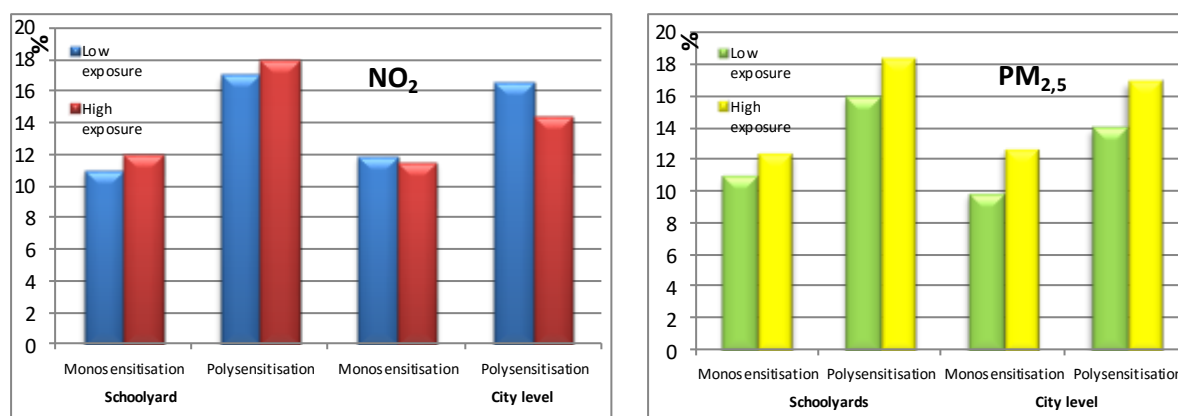


Figure 2. Les taux de prévalence (%) des monosensibilisation et polysensibilisation selon l'exposition faible ou élevée à des concentrations de  $NO_2$  et de  $PM_{2.5}$  dans la proximité résidentielle et au niveau de la ville Bacau, Roumanie (n = 538).

L'inclusion comme une variable indépendante dans les différents modèles de concentration de  $NO_2$ , qui a été liée de façon significative à la BEI, la dermatite de flexion et SPT aux allergènes intérieurs (tableaux 4 et 5), donné des résultats similaires pour les  $PM_{2.5}$ . L'analyse de sensibilité répétée dans les 175 enfants pour lesquels l'exposition à la qualité de l'air était susceptible d'avoir été stable plus de vie comme ils l'avaient passé les 8 dernières années à la même adresse (à long terme des enfants résidents) affiche ORs similaires, voire supérieures, à malgré la réduction de la taille de l'échantillon (tableaux 4 et 5). Ces résultats ne sont pas affectées lorsque la non-indépendance des données ont été prises en compte en utilisant le modèle marginal (données non présentées).

Tableau 3.  $PM_{2.5}$  et  $NO_2$  concentrations dans la proximité résidentielle (d'école) et au niveau de la ville comme évalué par des échantillonneurs passifs à Bacau, Roumanie (8 écoles, 40 salles de classe, n = 538 enfants avec examen clinique la semaine du qualité de l'air assessment).

	N échantillonneurs	Faible concentration		Concentration élevée		% enfants dans les milieux à forte concentration
		intervalle		intervalle		
		gamme	Moyen	gamme	moyen	
Polluant						
Niveau de la proximité résidentielle						
PM <sub>2,5</sub>	111	[1,6–12,2] <sup>a</sup>	8,7	[12,5–54,0]	20,7	55,4
NO <sub>2</sub>	111	[8,1–31,0]	19,0	[31,1–70,40]	46,4	60,1
Niveau de la ville						
PM <sub>2,5</sub>	51	[4,7–12,7]	9,6	[13,0–54,5]	23,0	59,0
NO <sub>2</sub>	53	[14,5–36,9]	28,3	[37,5–73,2]	50,2	53,2
Les deux catégories d'exposition "faible" vs "haut" ont été définies par rapport à la valeur médiane de la distribution des concentrations.						
<sup>a</sup> Les concentrations sont exprimées en mg/m <sup>3</sup> .						

Dans ce large échantillon de 538 enfants des écoles basée sur la population, les cotes ajustés de souffrir de l'asthme induit par l'exercice et la dermatite flexion à la période de l'enquête, l'asthme de la dernière année et SPT positivité de étaient significativement supérieur à 1 en concurrence avec élevée  $PM_{2.5}$  concentrations dans la proximité des maisons où vivent les enfants. Dans le cas de l'asthme, le risque était limité à l'asthme atopique. Les relations ont été renforcées dans résidents de longue durée (adresse actuelle pendant au moins 8 ans) pour qui l'exposition aux polluants de l'air extérieur peut être considéré comme stable à travers la vie. Bien que pas excessive, les concentrations moyennes que nous avons observées dans les paramètres de haut sont exposés près de la norme ( $10 \mu g/m^3$  (moyenne annuelle)) World Health Organization recommande, pour l'exposition à long terme. Les résultats de notre population étendent les données précédentes relatives véhicules comtes ou des concentrations de polluants de l'air fournies par les stations de surveillance sur site fixe à divers résultats de santé respiratoires et allergiques, parmi lesquels sensi-tisation allergique. Dans une de ces études, le trafic de véhicule

élevée près de la maison a été associée à l'asthme, de la toux et une respiration sifflante et chez les enfants plus exposés à la fumée de tabac d'ambiance aussi avec allergique sensitization. In notre étude, respiratoire et les résultats de santé allergiques persisté être liée à des particules fines la pollution après prise en compte:

- (1) la fumée de tabac dans l'environnement et de l'histoire familiale de l'asthme, qui sont des facteurs de risque de ces résultats connus à travers des modèles ajustés ainsi que pour
- (2) de la ville grâce à l'utilisation d'un modèle marginal, ce qui a permis le contrôle pour le climat, les pollens, les produits alimentaires, l'alimentation et les facteurs socio-culturels qui sont d'autres facteurs connus de maladies allergiques et respiratoires.

Ces facteurs sont partagés au niveau de la ville. Nos résultats contrastent avec data. Variations précédents dans les résultats pourrait être due à l'exposition classification erronée dans ces études. Dans l'étude 6C, nous avons réduit misclassification potentielle d'exposition à la pollution de l'air en utilisant une conception semi-individuelle dans laquelle la qualité de l'air a été évaluée dans la proximité de la maison de l'enfant et en effectuant une analyse de sensibilité chez les résidents à long terme. Nos résultats montrent également un risque accru pour la dermatite flexion chez les enfants exposés à des niveaux élevés de pollution de l'air liée à la circulation, ce qui à notre connaissance peine avait été signalé previously. However, ce résultat mérite d'être confirmé.

Table 5. Odds ratios (95% intervalle de confiance) la sensibilisation allergique par des concentrations élevées contre faible de PM<sub>2,5</sub> et NO<sub>2</sub> en tout (n = 538) et résident de longue durée (n = 145) des enfants of Bacau, Romania.

Site de l'évaluation AP	PM <sub>2,5</sub>				NO <sub>2</sub>			
	Haute rapport aux basses concentrations				Haute rapport aux basses concentrations			
	tous les enfants		Résident de longue durée <sup>a</sup>		tous les enfants		Résident de longue durée <sup>a</sup>	
	OR	95% CI			OR	95% CI		
<b>Niveau de proximité</b>								
Toutes les allergènes	1,19	1,04, 1,36	1,19	0,96, 1,47	1,08	0,94, 1,25		
Allergènes intérieurs	1,29	1,11, 1,50	1,26	1,00, 1,59	1,21	1,04, 1,41	1,13	0,89, 1,43
Allergènes extérieurs	1,02	0,85, 1,23			0,94	0,78, 1,13		
Moules	1,13	0,78, 1,65			1,18	0,80, 1,73		
<b>Niveau de la ville</b>								
Toutes les allergènes	1,32	1,15, 1,51	1,42	1,15, 1,76	0,92	0,81, 1,05		
Indoor allergens	1,51	1,29, 1,76	1,45	1,15, 1,84	0,96	0,83, 1,10		
Outdoor allergens	1,06	0,88, 1,28			0,86	0,72, 1,03		
Moulds	1,00	0,69, 1,46			1,14	0,79, 1,65		
Odds-ratios (ORs) étaient ajustés pour l'âge, le sexe, les antécédents familiaux d'allergie et le tabagisme passif. Les deux catégories d'exposition <i>faible</i> vs haut étaient définis par rapport à la valeur médiane de la distribution des concentrations; EIB: PEF <sub>in</sub> -PEF <sub>fin</sub> /PEF <sub>in</sub> > 10%. <sup>a</sup> 8 ans à la même adresse.								

Une limitation de notre travail consiste dans le fait que les concentrations de PM<sub>2,5</sub> et NO<sub>2</sub> que nous avons observées dans les différents paramètres pourraient ne pas être représentatifs des concentrations habituelles dans ces paramètres. Cependant, il n'y avait aucune preuve de conditions inhabituelles ayant fortement influencé la qualité de l'air au niveau local pendant toute la durée de l'enquête, qui a également été montré par un CV ≤ 10%.

Nos résultats sont en outre soutenus par le fait qu'en Roumanie comme en France, les émissions de pollution de l'air ont été estimées pour être stable au niveau local au cours de la vie de la children. L'analyse de sensibilité chez les résidents à long terme et le fait que les classements relatifs des zones géographiques à l'égard à divers polluants de l'air n'ont pas changé dans le passé décade corroboré également nos conclusions. Malheureusement, afin de ne pas diminuer de façon significative la taille de l'échantillon, notre analyse de sensibilité n'a pas tenu compte de la première année de vie qui est crucial pour la sensibilisation allergique. Cependant, les résultats étaient similaires dans le groupe d'enfants ayant toujours vécu à la même adresse. Du point de vue statistique, la grande taille et la distribution spatio-temporelle de notre échantillon d'écoles choisies au hasard ont réduit la probabilité d'une relation faussement positif. La consistance d'un effet potentiel de particules fines est approuvé par les résultats obtenus dans le même échantillon d'enfants, concernant l'exposition à long terme à fond PM<sub>10</sub> à un risque plus élevé de rhinite allergique, l'asthme et les tests cutanés positivité.

Nos conclusions basées sur la population sont également compatibles avec les données expérimentales qui ont démontré que l'inhalation de polluants atmosphériques liés à la circulation soit individuellement ou en

combinaison, peuvent améliorer les réponses immunitaires et la réponse des voies aériennes aux allergènes inhalés, comme les pollens ou les acariens de la poussière, dans atopique sujets. Il y a également des preuves que DEP peuvent interagir avec aéroallergènes, afin de renforcer leurs effets. Nous avons constaté qu'au niveau de la population les effets des particules fines, un bon indicateur de la DEP, étaient supérieures pour les allergènes à l'intérieur que pour les allergènes extérieurs, probablement parce que les anciens allergènes sont omniprésents et pérenne. Constamment, nous avons également observé que les concentrations de PM<sub>2,5</sub> étaient liés à l'asthme atopique.

Contrairement à ce qui est observé dans les études expérimentales dans lesquelles des concentrations élevées de polluants sont nécessaires pour obtenir la synthèse immédiate IgE, répétées, bien que non excessives concentrations de PM<sub>2,5</sub> pourraient être suffisantes pour l'amélioration de la réponse et les exacerbations allergique au niveau de la population.

### 3. CONCLUSIONS

Dans notre étude, les concentrations au-dessus duquel les effets de particules fines ont été observés étaient proches des normes indiquées par l'OMS. L'existence d'un effet à de faibles concentrations peut dépendre de la sensibilité individuelle, qui est modulée par divers facteurs parmi lesquels l'alimentation. Les données récentes ont montré que les défenses antioxydantes ont un rôle clé dans le contrôle de la réponse allergique à DEP telle qu'évaluée par la production d'IgE. Cependant, les mécanismes par lesquels les particules fines et les autres polluants liés au trafic peuvent influencer la manipulation de l'allergène par l'individu et de promouvoir la sensibilisation et la morbidité allergique peuvent être seulement émis l'hypothèse. Les polluants gazeux peuvent modifier les moyens de défense (purification mucociliaire et de défense antibactérien), induisant le développement d'une réaction inflammatoire neutrophile et une sensibilisation par allergène-IgE dépendante. Les particules de diesel ont été montré pour améliorer des réactions inflammatoires et une sensibilisation. Il a été suggéré que cela pourrait être dû à l'intervention des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) contenus dans la matière particulaire ou très liés; les véhicules diesel et de l'essence étant épuise les sources d'émissions locales prédominantes de HAP. Cependant, il ne peut pas être exclu que les particules fines pourrait également influencer sur les propriétés non-immunologiques des allergènes, tels que leur activité enzymatique, contribuant ainsi à leur pénétration accrue dans les organes cibles. Des données récentes ont montré que certaines enzymes protéolytiques dans allergènes, acariens de la poussière dans l'ensemble, sont capables d'augmenter la perméabilité épithéliale et en créant des conditions qui favorisent la livraison transépithéliale d'allergènes, ce qui est également conforme à nos résultats.

Pour résumer, les présentes données sur la population soutiennent les résultats expérimentaux et épidémiologiques selon lesquelles un mélange de complexe associé à la pollution aux particules fines pourrait en partie contribuer à l'amélioration de la sensibilisation allergique par des interactions avec les allergènes. Que tel phénomène pourrait contribuer à expliquer la hausse de la morbidité chez les enfants allergiques observées au cours des dernières décennies ne peut être répondu en l'absence d'une évaluation d'exposition plus appropriée. Si elle est confirmée, cela va soulever des préoccupations au sujet des effets de la santé publique de PM, déjà impliqués dans des taux plus élevés de morbidité et de mortalité. Les résultats soutiennent l'hypothèse que les changements dans la prévalence de l'allergie observée au cours des dernières décennies pourraient être en partie liés à des interactions entre la pollution et les allergènes de l'air liée à la circulation. D'autres enquêtes longitudinales sont nécessaires pour corroborer ces résultats.

### 4. RÉFÉRENCES

- [11] Rabl A. Analysis of air pollution mortality in terms of life expectancy changes: relation between time series, intervention and cohort studies. *Environ Health* 2006; 5:1.
- [12] Zanobetti A, Schwartz J. Particulate air pollution, progression, and survival after myocardial infarction. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 769–75.
- [13] Priftanji A, Strachan D, Burr M, et al. Asthma and allergy in Albania and the UK. *Lancet* 2001; 358:1426–7.
- [14] ISAAC Phase II manual, 1st ed. Munster (G), May 1998.
- [15] Bora T, Culea C. M., Igienă, prim-ajutor și control medical, Bacau, 2000.
- [16] Culea C M, Metode de cercetare științifică și analiză în sănătate, PIM, Iași, 2006.